

איתור גורמי הפלה מזהמים וחקירת מעורבותם בירידה בוולדנות בבקר לבשר

מיכאל ברנשטיין, המכון הוטרינרי ע"ש קימרון, בית דגן

זלמן חנקין, מו"פ צפון

בנימין שריר, החקלאית

ניר בס, מו"פ צפון

ורדה שקאפ, מכון וטרינרי

אורלי פרידגוט, המכון הוטרינרי ע"ש קימרון

דורון בר, החקלאית

יוני 2007

תמוז תשס"ז

1. תקציר

דו"ח זה מסכם עבודה של 4 שנים מהם 3 במימון קרן המדען הראשי. שעור הגמילה האפקטיבית במשקים רבים בגליל העליון והגולן נמוך ביותר ונע כיום בד"כ בין 60% ל- 65%. תוצאות אלו הן אחת הסיבות המרכזיות לרווחיות הנמוכה של ענף הבקר לבר. יתכן ואחת הסיבות המרכזיות לשיעור נמוך של עגלים גמולים, היא אובדן הריונות. תכנית זו באה כדי לבחון את מעורבותם של גורמי הפלה זיהומיים בשני אופנים:

א. קשר עקיף בין גורם הדבקה לבין אירוע הפלה, המתבטא בכייל נוגדנים. התבצע מעקב אובדן הריונות בפרות ע"י בדיקות הריון חוזרות מספר פעמים לאורך תקופת ההריון שלוו בלקיחת דמים. לאורך כשנה וחצי במושב קשת, נדגמו 811 ראש בארבעה מועדים. דגימות הדם של 38 פרות שנמצאו ריקות לאחר בדיקת הריון שניה, 53 פרות שלא המליטו עד סוף עונת ההמלטות, 301 פרות שהמליטו באופן תקין נבדקו ל10 גורמי הפלה שונים. בשנה לאחר מכן בוצעה עבודה דומה בקיבוץ שניר בו נדגמו 2150 דמים מ850 ראשי בקר לאורך שנה. 97 מהפרות שבמעקב הפילו או שלא נרשמה להן המלטה. נסיובים מפרות אלו נבדקו ל11 גורמי הפלה אפשריים, במקביל לנסיוביהן של 30 פרות ביקורת. מהתוצאות עולה כי הפרות בשני המשקים נחשפו לכל המחלות שנבדקו. פרות שנבדקו בלפטוספירה הרדגו/ בתחילת ההריון היו בסיכון גבוה יותר להפלה בסוף ההריון.

ב. (2) נטרול גורם מוגדר בעזרת חיסון. 5 משקים שנמצאו אנדמיים ללפטוספירה חוסנו בתרכיב מחצית הפרות. לא נמצא הבדל מובהק בין קבוצות הטיפול בהתעברות אך אובדן ההריונות היה נמוך בקבוצה המחוסנת בשני מקרים וגבוה יותר באופן מובהק במשק אחד. לעומת זאת נצפה הבדל משמעותי לטובת הפרות המחוסנות בשרירות הולדות עד חודש ימים. חישוב כלכלי לפי תנאי המשקים שנבדקו הראה שבעדר של 600 ראש בו אחוז אובדן הולדות עד גיל חודש הוא כ-10%, חיסון העדר עשוי לתת רווח משוער של 26250 ₪. הוספת עלות ההפלות מל. הרדגיו מעלה את הסכום ל39000 ₪ תוספת רווח שולי.

עבודה דומה בוצעה ב3 משקים בתרכיב IBR/BVD מומת. לא נמצא הבדל מובהק בין הקבוצות באף פרמטר שנבדק.

לסיכום אנו ממליצים על חיסון לפטוספירה הרדגיו בעדרים הנמצאים באיזורים בו נמצא גורם המחלה.

2. מבוא ותיאור הבעיה:

שעור הגמילה האפקטיבית במשקים רבים בגליל העליון והגולן נמוך ביותר ונע כיום בד"כ בין 60% ל- 65%. תוצאות אלו הן אחת הסיבות המרכזיות לרווחיות הנמוכה של ענף הבקר לבשר. ריבוי אובדן הריונות או הפלות בפרות אשר נמצא במגמת עליה בשנים האחרונות נחשב כגורם עיקרי לשיעור נמוך זה של גמילה. מסקרים שבוצעו במשקים, נמצא כי אחוז הפרות אשר לא נרשמה להן המלטה, לאחר שנמצאו הרות בבדיקת ההריון, הוא בד"כ בתחום של 5% - 10% ולעיתים אף מגיע ל-15%. הסיבה לאובדן הוולדות אינה ידועה וכך גם באיזה שלב של ההריון היה איבוד הוולד. אך גם ללא ידיעת הסיבה, יש הסכמה רחבה לגבי הפגיעה הכלכלית הקשה של ההפלות ברווחיות עדר הבשר.

מרבית גורמי הסיכון לאובדן עוברים בתקופת ההריון קשורים לנושאי ממשק, תזונה (כולל רעלים), גורמים מזהמים או גנטיים. הנושאים הממשקיים הכוללים בעיות תזונתיות, הנם בטיפול קבוע ושוטף של הרופאים הוטרינרים המטפלים ומדריכי הבקר האזוריים. בניתוחי נתונים שנעשו במספר עדרים, לא נמצא קשר בין הירידה בוולדות לשימוש בפרים ספציפיים. על כן תכנית זו מכוונת לאיתור וזיהוי גורמים מזהמים העלולים להיות מעורבים בפגיעה בהריונות.

במישור הראשון היה צורך בזיהוי וקביעת הגורמים להפלות בשטח.

בדיקות מקדימות שבוצעו בפרים ופרות ב-17 עדרים בצפון בשנת 2002 (סקר ראשוני להערכת שיעור ההפלות והגורמים הפתוגניים הנמצאים בעדרי הבקר לבשר- הדו"ח הוגש למו"פ צפון ומועצת החלב) הצביעו על נוכחותם של מספר גורמים פתוגניים. בבדיקות דם של פרות שהפילו ופרים שנבדקו נמצא עדות למחלות הבאות:

IBR (infectious bovine rhinotracheitis), BVD (bovine viral diarrhoea), ניאוספורה, לפטוספירה הרדג'ו, לפטוספירה קניקולה, כלמידיה, BHV4 (bovine herpes virus 4) וכחול הלשון. לא נמצאה בשטיפות עורלה עדות לנוכחות של קמפילובקטר פטוס ונרליס, וטריכומונס פטוס. עדות סרולוגית נמצאה לקדחת קיו במשק אחד בלבד.

התכנית המקורית הורחבה בשני תחומים בעקבות ממצאים ראשוניים נתקבלו בשלבים המוקדמים של העבודה. היות והדבקה תוך רחמית של העובר עלול להביא לפגיעה רקמתית ולהמלטה של ולד חלש ופחות עמיד, הוחלט לעקוב אחר הוולדות עד לחודש אחרי ההמלטה. דבר זה בא לידי ביטוי גם בעדרים המחוסנים וגם בעדרי המעקב.

