

## Har neosporose noen betydning i norsk storfehold?

Sveinn Gudmundsson  
Veterinærinstituttet i Sandnes  
Postboks 295  
4303 Sandnes  
e-post: sveinn.gudmundsson@vetinst.no

Bjørn Gjerde  
Norges veterinærhøgskole  
Institutt for farmakologi, mikrobiologi og næringsmiddelhygiene  
Postboks 8146 Dep.  
0033 Oslo  
e-post: bjorn.gjerde@veths.no

Key words: neosporosis, *Neospora caninum*, cattle, Norway

***Neospora caninum* er en toverts koksidi med hund som eneste kjente hovedvert og en rekke pattedyr som mellomvert. Mellomvertene kan smittes transplacentalt eller oralt med oocyster fra hund. Hos mellomverten gjennomgår parasitten intracellulær oppformering, som kan føre til omfattende nekroser og betennelsesreaksjoner, før den til slutt danner vevscyster. Hund smittes av vevscyster og skiller ut oocyster. Infeksjon eller sykdom pga. *N. caninum* kalles neosporose. Parasitten har størst betydning hos drektige dyr, særlig blant hund og storfe, ved at den infiserer og eventuelt skader fostrene. Hos storfe ytrer neosporose seg ved omløp, aborter, særlig i 4.-7. drektighetsmåned, og av og til fødsel av kalver med neuromuskulære symptomer. Mange kalver fødes dessuten med en subklinisk infeksjon, som først aktiveres når dyrene blir voksne og drektige, slik at deres fostre også blir smittet. De fleste kyr med medfødt smitte overfører parasitten til sine avkom, og *N. caninum* kan på denne måten overleve i angrepne besetninger i årevis og forårsake sporadiske aborter. I tillegg kan storfe bli smittet med oocyster fra hund, noe som kan utløse en serie med aborter over kort tid. Neosporose er i flere land regnet som den viktigste infeksjose abortårsaken hos storfe. I Norge har vi imidlertid liten kjennskap til parasittens betydning i storfeholdet. Det er hittil bare gjort noen begrensede serologiske undersøkelser, og bare 10 av 750 undersøkte dyr er funnet å være seropositive for *N. caninum*. Parasitten er hittil ikke påvist som abortårsak hos storfe i Norge, men er kjent som årsak til neuromuskulær sykdom hos hundevalper. Mer omfattende undersøkelser bør derfor gjøres for å klarlegge betydningen av neosporose for norsk storfehold.**

I 1984 publiserte Inge Bjerås og medarbeidere en artikkel om en *Toxoplasma*-liknende protozo som forårsaket encefalitt og myositt hos hund (1). Noen år senere ble en lignende parasitt beskrevet fra USA og gitt navnet *Neospora caninum* (2). Senere ble det vist at de to parasittene var identiske (3). I årene som har gått etter oppdagelsen av denne ”nye” parasitten, som tidligere hadde blitt feildiagnostisert som *Toxoplasma gondii*, har innsatsen vært stor for å avklare parasittens utbredelse, vertsforhold, livssyklus og kliniske betydning. Internasjonalt er det publisert et stort og stadig stigende antall vitenskaplige artikler både om *N. caninum* og de infeksjoner den forårsaker, såkalt neosporose. Formålet med denne artikkelen er å gi en kort oversikt over biologi og betydning av *N. caninum*, med hovedvekt på forhold hos storfe,

hvor denne parasitten er en viktig årsak til abort og reproduksjonsproblemer. Flere sider ved neosporose hos storfe er imidlertid fortsatt bare delvis kjent, og det er til dels motstridende opplysninger i litteraturen. Artikkelen representerer derfor på ingen måte den hele og fulle sannhet om parasittens biologi og betydning. Vi vil også oppsummere hva som er gjort av norske undersøkelser over forekomst av *N. caninum* hos storfe, og diskutere hva som videre bør gjøres i Norge.

### Utvikling og vertsspekter

*Neospora caninum* er en encellet, intracellulær parasitt innenfor gruppen vevscystedannende koksidier (familie Sarcocystidae) i rekken Apicomplexa. Den er nært beslektet med *Toxoplasma gondii*, som også forårsaker aborter. Men mens *T. gondii* har størst betydning som abortårsak hos sau og geit, framkaller *N. caninum* primært aborter hos storfe. Andre nære slektninger til *N. caninum* er de apatogene artene *Hammondia heydorni* og *H. hammondi*. I tillegg er en annen *Neospora*-art, *N. hughesi*, nylig beskrevet fra hest (4).

Livssyklusen til *N. caninum* var i mange år bare delvis kjent. De første årene etter oppdagelsen påviste man parasitten utelukkende i form av tachyzoiter og vevscyster med bradyzoiter i ulike vev, spesielt i sentralnervesystemet, hos en rekke pattedyr, inkludert husdyr som hund, storfe, sau, geit og hest (1, 2, 4). Dyr som har de nevnte parasittstadiene, karakteriseres som mellomverter. Tachyzoit-stadiet ble tidlig isolert og dyrket i cellekulturer, og slike tachyzoiter har senere blitt brukt til å infisere en rekke dyreslag eksperimentelt gjennom parenteral injeksjon, for m.a. å studere vertsspekter og patogenitet. Det ble tidlig klart at parasitten kunne overføres transplacentalt hos flere dyreslag (1, 4), og man regnet med at dette var en viktig smittevei ved naturlige infeksjoner. Man antok imidlertid at *N. caninum*, i likhet med *T. gondii*, hadde en toverts livssyklus med et rovdyr som hovedvert, og i 1998 ble det for første gang vist at hund kunne fungere som hovedvert for *N. caninum*, med utskillelse av oocyster etter infeksjon med vevscyster (5). Hittil er det ikke kjent om andre dyr i hundeslekten (for eksempel prairieulv, rev) også kan fungere som hovedvert. Katt ser ikke ut til å kunne fungere som hovedvert, men kan være mellomvert. Mennesker synes å være dårlig egnet som mellomvert for *N. caninum*, og ingen sikre kliniske tilfeller av human neosporose er hittil blitt rapportert.

