

***Neospora caninum* u żubrów eliminowanych w Białowieży w latach 2012–2013**

Władysław Cabaj, Justyna Bień, Aleksandra Cybulska, Aleksandra Kornacka, Bożena Moskwa, Michał Krzysiak¹

Instytut Parazytologii im. Witolda Stefańskiego PAN, Warszawa

¹ Białowiecki Park Narodowy

***Neospora caninum* in European bison eliminated at Białowieża in 2012–2013**

Abstract: The prevalence of antibodies to *Neospora caninum* was examined in European bison (*Bison bonasus bonasus* L.) eliminated or immobilized at Białowieża, Poland in 2012–2013. Sera from 32 European bison, of different ages and sexes, were tested for *N. caninum* antibodies using an ELISA test. Positive antibody responses were found in 9 bison (a prevalence of 28,1%). Our results confirm and indicate the growing presence of *N. caninum* in the European bison living in Białowieża.

Additionally, the negative impact of this protozoan parasite on the bison reproductive process is discussed using the example of the cow Porwanka.

Key words: European bison, *Neospora caninum*, ELISA, Poland

Wstęp

We wcześniejszych pracach (Cabaj i in. 2005; 2008; 2009) opisano szczegółowo wyniki badań w kierunku *Neospora caninum* u polskich żubrów żyjących w Białowieży. Wykrycie *N. caninum* u wolno żyjących przeżuwaczy oraz wyizolowanie tego pierwotniaka z krwi od dwóch dorosłych żubrów (Bień i in. 2010), stanowi bezpośredni dowód jego obecności w sylwatyicznym cyklu życiowym.

Skutkiem neosporozy u bydła domowego są trudności w zacielaniu, nawracające poronienia, resorpcja lub mumifikacja płodu, lub narodziny martwego potomka. Z danych literaturowych wynika, że ponad 90% potomstwa urodzonego przez krowy zarażone *N. caninum* jest również zarażona. W Polsce, po raz pierwszy wykryto przeciwciała przeciw pasożytowi we krwi krów w roku 2000, u których wcześniej stwierdzane były ronienia o nieznannej etiologii (Cabaj i in. 2000). Samego pierwotniaka *N. caninum* udało się wyizolować z mózgu jednodniowego cielaka pochodzącego od seropozytywnej krowy, a izolat NC-PolB1 jest utrzymywany w stałej hodowli komórkowej w Instytucie Parazytologii PAN (Goździk i Cabaj 2007). Mając na uwadze, że pasożyt może być czynnikiem osłabiającym potencjał rozrodczy żubrów, a przez to wywierać negatywny wpływ na sam proces restytucji gatunku *Bison bonasus bonasus*, to stały monitoring tej parazytozy jest konieczny w celu określenia stopnia tego zagrożenia.

Materiał i metody

Surowice uzyskano z krwi żubrów selekcyjnie odstrzelianych od października 2012 do marca 2013 r. Kilka surowic pochodziło od żubrów z ośrodka hodowlanego żubrów (OHŻ) w Białowieży (immobilizowanych na potrzeby zabiegów weterynaryjnych). Łącznie zbadano surowice od 32 żubrów.

Test ELISA

Badania przeprowadzono przy użyciu komercyjnego zestawu *Neospora caninum* Antibody Test Kit firmy IDEXX Laboratories, Inc. USA. W teście wykrywane są specyficzne przeciwciała klasy IgG. Wynik reakcji odczytywano w czytniku EL*800, Biotek, Instruments Inc. Wynik uznawano za pozytywny, jeśli wyliczony współczynnik S/P był większy od 0,40.

Wyniki

Wyniki badań serologicznych w kierunku obecności przeciwciał przeciw *N. caninum* w badanych surowicach przedstawiono w tabeli 1. Rozpiętość wieku badanych żubrów wynosiła od kilku dni do 22 lat. Mając na uwadze płeć to 12 osobników było płci żeńskiej i 18 płci męskiej (co do trzech osobników brak danych).

Z 32 badanych surowic dziewięć okazało się pozytywnych. Pochodziły one od 6 osobników płci męskiej i 3 osobników płci żeńskiej. Były to: 8-letnia krowa PORWANKA z OHŻ w Białowieży; jej kilkudniowy potomek, 15-letni byk o numerze L676, roczna jałówka o imieniu POPPEA (L654), 20-letni byk, dwuipółletni byk, 22-letni byk, 6-letnia krowa oraz 5-letni byk.

Najwyższy poziom przeciwciał stwierdzono u 8-letniej krowy o imieniu PORWANKA i jej potomstwa płci żeńskiej (POPPEA) z roku 2011. Fakt, że pozytywną krowę stwierdzono w ośrodku hodowlanym w Białowieży, umożliwił analizę wszystkich urodzeń cieląt przez tę krowę od 3 roku jej życia.

