

***Neospora caninum* hos köttdjur i Sverige**

Lena Westin

**Handledare: Camilla Björkman
Inst. för Kliniska Vetenskaper**

**Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet**

**Examensarbete 2007:61
ISSN 1652-8697
Uppsala 2007**

ABSTRACT

Neospora caninum is an intracellular parasite that was first recognized in dogs in 1984. The parasite is now one of the most commonly diagnosed infectious causes of abortion in cattle world wide. *N. caninum* is transmitted to cattle in two ways. They may be infected from eating food contaminated with oocysts from a definitive host or they may be infected in utero from an infected mother. The infection is transmitted efficiently from cow to her offspring and this can occur for generations. An infected fetus may be aborted but it is more common that the calf is born clinically healthy but chronically infected with *N. caninum*. Once the animal is infected it remains infected for life and the presence of antibodies against the parasite indicates infection.

In the year 2000 Swedish dairy cows were tested for antibodies against *N. caninum* and this resulted in an estimated seroprevalence of 2% in dairy cows. No such screening has been performed in beef cattle in the country. The purpose of this study was to test beef cattle in different parts of Sweden to investigate the seroprevalence of *N. caninum* antibodies in beef cattle.

Beef cattle sera collected within the bovine virus diarrhoea control program between November 2006 and May 2007 were analysed for presence of *N. caninum* specific antibodies by ELISA. Thirtyfive of 986 (3.6%) animals had antibodies to the parasite. The screening showed that *N. caninum* is well spread in Sweden though the prevalence appears to be low.

SAMMANFATTNING

Neospora caninum är en intracellulär parasit som upptäcktes första gången hos hund 1984. Parasiten är idag en av de vanligaste diagnostiserade orsakerna till abort hos nötkreatur i hela världen. *N. caninum* smittar nötkreatur på två sätt. Djuret kan bli infekterat genom att äta foder som kontaminerats med oocystor från en huvudvärd eller så infekteras de in utero från en infekterad moder. Infektionen överförs effektivt från en ko till hennes avkomma och detta kan fortgå i flera generationer. Ett infekterat foster kan aborteras men det är vanligare att kalven föds kliniskt frisk med kroniskt infekterad med *N. caninum*. När ett djur en gång blivit infekterat så förblir det infekterat livslångt och därmed indikerar närvaro av antikroppar mot parasiten infektion.

År 2000 testades svenska mjölkkor för antikroppar mot *N. caninum* vilket resulterade i en uppskattad seroprevalens på 2 % hos mjölkkor. Ingen liknande screening har utförts hos köttdjur i landet. Syftet med detta examensarbete var att testa köttdjur från olika delar av Sverige för att undersöka seroprevalensen av *N. caninum* antikroppar hos köttdjur i landet.

Serumprover som samlats för provtagning inom BVDV programmet mellan november 2006 och maj 2007 analyserades för närvaro av specifika antikroppar mot *N. caninum* med hjälp av ELISA. 35 av 986 (3,6 %) av djuren hade antikroppar mot parasiten. Screeningen indikerade att *N. caninum* är väl spridd i Sverige men prevalensen verkar vara låg.

INNEHÅLL

INLEDNING	4
Bakgrund.....	4
Livscykel.....	4
Epidemiologi.....	4
Patogenes	5
Hund.....	5
Nötkreatur	6
<i>Neospora</i> i Sverige.....	6
Diagnostik	7
SYFTE	8
MATERIAL OCH METODER	8
ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).....	8
Provurval.....	8
Utförande	9
Databehandling	9
RESULTAT	9
DISKUSSION.....	11
TACK TILL.....	13
REFERENSER	13

INLEDNING

Bakgrund

Neospora caninum är en encellig parasit som tillhör familjen Sarcocystidae (Urquhart, 1996). Parasiten är i stora delar av världen en av de vanligast diagnosticerade infektiösa orsakerna till aborter hos nötkreatur (Dubey et al, 1999). Före 1988 feldiagnosticerades *N. caninum* som *Toxoplasma gondii* på grund av de strukturella likheterna mellan parasiterna. *N. caninum* upptäcktes för första gången hos hundar med neurologiska symptom i Norge 1984 (Bjerkås et al, 1984).

Livscykel

N. caninum har en indirekt smittcykel med hund (McAllister et al, 1998) och prärievarg (Gondim et al, 2004) som de idag enda kända huvudvärdarna. Nötkreatur och flertalet andra djurslag kan fungera som mellanvärdar. Det är i nuläget inte helt klarlagt om människa kan infekteras av *N. caninum*. Låga nivåer av antikroppar har påvisats hos människa men man har aldrig hittat parasiten i human vävnad (Dubey et al, 2007).