*N. caninum* er altså en toverts parasitt. I tynntarmen hos hund gjennomgår parasitten ukjønnnet og kjønnnet formering, og dette fører til produksjon og utskillelse av oocyster. Oocystene sporulerer og blir infektive ute i det fri (5). Storfe og andre mellomverter kan smittes peroralt med oocystestadiet (horisontal smitte). I mellomverten omdanner sporozoiter fra oocystene seg til tachyzoiter, som deretter gjennomgår en oppformering intracellulært i ulike vev. Tachyzoitene sprenger til slutt vertscellen og trenger inn i omkringliggende celler, eller spres med blodet til andre deler av organismen. Til slutt dannes det vevscyster intracellulært, fortrinnsvis i CNS (Fig. 1). Inni vevscystene formerer parasitten seg langsomt som bradyzoiter. Under bestemte forhold, særlig drektighet, ser det ut til at bradyzoiter kan omdanne seg til tachyzoiter, som forlater vevscystene og trenger inn i og formerer seg i ulike celler og ødelegger disse.

For mellomverten er det primært tachyzoitenes intracellulære formering som forårsaker skader og eventuelt sykdom. Denne formeringen kan nemlig føre til omfattende celledød, nekroser og betennelsesreaksjoner. Makrofager vil akkumuleres rundt infiserte celler, både for å bekjempe parasitten og for å spise opp de ødelagte vertscellene. Man antar at et normalt fungerende immunsystem etter en tid vil kunne hindre tachyzoitenes videre formering og spredning, og at parasitten derfor vil danne intracellulære vevscyster, hvor bradyzoitene er bedre beskyttet mot immunforsvaret (latent infeksjon). Svekkes imidlertid immunforsvaret av ulike årsaker, kan parasitten igjen aktiveres og ta til å formere seg i form av tachyzoiter utenfor vevscystene.

Det foreligger omfattende dokumentasjon på at *N. caninum* kan overføres fra mor til foster *in utero* (vertikal smitte) hos flere dyreslag. Denne typen smitteoverføring ser ut til å ha størst betydning hos hund og storfe, der dette ofte resulterer i aborter eller sjukelige tilstander hos avkommet. Hos hund ytrer medfødt neosporose seg ofte som ascenderende pareser eller paralyser av bakbeina hos hvalper som er under seks måneder gamle. Smitteoverføring til fosteret skjer oftest etter en reaktivering av en medfødt infeksjon, og kan forekomme i flere påfølgende drektigheter uten ny smitte utenfra. Dette medfører at smitten kan holde seg i flere generasjoner hos et gitt dyreslag uten at disse dyra får i seg oocyster fra hovedverten hund.

### **Neosporose hos storfe**

Neosporose hos storfe, både hos mjølkekyr og kjøttfe, er en sykdom først og fremst hos drektige dyr og deres foster, som ytrer seg i form av omløp og forlenget kalvingsintervall, aborter og dødfødte kalver. I tillegg til kalvetapet, blir kyr som mister kalven ofte sjaltet ut, og kostnadene ved rekruttering øker. Hos mjølkekyr kan aborter føre til uteblitt eller redusert laktasjon. I mange land forårsaker således neosporose betydelige økonomiske tap i angrepne besetninger.

De første tilfellene av abort hos storfe som ble satt i forbindelse med *N. caninum*-infeksjon, ble rapportert fra USA i 1989 (6). I årene etterpå er det vist at *N. caninum* er årsak til aborter hos storfe i mange andre land, m.a. Sverige og Danmark, og neosporose regnes nå som en av de viktigste infeksjose abortårsakene hos storfe i USA, Nederland og New Zealand. Når det gjelder situasjonen i Norge, er derimot våre kunnskaper fortsatt mangelfulle.

Storfe kan smittes av *N. caninum* enten peroralt med oocyster fra hund eller transplacentalt med tachyzoiter fra mordyret. Transplacental smitte er som oftest et resultat av en reaktivering under drektigheten av en kronisk, latent infeksjon, som oftest medfødt, og er sjeldnere en følge av en akutt infeksjon med oocyster under selve drektigheten.

### *Vertikal eller transplacental smitte*

Det har vist seg at latent smitte har lett for å bli aktivert under drektigheten. Bradyzoitene omdanner seg da til tachyzoiter, som forlater vevscystene og spres med blodet og trenger inn i celler i placenta og foster, hvor de formerer seg. Dette skjer til tross for at mordyret har antistoffer mot parasitten. Man regner med at minst 80% av kyr med medfødt infeksjon, vil overføre *N. caninum* til avkommet (7). I en studie av seks besetninger med abortproblemer overførte hele 95,2% av kyrne parasitten transplacentalt (8). Mange kyr ser ut til å kunne smitte alle sine avkom, dvs. at parasitten aktiveres og overføres ved hver drektighet (9).