PORWANKA (nr rod. 10163, ur. 08.06.2004 r., rodzice to POLWITA i POMOCNY), jako trzyletnia krowa cielęła się w 2007 roku (28.05.2007 r. urodziła POLIBUDĘ). POLIBUDA nie była badana. Przewieziono ją do Smardzewic 23.10.2008 r. gdzie padła 27.11.2010 r.

W następnym roku PORWANKA urodziła byczka o imieniu POMPIK (2.12.2008 r.), który od 9.11.2009 r. jest w Człuchowie. Byczek ten był badany w kierunku *N. caninum* i jest seropozytywny (S/P=0,58).

W roku 2009 PORWANKA nie miała potomstwa. Natomiast w roku 2010 urodziła POROSŁĄ (13.06.2010 r.), która od 26.04.2011 r. przebywa w Strzelinku i jej status względem *N. caninum* pozostaje nieznan.

W roku 2011 PORWANKA urodziła POPPEĘ (24.08.2011 r.), która od 2.07.2012 r. przebywa w Randers, Dania. Stwierdzono u niej wysoki poziom

Tabela 1. Wyniki testu ELISA u żubrów eliminowanych lub immobilizowanych w okresie od października 2012 r. do marca 2013 r.

| L.p. | Nr żubra* | Płeć i wiek | Wynik ELISA | Data eliminacji lub pozyskania próby |
|------|----------------|-----------------|-------------|--------------------------------------|
| 1 | PORWANKA 10163 | K; 8 lat | 2,4 | 22.10.2012 (OHŻ) |
| 2 | Po. 12274 | B; kilka dni | 1,44 | 22.10.2012 (OHŻ) |
| 3 | L 675 | B; 18 lat | 0,16 | 26.10.2012 |
| 4 | L 676 | B; 15 lat | 0,62 | 29.10.2012 |
| 5 | L 681 | B; 6 lat | 0,13 | 29.10.2012 |
| 6 | POPPEA 11728 | K; 14 mies. | 2,31 | 29.10.2012 (OHŻ) |
| 7 | 917 | B; 20 lat | 0,44 | 4.12.2012 |
| 8 | 918 | B; ok. 2,5 roku | 1,55 | 5.12.2012 |
| 9 | 919 | K; 22 lata | 0 | 18.12.2012 |
| 10 | 920 | B; 5 mies. | 0 | 18.12.2012 |
| 11 | 921 | K; 20 lat | 0 | 19.12.2012 |
| 12 | 922 | B; 5,5 roku | 0,20 | 15.01.2013 |
| 13 | 923 | K; 6 mies. | 0,04 | 15.01.2013 |
| 14 | 924 | B; 22 lata | 1,45 | 15.01.2013 |
| 15 | 925 | K; 6 mies. | 0,03 | 15.01.2013 |
| 16 | 926 | B; 2,5 roku | 0,16 | 16.01.2013 |
| 17 | 927 | B; 2 lata | 0,22 | 16.01.2013 |
| 18 | 928 | K; 5 mies. | 0,05 | 29.01.2013 |
| 19 | 929 | K; ok. 6 lat | 0,93 | 29.01.2013 |
| 20 | 930 | B; ok. 4 lata | 0,28 | 30.01.2013 |
| 21 | POLINIA 11988 | K; ok. 2 lat | 0,16 | 30.01.2013 (OHŻ) |
| 22 | 931 | B; 4 mies. | 0 | 12.02.2013 |
| 23 | 932 | B; ok. 16 lat | 0 | 12.02.2013 |
| 24 | 933 | B; 5,5 roku | 0 | 12.02.2013 |
| 25 | 934 | K; 18 lat | 0 | 26.02.2013 |
| 26 | 935 | B; ok. 3 mies. | 0 | 26.02.2013 |
| 27 | 936 | K; 8 mies. | 0 | 12.03.2013 |
| 28 | 937 | B; 12 lat | 0 | 12.03.2013 |
| 29 | 938 | B; 5 lat | 1.66 | 12.03.2013 |
| 30 | 939 | K; 6 lat | 0,11 | 13.03.2013 |
| 31 | L 736 | B; 22 lata | 0 | 31.03.2013 |
| 32 | POLITRUK 10359 | B; 7,5 rok | 0 | 31.03.2013 |

Objaśnienia:

K – krowa, B – byk, * przy imieniu podano numer rodowodowy dla zwierząt urodzonych w niewoli

przeciwciał anty-*N. caninum* (S/P=2,31), co wskazuje na możliwość zarażenia tym pierwotniakiem i małą przydatność tej krowy do celów reprodukcyjnych.

W październiku 2012 roku PORWANKA urodziła osobnika płci męskiej, który padł po dwóch dniach. Cielak ten miał wysoki poziom przeciwciał anty-*N. caninum* (S/P=1,44), a inne objawy wskazywały na możliwość zarażenia tym pierwotniakiem.

Fakt, że pozytywną krowę stwierdzono w OHŻ wymusza jej wyłączenie z programu hodowlanego. Przekazywanie pasożyta kolejnemu potomstwu wpływa negatywnie na potencjał rozrodczy.