הנושא של BVD בבקר קודם בשנים האחרונות בעולם ופירסום של סדרת מאמרים 2004 (12) העלה מידע חדש בהקשר לטיפול במחלה והביא אותנו להתאים את התכנית להתחשב בשינוי בתפיסה. עבודות מאירופה וארצות הברית מדגישות את חשיבות של זיהוי וטיפול בבע"ח נשאים המפיצים את המחלה ולא רק חיסון עדרים. מודל מתמטי של דינמיקת התפתחות המחלה במשקי פיטום בארה"ב סיכמה נתונים של אלפי ראשי בקר וקבעה רמה של 1.2% נשאים בעדר (13). עבודה אחרת סיכמה נתונים של 3157 ראשים ב-66 עדרים ומצא רמת נשאות של 1.7% (14). גודל האוכלוסיה בעדר שיש לחסן כדי למנוע את התופעות של BVD נע בין 97% בעדרים עם בע"ח נשאים לבין 57% בעדרים בהם אין נשאים (13). על כן הוחלט שלפני שמבצעים ניסוי חיסון בעדרים בארץ, ידגמו כל הבקר בשלושה עדרים כדי לקבוע את רמת הנשאות ורמת החיסון הנדרש. העלויות של בדיקה זו הן כבדות אך אנו משתדלים לספוגן במסגרת התקציב המוקצה.

3. תאור הפעלת המחקר:

התכנית הנוכחית באה כדי לקבוע את מעורבותם של גורמים אלו בתסמונת של אובדן ההריונות. הבעיה העיקרית נובעת מכך שלרוב לא ידוע בודאות זמן ההפלה, ולא מוצאים בשטח, בזמן אמיתי, נפלים או שליות מהם ניתן לקבוע בודאות מהו הגורם. על מנת להתגבר על בעיה זו הוצע לפעול בשני אופנים והם: א. מציאת קשר עקיף בין הגורם לבין אירוע ההפלה כדוגמת כייל נוגדנים. ב. נטרול גורם נבחר בעזרת טיפול, חיסון או ממשק.

א. מציאת קשר עקיף בין הגורם לבין אירוע ההפלה במעקב סרולוגי.

מעקב סרולוגי לאורך כל תקופת ההריון עשוי לתת אינדיקציה לחשיפה לגורם ההפלה לאור התפתחות תגובה סרולוגית ספציפית. מקובל לחשוב כי הדינמיקה של חשיפה והדבקה במחלה, התפתחות כייל נוגדנים ספציפיים ואירוע הפלה שונה מגורם לגורם. ישנם מצבים שבזמן הפלה המתרחשת חודשים לאחר החשיפה הראשונית לפתוגן, אין כבר כייל נוגדנים בדם. על כן יש צורך במעקב לאורך כל תקופת ההריון ובדיקת סדרה של דמים אשר נלקחו מראשית תקופה ההרבעות ועד למועד ההפלה או המלטה. השוואה בין אוכלוסיית פרות שאיבדה ולדות בזמן הריון לזו שהמליטה באופן תקין, אמורה להראות הבדל מובהק בין שתי הקבוצות. ניתן לכלול בין הגורמים הנבדקים את ה- IBR, BVD, ניאוספורה, לפטוספירה הרדג'ו, לפטוספירה קניקולה, כלמידיה, כחול הלשון ו-BHV 4.

ב. נטרול הגורם בעזרת חיסון. בבדיקות סרולוגיות של פרות שהפילו בעדרי הבקר לבשר בצפון,

נמצאה שכיחות גבוהה של הגבות חיוביות ללפטוספירה הרדג'ו, ו-IBR.

i. לפטוספירה הרדג'ו: חיידקים אלו מעורבים בהפלות בעיקר בשליש האחרון להריון, להיוולדות של שגר חלש ולתמותה פרי-נטלית. קיים תרכיב מסחרי המונע את הדבקת הפרה, איכלוס הכליות ומעבר לעובר של חיידק זה.

ii. IBR: הגורם נמצא בבקר באזור הצפון וידוע כנגיף השורד בגוף באופן סמוי ומתפרץ בתקופות של עקה. התופעות הקליניות יכולות להתבטא בתסמונת קשה של מערכת הנשימה או בפגיעה במערכת המין וגרימת הפלות.

iii. BVD: הנגיף הינו נפוץ ברוב העדרים בארץ ונשאר אנדמי הודות למספר קטן של נשאים בתוך העדר. משמעותו בהפלות בבקר לבשר בארץ אינה ברורה כמו גם יעילותם של החיסונים המומתים ל-BVD הנמצאים היום בשימוש. כמצוין מעלה, יעילות החיסונים

במניעת הפלות מ-BVD תלויה במספר בע"ח הנשאים בעדר.

על כן, חיסון מבוקר של קבוצה אחת בכל עדר, והשוואת רמת ההפלות בין הקבוצות בתום תקופת ההמלטות עשויים לעזור בקביעת הכדאיות הכלכלית של חיסונים אלה בעתיד.

4. מטרות המחקר

א. להראות קשר מובהק בין אובדן הריונות בבקר לבשר לבין גורם מחלה אחד או יותר.

ב. להמליץ על טיפול, חיסון או שינוי ממשק אשר עשויים לשפר את הולדנות.

ג. לבחון את הכדאיות הכלכלית למשק בביצוע טיפולים, חיסונים או שינויי ממשק כאלו.

5. שיטות וחומרים

- א. סרולוגיה ללפטוספירה
הבדיקה תתבצע בשיטת MAT (microscopic agglutination test) כנגד אנטיגנים מגזעים רפרנטים של ל. הרדגיו-בוביס , ל. קניקולה ול. טראסוב ע"פ שיטות OIE (21). כייל של 1:200 יחשב כחיובי.
- ב. סרולוגיה לכלמידיה
הבדיקה תתבצע בשיטת קשירת המשלים לפי שיטות מקובלות (16) בשימוש באנטיגן ממקור תרבות רקמה (Virion, Switzerland).
- ג. סרולוגיה לקוקסיאלה בורנטי (קדחת Q)
הבדיקה תתבצע בשיטת קשירת המשלים לפי שיטות מקובלות (16) בשימוש באנטיגן אשר גודל בביצים מעוברות (Virion, Switzerland).
- ד. סרולוגיה לניאוספורה קנינום
הבדיקה תתבצע בשיטת האימונופלוואורסנציה הבלתי ישירה בשימוש אנטיגן לניאוספורה ממקור בקר (VMRD, USA) לפי פרוטוקול היצרן. נוגדן הזיהוי הוא אנטי- בקר IgG- whole molecule- FITC (סיגמא, ישראל).
- ה. סרולוגיה ל BVD
שיטת הבדיקה לנוגדני BVD היא ELISA בערכה מסחרית (Idexx, USA) ע"פ הוראות יצרן. הקריאה תעשה בעזרת Tecan ELISA reader באורך גל של 450 ננומטר.
- ו. סרולוגיה ל IBR
שיטת הבדיקה לנוגדני IBR היא ELISA בערכה מסחרית (Idexx, USA) ע"פ הוראות יצרן. הקריאה תעשה בעזרת Tecan ELISA reader באורך גל של 450 ננומטר.
- ז. סרולוגיה ל-BHV4
שיטת הבדיקה לנוגדני BHV4 היא ELISA בערכה מסחרית (Idexx, USA) ע"פ הוראות יצרן. הקריאה תעשה בעזרת Tecan ELISA reader באורך גל של 450 ננומטר.