Dersom *N. caninum* overføres fra en ku med medfødt infeksjon til foster/avkom, er det flere mulige utfall. Det vanligste er at kalvene får en symptomfri infeksjon og fødes helt friske. Man antar at dette særlig er tilfelle dersom fosteret smittes relativt sent i drektigheten. Slike dyr blir smittebærere for resten av livet. Vanligvis forblir dyrene friske, men under drektighet, kan parasitten aktiveres og skade placenta og foster.

Et annet relativt hyppig resultat er at avkommet dør på grunn av infeksjonen. Avhengig av stadium i drektigheten, fører dette til at embryo/foster blir resorbert eller mumifisert, eller at kua aborterer eller føder en nesten fullgått død kalv. De fleste abortene inntreffer i 4.-7. drektighetsmåned. Kyr som aborterer, viser som regel ingen allmennsymptomer, mens aborterte foster vanligvis har tydelige tegn til autolyse, men er uten makroskopisk synlige abnormiteter. Tilbakeholdt etterbyrd er sjelden (9). I aborterte fostre kan det være omfattende degenerative forandringer og betennelsesreaksjoner som følge av parasittens intracellulære formering. De største forandringer finnes som regel i CNS og myocard. Det er også i disse vevene parasitten oftest påvises, mens den sjelden finnes i andre organer eller i placenta. Det er først og fremst tachyzoit-stadiet som påvises, og i mindre grad vevscyster (10).

Et tredje mulig utfall av medfødt infeksjon, som opptrer relativt sjelden, er at kalven blir født med ulike kliniske symptomer. Den kan være liten av vekst og ha neurologiske symptomer, som ustøhet, pareser eller lammelser, eller lemmene kan være sammenbøyde eller utstrakte (10). Slike kalver må som regel avlives av dyrevernmessige grunner.

Ved eksperimentell infeksjon av drektige kyr med samme mengde tachyzoiter intravenøst, fant man at fostrene fikk en mer alvorlig infeksjon når mora ble smittet tidlig i drektigheten enn sent i drektigheten (11). Infeksjon i første trimester (dag 70) førte hos fem av seks kyr til fosterdød og resorpsjon, mens infeksjon av seks kyr i siste trimester (dag 210) førte til at alle fødte en frisk, men infisert kalv. Forsøket var ment å skulle etterligne reaktivering og hematogen spredning av parasitten hos et latent infisert dyr, så vel som en akutt infeksjon under drektigheten.

Ved transplacental infeksjon vil altså tidspunktet for aktiveringen av *N. caninum* hos mora, samt mengden parasitter som spres med blodet til placenta og foster, være avgjørende for fosterets skjebne. Man antar at et svekket immunforsvar under drektigheten bidrar til aktiveringen av parasitten, men man kjenner ikke mekanismen fullt ut.

Hvis fosteret blir infisert i første trimester, vil infeksjonen som regel føre til død og resorpsjon av fosteret, men abort eller mumifikasjon er også mulig (11, 12). I første trimester har embryo/foster et svært umodent immunsystem, og muligens er selv moderate organskader på grunn av parasittens formering, dødelige for fosteret. Dette kan langt på vei forklare hvorfor fostrene blir hardere rammet ved tidlig enn ved sen infeksjon. Det er også gjort eksperimenter på mus som tyder på at hvis mordyrets inflammatoriske respons på en infeksjon medfører økt aktivitet av T-celle cytokinet IFN $\gamma$  (interferon gamma) og NK-celler (natural killer cells), kan det få fatale følger for fosteret, særlig i tidlig stadium av drektigheten. (13,14). Sjansene for at fosteret skal bli infisert, ser imidlertid ut til å være noe mindre når mora blir infisert, eller en latent infeksjon blir reaktivert, i første trimester, enn om dette skjer senere i drektigheten (12). Men frekvensen av tidlig smitteoverføring kan også ha blitt undervurdert, siden dette som regel resulterer i resorpsjon av fostrene, og dermed ofte klassifiseres som omløp av ukjent årsak.

I andre trimester er sjansene for at parasittene skal overføres til fosteret større, samtidig som dets immunsystem fremdeles er umodent. En infeksjon i denne perioden vil ofte resultere i fosterdød med abort, siden de døde fostrene sjelden blir resorbert på grunn av størrelsen. De fleste tilfellene av abort pga. neosporose er da også observert i 4. til 7. drektighetsmåned (12, 15).

Kalver som er smittet relativt sent i drektigheten, kan ved fødselen se helt normale ut, men de har høye verdier av antistoffer mot *N. caninum* i blodet før de har fått kolostrum. Sent i drektigheten vil trolig fosterets immunsystem reagere mot parasitten, slik at store skader blir avverget, men uten at infeksjonen blir eliminert.

