

שם התכנית: קביעת תזמון נכון של בדיקת נוגדנים כנגד נאוספורה קנינום ובחינת התאמת תבחין מסחרי ליישום תכנית ביעור נאוספורוזיס בעדרי בקר לחלב

שמות השותפים למחקר, שיוכם המוסדי וחלקם במחקר

מוניקה לשקוביץ מזוז, monical@moag.gov.il - החטיבה לפרזיטולוגיה, המכון הווטרנרי ע"ש קמרון – וטרינרית מומחית בפרזיטולוגיה - חוקרת ראשית.

שרון תירוש-לוי – החטיבה לפרזיטולוגיה, המכון הווטרנרי ע"ש קמרון, בית הספר לוטרנריה ע"ש קורט, האוניברסיטה העברית בירושלים – וטרינרית, פוסט דוקטורנטית (במכון) - אחראית על איסוף וניתוח הנתונים.

מיכאל ואן סטרטן – החקלאית – וטרינר - עזרה בתכנון הניסוי ובניתוח הנתונים.

יוסט דוכס – החקלאית – וטרינר - רופא קלינאי ברפתות.

ילנה בלינדר – החטיבה לפרזיטולוגיה, המכון הווטרנרי ע"ש קמרון – עבודה עם תרבויות תאים.

מבוא: הטפיל *Neospora caninum* מהווה כיום את הגורם המרכזי להפלות בבקר לחלב בישראל, והוא ניצב במוקד האתגרים הכלכליים של ענף הרפת. בהיעדר טיפול תרופתי יעיל או חיסון מסחרי זמין, הניהול האסטרטגי של העדר חייב להישען על ניטור סרולוגי מדויק וקבלת החלטות מבוססת נתונים. נתיב ההעברה המרכזי בעדרים אנדמיים הוא העברה אנכית (מהאם לעובר), תהליך יעיל באופן קיצוני המנציח את נוכחות הפתוגן לאורך דורות.

מטרת-העל של המחקר הנוכחי הייתה לקבוע את התזמון האופטימלי לביצוע סקרים סרולוגיים, תוך בחינת היכולת לנבא סיכון עתידי להפלות וזיהוי נשאות כרונית כבר בשלבי החיים המוקדמים. כיועצים לניהול בריאות העדר, עלינו להבין כי זיהוי מוקדם של עגלות נגועות הוא הכלי היחיד המאפשר התערבות ממשקית לפני השקעת משאבים יקרים בהזרעות ובהריונות בסיכון גבוה.

מתודולוגיית המחקר:

על מנת לגבש המלצות אופרטיביות, בוצע מעקב פרוספקטיבי מקיף אחר עגלות צעירות ממועד ההפרדה ועד לשלבי הלקטציה הראשונה. בחירת אוכלוסיית המחקר בישראל מאפשרת ניתוח מדויק במיוחד: העדר הישראלי הוא הומוגני מבחינה גנטית (הולשטיין), ולכן הבדלים שנמצאו בין הרפתות מיוחסים ישירות להבדלים בממשק ובסביבה ולא לשונות גנטית של המאחסן.

פירוט מבנה המחקר:

אוכלוסיית המחקר: 132 עגלות הולשטיין משלושה משקים בישראל בעלי היסטוריה של נגיעות בנאוספורה.

לוח זמני הדיגום: איסוף דם באינטרוולים של 3 חודשים, החל מגיל 5-9 חודשים ועד לגיל 28 חודשים (6 סבבי דיגום).

שיטות המעבדה: השוואה בין מבחן IFAT (כמותי, "גולד סטנדרט") לבין תבחין cELISA (מסחרי, איכותני)

נקודת המוצא בגילאי 5-9 חודשים נבחרה בקפידה; בשלב זה נוגדי הקולוסטרום האימהיים כבר דעכו לחלוטין, מה שמבטיח כי כל תוצאה חיובית מייצגת את הסטטוס החיסוני האמיתי של העגלה (לרוב כתוצאה מהדבקה מולדת).

ניתוח נתונים: (1) השוואה בין שתי שיטות האבחון, בחינת המתאם וההסכמה ביניהן וחישוב ערכי הרגישות והסגוליות של בדיקת ה-cELISA לעומת ה-IFAT. (2) השוואה בין תוצאות הבדיקות בנקודות הזמן השונות, הערכת המתאם ביניהן והערכת הסיכון להיפוך סרולוגי בכל שלב.

תוצאות:

ניתוח השוואתי: שיטות אבחון (IFAT vs. ELISA) וערכי סף קליניים.