6. תכנית העבודה :

6.1 מציאת קשר עקיף בין הגורם לבין אירוע ההפלה כדוגמת כייל נוגדנים.

ישנם גורמים הפוגעים בעובר מספר חודשים לפני אירוע ההפלה. ניתן לקשור אותם סרולוגית להפלות רק אם מתבצע מעקב סרולוגי לאורך תקופת ההריון.

6.1.1. בדיקות סרולוגיות:

- א. בתחילת תקופת ההרבעות
- ב. בתקופת בדיקת ההריון הראשונה
- ג. בתקופת בדיקת ההריון השניה
- ד. בתום ההמלטות

בדיקות סרולוגיות לפנל גורמי ההפלה בוצעו בכל הדגימות שנאספו מכל הפרות כדלקמן.

- א. פרות ועגלות שנצפו מפילות
- ב. פרות ועגלות שנמצאו ריקות לאחר בדיקת הריון חיובית
- ג. פרות ועגלות אשר לא המליטו לאחר בדיקת הריון חיובית.
- ד. פרות שהן אימהות לעגלים אשר לא שרדו 30 יום מיום ההמלטה
- ה. קבוצת "הקש" : כ-30 ראש אשר המליטו באופן תקין וולדותיהם שרדו מעל 30 יום.

שיטה זו אמורה לתת אינדיקציה לחשיפה לגורם ההפלה והעמדת תגובה חיסונית ספציפית. השוואה בין אוכלוסיית פרות שאיבדה ולדות בזמן הריון לזו שהמליטה באופן תקין, עשויה להראות הבדל מובהק בין שתי הקבוצות. ניתוח סטטיסטי של תוצאות בדיקות אלו אמור לקבוע האם קיים קשר מובהק בין המצאות נוגדנים לאחד או יותר מגורמים אלה לבין אובדן הולדות .

ע"פ המלצת ועדת ההיגוי, העבודה התחילה במשק אחד ועם למידת הקשיים הביצועיים והארגוניים הורחבה לעדרים נוספים. המעקב התחיל עם הכסת הפרים לעדר בחודש בנובמבר והסתיים בסוף עונת ההמלטות לאחר כ-18 חודשים בהתאם לתאריך הוצאת הפרים. בשנות 2003-2005 בוצעה עבודת השדה ב-4 עדרים במושב קשת וב-2004-2006 נעשתה העבודה ב-3 עדרים בקיבוץ שניר. ריבוי מעבר בקר מעדר לעדר בתוך המשק במשך תקופת הניסוי מנע ניתוח הנתונים בכל עדר בנפרד ולכן מוצגים נתוני הפרות ללא התייחסות לעדר.

6.2 בדיקת הקשר בין נוכחות גורמים ספציפיים לבין הפלות וכדאיות כלכלית בחיסון.

6.2.1. לפטוספירה בורגפטרסניי סרובר הרדג'ו:

נבחרו 5 משקים קיבוציים או מושביים באזור הצפון. כל משק כלל 3 עד 7 עדרים שונים. נבחרו שני משקים (6 עדרים) בהם מחלת הלפטוספירה חדרה לאחרונה והמשקים האחרים הם בעלי עדרים בהם המחלה הינה אנדמית במשך לפחות 3 שנים. בכל עדר חוסנו בתרכיב לפטוספירה בורגפטרסניי הרדג'ו כל הבקר בעל מספר אוזן או כוויה זוגי.. חיסון דחף בוצע לאחר 4 עד 6 שבועות ע"פ הוראות היצרן. המספרים האי זוגיים שמשו כביקורת. היות והמספרים ניתנים ע"י המגדל באקראי במועד כניסת הנקבות לעדר, יש להניח שקיימת

התאמה בין הפרות בקבוצה הזוגית לאלו באי-זוגית בפרמטרים של גיל, מספר המלטות, רקע גידול, ממשק, חשיפה למחלות וכו'. פרות אשר לא התעברו בעונה הראשונה עברו לעונה השנייה. מתוך הפרות שהיו שליליות בדיגום הקודם, נדגמו 10 דמים מפרות אשר חוסנו כדי להראות שינוי כייל בעקבות חיסון. לכל 10 הפרות נצפה כייל נוגדנים ללפטוספירה הרדג'ו הנע בין 1:200 ל-1:400.

עגלים שנולדו בריאים ונמכרו מיד הופחתו מהסך הכול. כל סיבה אחרת לאי הישרדות נכללה בסיכום.

כל פרה או עגלה המשתתפת בניסוי נרשמה בתוכנת "נועה לבר" (התאחדות מגדלי הבקר). התבצע ניתוח נתונים הכולל השוואת מספר ההמלטות להריונות בקבוצה המחוסנת מול הלא מחוסנת. בנוסף משווה התמותה הפרי-נטלית (עד לכחודש לאחר ההמלטה) בשתי הקבוצות. מועד חיסון העדרים היינו לפני הכנסת הפרים בהתאם למועדי עונות ההרבעה א' (סתיו) או ב' (אביב).

בכל עדר נרשם:

– מספר הפרות ההתחלתי

– מספר ההרות לאחר בדיקת הריון

– מספר ההמלטות

– מספר העגלים שלא שרדו עד חודש ימים לאחר ההמלטה.

עיבוד נתונים:

ניתוח הנתונים כלל:

השוואת רמת ההתעברות במחוסנות מול הלא מחוסנות.

מספר ההמלטות מתוך כלל ההריונות

בדיקת התמותה הפרי-נטלית (עד לחודש לאחר ההמלטה) בשתי הקבוצות.

נבחנה המשמעות הסטטיסטית של ההבדלים בתוצאות בין הקבוצות בכל משק, סה"כ לכל משק, וסה"כ כללי הכולל את כל הבקר אשר השתתף בניסוי.

הנתונים נבדקו למשמעות סטטיסטית במבחן Chi-square או במבחן Fisher exact לפי העניין.