Parasiten har tre infektiösa stadier: tachyzoiter, bradyzoiter och sporozoiter. Tachyzoiter och bradyzoiter finns i vävnader hos infekterade huvudvärdar såväl som mellanvärdar, medan sporozoiterna finns i oocystor som utsöndras i osporulerad form via huvudvärdens avföring (Lindsay et al, 1999, Dubey et al, 2002). Man vet inte hur länge oocystorna överlever i miljön (Dubey et al, 2007). Tachyzoiterna kan infektera olika typer av celler vilket inkluderar bland annat nervceller, endotelceller, myocyter, hepatocyter, njurceller, alveolära makrofager samt placentala trophoblastceller (Dubey et al, 2002). Bradyzoiter replikerar långsamt inuti vävnadscystor vilka kan variera i storlek beroende av hur många bradyzoiter de innehåller (Dubey et al, 2002).

En huvudvärd infekteras av parasiten genom att äta vävnad som innehåller cystor (Dubey et al, 2006a). En viktig infektkälla för hundar är sannolikt när de får möjlighet att äta placenta från infekterade kor (Fioretti et al, 2003, Dubey et al, 2006a).

Mellanvärdar och huvudvärdar blir infekterade genom att deras mat eller vatten är kontaminerad med avföring från en huvudvärd (Mc Allister et al, 1998), alternativt så smittas de transplacentalt från sin infekterade moder (Björkman et al, 1996).

Epidemiologi

Det är klarlagt att nötkreatur är den huvudsakliga mellanvärderna för *N. caninum* (Innes et al 2002). Infekterade djur bär på smitta livet ut och de utvecklar aldrig fullständig skyddande immunitet mot parasiten (Innes et al, 2002).

Smittöverföring hos nötkreatur kan ske på två sätt. De kan smittas genom att få i sig oocystor från en huvudvärd, exempelvis genom intag av faeceskontaminerad

föda eller vatten (Mc Allister et al, 1998, Dubey et al, 2007). Den andra smittvägen är transplacental överföring, från en smittad individ till hennes avkomma, vilket kan ske i flera generationer (Fioretti, 2003). Infektionen kvarstår livslångt hos den infekterade individen och smittöverföring kan ske under kons alla följande dräktigheter (Björkman et al, 1997). Detta innebär att smittan kan finnas kvar i infekterad besättning i många år utan att en huvudvärd behöver vara inblandad (Innes et al, 2002). Den transplacental överföringen av smitta från en infekterad ko till hennes foster är den dominerande smittvägen hos nötkreatur (Paré et al, 1996, Dubey et al, 2007).

Den infekterade kon kan abortera från dräktighetsmånad tre och fram till sen dräktighet, men den vanligaste perioden är under dräktighetsmånad fem eller sex. Fostren kan dö *in utero*, resorberas, mumifieras, autolyseras, födas döda, födas med kliniska symptom alternativt utan kliniska symptom men kroniskt infekterade (Wouda, 1998).

Upp till 95 % av levande födda kalvar från seropositiva kor föds kliniskt friska men persistent infekterade. Kons ålder, laktationsnummer eller tidigare aborter verkar inte påverka frekvensen av kongenital smittöverföring (Paré et al, 1996). Andra studier motsäger delvis detta då man sett att en ung smittad individ överför vertikal smitta effektivare än äldre kor (Wouda et al, 1998). I en studie av Wouda et al, 1998 såg man att det var möjligt för en seropositiv ko att föda en seronegativ kalv. I samma studie sågs även att i fall med tvillingar så föddes båda tvillingarna antingen seropositiva eller seronegativa vilket indikerar att det snarare är maternella faktorer än fetala som avgör om smittan överförs till avkomman (Wouda et al, 1998)

En ko med primärinfektion av *N. caninum* är mer benägen att få reproduktionsstörningar och abortera än en ko som är kroniskt infekterad. Detta tyder på att infektion ger en viss skyddande immunitet (McAllister et al, 2000) Den immunitet som utvecklas är dock inte tillräcklig för att fullständigt skydda mot transplacental överföring av (Innes et al, 2002)

Det finns idag inget läkemedel eller verksamt vaccin mot neosporainfektion. Det finns ett inaktiverat vaccin tillgängligt i vissa delar av världen (Romero et al, 2004) men i fältstudier har dess effektivitet visat sig variera (Dubey et al, 2007).

Patogenes

Hund

Huvudvärdarna hund och prärievarg kan smittas av *N. caninum* genom att de äter vävnad som innehåller parasiter från en infekterad mellanvärd. En hund som infekterats av *N. caninum* börjar utsöndra oocystor efter cirka 8 dagar och fortsätter med detta i flera dagar (McAllister et al, 1998, Dubey et al, 2007). I nuläget vet man inte hur frekvent huvudvärden utsöndrar oocystor, men man har sett att det kan ske vid mer än ett enstaka tillfälle (Mc Garry et al, 2003).