בחירת כלי האבחון היא החלטה ניהולית עם השלכות כלכליות ישירות. המחקר מצא כי בעוד ה-IFAT מאפשר קביעת כייל מדויק, ה-ELISA המסחרי יעיל מאוד לזיהוי פרות בסיכון קליני גבוה, אף שאינו מצוין כייל סף מוגדר. המחקר תיקף את הקשר בין חיוביות ב-ELISA לבין כייל של 1:800 ב-IFAT.

ביצועי בדיקת cELISA אל מול IFAT בנקודת הדיגום הראשונה:

ערך ניבוי שלילי (NPV)	ערך ניבוי חיובי (PPV)	סגוליות (Sp)	רגישות (Se)	ערך סף ב- IFAT
59.4%	96.9%	95.0%	70.8%	1:200 (נשאות כלשהי)
84.4%	95.4%	94.7%	86.1%	1:800 (סיכון קליני להפלה)

ניתוח אסטרטגי: כייל של 1:800 הוכח כערך הסף הקליני הקריטי. הנתונים מצביעים על כך ש-ELISA הוא כלי מצוין לזיהוי סיכון להפלה (PPV גבוה, אך ה-NPV הנמוך בכייל 1:200 (59.4%) מלמד כי תוצאת

ELISA שלילית אינה שוללת בוודאות נשאות בכיילים נמוכים. פרות עם כיילים "גבוליים" (1:200-1:400) נמצאות בסיכון קליני נמוך להפלה, אך עדיין בעלות פוטנציאל גבוה להעברה אנכית, מה שמחייב התייחסות בתוכניות ביעור ארוכות טווח.

תנודתיות בכייל הנוגדנים והשפעת הסטטוס הרבייתי:

הבנת התנודות ברמת הנוגדנים היא המפתח למניעת אבחון שגוי. המחקר חשף תובנות מכריעות לגבי אופי ההדבקה בעדר:

- **יציבות הסטטוס 67%:** מהעגלות שמרו על סטטוס קבוע.
- **סרו-רוורסיה (Seroreversion):** רוב ההדבקות החדשות שזוהו במהלך המחקר היו חולפות (transient). מתוך 21 עגלות שהפכו לחיוביות, 19 חזרו להיות שליליות (דעיכת נוגדנים) עד סוף המעקב. תובנה זו מחזקת את הקביעה כי הדבקה אופקית (סביבתית) בישראל לרוב אינה הופכת לנשאות כרונית, ולכן עיקר המאמץ חייב להתמקד בביעור ההעברה האנכית.
- **תיקוף קליני:** במהלך המחקר הפילו 6 עגלות; ל-4 מתוכן היה כייל קבוע הגבוה מ-1:800 (עבור שלוש מהן נמדדו כיילים של 1:12,800). נתון זה מבסס את הקשר המובהק בין כייל גבוה להפלות בשטח.
- **השפעת הלקטציה:** נמצאה ירידה דרמטית ומשמעותית ברמת הנוגדנים במהלך הלקטציה בהשוואה לתקופת ההריון. עובדה זו מעלה משמעותית את הסיכון לתוצאות "שליליות כוזבות" (False Negative) אם הדיגום מבוצע בפרות חולבות.
-

אסטרטגיית התזמון: איתור חלון ההזדמנויות האופטימלי לדיגום

התזמון הוא המרכיב הקריטי ביותר ביעילות הכלכלית של תוכנית השליטה. המחקר הראה כי בדיקה בודדת בגיל צעיר (5-9 חודשים) מציגה הסכמה של 94.5% עם הסטטוס הסרולוגי הכולל של הפרה לאורך חייה.

לעומת זאת, בדיקה בודדת בגיל מאוחר (דיגום 6, גיל 24-28 חודשים) הראתה ירידה חדה ברגישות (60.4% בלבד). הירידה בסרו-פרבלנס בשלב זה נובעת ישירות מהכניסה ללקטציה ומדעיכת נוגדנים טבעית. לפיכך, בדיקה לפני הזרעה ראשונה היא האסטרטגיה המנצחת: היא מאפשרת זיהוי נשאות כרוניות לפני הזרעה, מונעת השקעה בפרות בסיכון גבוה, ומספקת "תעודת זהות סרולוגית" אמינה לכל חייה של הפרה.