Flere undersøkelser tyder på at abortrisikoen hos storfe med medfødt infeksjon er størst blant kviger, for deretter å avta ved senere drektigheter (7, 16). I en studie der 468 dyr ble fulgt gjennom de tre første drektighetene og de to første laktasjonene, hadde infiserte (seropositive) kviger 7,4 ganger høyere abortrisiko enn ikke-infiserte kviger ved første kalving, mens abortrisikoen bare var 1,7 ganger større hos de seropositive ved andre drektighet (16). I undersøkte angrepne besetninger har de fleste infiserte kyr (>95%) abortert kun en gang som følge av *N. caninum*, men den reelle frekvensen av gjentatte aborter er ukjent på grunn av at mange av kyrne som aborterer, blir sjaltet ut (4,10). Den høyere abortrisikoen blant kviger enn blant eldre kyr, tyder på at immunsystemet får bedre kontroll med parasitten etter hvert som dyrene blir eldre. En ku som har abortert, vil om den ikke aborterer på nytt, med stor sannsynlighet overføre *N. caninum* til avkommet også ved senere drektigheter.

### *Horisontal smitte med oocyster fra hund*

Oppdagelsen av at hund kunne fungere som hovedvert for *N. caninum* (5), gav en indikasjon om at storfe også kunne smittes horisontalt fra hund. Men det er hittil bare publisert én rapport om eksperimentell infeksjon av storfe (sju kalver) med oocyster fra hund (17), og naturlige infeksjoner er vanskelige å dokumentere. Flere epidemiologiske studier har imidlertid antydning en sammenheng mellom hundehold og neosporose hos storfe. Både i Frankrike og Spania er det funnet positiv korrelasjon mellom prevalensen av seropositive storfe og hold av hund på gården (18, 19). Undersøkelser i Nederland viste dessuten at høy seroprevalens av *N. caninum* blant storfe var korrelert med forekomst av seropositive hunder på gården (20).

Den relative betydningen av henholdsvis vertikal og horisontal smitte for forekomst av neosporose hos storfe er ennå ikke fullt avklart, men foreliggende dokumentasjon tyder på at vertikal smitte er den viktigste smittemåten, og at bare noen få prosent av infeksjonene hos storfe skyldes oocyster fra hund (12). Hund spiller likevel en viss rolle i epidemiologien til denne sykdommen, blant annet ved å introdusere smitte i tidligere usmittede besetninger. Ved hjelp av matematiske modeller er det blitt sannsynliggjort at vertikal smitte alene ikke er nok for å vedlikeholde smitten i en besetning; uten horisontal tilførsel av smitte vil infeksjonen langsomt ebbe ut (12, 21).

Horisontal smitte med oocyster har størst klinisk betydning for drektige dyr. Utfallet av en infeksjon vil trolig variere avhengig av drektighetsstadium og infeksjonsdose, slik som nevnt for vertikal smitte, og om dyra fra før har en medfødt infeksjon eller ikke (12). Det foreligger hittil ingen rapporter i litteraturen om eksperimentelle infeksjoner av drektige storfe med oocyster.

Introduksjon av oocyster i en besetning vil trolig føre til at mange kyr i ulike aldersgrupper aborterer over en kortere periode, dvs. man får konsentrerte abortutbrudd eller "abortion storms" (10, 22). Flere slike abortutbrudd pga. neosporose er registrert, men man har ikke kunnet bevise at de skyldtes oocyster fra hund. Aborter på grunn av reaktivering av en latent infeksjon (vertikal smitte) vil, på den annen side, kunne opptre sporadisk gjennom hele året, og helst hos kviger. Bildet kan bli mer komplisert dersom både vertikal og horisontal smitteoverføring skjer i samme besetning. I storfebesetninger der vertikal smitte er den eneste eller dominerende smittemåten, vil seroprevalensen av *N. caninum* være tilnærmet den samme i alle aldersgrupper, og kyrne og deres nyfødte kalver vil i stor grad ha samme infeksjonsstatus (infisert/ikke infisert). I besetninger der horisontal smitte har forekommet, mest sannsynlig ved inntak av oocyster fra hund, vil seroprevalensen gjerne være høyere hos eldre dyr enn hos kalver. Det er heller ikke uvanlig å finne seropositive avkom etter seronegative mødre, noe som også peker i retning av horisontal smitte av de førstnevnte (23).

Andre horisontale smitteveier for storfe enn infeksjon med oocyster fra hund ser ikke ut til spille noen rolle. Tachyzoiter av *N. caninum* er ennå ikke funnet i kolostrum eller melk, verken hos eksperimentelt eller naturlig smittede mordyr. Laktogen infeksjon ser dermed ikke ut til å forekomme. Det samme gjelder for direkte smitteoverføring fra individ til individ. I en studie ble 25 ikke-infiserte kviger holdt i samme hus og føret sammen med 25 kviger med medfødt neosporose inntil første kalving uten at noen av de førstnevnte serokonverterte (24). Slikking eller fortæring av etterbyrd eller fostervæske fra en infisert ku/kalv kan muligens spre smitten til andre storfe.

### *Immunitet mot *N. caninum**

Etter infeksjon med *N. caninum* vil storfe danne antistoffer mot parasitten. Etter parenteral infeksjon med tachyzoiter kan antistoffene måles i blodet 2-4 uker senere, og tittetoppen kommer 4 til 7 uker etter infeksjon (11). Ved oral infeksjon med oocyster fra hund er antistoffer påvist fra to til fire uker etter smitte (17). Kalver som smittes transplacentalt mot slutten av drektigheten, danner også antistoffer og har høyere antistofftiter ved fødsel enn

eldre dyr (12). Hos drektige kyr får man en stigning i antistofftitrene i forbindelse med reaktiveringen av parasitten.

