

## Kontroll av *Neospora caninum*-infektion hos svenska mjölkkor

SLF Dnr 057/01, projnr 0130024

Arvid Uggla, professor, Avd för parasitologi SVA/SLU

Camilla Björkman, docent, Inst för kliniska vetenskaper, Idisslarmedicin, SLU

---

### Bakgrund

Den encelliga parasiten *Neospora caninum* är en av de viktigaste orsakerna till kastning och svagföddhet hos nötkreatur i stora delar av världen. I exempelvis Storbritannien anses en tredjedel av nötkreatursaborterna orsakas av *N. caninum*. Det viktigaste sättet för smittöverföring hos nötkreatur är från ko till kalv, vilket kan ske under upprepade dräktigheter. Alla infektioner under dräktighet leder emellertid inte till abort, utan en betydande andel kalvar till infekterade kor föds utan påvisbara symptom. De förblir dock kroniska smittbärare och, om de är hondjur, för de i sin tur smittan vidare till sin egen avkomma. Undersökningar i Sverige har visat att cirka 2% av svenska mjölkkor är bärare av *N. caninum* med förmåga att överföra smittan till sin avkomma. Detta innebär att parasiten inte är lika spridd hos svenska nötkreatur som hos kor i andra delar av Europa. I enstaka besättningar har emellertid konstaterats höga infektionsnivåer och avsevärda problem med kastningar och reproduktionsstörningar relaterade till neosporos.

Huvudsyftet med föreliggande projekt var att utvärdera effekterna av specifika kontrollåtgärder mot *N. caninum* i ett antal infekterade mjölkkobesättningar i Sverige. En annan målsättning var att utvärdera om undersökning av tankmjölk kunde användas för identifiering av besättningar infekterade med *N. caninum*.

Till projektet som bedrevs i samarbete mellan Avdelningen för parasitologi vid SVA/SLU och Institutionen för idisslarmedicin och epidemiologi vid SLU knöts doktoranden leg. vet. Jenny Frössling som disputerade 2004. En betydande del av hennes avhandling baserades på resultat från föreliggande projekt. Även en thailändsk veterinär, Aran Chanlun, som deltog i SLU:s internationella Master of Science-program, gjorde sin forskningsuppgift inom ramen för detta projekt.

### Rådgivning i *Neospora*-infekterade mjölkkobesättningar

I denna fleråriga studie följdes *Neospora*-infekterade mjölkkobesättningar för att klarlägga parasitens förekomst och infektionsmönster i svenska nötkreatursbesättningar och utvärdera effekterna av den rådgivning som förmedlades till djurägarna under studiens gång (Frössling, 2004; Frössling et al., 2005).

### Material och metoder

Fjorton mjölkkobesättningar som haft reproduktionsproblem och där *N. caninum* tidigare påvisats följdes under 3 år. Besättningarna besöktes vid 2-4 tillfällen under åren 2000 - 2003 år och då togs blodprov från alla kor och kvigor. Blodproverna analyserades med avseende på antikroppar mot *N. caninum* och djurägarna fick fortlöpande reda på resultaten av antikropsanalyserna. Information om djurens släktskap togs fram ur Svensk Mjölks databas. Vid det första besöket fick djurägarna information om hur de skulle kunna minska

förekomsten och spridningen av parasiten. De fick därefter regelbundet fortsatt muntlig och skriftlig information om lämpliga åtgärder för att bryta infektionskedjan i sin besättning.

### *Resultat och diskussion*

Andelen seropositiva djur i de undersökta besättningarna varierade mellan 6 och 65% vid det första provtagningsstillfället år 2000. Vid den sista provtagningen 2003 var 3 av de 14 besättningarna fria från infektionen, 9 hade samma eller lägre infektionsgrad medan 5 besättningar hade en högre andel infekterade djur än 3 år tidigare. Förekomsten av infekterade djur minskade eller ökade med tiden oavsett om infektionen var utbredd eller sällsynt i besättningen vid den första provtagningen. Undersökningen visade att i samtliga besättningar var majoriteten av de infekterade djuren kroniskt infekterade. Smittspridning från ko till kalv var absolut vanligast i alla besättningarna och infektion orsakad av externa parasitstadier (oocystor) var mycket ovanlig.

Resultaten visar att man genom att kombinera adekvata insatser för att få bort infektionen och preventiva åtgärder för att undvika nyinfektion kan minska andelen infekterade djur i en besättning. Vi fann dock att det var svårt att få en del djurägare att följa råden under hela den tid studien pågick. *Neospora*-infektion kan ligga latent i en besättning under flera år utan att korna visar några symtom. I besättningar med sådan subklinisk infektion väljer djurägarna ofta att prioritera andra faktorer än *Neospora*-status vid sin rekrytering.