Inne wyniki wskazują, że w ośrodku hodowlanym może być więcej krów seropozytywnych. I tak, żubr POLECONY nr rod. 11730 ur. 26.06.2010 roku, potomek POSADKI i POCZTYLIONA, a eliminowany selekcyjnie 19.07.2011 r., w wieku jednego roku był seropozytywny (S/P=2,36), co wskazuje z kolei na możliwość, że jego matka POSADKA była zarażona *N. caninum*.

Możemy tylko spekulować co do dnia zarażenia się krowy PORWANKI. Czy tachyzoity pasożyta przekazała jej matka czy doszło do zarażenia w terminie znacznie późniejszym. Trudno o jednoznaczną odpowiedź, ale pewne dane wskazują, że mogło do tego dojść już w życiu dorosłym PORWANKI. Matką PORWANKI jest POLWITA nr rod. 8567 (ur. 08.05.1996 r.). POLWITA rodziła wielokrotnie i gdyby była zarażona *N. caninum* to pierwotniaka powinna przekazać swemu potomstwu. Pozytywność PORWANKI stwierdziliśmy w 2012 roku i nic nie wiemy o latach wcześniejszych. Z kolei wiemy, że POLWITA w roku 2009 urodziła PODRYGA, a w 2011 r. Polinę. Oba osobniki zbadano i były seroujemne. Inne żyjące potomstwo tej krowy to POŁATAWA nr rod. 11190 (ur. 28.05.2008 r.), obecnie w ośrodku hodowlanym w Białowieży oraz POSESJA nr rod. 10769 (ur. 19.05.2006 r.), która od 02.04.2008 r. przebywa w Kiermusach. Zbadanie POLWITY dałoby jednoznaczną odpowiedź co do jej przydatności do celów reprodukcyjnych.

Do celów hodowlanych żubry seropozytywne w kierunku *N. caninum* nie są w pełni przydatne i powinny zostać usunięte, co nie oznacza ich eliminacji. Mogą one zostać przekazane do parków, zagród pokazowych itp.

Podsumowanie

Dotychczasowe wyniki badań wskazują jednoznacznie na obecność pierwotniaka *N. caninum* u żubrów żyjących w Białowieży, nie tylko w stadzie wolnościowym, ale i w ośrodku hodowlanym. W latach 2004–2011 przebadano 488 osobniki i spośród nich 53 próby były dodatnie (10,9 %). Żubry białowieskie nie stanowią wyjątku jako rezerwuaru tej parazytozy. Nasze badania wykazały (Cabaj i in. 2008) również wysoki poziom przeciwciał u żubrów żyjących na Słowacji, w Holandii, Włoszech, Hiszpanii, Danii oraz Niemczech. Poza Europą, w Ameryce Północnej, Dubey i Thulliez (2005) wykryli przeciwciała przeciw *N. caninum* u 5 bizonów.

Monitoring żubrów w kierunku obecności *N. caninum* powinien być kontynuowany ze względu na niebezpieczeństwo jakie niesie ten pierwotniak dla chronionego gatunku żubra, żyjącego w tak unikalnym ekosystemie, jakim jest Puszcza Białowieska ale szczególnie dla praktyki hodowlanej stosowanej w Białowieży.

Podziękowanie

Szczególne podziękowanie składamy Dyrekcji Białowieskiego Parku Narodowego oraz Pani Profesor Wandzie Olech z Katedry Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt SGGW w Warszawie za wieloletnią współpracę i pomoc w pozyskiwaniu materiału biologicznego do badań.

Piśmiennictwo

- Bień J., Moskwa B., Cabaj W. 2010. *In vitro* isolation and identification of the first *Neospora caninum* isolate from European bison (*Bison bonasus bonasus* L.). *Vet. Parasitol.*, 173, 200–205.
- Cabaj W., Choromański L., Rodgers S., Moskwa B., Malczewski A. 2000. *Neospora caninum* in aborting dairy cows in Poland. *Acta Parasitol.*, 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. *Vet. Parasitol.*, 128, 163–168.
- Cabaj W., Goździk K., Bień J., Moskwa B. 2008. *Neospora caninum* u żubrów – świadomość problemu. *European Bison Conservation Newsletter*, 1, 53–64.
- Cabaj W., Bień J., Goździk K., Moskwa B. 2009. *Neospora caninum* u żubrów w Polsce – aktualny stan badań. *European Bison Conservation Newsletter*, 2, 102–111.
- Cabaj W., Bień J., Goździk K., Moskwa B. 2010. *Neospora caninum* u żubrów żyjących w Białowieży. *European Bison Conservation Newsletter. Żubr i jego ochrona*, 3, 63–68.
- Dubey J.P., Thulliez P. 2005. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals. *J. Parasitol.*, 91, 1217–1218.
- Goździk K., Cabaj, W. 2007. Characterization of the first Polish isolate of *Neospora caninum* from cattle. *Acta Parasitol.*, 52, 295–297.