De er uklart i hvor stor grad disse antistoffene gir beskyttende immunitet, men man antar at de til en viss grad kan hemme den hematogene spredningen av ekstracellulære tachyzoiter. Generelt vil cellemediert immunitet spille størst rolle ved infeksjoner med intracellulære parasitter, og det er sannsynlig at dette også er tilfelle ved neosporose hos storfe. Man har m.a. vist *in vitro* at IFN $\gamma$  er i stand til å hindre tachyzoitenes intracellulære formering (12)

Man har spekulert i om reaktiveringen av *N. caninum* under drektigheten skyldes den immunmoduleringen av moren som er nødvendig for at hun ikke skal utstøte "fremmedlegemet", dvs. fosteret, i uterus. Hos menneskefostre er det funnet at trofoblastceller danner cytokinet IL-10 (interleukin-10), og at dette cytokinet kommer i kontakt med morens immunsystem lokalt, dvs. i uterus. IL-10 er kjent for å holde IFN $\gamma$  produksjonen i sjakk. Det blir derfor spekulert i om en slik demping av morens IFN $\gamma$  respons faktisk kan aktivere den intracellulært liggende parasitten med påfølgende frigjøring (fra vevscysten), vandring til placenta og foster og formering (12).

Immunresponsen mot *N. caninum* ser ellers ut til å være forskjellig etter henholdsvis vertikal og horisontal smitte. Hos dyr med medfødt smitte greier immunapparatet som regel ikke å forhindre reaktivering og spredning av parasitten til fosteret. Et nylig publisert forsøk tyder derimot på at ved horisontal smitte før drektigheten, kan kyrne utvikle en mer effektiv immunitet, som hindrer parasitten i å bli overført til fostrene (11). I det nevnte forsøket fikk seks kyr tachyzoiter intravenøst før de ble inseminert, og hver av disse fødte en ikke-infisert kalv. Hvorvidt dette også er tilfelle ved naturlige infeksjoner med oocyster, er foreløpig uavklart.

#### *Interessante forskjeller mellom storfe og småfe*

Neosporose blir viet relativt liten oppmerksomhet i verdens småfehold. Både infeksjonsrisiko og abortrisiko anses å være ganske lav, i hvert fall for sau (12). En latent infisert søye skal, i likhet med en ku, kunne overføre smitten til alle sine avkom (25). I motsetning til storfe ser sau og geit ut til å være mye mer mottakelige for *Toxoplasma gondii* enn for *N. caninum*, og dessuten ytrer toksoplasmose hos småfe seg noe annerledes enn neosporose hos storfe. Oral smittevei spiller hovedrollen for infeksjon av sau og geit med *T. gondii*, og medfødt smitte forekommer ganske sjelden (26). Dessuten må infeksjon med *T. gondii* skje under drektigheten hvis dette skal føre til abort eller medfødt infeksjon av avkommet. Hos sau og geit vil abort som følge av en *T. gondii*-infeksjon bare skje én gang. Ved påfølgende drektigheter er dyra som har abortert beskyttet på grunn av immunitet, og det er derfor en fordel å beholde dem.

I Norge er det kun gjort begrensede undersøkelser over forekomsten av *N. caninum* hos småfe. I sesongen 1990-91 ble serum fra 80 geiter med reproduksjonssvikt og 27 geiter med normal drektighet, undersøkt ved Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) i Uppsala, Sverige for antistoffer mot *N. caninum*. Alle de 107 undersøkte dyra var seronegative (27).

#### *Diagnose av neosporose hos storfe*

Man må skille mellom diagnose av infeksjon med *N. caninum*, og diagnose av *N. caninum* som abortårsak. Diagnose av infeksjon på levende dyr skjer ved hjelp av serologiske metoder. Disse metodene blir betraktet som nokså pålitelige (28). Den mest brukte metoden er ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), og de ELISA-testene som brukes i dag, skal ikke kryss reagere med antistoffer mot verken *Toxoplasma*, *Eimeria* eller *Cryptosporidium*. Også

IFAT (Indirekte fluoriserende antistoff test) brukes en del, selv om denne metoden er mindre brukervennlig.

Hos dyr med medfødt infeksjon kan nivået av antistoffer mot *N. caninum* i blodet fluktuere, avhengig av alder og drektighetsstadium, men ingenting tyder på at et seropositivt individ kan konvertere til seronegativ status (9). Ungdyr i alderen 13 – 24 måneder har vanligvis lavere antistofftiter enn voksne dyr, men drektige kviger kan være et unntak (29). Fluktueringen i antistoffnivået innebærer en viss risiko for falske negative resultater. Det gir igjen problemer ved testing av dyr før inseminering, salg, eller eventuell nedslakting i forbindelse med bekjempelse av *N. caninum*.

For å påvise en medfødt infeksjon hos levende fødte kalver, bør man helst ta blodprøver av disse før de har fått kolostrum, da antistoffer kan overføres med råmelken. Dette har størst betydning dersom kalven får råmelk fra andre enn mora, men man kan heller ikke utelukke at en ku kan overføre antistoffer med råmelken selv om den ikke har smittet fosteret under drektigheten. Ved 4 - 6 måneders alder er ikke-infiserte kalver frie eller nesten frie for eventuelle maternale antistoffer, og dermed seronegative for *N. caninum*, mens de med medfødt infeksjon, er tydelig seropositive (30).