Med de kunskaper vi idag har byggt upp är det således rimligt att rekommendera djurägarna att inte använda infekterade kvigor och kor till avel. Dessutom bör hundar och andra köttätande djur inte ges möjligheter att slicka på eller äta infekterad vävnad, fosterhinnor eller aborterade kalvar. Oavsett om *Neospora*-infekterade djur finns i besättningen bör man vid inköp av djur endast köpa in antikroppsnegativa djur.

### **Utvärdering av tankmjölksdiagnostik**

Under flera år har vi vid våra laboratorier använt en av oss utvecklad iscom-ELISA för att påvisa antikroppar mot *N. caninum* i blod och mjölk från enskilda djur. Det vore värdefullt om man kunde använda tankmjölksprov för undersökning av förekomsten av *N. caninum* i olika besättningar, på samma sätt som man gör i kontrollprogrammen för BVDV och BLV. För att en test ska vara ett användbart diagnostiskt verktyg krävs att den är känslig men också att den har hög specificitet och inte ger falskt positiva resultat. Därför genomfördes följande studier för att utvärdera hur känslig och specifik iscom-ELISAn är för analys av tankmjölk.

### *Pilotstudie*

En första pilotstudie utfördes av en thailändsk veterinär som är verksam vid våra laboratorier (Chanlun et al., 2002 a, b).

### *Material och metoder*

I denna undersökning ingick blodprover och tankmjölk från 11 thailändska mjölkbesättningar. Proverna analyserades med iscom-ELISAn.

### *Resultat och diskussion*

Seroprevalensen i besättningarna varierade mellan 0 och 46%. Sex besättningar hade höga antikroppsvarlden i tankmjölken och de hade även antikroppspositiva kor. Resulten visade att tankmjölk kunde användas för att fastställa förekomst av *Neospora*-infekterade kor i mjölkbesättningar.

### Större svensk undersökning

En detaljerad svensk undersökning omfattande totalt 244 besättningar genomfördes för att utvärdera hur tillförlitlig och användbar tankmjölkstesten är under svenska förhållanden.

#### *Material och metoder*

Studien omfattade följande 3 grupper av mjölkbesättningar:

- A) 9 besättningar som haft abortproblem och i vilka *N. caninum* påvisats
- B) 115 besättningar i Skara Semins område och som deltog i ett forskningsprojekt om hälsa och tillväxt hos svenska kvigkalvar
- C) 124 slumpvis utvalda besättningar i Skara Semins område

Från besättningarna samlades blodprov och tankmjölksprov som analyserades med iscom-ELISAn. Uppgifter om släktskap mellan de provtagna djuren och om kornas mjölkproduktion införskaffades från Svensk Mjölks databas. En besättning klassificerades som infekterad eller fri från *Neospora*-infektion baserat på de individuella blodprovresultaten. För att uppskatta hur mycket tankmjölksresultatet påverkas av att kor bidrar med olika mycket mjölk till mjölktanken gjordes beräkningar av sensitivitet och specificitet med hjälp av en logistisk regressionsmodell.

#### *Resultat och diskussion*

Vi fann att det var ett samband mellan andelen seropositiva djur i en besättning och tankmjölkens ELISA-värde. Tankmjölkstestens specificitet var hög (~99 %) när man använde OD=0,20 för att skilja mellan positiva och negativa besättningar. Detta OD-värde är lämpligt att använda när man vill vara säker på att en tankmjölkspositiv besättning verkligen är *Neospora*-infekterad. Om man vill lägga mer lika vikt vid sensitivitet och specificitet kan man istället använda OD=0.10 som cut off. Vi fann också att testresultatet påverkades av att olika kor bidrar med olika mycket mjölk i mjölktanken, men att resultatet ändå i stor utsträckning reflekterade förekomsten av testpositiva kor inom de undersökta besättningarna. Detta gör att analys av tankmjölk kan användas både för att snabbt undersöka ett stort antal besättningar och för utredning av abortproblem i enskilda besättningar.

#### **Förmedling av resultaten till näringen**

En medlem av forskargruppen deltog 2001 som föreläsare vid Svensk Mjölks Djurhälso- och utfodringskonferens och gav där en bakgrund till problemområdet och informerade om några av de studier som då höll på att sättas igång (Stenlund et al., 2001).

Under studiens gång har forskargruppen haft regelbunden kontakt med de Husdjursföreningar som berörts av studien samt de djurägare som har besättningar där provtagningar genomförts. Sedan studien avslutats har både husdjurföreningarna och djurägarna via brev informerats om resultatet av undersökningarna.

Sommaren 2005 publicerades ett refererat av Jenny Frösslings avhandling, som till stor del bygger på detta forskningsprojekt, i Svensk Veterinärtidning som läses av majoriteten av Sveriges veterinärer (Anonym, 2004). Just i dagarna har Svensk Mjölk distribuerat ett nummer av Svensk Mjölks Forskning Special som bygger på forskningsresultaten i detta projekt (Frössling & Björkman, 2005). Denna publikationsserie sprids bland annat till organisationens veterinärer, husdjursrådgivare och husdjurstekniker.