N. caninum kan ge upphov till allvarliga sjukdomssymptom hos hund i form av neurologiska störningar hos främst valpar. De allvarligaste symptomen ses hos

kongenitalt infekterade individer. Tachyzoiter kan hittas i många olika organ, men cystor ses vanligast i CNS (Dubey, 1999).

Nötkreatur

Nötkreatur kan infekteras med *N. caninum* genom att de får i sig infekterat material eller oocystor (Gondim et al, 2004). Tachyzoiterna kommer ut i blodomloppet och under den följande parasitemin sprids parasiterna ut i kroppens organ inklusive den dräktiga livmodern (Okeoma et al, 2004).

När en besättning primärinfekteras av *N. caninum* är risken stor att den drabbas av en abortstorm, medan det i en kroniskt infekterad besättning snarare sker sporadiska aborter (Wouda et al, 1997). Hos ett dräktigt nötkreatur som är persistent infekterat med *N. caninum* tror man att en reaktivering sker av vävnadscystor så att bradyzoiter frisätts. Sannolikt så möjliggörs reaktiveringen av att det sker en nedreglering av det cellmedierade immunförsvaret i mitten av kons dräktighet (Innes et al, 2002). Abortering av fostret kan ske som följd av detta, men de mekanismer som styr själva aborten är idag okända (Dubey et al, 2006).

Hos aborterade foster hittar man lesioner i hjärna och hjärta som kan vara tillräckligt allvarliga för att ha orsakat fosterdöd. Man har dessutom sett att en *N. caninum* infektion sätter igång en frisättning av pro-inflammatoriska cytokiner och ger ett Th-1 typ immunsvaret vid den materno-fetala ytan, vilket i sig kan vara skadligt för dräktigheten (Innes et al 2002).

Förutom aborter har kliniska symptom endast setts hos kalvar som är yngre än 4 månader gamla. Symptomen består då av neurologiska störningar, oförmåga att resa sig samt låg födelsvikt. En neurologisk undersökning kan avslöja ataxi, nedsatt patellarreflex och förlust av medveten proprioception. Exophthalmus eller ett assymetriskt utseende på ögonen och ibland medfödda defekter som ex hydrocephalus och avsmalning av ryggraden har också iakttagits (de Merschman et al, 2005).

Neospora i Sverige

N. caninum finns över hela världen (McAllister,1998). I Sverige hittades parasiten för första gången hos hund 1989 (Uggla et al, 1989, Björkman et al, 1994) samt hos nötkreatur 1995 (Holmdahl et al, 1995).

År 2000 utfördes en studie i Sverige för att undersöka hur vanlig *N. caninum* är hos mjölkkor. Man fann då en seroprevalens på 2 % (Björkman et al, 2000).

Inom en smittad svensk besättning kan prevalensen av infekterade individer variera mellan 1 % och 65 % (Frössling, 2004).

I en studie där man jämförde smittläget i några europeiska länder (Bartels et al, 2006), så fann man bland annat att Spanien hade en prevalens på 16,2 % hos mjölkkor, medan Sverige i denna undersökning hade en prevalens på 0,5 %. Inom en smittad besättning sågs också skillnader. I Sverige var sällan mer än 10 % av djuren inom en besättning smittad medan samma siffra i Spanien låg mellan 50-100 % (Bartels et al, 2006).

Det har föreslagits att prevalensen är låg i Sverige på grund av låg prevalens av *N. caninum* hos hundar, vårt inhysningssystem för kor, klimatet och därmed foderförvaring inomhus eller en lägre virulens hos parasiten (Frössling, 2004). I Sverige ses framförallt en transplacent smittväg vilket också kan vara en förklaring den låga seroprevalensen i Sverige, jämfört med andra länder (Frössling, 2005).

Det har inte utförts några studier om seroprevalens hos svenska köttdjur.

Diagnostik

Om man kan påvisa specifika antikroppar mot *N. caninum* i serum eller mjölk så indikerar detta att djuret är infekterat (Björkman et al, 1999a).

Parasiten överförs mycket effektivt till fostret och kan finnas i aborterade foster och hos moderdjuret även i fall där *Neospora* inte orsakat aborten. Om maternellt serum, fostervätska och fostervävnad är *N. caninum* positiva i PCR eller serologi så kan aborten vara associerad med *N. caninum*, men det är viktigt att utesluta andra potentiella orsaker i detta skede (Dubey et al, 2006b).