מדריך פעולה (Action Plan) לניהול העדר:

על בסיס הממצאים, להלן הנחיות אופרטיביות לניהול בריאות העדר וצמצום נזקי הנאוספורוזיס:

1. **תזמון הדיגום הקריטי:** יש לבצע בדיקה סרולוגית לכל עגלה בטווח הגילאים **5-9 חודשים**. זהו חלון הזמן האמין ביותר המנבא את הסטטוס העתידי בדיוק של מעל 94%.
 2. **בחירת כלי אבחון מושכלת:** ניתן להשתמש ב-**ELISA** ככלי סינון ראשוני לזיהוי סיכון קליני להפלות (כיל 1:800). עם זאת, לתוכניות ביעור המטרתן מניעת העברה אנכית, מומלץ להשתמש ב-**IFAT** כדי לזהות גם נשאות בכיל נמוך (1:200-1:400) שה- **ELISA** עלול להחמיץ.
 3. **ניהול היסטוריה סרולוגית (History Tracking):** חובה לנהל רישום סרולוגי של כל פרה. השוואת תוצאת הבדיקה של פרה מפילה לתוצאותיה כעגלה היא הדרך היחידה להבחין בין התפרצות כרונית לבין הדבקה חדשה, (De-novo) הדורשת בחינה של חשיפה סביבתית (צואת כלבים/מזון מזוהם).
 4. **ממשק רבייתי סלקטיבי:** בפרות חיוביות (במיוחד בכיל 1:800 ומעלה), יש להעדיף הזרעה בזרע בקר לבשר או שימוש כפונדקאיות להעברת עוברים, כדי לקטוע את שרשרת ההעברה האנכית.
 5. **מניעת הטעיות אבחוניות:** אין לבצע סקרים סרולוגיים במהלך הלקטציה עקב הירידה המשמעותית ברגישות הבדיקה בשלב זה. אם נדרש אבחון לפרה בוגרת, המועד המועדף הוא במהלך ההריון.
- יישום שיטתי של המלצות אלו יאפשר שליטה אפקטיבית בטפיל, צמצום שיעורי ההפלות בעדר, ושיפור ניכר בביצועים הכלכליים של הרפת.

רשימת ספרות

Alvarez-García, G., García-Culebras, A., Gutiérrez-Expósito, D., Navarro-Lozano, V., Pastor-Fernández, I. and Ortega-Mora, L.M., 2013. Serological diagnosis of bovine neosporosis: a comparative study of commercially available ELISA tests. *Vet Parasitol*, 198(1-2), pp.85-95.

Dijkstra, Th., Lam T.J.G.M., Bartels C.J.M., Eysker M., Wouda W., Natural postnatal *Neospora caninum* infection in cattle can persist and lead to endogenous transplacental infection, *Veterinary Parasitology*, Volume 152, Issues 3–4, 2008, Pages 220-225, ISSN 0304-4017, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.034>.

Dubey JP, Scharles G. 2011. Neosporosis in animals—the last five years. *Vet. Parasitol.* 180(1-2):90-108.

Fish, L., Mazuz, M., Molad, T., Savitsky, I., Shkap, V., 2007. Isolation of *Neospora caninum* from dairy zero grazing cattle in Israel. *Vet.Parasitol.* 149, 167-171.

S.K Hietala, M.C Thurmond, Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies, *International Journal for Parasitology*, Volume 29, Issue 10, 1999, Pages 1669-1676, ISSN 0020-7519, [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00102-2).

Mazuz ML, Fish L., Reznikov D., Wolkomirsky R., Leibovitz B., Savitzky I., Golenser J., Shkap V. 2014. Neosporosis in naturally infected pregnant dairy cattle. *Vet. Parasitol.* 205, 85-91.

Mazuz, L. M., Fish, L., Molad, T., Savitsky, I., Wolkomirsky, R., Leibovitz, B., Shkap, V. 2011. *Neospora caninum* as causative pathogen of abortion in cattle. *Isr. J. Vet. Med.* 66 (1), 14-18.

Mazuz, M.L., Leibovitz, B., Savitsky, I., Blinder, E., Yasur-Landau, D., Lavon, Y., Sharir, B. and Tirosch-Levy, S., 2021. The Effect of Vaccination with *Neospora caninum* Live-Frozen Tachyzoites on Abortion Rates of Naturally Infected Pregnant Cows. *Vaccines*, 9(4), p.401.

Nogareda C, López-Gatius F, Santolaria P, García-Ispuerto I, Bech-Sàbat G, Pabón M, Mezo M, Gonzalez-Warleta M, Castro-Hermida JA, Yániz J, Almeria S. 2007. Dynamics of anti-*Neospora caninum* antibodies during gestation in chronically infected dairy cows. *Vet. Parasitol.* 148(3-4):193-199.

Reichel MP, Alejandra Ayanegui-Alcérreca M, Gondim LF, Ellis JT. 2013. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. *Int J Parasitol.* 43: 133-142.

Reichel, M.P., Ellis, J.T., 2006. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet. Parasitol.* 142, 23–34.

Reichel, M.P., Ellis, J.T., 2009. *Neospora caninum*—how close are we to development of an efficacious vaccine that prevents abortion in cattle? *Int. J. Parasitol.* 39, 1173–1187.

Shkap, V., Reske, A., Pipano, E., Fish, L. and Baszler, T., 2002. Immunological relationship between *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti*. *Vet Parasitol*, 106(1), pp.35-43.