For å bevise eller sannsynliggjøre at *N. caninum* er årsak til en abort, kan man bruke serologiske metoder på serum fra den aborterende kua og/eller det aborterte fosteret, samt histologi, immunhistokjemi og eventuelt PCR-metoden på fostervev.

Når det gjelder serologisk undersøkelse av den aborterende kua, er problemet at et seropositivt resultat, eller jamvel en antistoffstigning i forbindelse med aborten, ikke er noe sikkert bevis for at *N. caninum* har forårsaket aborten. *N. caninum* har nok i del tilfeller blitt urettmessig utpekt som syndebukk når en seropositiv ku har abortert. Epidemiologiske undersøkelser i angrepne besetninger har vist at en tydelig stigning i antistofftiteret hos kyr midt i drektigheten er en *indikasjon* på en forestående abort, mens en stigning i titeret først mot slutten av drektigheten er en sterk indikasjon på at kalven vil få en subklinisk, medfødt infeksjon. Et lavt titer rundt kalving utelukker likevel ikke at avkommet er blitt smittet (31). Også hos et abortert foster vil påvisning av antistoffer mot *N. caninum* i serum eller andre kroppsvæsker bare være en indikasjon på at neosporose er årsak til aborten. Et negativt resultat utelukker ikke infeksjon, da dannelse av antistoffer hos fosteret er avhengig av alder ved infeksjonen, graden av infeksjon og hvor lang tid det går fra det blir infisert til det dør (4).

Av andre metoder er *vanlig histologi* på det aborterte fosteret et viktig hjelpemiddel, men de histologiske forandringene kan ikke bevise at *N. caninum* er årsak til aborten. Multifokal encephalitt indikerer infeksjon med *N. caninum*, og er svært ofte korrelert med at moren er seropositiv (32). Positiv *immunhistokjemi* på fostervev, oftest hjerne, har mye større bevismessig betydning. Men det er flere problemer knyttet til bruk av immunhistokjemi. Autolyse kan av og til umuliggjøre testen, og parasittene er ofte så fåtallige og ligger så spredt at de kan være vanskelige å påtreffe ved undersøkelse av noen få snitt. Vevscyster og grupper av tachyzoiter ligger dog som regel tettere i infisert vev fra foster enn fra eldre dyr. Immunhistokjemi blir derfor hyppig brukt i land som plages med mange *Neospora*-aborter.

Det kan altså by på problemer å finne ut om *N. caninum* er den virkelige årsaken til en abort. Dersom det aborterte fosteret er mellom 4 og 7 måneder gammelt og har tydelige tegn til autolyse ved aborttidspunktet, dersom histologien avslører tydelige vevsskader, og dersom parasitten blir påvist ved immunhistokjemi, kan en temmelig sikkert fastslå at aborten var forårsaket av neosporose. Denne konklusjonen blir ytterligere styrket dersom antistoffer mot parasitten blir påvist hos det aborterte fosteret og/eller den aborterende kua.

Ved mistanke om abort hos storfe pga. neosporose bør man ta blodprøve av kua, og om mulig også av fosteret. Prøve av kua bør tas ca. to uker etter aborten (32). Helst bør hele det aborterte fosteret sendes inn så raskt som mulig til et diagnostisk laboratorium. Dersom dette ikke lar seg gjøre, bør man fiksere prøver fra hjerne, hjerte, lever og skjelettmuskulatur i

formalin, og sende disse inn. Hjernen er det viktigste diagnostiske materialet, for selv i mumifisert eller råttent vev kan man finne indikasjoner eller bevis på neosporose (32). En bør alltid ta med mest mulig hjernevev ved innsendelsen, slik at laboratoriet kan lage mange snitt og få størst mulig utbytte av histologi og/eller immunhistokjemi.

#### *Forebygging og kontroll*

I besetninger med overveiende vertikal smitte, vil seropositive kviger/kyr kunne abortere, enkelte gjentatte ganger, eller i det minste overføre infeksjonen til neste generasjon (4). Enkelte har derfor anbefalt at man undersøker alle aktuelle dyr i besetningen serologisk for antistoffer mot *N. caninum*, og at man fortrinnsvis sjalter ut de seropositive, for å redusere andelen smittede dyr og risikoen for nye aborter. Nyere undersøkelser tyder imidlertid på at dyr som har en medfødt infeksjon, er mindre utsatt for å abortere enn seronegative dyr som smittes horisontalt, dvs. med oocyster fra hund (22). Besetninger med få/ingen seropositive dyr vil derfor kunne bli ekstra hardt rammet av aborter, dersom de kommer i kontakt med oocyster fra hund. For å unngå smitte fra hundefeces, bør hunder ikke få gjøre fra seg på arealer som brukes til grovfôrproduksjon eller beite til storfe, eller i fôr- og strølager inne. Hunder bør heller ikke ha tilgang til aborterte fostre, etterbyrd og dødfødte kalver, for å unngå at de blir smittet og skiller ut oocyster.

Etter det vi kjenner til, er arbeidet med å lage en vaksine for å hindre infeksjon av mor eller foster, ikke kommet særlig langt, men immunterapi av moren kan bli en mulighet i fremtiden. Det finnes foreløpig ingen effektiv medikamentell forebygging eller terapi mot neosporose hos storfe. I forsøk på mus har både toltrazuril og ponazuril kunnet hindre formeringen av tachyzoitene (33), men det er for tidlig å si om disse medikamentene vil få noen anvendelse mot naturlige infeksjoner hos storfe.