Diagnos hos fostret kan ställas genom histopatologi. Degenerativa till inflammatoriska lesioner kan hittas i fostervävnad, främst i CNS, hjärta och lever men även i skelettmuskulatur (Dubey, 2006a). Fokala missfärgningar kan ibland ses på de fetala kotelydonerna. Encephalomyelit är det vanligaste fyndet hos kalvar som föds levande men som visar symptom på sjukdom (de Merschman et al, 2005). Om man hittar allvarliga skador i hjärna och hjärta hos fostret och tachyzoiter hittas i anslutning till dessa skador så kan man dra slutsatsen att *N. caninum* är en sannolik orsak till aborten (Wouda et al, 1997, Dubey, 2006b). Det är svårt att hitta och känna igen *N. caninum* tachyzoiter i en vanlig HE färgning (Dubey, 2006b). Immunohistokemi-färgning är en mer pålitlig metod för att påvisa parasiten i vävnadsprover (Boger et al, 2003).

Om man ska utreda abortproblem i en besättning så är det, förutom histopatologisk undersökning av aborterade foster, viktigt med serologisk undersökning av djuren. Man får då jämföra seropositiviteten hos korna och se om denna ligger högre hos aborterande kor än hos icke-aborterande kor. Om man hittar ett statistiskt signifikant samband mellan ett positivt antikroppssvar och abort så kan man dra slutsatsen att *N. caninum* med stor sannolikhet orsakat aborten. (Dubey, 2006b). Serologisk diagnos har fördelen att den kan utföras *ante mortem*. Nivåerna av cirkulerande antikroppar fluktuerar under djurets livstid och hamnar ibland under detektionsnivåerna för ett serologiskt test (Dubey, 2006a).

Serologiska test kan även användas för att mäta aviditet (funktionell affinitet) hos antikropparna. Man har sett att antikropparna hos ett djur som nyligen är infekterat med *N. caninum* har lägre bindningsstyrka än antikroppar som produceras senare. Aviditetstest kan därför användas för att skilja mellan ett nyligen infekterat och ett kroniskt infekterat djur (Björkman et al, 1999b).

Även PCR-analys kan användas för att påvisa *N. caninum* i blod, där man anser att parasiten sannolikt finns i leukocyterna (Okeoma et al, 2004).

SYFTE

Syftet med detta examensarbete var att få en uppfattning om hur vanlig *Neospora caninum* är hos köttrasdjur i Sverige.

MATERIAL OCH METODER

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

En så kallad iscom-ELISA har utvecklats för att detektera specifika antikroppar mot *N. caninum* i serum (Björkman et al, 1997). Testen har en hög sensitivitet och specificitet (99 % respektive 96 %; Frössling et al, 2003). Serumproverna pipetteras till brunnar i mikrotiterplattor coatade med icke-infektiösa *Neospora*-antigen som är inkorporerade i så kallade iscomer (immunostimulating complex). Om det finns *Neospora*-antikroppar i provet så binder dessa till parasitantigenerna. Man tillsätter ett HRP-konjugat som bildar ett komplex med de bundna antikropparna. Material som inte bundit till brunnen sköljes bort innan man sätter till en substratlösning. En blå färg bildas nu p.g.a. att substratet omvandlas av konjugatet. Ett positivt resultat indikeras med utveckling av blå färg. Denna reaktion stoppas genom tillsats av en stopplösning, och färgen ändras då från blå till gul. Resultatet avläses med spektrofotometer där den optiska densiteten (OD) läses av vid 450 nm.

Vid varje provomgång analyserades en positiv kontroll som används för att beräkna ett relativt OD-värde, ytterligare två positiva kontroller, en negativ kontroll samt en brunn med enbart spädningsvätska. Beräkningar av det relativa OD-värdet utföres genom att man först drar ifrån värdet för spädningsvätskan från prover och kontroller och sedan jämför provets OD med positiva kontrollens OD. Om detta värde var $\geq 0,20$ bedöms provet som positivt och om värdet understiger 0,20 bedöms det som negativt (Björkman et al, 1997).

Det finns en kommersiellt tillgänglig iscom-ELISA (*Neospora*-Ab, SVANOVIR®) som saluförs av SVANOVA Biotech AB, Uppsala.

Provurval

Varje år provtas ungdjur i svenska köttjursbesättningar inom ramen för BVDV programmet som koordineras av Svensk Mjolk. Beroende på hur många dikor besättningen har så provtas 1-10 individer över 12 månaders ålder i varje besättning. Proverna skickas till Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) för analys.

Under perioden 28 november 2006 till 29 maj 2007 har vart 10-15 prov som kom till SVA plockats ut för att användas till *Neospora*-analys, vilket resulterade i sammanlagt ca 3000 prover. Till detta examensarbete har var tredje av dessa prover tagits ut och därmed har cirka 1000 prover testats för förekomst av antikroppar mot *N. caninum*. Listor där det framgår i vilken besättning provet var taget samt besättningens postnummerområde erhöles från Svensk Mjolk.

Utförande

Serumproverna testades med hjälp av *Neospora*-Ab, SVANOVIR® enligt beskrivningen ovan. De späddes 100 gånger inför testningen. Som spädningssväska samt spolvätska användes PBS-Tween lösning som späddes ny varje dag.