IBR/BVD .6.2.2

במסגרת התכנית המקורית הוצעה עבודה זהה בתרכיב IBR/BVD. מספר גורמים הביאו אותנו לשנות את מהלך העבודה.

א. חשוב לדעת מה הוא אחוז הנשאים בעדר כדי לתת משמעות לממצאים.

ב. חשוב לדעת מהי הדינמיקה של מחלות אחרות בעדר כדי לזהות אפשרות של יחסי גומלין בין ה-IBR, BVD ומחלות אחרות כגון ניאוספורה.

ג. התרכיב המיובא כיום ארצה הוא ארבע ערכי ומכיל BRSV ו-PI3 בנוסף ל-IBR ו-BVD. לא ניתן לערוך ניסוי בתרכיב זה כדי להסיק מסקנות ספציפיות לגבי IBR ו-BVD אך ניתן לבחון את יעילותו במניעת הפלות בעדרים אנדמיים ל-IBR ו-BVD.

היות ועל פי פרסומים בספרות המקצועית (12,13) רמת החיסון הנדרש בעדר תלוי במספר הנשאים, בוצע סקר נשאים ב-673 ראש ב-3 עדרים שונים.

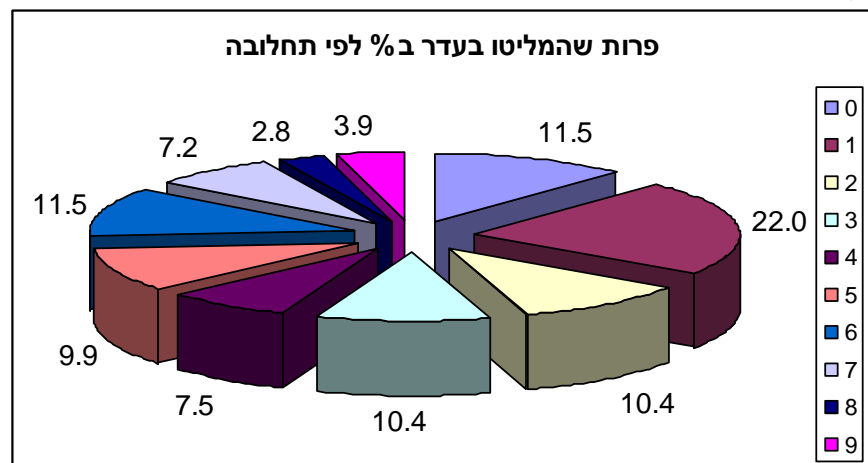
7. דו"ח התכנית

7.1. מציאת קשר עקיף בין הגורם לבין אירוע ההפלה כדוגמת כייל נוגדנים

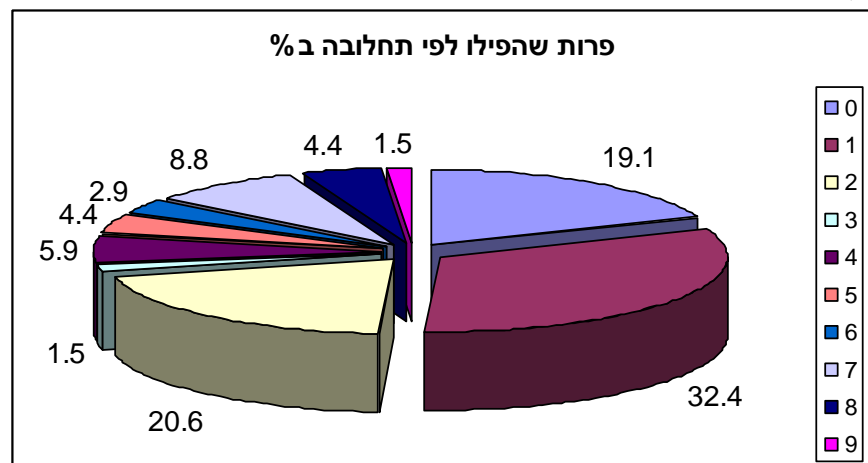
7.1.1. מושב קשת

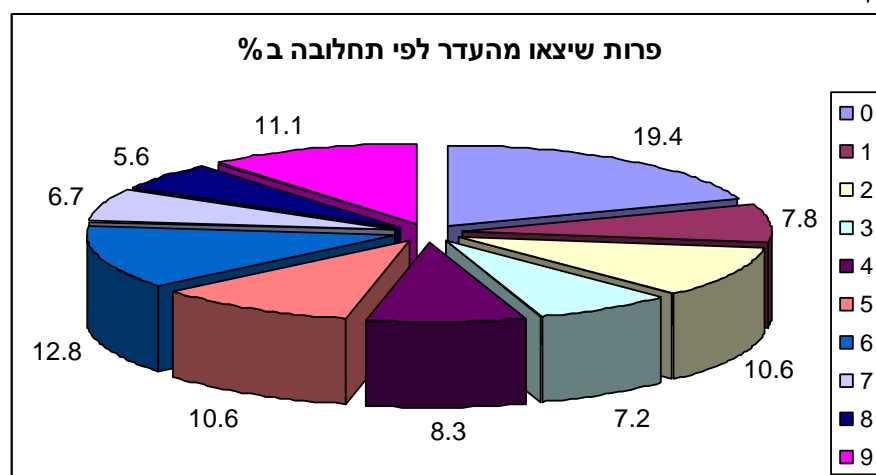
במשך התכנית הוקזו 2724 דמים מ-4 עדרים שונים במרווחים של כ-3 חודשים. הדמים סורכזו, הופרדו והוקפאו לאחר רישום בגיליון אלקטרוני – אקסל. הניסוי התחיל בדיגום של 939 ראש בנובמבר 2003 במועד הכנסת הפרים. הפרים שהו בעדר עד חודש אפריל כך שבבדיקת הריון לאחר כ-3 חודשים 811 פרות היו הרות. במשך השנה בוצעו סה"כ 3 בדיקות הריון במרווחים של כ-3 חודשים (ינואר, אפריל-מאי, ויוני-יולי) ונרשמו 32 ראש אשר נמצאו שליליות לאחר בדיקת הריון חיובי קודם לכן. עד סוף עונת ההמלטות נרשמו עוד 38 ראש שלא המליטו. בחירת קבוצת ההקש: בגרף מס 1 ניתן לראות פילוג של העדר ע"פ תחלובה (מספר המלטות). ניתוח דומה לקבוצת המפילות מראה שמרבית המפילות השתייכו ל-3 התחלובות הראשונות (גרף 2). כדי לבחון אם תמונה זו נובעת מיציאת פרות באופן לא שווה, גרף 3 מראה את חלוקת הפרות שיצאו בתקופת הניסוי מהעדר. לכן לקבוצת ההקש נבחרו פרות שהמליטו באופן תקין ועגליהן שרדו מעל חודש ימים, באותם היחסים של קבוצת המפילות.