#### **Undersøkelser for *Neospora caninum* hos storfe i Norge**

Vi vet ennå svært lite om utbredelsen og skadevirkningen av *N. caninum* i den norske storfepopulasjonen. Abortfrekvensen hos oss er lav sammenlignet med mange av våre naboland, og ligger rundt 1% av antall kalvinger. "Abortion storms" forekommer sjelden i Norge, og når de forekommer, faller mistanken ofte på smitte med bovint virusdiarévirus (BVD-virus). Tre instanser har hittil uavhengig av hverandre undersøkt et begrenset antall storfe serologisk for forekomst av antistoffer mot *N. caninum*. Resultatene av disse undersøkelsene er gjengitt nedenfor og er oppsummert i Tabell 1.

#### *Undersøkelser av NRFs testingsstasjon på Særheim*

Veterinærkonsulenten ved NRFs testingsstasjon på Særheim, Klepp, tok i 1994 initiativet til å undersøke ni storfebesetninger på Jæren som hadde hatt abortproblemer. Det ble tatt serumprøver fra 13 abortkyr, som ble analysert ved SVA i Uppsala, for antistoffer mot *N. caninum*. En ku ble funnet positiv både ved hjelp av ELISA og IFAT (OH Fossen; upubliserte resultater). Denne kua aborterte i oktober 1994 nøyaktig fire måneder etter at den ble inseminert, men kua ble slaktet før svar på serumprøven forelå, slik at videre undersøkelser ikke var mulig. Det ble holdt hund på gården, og i tillegg fikk en nabo trene sine hunder på gårdens storfebeiter. I ettertid kan det imidlertid slås fast at infeksjon med BVD-virus ikke kan utelukkes som abortårsak hos denne kua.

I 1995 ble serumprøver av ytterligere 34 abortkyr fra 10 besetninger, tatt ut og analysert ved SVA i Sverige. Alle disse prøvene var negative for *N. caninum* (OH Fossen, upubliserte resultater).

#### *Undersøkelser av Veterinærinstituttet i Oslo*



I 1998 fikk Veterinærinstituttet (VI) i Oslo analysert tre serumprøver fra en besetning med abortproblemer ved SVA i Sverige. Alle tre prøvene var negative for antistoffer mot *N. caninum* (J Tharaldsen, personlig meddelelse). I løpet av 1999 og 2000 analyserte VI i Oslo selv serumprøver fra 376 kviger fra 306 besetninger ved hjelp av et kommersielt tilgjengelig ELISA-kit. Disse besetningene var fra forskjellige deler av landet og ble undersøkt i forbindelse med eksport av dyr til Irland. Kun ett dyr fra Jæren (i 1999) var positivt for antistoffer mot *N. caninum* (J Tharaldsen, upubliserte resultater).

#### *Undersøkelser av Veterinærinstituttet Sandnes*

Veterinærinstituttet i Sandnes fikk i 2000 undersøkt serumprøver av 324 storfe fra Vestlandet og Sørlandet for antistoffer mot *N. caninum* ved Liverpool School of Tropical Medicine, England. Serumprøvene hadde blitt sendt inn til VI Sandnes i perioden februar – april 1999 for BVD-analyser. Ved analysene i England ble det brukt en ELISA-test med oppgitt sensitivitet og spesifisitet på henholdsvis 95% og 96 % sammenlignet med resultatene ved bruk av IFAT (28). Åtte av de 324 dyrene (2,5%) var seropositive for *N. caninum*. Fem av disse kom fra to besetninger som hadde BVD, og ett av dyrene skilte ut BVD-virus.

Dessverre var man ved oversendelsen av prøver til England ikke klar over fluktuasjonene i antistofftiter hos aldersgruppen 13 – 24 måneder; om lag fjerdedelen av prøvene var fra nettopp denne aldersgruppen. Dette innebærer viss risiko for falske negative resultater, slik at den reelle seroprevalensen kan ha vært høyere

#### **Videre undersøkelser over neosporose hos storfe i Norge**

Det norske materialet er altfor lite til å kunne trekke noen bastante konklusjoner angående prevalens. Tar man utgangspunkt i at aborter forekommer relativt sjelden blant norske storfe, og at undersøkelsene så langt tyder på en ganske lav prevalens, kan man få inntrykk av at *N. caninum* er lite utbredt og gjør liten skade i Norge. Men man må være klar over at det er vanskelig å utrede skadeomfanget av en patogen som *N. caninum* i områder med lav prevalens. Det er derfor behov for mer omfattende og systematiske undersøkelser over seroprevalensen av *N. caninum* i Norge for å få oversikt over den virkelige betydningen av denne parasitten for norsk storfehold. Et alternativ til en systematisk kartlegging er at blodprøver som primært blir samlet inn for andre formål, også undersøkes for forekomst av antistoffer mot *N. caninum*. I tillegg til økt innsats for å undersøke abortfostre, bør kviger og kyr som aborterer, undersøkes serologisk for denne parasitten.