När alla prover hade testats så visade det sig att en mycket stor andel av proverna var positiva vilket gjorde att man misstänkte att ett antal resultat var falskt positiva. Misstanken stärktes av att antalet positiva prov per platta hade ökat kraftigt när man fick testkit med ett nytt batch-nummer. Därför uppkom misstanken att denna nya batch gav ett högt antal falskt positiva provsvar. Av denna anledning beslutades att alla positiva prover skulle testas om med samma teknik men med ELISA-plattor och reagenser från SLU/SVA (Björkman et al, 1997, Frössling et al, 2007). Vid omtestningen av de positiva proverna analyserades varje serum som dubbelprov varefter ett medelvärde räknades ut. SVANOVA Biotech AB har senare konfirmerat att just denna batch av testen hade dålig specificitet, medan sensitiviteten var fortsatt hög.

Databehandling

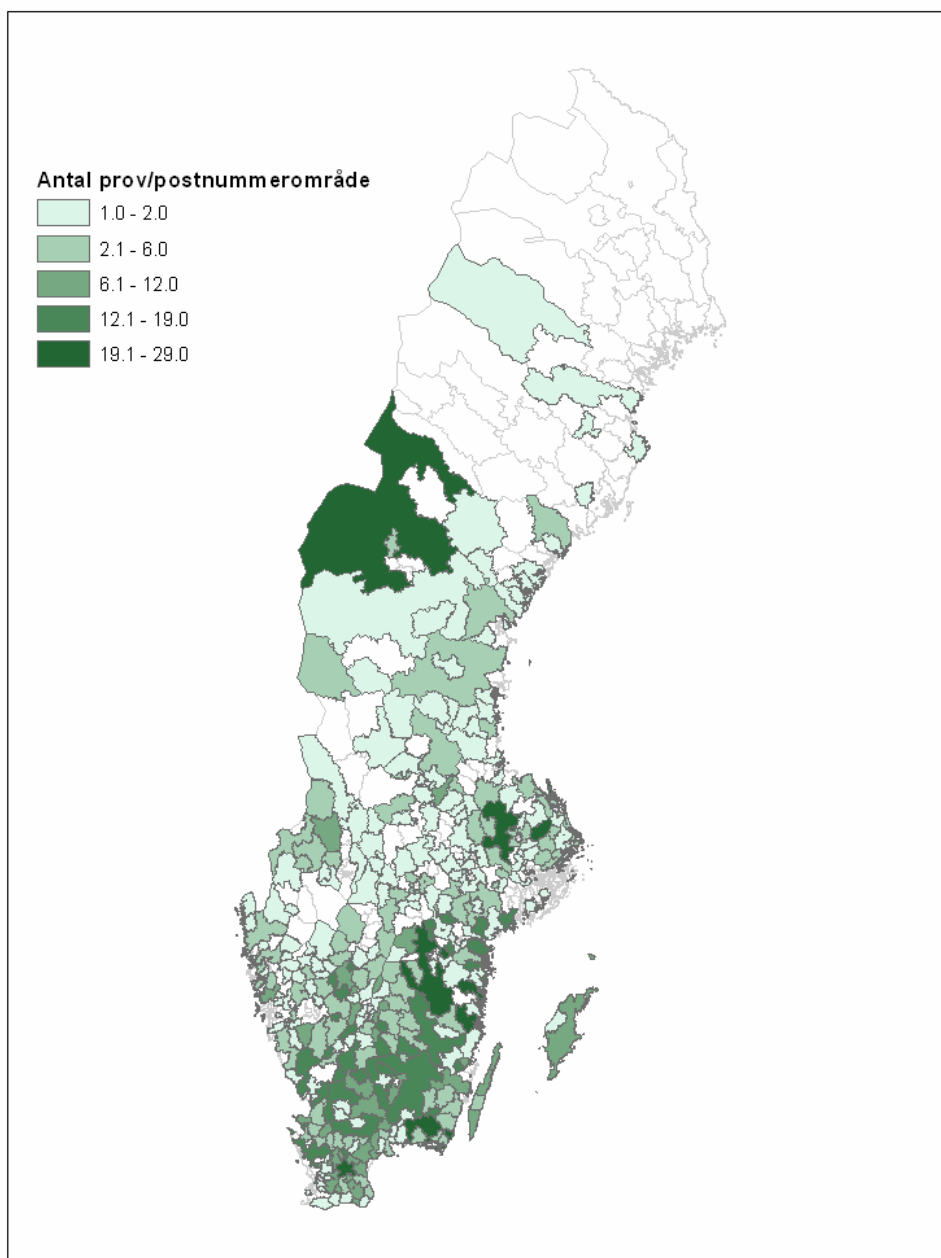
Alla OD-värden överfördes till en Excel-fil för beräkning av relativa OD-värden. Vidare databearbetning gjordes med Stata Statistical Software release 9.2 (Stata Corp., Collage Station, TX). Informationen från Svensk Mjök visade i vilken besättning proven var tagna samt postnummerområde där besättningen var belägen. De tre första siffrorna i postnummerområdet användes för att i dataprogrammet ArcView version 9.1 (ESRI Inc., Redlands, California, USA) åskådliggöra var i Sverige de provtagna djuren och djuren med positiva testresultat hörde hemma.