גרף מספר 1



גרף מספר 2





215 הדגימות מקבוצת המפילות בנוסף 95 דגימות מ-30 ראש שהמליטו באופן תקין נבדקו ל-11 מחלות שונות בהתאם לפרוטוקול.

פירוט התוצאות הסרולוגיות חורג ממסגרת סיכום זה. גם במשק זה כבסקר הקודם שערכנו, הפרות נחשפו לכל גורמי ההפלות שנבדקו כאשר מרבית הפרות הראו חייל חיובי ל BVD IBR ו 4BHV, כשליש מהפרות לנאוספורה ולפטוספירה הרדגיו ואחוזים בודדים של הפרות לשאר הגורמים. 15 פרות תמימות (ללא נוגדנים) ללפטוספירה בזמן 0 או בדיקת ההריון הראשונה שהראו חייל חיובי בבדיקת ההריון השניה נטו להיות ($P < 0.1$) בסיכון גבוה יותר (יחס סיכונים 3.9) להפלה בסוף ההריון (בין בדיקת ההריון השניה למועד ההמלטה).

7.1.2. קיבוץ שניר

במשך התכנית הוקזו 1983 דמים מ-3 עדרים בדומה לביצוע במושב קשת שנה לפניכן. בתחילה, בנובמבר 2004, נדגמו 850 ראשים בשלושה עדרים בצמוד לכניסת הפרים. בבדיקת הריון הראשון לאחר כ-4 חודשים 820 פרות נרשמו כהרות. נרשמו סה"כ 640 המלטות. 87 ראשים נרשמו כ"יציאה מהעדר" בתקופה זו. 30 פרות נמצאו שליליות בבדיקת ההריון השניה לאחר שהיו חיוביות בבדיקה הראשונה ו-67 פרות לא המליטו עד סוף תקופת ההמלטות ביוני 2006. 204 דגימות מפרות אלו נבדקו ל-9 מחלות שונות בנוסף לנשאות ל-BVD (בדיקת אנטיגן). תוצאות בדיקות אלו הושוואו לאלו של 87 דגימות מ-40 פרות הקש אשר נבחרו בדומה לקבוצת ההקש בקשת. המרת תוצאות הכיילים הסרולוגיים ו-OD בוצעה בדומה לקשת.

מהתוצאות עולה כי הפרות בשניר נחשפו לכל המחלות שנבדקו. פרות תמימות (ללא נוגדנים) ללפטוספירה בתחילת הניסוי שהראו חייל חיובי בבדיקת ההריון השניה נטו להיות ($P < 0.1$) בסיכון גבוה יותר (יחס סיכונים 3.5) להפלה בסוף ההריון.

שילוב שתי התצפיות במבחן stratified Mantel Henzel הראה השפעה מובהקת (יחס סיכונים של 3.7, $P < 0.05$) של הדבקה בלפטוספירה הרדגיו על הסיכוי להפלה.

7.2. בדיקת הקשר בין נוכחות גורמים ספציפיים לבין הפלות, שרידות השגר והכדאיות הכלכלית

בחיסון.

7.2.1. לפטוספירוזיס

חיסון לפטוספירה בורגפטרסניי סרובר הרדגיו :

מכל המדגמים אשר הודגמו לפני מתן התרכיב בחמשת המשקים נמצא אחוז הגבה הנע בין 8% ועד 17% ללפטוספירה הרדגיו בבדיקת הMAT.

7.2.1.1. חמדיה

בעונה לפני תחילת הניסוי אירעה התפרצות של לפטוספירוזיס בעקבות הדבקה חדשה. השתתפו 641 ראש ב6 קבוצות (כולל עגלות) מתוכם חוסנו 315 בתרכיב Spirovac (Pfizer). נדגמו 54 דגימות דם כדי לקבוע רמת נגיעות של העדר, מתוכם 17 הראו חיובי ללפטוספירה הרדגיו (31.8%).

- א. כל פרה מחוסנת נרשמה כמחוסנת בתוכנת "נעה" (התאחדות מגדלי בקר) של העדר.
- ב. מתוך הפרות שהיו שליליות בדיגום הקודם, נדגמו 10 דמים מפרות אשר חוסנו כדי להראות שינוי כייל בעקבות חיסון. לכל 10 הפרות נצפה כייל נוגדנים ללפטוספירה הרדגיו הנע בין 1:200 ל1:400.

התוצאות נותחו בתוכנת Statistix במבחן chi-square או Fisher exact (כשהמספרים היו קטנים).
CI (confidence interval)= 0.95

טבלה 3: סיכום תוצאות משוכלל של כל הקבוצות ניסוי

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	315	248	67	170	78	15
לא מחוסנות	326	262	64	159	103	24
סה"כ	641	510	131	329	181	39

- א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות.
- ב. השפעת החיסון על מניעת הפלות (פרות הרות שלא המליטו) : $p=0.0781$ (נטייה)
- ג. השפעת החיסון על מניעת תמותת עגלים $p=0.01$

7.2.1.2. להבות הבשן

חוסנו 278 מתוך 547 ראש ב3 עדרים בתרכיב לפטוספירה הרדגיו Leptavoid H (Mallinckrodt). בנוסף חוסנו 44 עגלות להזרעה (רק העגלות ההרות בתאריך מסוים עברו לקובצת הניסוי). נדגמו 64 דמים לבדיקה ללפטוספירה כדי להראות נוכחות הגורם בכל אחד מהעדרים. 7 מתוך 64 דגימות הראו חייל ללפטוספירה הרדגיו (10.9%).

טבלה 4: סיכום תוצאות משוכלל של כל הקבוצות ניסוי

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
סה"כ	278	286	20	254	32	13
לא מחוסנות	291	294	26	246	48	17

א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות.

ב. השפעת החיסון על מניעת הפלות (פרות הרות שלא המליטו): $p=0.0728$

ג. השפעת החיסון על מניעת תמותת עגלים $p = 0.4269$ (לא מובהק)

טבלה 5: סיכום הנתונים של עונות המלטה א'

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	136	129	7	112	17	7
לא מחוסנות	142	136	6	114	22	9
סה"כ	278	246	32	226	39	16

א. לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקבוצות בפרמטרים שנבדקו.

טבלה 6: עגלות עונה א'

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	28	28	0	27	1	3
לא מחוסנות	29	29	0	28	1	5
סה"כ	57	57	0	55	2	8

א. לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקבוצות בפרמטרים שנבדקו.

