

Niewidzialna groźba

BOŻENA MOSKWA
WŁADYSŁAW CABAJ
Instytut Parazytologii, Warszawa
Polska Akademia Nauk
moskwa@twarda.pan.pl
cabajw@twarda.pan.pl

Niebezpieczny dla krów pasożyt kryje się we wnętrzu komórek żywiciela. Drogi szerzenia choroby można jednak zidentyfikować dzięki nowoczesnym technikom diagnostycznym

Neospora caninum jest pasożytniczym pierwotniakiem, którego cykl rozwojowy wymaga dwóch żywicieli: ostatecznego, którym jest pies i kojot, a być może również wilk, oraz pośredniego, którym mogą być pies, krowa, owca, koń, koza, jelen, żubr, bizon, kot, małpa, lis, jenot, szczur i lama. Pasożyt rozmnaża się płciowo w jelicie cienkim żywicieli ostatecznych, po czym do środowiska zewnętrznego wydostają się formy inwazyjne (oocysty), źródło zarażenia innych zwierząt. Z oocyst w żywicielu pośrednim uwalniają się tachyzoity (formy wnikaające do wnętrza komórek), które mogą przekształcać się w bradyzoity (formy otorbione). Pasożyty zlokalizowane są w mózgu i rdzeniu kręgowym.

Neosporoza przynosi poważne straty ekonomiczne powodowane utratą cieląt, koniecznością ponownego zaciełania krów, dłuższym okresem laktacji, reperacją stada krów, gorszą jakością mięsa i niższą mlecznością.



Tachyzoity *Neospora caninum* zlokalizowane są u zwierząt w układzie nerwowym – w mózgu i rdzeniu kręgowym. Można je jednak utrzymywać także w hodowli komórkowej w laboratorium

Pionowo i poziomo

Objawy choroby dorosłych krów to zaburzenia ze strony układu rozrodczego: wczesne zamieranie zarodków, ronienia oraz porody martwych cieląt. Rodzone przez zarażoną krowę cielę może paść lub żyć dalej, stając się bezobjawowym przenosicielem pasożyta na następne pokolenia. Chore cielęta cierpią na niezborność ruchów, porażenie lub zanik mięśni tylnej części ciała i drgawki.

Rozprzestrzenianie *N. caninum* w stadzie hodowlanym odbywa się na dwa sposoby, przy czym w 81–95% przypadków pasożyt przekazywany jest drogą „pionową”, z pokolenia na pokolenie. Neosporoza szerzy się jednak również w czasie niekontrolowanych wycieleń krów, kiedy zarażenie następuje poprzez wylizywanie i zjadanie łożyska zawierającego formy inwazyjne pasożyta (droga pozioma). Przypuszcza się, że zdrowe cielęta mogą ulec zarażeniu poprzez dokarmianie mlekiem od chorych krów. Na szczęście pasożyt zapewne nie stanowi zagrożenia dla ludzi, chociaż stwierdzano specyficzne przeciwciała przeciw *N. caninum* u osób mających kontakt z zarażonym bydlęciem.

ELISA na pasożyta

Pierwsze badania nad *N. caninum* rozpoczęliśmy w Pracowni Fizjopatologii Instytutu Parazytologii PAN w 2000 r. Metodą immunologiczną ELISA zbadaliśmy ponad 2500 surowic krów. Obecność przeciwciał klasy IgG przeciwko pasożytowi w badanych próbkach świadczyła o jego obecności w organizmie zwierzęcia. Okazało się, że w poszczególnych stadach odsetek krów zarażonych wahał się od 1,7% do 20,3%. Zarażonych było również kilka z 40 badanych buhajów zarodkowych. Wykazaliśmy również, że pasożyt przenoszony jest z pokolenia na pokolenie (babka, matka, cielę; jałówka lub byczek), i to z częstością ponad 95%!