RESULTAT

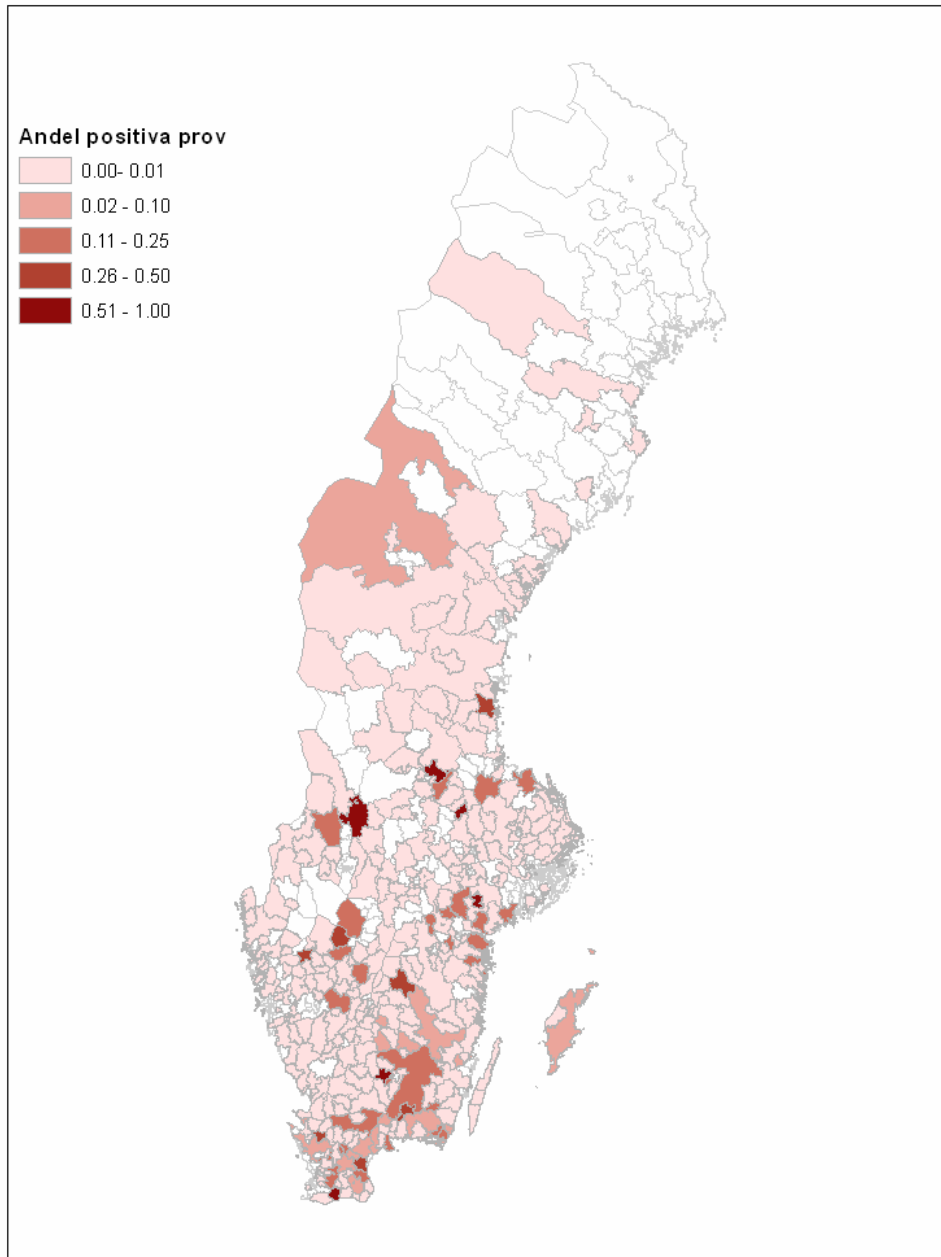
Sammanlagt analyserades 986 prover från 885 olika kött djursbesättningar (tabell 1) för förekomst av antikroppar mot *N. caninum*. Trettiofem av de 986 proverna, det vill säga 3,6 %, var positiva. Alla positiva prover kom från olika besättningar. Figur 1 och 2 visar från vilka delar av Sverige proverna är tagna samt i vilka områden i Sverige det påträffades seropositiva kött djur.

Tabell 1. Antal provtagna djur och besättningar.