טבלה 7: פרות מועד ב'

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	142	129	13	115	14	3
לא מחוסנות	149	129	20	104	25	3
סה"כ	291	258	33	219	39	6

א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות: $p=0.167912$

ב. השפעת החיסון במניעת הפלות (פרות הרות שלא המליטו): $p= 0.040624$

ג. לא נצפתה השפעה משמעותית על תמותת עגלים: $p=0.611044$

7.2.1.3. רמת מגשימים

למרות מאמצים רבים, הבטחות רבות ממרכז ענף הבקר ובקשות חוזרות ונשנות במשך תקופה ארוכה, לא ניתן היה לקבל נתונים ממשק זה עד למועד הגשת הדו"ח. אני מקווה שניתן יהיה לקבל את הנתונים בעתיד.

7.2.1.4. גלעד

טבלה 8: שכלול תוצאות של כל הקבוצות

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	82	26	74	8	6	
לא מחוסנות	82	34	82	0	19	
סה"כ	164	60	156	8	25	

א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות.

ב. השפעה על הפלות (פרות הרות שלא המליטו): $p=0.0065$ אד לרעת החיסון

ג. השפעת החיסון על מניעת תמותת עגלים $p=0.019$

כדי לנסות להבין את תופעה של ריבוי ההפלות דווקא במחוסנות, הסתכלנו על הפילוג לעונות/קבוצות.

טבלה 9: סיכום המלטות מועד ב'.

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	64	44	20	40	4	3
לא מחוסנות	60	41	19	41	0	10
סה"כ	124	85	39	81	4	13

טבלה 10: העברה מעונה א' – אלו פרות אשר לא המליטו בעונה א' ונכנסו כהרות לקבוצה של מועד ב'.

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	20	11	16	16	4	1
לא מחוסנות	19	10	19	19	0	5
סה"כ	39	21	35	35	4	6

טבלה 11: עגלות

קבוצת העגלות ההרות של מועד יב: (רק עגלות הרות השתתפו בניסוי)

	סה"כ	הרות	לא הרות	המליטו	לא המליטו	עגלים מתים
מחוסנות	18	0	18	18	0	2
לא מחוסנות	22	0	22	22	0	4
סה"כ	40	0	40	40	0	6

7.2.1.5. קינוץ מורן

סה"כ השתתפו בניסוי 438 ראש ב4 עדרים. רמת הנגיעות בעדר ע"פ מדגם סרולוגי לפני תחילת הניסוי מ71 ראש היה 9.8% כולל פר אחד חיובי. המשק הראה הגבות לל. הרדגיו לראשונה בשנה לפני הניסוי.

טבלה 12: עדר מורן

עגלים שלא שרדו חודש	לא המליטו	המליטו	בדיקת הריון +	סה"כ התחילו	
0	2	11	13	14	מחוסנות - מבכירות מועד א'
3	6	84	90	95	מחוסנות - פרות מועד א'
1	0	5	5	10	מחוסנות- מבכירות מועד ב'
1	3	79	82	100	מחוסנות- פרות מועד ב'
סה"כ מחוסנות					
5	11	179	190	219	

עגלים מתים	לא המליטו	המליטו	לא הרות	הרות	סה"כ ביום 0	
0	1	6	7	10	14	לא מחוסנות - מבכירות מועד ב'
2	8	80	88	95	1413	לא מחוסנות - פרות מועד א'
1	3	9	12	14	1429	לא מחוסנות - מבכירות מועד א'
2	1	77	78	100	2842	לא מחוסנות - פרות מועד ב'
סה"כ לא מחוסנות						
5	13	172	185	219		

א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות: $p=0.8496$

ב. לא נצפה השפעה מהחיסון במניעת הפלות (פרות הרות שלא המליטו): $p=0.6244$

ג. לא נצפתה השפעה משמעותית על תמותת עגלים: $p=0.9504$

עדרי מורן הם היחידים שלא נצפה כל השפעה של התרכיב באף תחום. יש לבחון הלאה נתוני ממשק, ורמות נגיעות כדי לנסות להבין את ההתנהגות החריגה.

טבלה 13: סיכום תוצאות משוקלל של כל קבוצות הניסוי (המספר בסוגריים הוא החישוב באחוזים)

עגלים מתים	לא המליטו	המליטו	לא הרות	הרות	סה"כ ביום 0	
48 (4.8)	156 (13.7)	984(86.3)	262(18.5)	1140(79)	1413	מחוסנות
83 (8.6)	89 (16.4)	962(83.5)	68(18.6)	1151(80.5)	1429	לא מחוסנות
131	345	1946	530	2291	2842	סה"כ

- א. לא נצפתה השפעה משמעותית על פוריות ($p=0.8924$)
- ב. השפעת החיסון על מניעת הפלות (פרות הרות שלא המליטו) : $p=0.671$ (נטיה)
- ג. השפעת החיסון על מניעת תמותת עגלים $p= 0.0020$ (מובהק)
- ד. בנייתוח הנתונים ללא מורן (עדר שלא נצפו הבדלים בין הקבוצות ועל כן יתכן וחיידק זה אינו מעורב בתחלואה בעדר) השפעת החיסון על מניעת תמותת עגלים $p= 0.0006$ (מובהק)

טבלה 14: סיכום תוצאות משוקלל של כל קבוצות הניסוי ללא קיבוץ מורן (המספר בסוגריים הוא החישוב באחוזים).

עגלים מתים	לא המליטו	המליטו	לא הרות	הרות	סה"כ ביום 0	
43 (5.3)	(15.3) 145	(84.7) 805	(19.5) 233	(79.6) 950	1194	מחוסנות
78 (9.9)	(18.2) 176	(81.8) 790	(19.3) 234	(79.8) 966	1210	לא מחוסנות
121	321	1595	467	2160	2404	סה"כ

7.2.2. חישוב כלכלי בבקר לבשר (מבוסס על טבלה 14) :

7.2.2.1. עלות הפלה או אובדן עגל:

- מחיר עגל בגמילה = 2700 ₪
- מחיר עגלה בגמילה = 2300 ₪
- ממוצע = 2500 ₪
- כ-10% תמותה (פחות) = 250 ₪
- סה"כ שווי עגל = 2250 ₪
- עלות החזקת פרה לשנה = 1000 ₪
- הפסד כל הפלה = 1250 ₪

7.2.2.2. כדאיות חיסון כל האמהות בעדר של 600 ראש (400 בוגרות ו-200 עגלות)

- 200 עגלות X 2 חיסונים X 20 ₪ = 8000 ₪
- 400 אמהות X 1 " = 4000 ₪
- סה"כ = 12000 ₪

- שווה ערך לכ- 10 הפלות/ אובדן ולדות

7.2.2.3. סיכום כלכלי

במידה ועלות הפלה או אובדן עגל בגיל פחות מחודש משוערכת כ 1250 ₪, בעדר של 600 ראש בו אחוז אובדן הולדות עד גיל חודש הוא כ-10%, ההפסד הכלכלי הוא $1250 \times 60 = 75000$ ₪.

אם ניתן להוריד מספר זה ל-5.5% באמצעות החיסון, יהיה ההפסד : $600 \times 5.5\% = 33$ עגלים X 1250 ₪ = 41250 ₪.