I forbindelse med at vi er veiledere for to veterinærstudenter som har valgt neosporose hos storfe som tema for sin fordypningsoppgave ved Norges veterinærhøgskole, ønsker vi å identifisere en eller flere besetninger hvor *N. caninum* finnes, for å kunne studere disse nærmere. Vi vil derfor oppfordre kolleger til å ta kontakt med en av forfatterne dersom man kjenner til besetninger hvor det har vært flere tilfeller av aborter eller mye omløp. Disse vil så bli undersøkt serologisk, og fulgt videre opp ved funn av *N. caninum*. Vi håper dermed at vi etter hvert kan bidra til å gi et svar på spørsmålet vi stilte innledningsvis.

#### **Summary**

##### **IS BOVINE NEOSPOROSIS OF ANY SIGNIFICANCE IN NORWAY?**

The paper gives a review of bovine neosporosis in general, and the serological evidence of neosporosis in Norwegian cattle. Despite the fact that *Neospora caninum* was originally described from dogs in Norway, we know relatively little about the prevalence and importance of this parasite in Norwegian cattle, and very little research has been performed on bovine neosporosis in Norway so far. To the authors' knowledge, it has not yet been proved that *Neospora caninum* has been the cause of abortions in cattle in Norway. Since 1994, only

750 serum samples taken for different reasons from cattle of different ages have been analysed for antibodies against *N. caninum*. So far only 10 animals (1.3%) have been found to be seropositive.

## Referanser

1. Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd* 1984; 70: 271-4.
2. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 192: 1269-85.
3. Bjerkås I. og Dubey JP. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet Scand.* 1991; 32: 407-10.
4. Dubey JP. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1160-3.
5. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 1998; 28: 1473-8.
6. Thilsted JP, Dubey JP. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 1989; 1: 205-9.
7. Wouda W, Moen AR, Schukken YH. Abortion risk in progeny of cows that experienced a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 1998; 49: 1311-6.
8. Davison HC, Otter A, Trees AJ. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1683-9.
9. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 417-31.
10. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1996; 67: 1-59.
11. Williams DJ, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith RF et al. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitol* 2000; 121: 347-58.
12. Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2000; 30: 877-924.
13. Drake, B.L. and Head, J. R. Murine throphoblast cells can be killed by lymfokine activated killer (LAK) cells. *Journal of Immunology* 1989; 143: 9-14.
14. Hunt, J. S., Atherton, R. A and Pace, R. L. Differential responses of rat trophoblast cells and embryonic fibroblasts to cytokines that regulate proliferation and MHC Class I expression. *Journal of Immunology* 1990;145:184-190.
15. Anderson ML, Palmer CW., Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC et al. Evaluations of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 207: 1206-10.
16. Thurmond M, Hietala SK. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *Am J Vet Res* 1997; 58: 1381-5.
17. De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1647-57.
18. Ould-Amrouche A, Klein F, Osdoit C, Mohammed HO, Touratier A, Sanaa M, Mialot JP. Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet Res* 1999; 30: 531-8.

19. Mainar-Jaime RC, Thurmond MC, Berzal-Herranz B, Hietala SK. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet Rec* 1999; 145: 72-5.
20. Wouda W, Djikstar T, Kramer AMH, van Maanen C, Brinkhof JMA. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1677-82.
21. French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1691-1704
22. McAllister MM, Bjorkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 217: 881-7.
23. Thurmond MC, Hietala SK, Blanchard PC. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 44-9.
24. Anderson ML, Reynolds JP, Rowe JD, Sverlow KW, Packham AE, Barr BC et al. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 1169-72.
25. Jolley WR, McAllister MM, McGuire AM, Wills RA. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Vet Parasitol* 1999; 82: 251-7.
26. Waldeland H. Toxoplasmosis in sheep. Long-term epidemiological studies in four breeding flocks. *Acta vet scand* 1977; 18: 227-36.
27. Engeland IV, Waldeland H, Andresen Ø, Løken T, Bjørkman C, Bjerkås I. Reproductive failure in dairy goats: an epidemiological study in 22 herds. *Small Rumin Res* 1998; 30: 37-48.
28. Williams DJ, McGarry J, Guy F, Barber J, Trees AJ. Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. *Vet Rec* 1997; 140: 328-31.
29. Davison HC, French NP, Trees AJ. Herd-specific and age-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. *Vet Rec* 1999; 144: 547-50.
30. Wouda W, Brinkhof J, van Maanen C, de Gee AL, Moen AR. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: A comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998, 5: 711-16.
31. Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol* 1997; 83: 82-7.
32. Wouda W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet Q* 2000; 22: 71-4.
33. Gottstein B, Eperon S, Dai WJ, Cannas A, Hemphill A, Greif G. Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol Res* 2001, 87: 43-8.

Tabell 1. Oversikt over forekomst av antistoffer mot *Neospora caninum* i 750 serumprøver fra norske storfe undersøkt i perioden 1994-2000.

Prøvenes opphav	Antall serumprøver med antistoff mot <i>N. caninum</i>	Antall serumprøver uten antistoff mot <i>N. caninum</i>	Antall serumprøver totalt
Fra besetninger med abortproblemer	1	49	50

Fra besetninger uten abortproblemer	9	691	700
Til sammen	10	740	750

Tekst til Figur 1:

*Figur 1: Vevscyste av Neospora caninum fra hjernen av en hund. En relativt tykk cystevegg omslutter tallrike bradyzoiter. (Foto: Inge Bjerkås).*