Antal provtagna djur från samma besättning	Antal besättningar	Totalt antal provtagna djur
1	814	814
2	27	54
3	6	18
4	3	12
5	4	20
	Summa besättningar = 885 st	Summa prover = 986 st



Figur 1. Provernas geografiska ursprung i Sveriges olika postnummerområden (de tre första siffrorna)



Figur 2. De positiva provernas ursprung i Sveriges olika postnummerområden (de tre första siffrorna)

DISKUSSION

Denna studie resulterade i 3,6 % seropositiva djur vilket är högre än vad som sågs vid den undersökning som utfördes år 2000, då man fann att 2 % av Sveriges mjölkkor var seropositiva mot *N. caninum* (Björkman et al, 2000).

Som framgår i Figur 1 så inte hela Sverige representerat vilket gör att resultaten får tolkas med viss försiktighet. Det hade varit önskvärt med fler prover från Västra Götaland, Skåne och Jönköping eftersom detta är köttjurstata län (http://www.sjv.se/webdav/files/SJV/Amnesomraden/Statistik%2C%20fakta/Husdjur/JO20/JO20SM0602/JO20SM0602_tabeller1.htm, 2007-12-01). I en nyligen genomförd undersökning baserad på tankmjölk fann man en tendens till högre prevalens *Neospora*-infekterade mjölkbesättningar i ett område i mellansverige (Frössling et al, 2007). I min studie ser de seropositiva köttjure inte ut att vara koncentrerade i något särskilt område i Sverige, men endast ett fåtal djur ingick från just den del av landet där man fann en hög andel infekterade mjölkbesättningar. Denna studie belyser snarare hur spridd *N. caninum* är i Sverige.

Det bör uppmärksammas att antalet djur som ingår i denna studie är relativt lågt och därför endast ger en indikation om den sanna prevalensen av *Neospora*-infektion hos svenska köttjur. Ett positivt testresultat kan betyda allt från att det finns ett smittat djur i besättningen till att hela besättningen är smittad. Man har sett att prevalensen seropositiva kor i en infekterad besättning kan variera mellan 1 % och 65 % (Frössling, 2004). Ett negativt testresultat från en besättning behöver inte heller betyda att hela besättningen är fri från smitta.

Slutsatsen efter detta försök är att seroprevalensen av *N. caninum* verkar var låg i Sverige även hos köttjur. Som jämförelse kan nämnas att den uppskattade seroprevalensen hos köttjur i Spanien är 6 %, i Tyskland 4 % och i Nederländerna 13 % (Bartels et al, 2006).

En *Neospora*-infekterad ko löper en till två gånger högre risk att abortera än en oinfekterad ko (Wouda et al, 1998). Om man har en låg prevalens djur som är seropositiva för *Neospora* i en besättning så behöver därför de ekonomiska konsekvenserna inte bli så stora. Man ska dock vara medveten om att infektionen kan spridas vidare i besättningen om man avlar på seropositiva djur vilket kan leda till en allmänt högre abortfrekvens jämfört med en frisk besättning. Av denna anledning bör man vara uppmärksam på smittläget i den egna besättningen. Det bästa är naturligtvis att motverka att få in smittan genom att skydda foder från att kontamineras av hundavföring. Det är också bra om man så snabbt som möjligt tar undan och destruerar aborterade foster och fosterhinnor så att potentiella huvudvärdar inte får en chans att komma åt detta (Frössling, 2004). För att skydda sin besättning bör man även provta nyrekryterade djur innan de sätts in i avel. Man kan också provta djur som ska rekryteras till besättningen (Frössling, 2004).

Om man har problem med aborter bör djuren provtas och djur som är seropositiva samt deras avkommor bör på sikt slås ut (Innes et al, 2002).

Embryotransfer kan användas, om man har en värdefull *Neospora* positiv ko i sin besättning, för att undvika att föra infektionen vidare till nästa generation. Det är då viktigt att provta mottagaren av embryot för att säkerställa att hon är seronegativ (Dubey et al, 2007).

I andra länder som drabbats hårdare av *N. caninum* så diskuteras vaccination mot parasiten. Detta känns inte som ett alternativ i Sverige i dagsläget då seroprevalensen är så låg bland våra nötkreatur och hundar. Vi bör istället använda ovan nämnda åtgärder för att bibehålla infektionen på denna låga nivå.

TACK TILL...

Jag vill tacka Camilla Björkman som har ställt upp och hjälpt mig i alla lägen och som med sin positiva inställning varit ett stort stöd under hela processen. Jag vill även tacka Katarina Näslund för hjälp komma igång med testningen och för ett snabbt iordningsställande av nya ELISA-plattor när testningen inte gick som vi tänkt oss. Sist vill jag även tacka Jenny Frössling för hjälp med kartorna.