מנתוני המעקב בקשת ובשנר, היה ניתן להראות קשר ישיר בין היפוך סרולוגי לל. הרדגיו לבין הפלה ב-1.7% מהבקר בניסוי. מספר זה שווה ערך ל-10.2 הפלות בעדר של 600 ראש, וע"פ אותו תחשיב = 12750 ₪.

שני הסכומים מסתכמים ב- $12750 + 41250 = 54000$ ₪.

עלות התרכיב הוא $21 \times 450 = 9000$ ₪ (בוגרות – מנה אחת) = 9000 ₪, וכ-150 עגלות $40 \times 40 = 6000$ ₪. סה"כ 15000 ₪. לכן הרווח המשוער: $54000 - 15000 = 39000$ ₪ לעונה.

חשוב לציין שהחשבון מתייחס למקבץ התוצאות ואינו בהכרח נכון לגבי הקבוצות הבודדות או לעדרים אחרים בארץ.

למרות שעבודה זו בוצעה בבקר לבשר, ממצאיה רלוונטיים גם ברפתות בהן ל. הרדגיו גורם נזקים כלכליים כבדים. ראשית, פרה שנדבקת בחיידק זה עלולה לרדת בתנובה בכ-60% למשך 4 עד 5 ימים. כלומר פרה המניבה 35 ליטר ליום עלולה להפסיד כ-80 ליטר חלב. על פי נתוני משקים אשר נדבקו בשנים האחרונות רמת ההפלות בעדר יכולה להעלות עד לכ-20%. פרה המפילה בטרימסטר האחרון לרב מוצאת מהעדר בגלל תקופת היובש הארוכה בה היא נמצאת עד להמלטה ותחלובה נוספת. במידה והפגיעה התוך רחמית בעובר אינה קטלנית, כפי שמסתמן מעבודה הנוכחית, הוולד ייולד חלש עם נטייה לתחלואה בתקופה הראשונית לחייו.

IBR/BVD .7.3

7.3.1. במשק זנגריה

חוסנו 188 ראשי בקר בתרכיב משולב Triangle 4 כחודש לפני הכנסת הפרים בנובמבר 2005 ושוב לאחר חודש ימים. נצפו 3 הפלות גלויות בקבוצה המחוסנת ו-41 בקבוצה הלא מחוסנת. מספרים אלו כלולים בסה"כ הסיום של הפרות שלא המליטו. יצאו מהעדר 10 פרות מהקבוצה המחוסנת ו-21 מהקבוצה הלא מחוסנת.

טבלה 15: נתוני זנגריה

עגלים מתים	לא המליטו	המליטו	סה"כ ביום 0	
3	32	62	102	מחוסנות
5	22	62	86	לא מחוסנות
8	54	124	188	סה"כ

א. לא נצפה הפרש משמעותי בין המחוסנות ללא מחוסנות במספרי ההמלטות או הפלות

7.3.2. קשת

טבלה 16: חיסון IBR/BVD בעדרי קשת

יצאו מהעדר	לא המליטו	המליטו	סה"כ ביום 0	
41	48	228	317	מחוסנות
53	47	215	315	לא מחוסנות
94	95	443	632	סה"כ

א. לא נצפה הפרש משמעותי בין המחוסנות ללא מחוסנות במספרי ההמלטות או הפלות

7.3.4. עמיעד

בקיבוץ השתתפו בניסוי 640 ראש מהם חוסנו 324. לא ניתן היה לקבל נתונים ממרכז הבקר בעיקבות מספר אירועים שקרו לאורך השנה. אלו כללו, גניבת 10 פרים, 50 פרות ו60 עגלים. העדר עבר אירו קשה של EHD השנה והצוות התחלף פעמיים. על כן, אין סיכומי המלטות ואין שיוך עגלים לאימהות.

7.4. סיכום משוכלל

טבלה 17: סיכום משוקלל ל-2 המשקים מהם נתקבל נתונים:

לא המליטו	המליטו	סה"כ ביום 0	
80	290	419	מחוסנות
69	277	401	לא מחוסנות
149	567	820	סה"כ

א. לא נצפה הפרש משמעותי בין המחוסנות ללא מחוסנות במספרי ההמלטות או הפלות

8. דיון:

מגרפים מספר 1 ו-2 ניתן לראות התפלגות הפלות המאופיינות ע"י שלושת התחלובות הראשונות. תופעה זו אינה נובעת מיציאות בלתי מאוזנות מהעדר כפי שנראה בגרף מס 3. תמונה זו מאד מחשידה למעורבות של גורם מזהם אחד או יותר המעורבים בתסמונות שנבדקו. יתכן והודות להתחסנות בחשיפה בשנים הראשונות אנו עדים לירידה בהפלות בשנים המאוחרות.

ניתוח נתוני כייל הנוגדנים לאורך תקופת ההריון בשניר וקשת הראה מעורבות של כל גורמי ההפלה שנבדקו. כ 15 פרות בקשת (21.4% מהמפילות) ללא כייל נוגדנים ללפטוספירה הרדג'ו בתחילת ההריון שנבדקו בחיידק במשך ההריון היו בסיכון גבוה להפלה בסוף תקופת ההריון. בשניר תופעה זו נצפתה ב-13.4% מאובדן ההריונות (13 מתוך 97) כך שבמוצע משוקלל, נראה ש 16.8% מההפלות היו קשורות לחיידק זה. יש להוסיף מספר זה לתחשיב הכלכלי בהערכת השיקולים לחיסון הבקר.

תרכיבי הלפטוספירה הרדג'ו בהם חוסנו העדרים היו מחברות Pfizer או Mallinckrodt. על פי רשום היצרנים והספרות המקצועית, אין הבדל בין שני התרכיבים בתנגודת המתפתחת בבקר בעקבות ההתחסנות. אחוזי ההגבה ללפטוספירה הרדג'ו במדגמים שנלקחו לפני החיסון נראים לכאורה נמוכים פרט למשק חמדיה (31.8%) יש להניח שרמה זו נובעת מהתפרצות חדשה בעדר בעונה הקודמת. בעדרים האחרים יש לקחת בחשבון שפרה תשא את החיידק ותפריש אותו בשתן לפרק זמן של עד 18 חודש, בזמן שכייל סרולוגי חיובי ניתן לזיהוי בשיטת ה-MAT רק במשך 4 עד 6 חודשים ממועד ההדבקה. על כן כדי להעריך את נפיצות המחלה האמיתית בעדר, יש צורך להכפיל את אחוז המגיבות בפקטור של 3 או 4. פעולה זו תיתן נפיצות של כ 25% עד כ 60% מהעדר. בקיבוץ מורן יתכן ורמת הנגיעות ירדה באופן משמעותית בעקבות חיסון מחצית העדר, חיסון כל הפרים, ושיפורים ממשקיים שהובילו להורדת השפעת המחלה לבלתי משמעותית סטטיסטית. לכן הניתוחים הסטטיסטיים בוצעו פעמיים, עם משק מורן ובלעדיו.