Niezwykle istotna reakcja

Kolejne badania miały na celu rozwikłanie paru zagadek. Przede wszystkim chcieliśmy się dowiedzieć, kiedy w trakcie ciąży następuje zarażenie płodu – czy już komórka jajowa jest narażona na pasożyta, czy do zarażenia dochodzi na początku lub na dalszych etapach rozwoju zarodka? Aby się o tym przekonać, użyliśmy metody PCR (łańcuchowej reakcji polimerazy), dzięki której mogliśmy wykryć obecność DNA *N. caninum* w badanych tkankach. Odkryliśmy w ten sposób DNA pasożyta w mózgach poronionych płodów oraz cieląt urodzonych przez zarażone matki. Badania oocytów i wczesnych stadiów zarodko-



PHOTO: SDP/REEM

U dorosłych krów zarażenie *Neospora caninum* objawia się zaburzeniami ze strony układu rozrodczego: zamieraniem zarodków, ronieniami i porodami martwych cieląt

wych dały jednak wynik ujemny. Wskazuje on, że stosowane powszechnie przenoszenie zarodków (tzw. embriotransfer) w trakcie rozrodu bydła nie niesie ryzyka zarażenia neosporozą. W sumie rezultaty można interpretować dwojako: albo pasożyt przenika do zarodka w późniejszym okresie rozwoju, albo złożona procedura oczyszczania zarodków przed zamrożeniem eliminuje pasożyta z ich powierzchni.

Obecność DNA *N. caninum* wykazaliśmy także w próbkach nasienia zarażonych buhajów zarodowych, co wskazuje na możliwość przenoszenia parazytozy drogą płciową. Wynik ten jest szczególnie istotny w świetle badań hiszpańskiego zespołu profesora L. Ortegi-Mora, w których wykazano, że krowy poddawane inseminacji nasieniem z dodanymi doświadczalnie tachyzoitami ulegały zarażeniu pasożytem.

Pierwsi na świecie stwierdziliśmy obecność DNA pasożyta w mleku oraz sianie, co oznacza, że zdrowe cielęta mogą zostać zarażone pasożytem podczas dopajania mlekiem pochodzącym od zarażonych krów. Badaliśmy również wpływ promieniowania UV, zamrażania, gotowania i sterylizacji na przeżywalność pasożyta. Jedynie pasożyty traktowane UV zachowały żywotność i namnażały się w hodowli.

Badania terenowe doprowadziły do wyizolowania polskiego izolatu *N. caninum*. Jego tachyzoity utrzymywane są w stałej hodowli *in vitro* na komórkach Vero (komórki nabłonka nerki małpy), podobnie jak szwedzki szczep referencyjny NC-1. Oba wykorzystujemy do dalszych badań immunologicznych i molekularnych.

Naturalnie u żubrów

Jako członkowie Bison Network prowadzimy badania nad neosporozą wśród żubrów. Z 320 próbek z banku

surowic tych zwierząt 7,4% było pozytywnych. Pierwsza dodatnia surowica pochodziła od żubra ustrzelonego w 1988 r. Jest to rok, w którym gatunek *N. caninum* został opisany przez prof. Dubeya w USA. Co więcej, aż 15–17% zwierząt odławianych dziś jest zarażonych pierwotniakiem, co zagraża realizacji programu ochrony stanu zdrowia i restytucji żubrów w Polsce.

Nasza pracownia jest jedynym w kraju ośrodkiem naukowym w Polsce prowadzącym tak kompleksowe badania nad *N. caninum*. Dotychczasowe wyniki badań zostały opublikowane w 36 publikacjach oryginalnych, przeglądowych i komunikatach zjazdowych i były wielokrotnie prezentowane podczas konferencji w ramach Akcji COST 854 „Protozoal reproduction losses in farm ruminants”, konsorcjum naukowego powołanego przez UE. W 2002 r. zostaliśmy członkami Management Committee Akcji Cost 854 jako przedstawiciele Polski. Wyniki badań prezentowaliśmy również na konferencjach krajowych. Niestety, zainteresowanie hodowców bydła i służb weterynaryjnych możliwością przeprowadzenia badań w kierunku obecności pasożyta w stadzie i wyeliminowaniem zagrożenia jest nadal znikome. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

- Dubey J.P. (1999). Recent advances in *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 84, 349–367.
- Cabaj W., Choromański L., Rodgers S., Moskwa B., Malczewski A. (2000). *Neospora caninum* infections in aborting dairy cows in Poland. *Acta Parasitologica*, 45, 113–114.
- Cabaj W., Moskwa B., Pastusiak K., Gill J. (2005). Antibodies to *Neospora caninum* in the blood of European bison (*Bison bonasus bonasus* L.) living in Poland. *Veterinary Parasitology*, 128, 163–168.
- Moskwa B., Pastusiak K., Bien J., Cabaj W. (2007). The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitology Research*, 3, 633–636.