REFERENSER

- Bartels CJM, Arnaiz-Seco JI, Ruiz-Santa-Quitera A, Björkman C, Frössling J, vonBlumröder D, Conraths FJ, Schares G, vanMaanen C, Wouda W, Ortega-Mora LM. 2006. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. *Veterinary Parasitology* 137, 17-27.
- Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 70, 271-274.
- Björkman C, Lunden A, Uggla A. 1994. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. *Acta Veterinariae Scandinavica* 35, 445-447.
- Björkman C, Holmdahl OJM, Uggla A. 1997. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. *Veterinary Parasitology* 68, 251-260.
- Björkman C, Uggla A, 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *International Journal for Parasitology* 29, 1497-1507.
- Björkman C, Näslund K, Stenlund S, Maley SW, Buxton D, Uggla A. 1999b. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11, 41-44.
- Björkman C, Alenius S, Emanuelsson U, Uggla A. 2000. *Neospora caninum* and Bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *The Veterinary Journal* 159, 201-206.
- Boger LA, Hattel AL. 2003. Additional evaluation of undiagnosed bovine abortion cases may reveal fetal neosporosis. *Veterinary Parasitology* 113, 1-6.
- DeMarez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. 1999. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *International Journal for Parasitology* 29, 1647-1657.

- De Meerschman F, Focant C, Detry J, Rettinger C, Cassart D, Losson B. 2005. Clinical, pathological and diagnostic aspects of congenital neosporosis in a series of naturally infected calves. *The Veterinary Record* 157, 115-118.
- Dubey JP, 1999. Neosporosis - the first decade of research. *International Journal of Parasitology* 29, 1485-1488.
- Dubey JP et al. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *International Journal for Parasitology* 32, 929-946.
- Dubey JP, Buxton D, Wouda W. 2006a. Pathogenesis of bovine neosporosis. *Journal of Comparative Pathology* 134, 267-289.
- Dubey JP, Schares G. 2006b. Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology* 140, 1-34.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 323-367.
- Fioretti DP, Pasquali P, Diaferia M, Mangili V, Rosignoli L. 2003. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *Journal of Veterinary Medicine B* 50, 399-404.
- Frössling J. 2004. *Epidemiology of Neospora caninum infection in cattle. Evaluation of diagnostic tests and herd studies. Doctoral thesis.* Swedish university of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Frössling J, Bonnet 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, Notvedt A, Björkman C. 2007. Spatial analysis of results from a national bulk milk survey of *Neospora caninum* in Swedish dairy herds. In: *Proceedings of the Annual Meeting for the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, March 28-30 2007. Espoo, Finland. 63-71.
- Frössling J, Uggla A, Björkman C. 2005. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Veterinary Parasitology* 128, 209-218.
- Gondim LFP, McAllister MM, William CP, Zemlicka DE. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology* 34, 159-161.
- Holmdahl OJM, Björkman C, Uggla A. 1995. A case of *Neospora* associated bovine abortion in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36, 279-281.
- Innes EA, Andrianarivo AG, Björkman C, Williams DJL, Conrad PA. 2002. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends in Parasitology* 18, 497-504.
- Lindsay DS, Upton SJ, Dubey JP, 1999. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *International Journal for Parasitology* 29, 1521-1523.
- Mc Allister MM, Björkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG. 2000. Evidence of point source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a

- herd of beef cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 217, 881-887.
- McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Willis RA, McGuire AM. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology* 28, 1473-1478.
- McGarry JW, Stockton CM, Williams DJL, Trees AJ. 2003. Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by naturally infected Foxhound. *The Journal of Parasitology* 89, 628-630.
- Okeoma CM, Williamson NB, Pomroy KM, Gillespie SL. 2004. The use of PCR to detect *Neospora caninum* DNA in the blood of naturally infected cows. *Veterinary Parasitology* 122, 307-315.
- Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. 1996. Congenital *N. c.* infection in dairy cattle and associated calfood mortality. *Canadian Journal of Veterinary Research* 60, 133-139.
- Romero JJ, Perez E, Frankena K. 2004. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Veterinary Parasitology* 123, 149-159.
- SJV-Jordbruksverket. Hemsida. [Online](2006) Tillgänglig: <http://www.sjv.se/amnesomraden/djurveterinar/djurmarkningcdbochovrigadjurrregister/cdbinternet/statistik.html> [2007-12-01]
- Uggla A, Dubey JP, Lundmark G, Ohlsson P. 1989. Encephalomyelitis and myositis in a boxer puppy due to a *Neospora*-like infection. *Veterinary Parasitology* 32, 255-260.
- Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. 1996. *Veterinary parasitology*. 2nd edition. Blackwell science ltd.
- Wouda W, Moen AR, Visser IJR, vanKnapen F. 1997. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart and liver. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, 180-185.
- Wouda W, Moen AR, Schukken YH. 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49, 1311-1316.