#### **Publikationer**

Forskargruppen inom ramen för projektet har deltagit i flera studier relaterade till *Neospora*-infektion hos nötkreatur som resulterat i referee-granskade artiklar där SLF tackats för

ekonomiskt stöd. De skrifter som direkt bygger på studierna inom detta forskningsprojekt och som därför bifogas är markerade med \*.

#### *Doktorsavhandling*

\*Frössling, J. (2004) Epidemiology of *Neospora caninum* infection in cattle - evaluation of diagnostic tests and herd studies. PhD thesis, Swedish University of Agricultural Sciences. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Veterinaria 175. ISBN 91 576 6670 9.

#### *Master of Science-avhandling*

\*Chanlund, A. (2002a) *Neospora caninum* infection in cattle. The use of bulk milk for detection of infection in dairy herds in Thailand. Swedish University of Agricultural Sciences, International Master of Science Programme, Report no. 28.

Duong, C.M. (2004) *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus infection in cattle. Investigation of seroprevalences in imported and local crossbreed cows in dairy herds in southern Vietnam. Swedish University of Agricultural Sciences, International Master of Science Programme, Report no. 44.

#### *Referee-granskade publikationer*

Björkman, C., McAllister, M.M., Frössling, J., Näslund, K., Leung, F. & Uggla, A. (2003) Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 15: 3-7.

Björkman, C., Gondim, L.F.P., Näslund, K., Trees, A.J. & McAllister M.M. (2005) IgG avidity pattern in cattle after ingestion of *Neospora caninum* oocysts. Veterinary Parasitology, in press.

\*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.

Dijkstra, T., Barkema, H.W., Björkman, C. & Wouda, W. (2002) A high rate of seroconversion in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. Veterinary Parasitology, 109: 203-211.

Frössling, J., Bonnett, B., Lindberg, A. & Björkman, C. (2003) Validation of a *Neospora caninum* iscom ELISA without a gold standard. Preventive Veterinary Medicine, 57: 141-153.

\*Frössling, J., Lindberg, A. & Björkman, C. (2005) Evaluation of an iscom ELISA used for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. Submitted.

\*Frössling, J., Uggla, A. & Björkman, C. (2005). Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. Veterinary Parasitology, in press.

Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Anderson-Sprecher, R.C., Björkman, C., Lock, T.F., Firkins, L.D., Gao, L. & Fischer, W.R. (2004) Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. Journal of Parasitology, 6: 1394-1400.

Mineo, T.W.P., Silva, D.A.O., Näslund, K., Björkman, C., Uggla, A. & Mineo, J.R. (2004) *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlandia, Minas Gerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 56: 414-417.

Sager, H., Gloor, M., Björkman, C., Kritzner, S. & Gottstein, B. (2003) Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. Veterinary Parasitology, 112: 1-10.

Stenlund, S., Kindahl, H., Uggla, A. & Björkman, C. (2003) A long-term study of *Neospora*

- caninum* infection in a Swedish dairy herd. Acta Veterinaria Scandinavica, 44: 63-71.
- von Blumröder, D., Schares, G., Norton, R., Williams, D.J.L., Esteban-Redondo, I., Wright, S., Björkman, C., Frössling, J., Risco-Castillo, V., Fernández-García, A., Ortega-Mora, L.M., Sager, H., Hemphill, A., van Maanen, C., Wouda, W. & Conraths, F. J. (2004) Comparison and standardisation of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in bovines. Veterinary Parasitology, 120: 11-22.
- Vonlaufen, N., Geutg, N., Naguleswaran, A., Müller, N., Björkman, C., Schares, G., Blumroeder, D. v., Ellis, J. & Hemphill, A. (2004) In vitro induction of *Neospora caninum* bradyzoites in Vero cells reveals differential antigen expression, localization, and host-cell recognition of tachyzoites and bradyzoites. Infection and Immunity, 72: 576-583.

#### *Konferensrapporter*

- \*Björkman, C. (2003) *Neospora caninum* infection in cattle. CRU Report 16. Proceedings from a symposium on farm animal reproduction: Reducing infectious diseases. January 2003, Jelgava, Latvia.
- \*Frössling, J., Lindberg, A. & Björkman, C. (2004) Evaluation of an iscom ELISA used for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. COST 854 Annual Conference, September 2004, Liverpool, UK.

#### *Publikationer på svenska*

- \*Anonym (2004) Disputationer: *Neospora caninum*-infektion hos nötkreatur. Svensk Veterinärtidning, 56: 27.
- \*Frössling, J. & Björkman, C. (2005) Avhandling om *Neospora caninum* hos nötkreatur. Utvärdering av tester och spridningsmönster i svenska mjölkbesättningar. Svensk Mjölks Forskning Special 2005-01-21.
- \*Stenlund, S., Frössling, J., Ugglå, A. & Björkman, C. (2001) *Neospora caninum* och aborter hos nötkreatur i Sverige. Svensk Mjölks Djurhälso- och Utfodringskonferens, 21-23 Augusti, Linköping.