לפטוספירה בורגפטרסניי סרובר הרדג'ו מדווח כגורם הפלה בעל משמעות כלכלית כבדה ובמספר מדינות באירופה וארה"ב מרבית הבקר מחוסן כנגדו מידי שנה בעלויות כבדות. הדעה הרווחת ע"פ הספרות

המקצועית היא שהחיידיק פגוע בפוריות, גורם להפלות בטרימסטר השלישי להריון ולהולדות של שגר חלש. ע"פ הנתונים שלנו, לא צפינו בהבדלים משמעותיים בפוריות בין הקבוצות בעדרים השונים. בשני מקרים נצפו הבדלים ברמת אובדן ההריונות. דבר זה אינו תואם את ממצאי נסויי המעקב בשנר ובקשת שתוארו מעלה. לעומת זאת, כן נצפו הבדלים מאד משמעותיים בכמעט כל העדרים בשרידות העגלים עד גיל חודש. הסיבות לממצאים אלו יכולות להיות טמונים בחשיפת הפרות לחיידיק לפני החיסון כפי שקורה בעדר אנדמי או לאלימות נמוכה יותר של החיידיק בארץ אשר גורם לפגיעה העוברית קשה בתוך הרחם אך אינו גורם למותו. יתכן והשפעת החיסון תלויה גם במצב העדר מבחינת תחלואה אחרת או קשור לפרק הזמן מאז חדירת הלפטוספירה לעדר. יש לקחת בחשבון שחוסנו הפרים בכל העדרים, דבר המוריד את רמת החשיפה של הפרות לחיידיק. יתרה מזאת, רמת החשיפה של הפרות הלא מחוסנות הינה פחות מאשר בעדר לא מחוסן היות ומחצית הפרות בניסוי מחוסנות. לסיכום, כאשר העדר נגוע בל. הרדג'ו ורמת ההפלות או תמותת עגלים היא גבוהה, חיסון העדר עשוי להיות כדאי מבחינה כלכלית. היות והמחלה יכולה להיות מועברת ע"י פרים, פרות נגועות וחיות בר, יתכן וכדאי לחסן גם עדרים שליליים כדי למנוע התפרצות ופגיעה כלכלית קשה.

לדעתנו, התרכיבים המונו-וולנטיים נגד ל. הרדג'ו עדיפים על התרכיבים המשלבים מספר רב של סרוברים, היות והם הוכחו כמונעים אכלוס הכליות והרחם ע"י החיידיק. שתי חברות מייצרות תרכיב מונו-וולנטי (Spirovac, Pfizer or Leptoavoid H, Mallincrodt) והן מתחרות ביניהן בשוק העולמי וגם בארץ.

לנושא BVD נדרשת התייחסות מעבר לניסוי חיסון בדומה ללפטוספירה. במשק זנגריה לא נצפה כלל יעילות של התרכיב בשיפור מספר הפרות הממליטות או בשיפור הישרדות עגלים לגיל חודש. יתכן ובמחלת BVD יש צורך להמשיך את תצפית המעקב על העגלים עד לגמילה, הודות לאופי המחלה. היות ועונת ההמלטות במשקי הניסוי הסתיימה ביוני 2007, ניתן להמשיך את המעקב עד לגמילה בעבודה המשכית. יעילותם של החיסונים המומתים ל-BVD בהגנה על העובר בתקופת ההריון אינו חד ערכי ותלוי באם העדר הינו נקי או אנדמי ובמספר הנשאים של הנגיף בעדר. בעדרים שנבדקו בשלמותם ב antigen ELISA, נצפה רמה מאד נמוכה של נשאים. על כן ע"פ הספרות, רמת החיסון הנדרש כדי להגן על העדר אינו גבוה ונע בתחום של כ-70%. בניסוי שלנו לא צפינו הבדלים מובהקים לטובת הקבוצות המחוסנות למרות שבקשת נצפה נטייה לשיפור. אין לפי שעה, ע"פ הנתונים שהסתברו בשני המשקים שנבדקו לחיסון IBR/BVD, הצדקה לשימוש בתרכיב מומת זה לטיפול במחלה. היות והגנה על העדר על ידי השימוש בחיסון תלויה בסילוק הנשאים ותכנית biosecurity, יש צורך לבחון את יעילות התרכיבים הקיימים בשוק בתכנית ייחודית משולבת.

1. Micklelson WD, Everman, JF, In utero infections responsible for abortion, stillbirth, and birth of weak calves in beef cows, *The Veterinary Clinics of North America – Food animal practice*:10, 1 1-13, 1994
2. Ellis WA, Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1994 Nov;10(3):463-78. Review.
3. Mackintosh CG, Marshall RB, Broughton ES. The use of a hardjo-pomona vaccine to prevent leptospiruria in cattle exposed to natural challenge with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. : *N Z Vet J* 1980 (9):174-7
4. Bolin CA, Alt DP. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo. *Am J Vet Res.* 2001 Jul;62(7):995-1000.
5. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR editors. *Clinical Veterinary Microbiology.* London: Wolfe; 1994.
6. O.I.E. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines (2000) 4th ed.,* Office International des Epizooties, 2001
7. Storz J, Carroll EJ, Stephenson EH, Ball L, Eugster AK. Urogenital infection and seminal excretion after inoculation of bulls and rams with chlamydiae. *Am J Vet Res.* 1976 May;37(5):517-20.
8. Cavirani S, Cabassi CS, Donofrio G, De Iaco B, Taddei S, Flammini CF. Association between *Chlamydia psittaci* seropositivity and abortion in Italian dairy cows. *Prev Vet Med.* 2001 Jul 19;50(1-2):145-51.
9. Davison HC, Otter A, Trees AJ. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int J Parasitol.* 1999 Aug;29(8):1189-94.
10. Wouda W .Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet Q.* 2000 Apr;22(2):71-4. Review.
11. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2000 Jul 2;60-61:417-31. Review
12. *Veterinary Clinics of North America, FoodAnimal Practice, Bovine Viral Diarrhea Virus: Persistence is the Key,* Ed. Brock, K.V., 2004, 20, 1
13. Cherry BR, Reeves MJ, Smith G. Evaluation of bovine viral diarrhea virus control using a mathematical model of infection dynamics. *Prev Vet Med.* 1998 Jan;33(1-4):91-108.
14. Bolin SR, McClurkin AW, Coria MF., Frequency of persistent bovine viral diarrhea virus infection in selected cattle herds. *Am J Vet Res.* 1985 Nov;46(11):2385-7.
15. O.I.E. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines (2004) 4th ed.,* Office International des Epizooties, 2004