



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för anatomi, fysiologi och
biokemi

Neonatal mortalitet hos valp

Linda Rasmus

*Uppsala
2018*

Neonatal mortalitet hos valp

Neonatal mortality of the puppy

Linda Rasmus

Handledare: *Elisabeth Persson, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

Examinator: *Maria Löfgren, institutionen för biomedicin och veterinär hälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kurskod: EX0700

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2018:69

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *neonatal mortalitet, hund, dystoki, bakterier, colostrum*

Key words: *neonatal mortality, dog, dystocia, bacteria, colostrum*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

| | |
|---|----|
| Sammanfattning | 1 |
| Summary | 2 |
| Inledning | 3 |
| Material och metoder | 3 |
| Litteraturoversikt..... | 4 |
| Allmänt om neonatal mortalitet hos hund | 4 |
| Faktorer som påverkar neonatal mortalitet | 5 |
| <i>Ras och tiken</i> | 5 |
| <i>Valpens kroppsvikt</i> | 5 |
| <i>Kullen</i> | 6 |
| <i>Dystoki</i> | 6 |
| <i>Virus</i> | 6 |
| <i>Bakteriella infektioner</i> | 7 |
| <i>Bakteriella agens</i> | 7 |
| <i>Septikemi</i> | 8 |
| Motverka neonatal mortalitet | 8 |
| <i>Kliniska parametrar</i> | 8 |
| <i>Neonatal adaption efter födsel</i> | 8 |
| <i>APGAR-score</i> | 9 |
| <i>Laktat- och glukoskoncentrationer</i> | 9 |
| <i>Amnionvätska</i> | 10 |
| <i>Neonatal immunitet</i> | 10 |
| <i>Hjärtlungräddning</i> | 11 |
| Diskussion | 12 |
| Litteraturförteckning | 14 |

SAMMANFATTNING

Med neonatal mortalitet menas valpar som dör inom de första 28 levnadsdagarna. Nyfödda valpar är mycket sårbara och är helt beroende av omhändertagande av tiken eller människan. Faktorer som bidrar till neonatal mortalitet är kopplade till individen, tiken och miljön. Denna uppsats fokuserar på att redogöra för de främsta orsakerna till neonatal mortalitet hos hund samt presentera åtgärder som kan vidtas för att förebygga eller minska mortaliteten.

Neonatal mortalitet är hög hos hundar jämfört med flera andra däggdjur. De flesta av dödsfallen sker under de första levnadsveckorna. Flera av valpens kroppsfunctioner är omogna vid födseln och valpens tillväxt och mognad är avgörande för överlevnad. Tillräckligt intag av colostrum är viktigt för bildningen av passiv immunitet. Därför är den främsta sysselsättningen för valpen under de första dyggen att dia.

De två främsta orsakerna till neonatal mortalitet hos hund är dystoki (valpningssvårigheter) och bakteriella infektioner. Dystoki är vanligt hos hundar och då dör de flesta valpar av syrebrist. Valpens utvecklade immunförsvar gör den mera utsatt för infektiösa patogener. Bakterier som förekommer hos tiken eller i miljön utgör en stor risk för valpen. Andra faktorer som har visats vara kopplade till neonatal mortalitet är låg födelsevikt, ras, ålder på tik, stor kullstorlek, virus och kongenitala defekter.

Det finns olika sätt att förebygga eller minska risken för neonatal mortalitet. Undersökning av tiken under dräktigheten och en säker miljö vid valpningen ger en bra grund för en frisk valp. Om en valp har problem med andningen eller låg hjärtfrekvens efter födseln är det viktigt att påbörja hjärtlungräddning. De första viktiga åtgärderna är att förebygga hypotermi, hålla valpen torr och stimulera andning genom att gnugga valpen försiktigt vilket minskar risken för att valpen får hjärtstillestånd. Det finns vissa parametrar som kan undersökas efter valpens födsel för att bedöma den nyföddes hälsotillstånd. Detta är ett bra sätt att avgöra vilka valpar som kräver specialbehandling för att överleva. Parametrar som kan användas är APGAR-score (analyserar de viktigaste vitala funktionerna hos nyfödda) samt laktat-, kortisol- och glukoskoncentrationer från blod/amnionvätska. Flera studier visar att dessa parametrar kan förutsäga när valpar har en ökad risk för neonatal mortalitet.

För att minska förekomsten av neonatal mortalitet hos hund är dock mer forskning nödvändig för bättre förståelse av de främsta orsakerna och vilka åtgärder som kan vidtas för att förebygga eller förutse dödsfallen.

SUMMARY

Neonatal mortality means puppies who die within the first 28 days of life. Newborn puppies are extremely vulnerable and depend completely on caretaking by the bitch or the human. Factors that contribute to neonatal mortality are linked to the individual, the bitch and the environment. This essay focuses on explaining the main causes of neonatal mortality in dogs, as well as presenting measures that can be taken to prevent or reduce neonatal mortality.

Neonatal mortality is high in dogs compared to several other mammals. Most of the deaths occur during the first weeks of life. Several of the puppy's body functions are immature at birth and the puppy's growth and maturity are crucial for survival. Adequate intake of colostrum is important for the development of passive immunity. Therefore, the main activity of the puppy during the first weeks is to nurse.

The two main causes of neonatal mortality in dogs are dystocia and bacterial infections. Dystocia is common in dogs and most of the puppies die of asphyxia. The puppy's undeveloped immune system makes it more vulnerable to infectious pathogens. Bacteria that occur in the bitch or in the environment pose a great threat for the puppy. Other factors that have been shown to be associated with neonatal mortality are low birthweight, breed, age of the bitch, big litter size, viruses and congenital defects.

There are different ways to prevent or reduce the risk of neonatal mortality. Examination of the bitch during the pregnancy and a safe environment at parturition provide a good basis for a healthy puppy. If a puppy has problems with breathing or has a low heart rate at birth, it is important to start resuscitation. The first important measures are to prevent hypothermia, keep the puppy dry and stimulate breathing by rubbing the puppy gently which reduces the risk of cardiac arrest. There are certain parameters that can be checked after the birth of the puppy to determine the newborns health-status. This is a good way to identify the puppies which require special treatment to survive. Parameters that can be used are APGAR-score (analyzes important vital functions of the newborn) as well as lactate, cortisol and glucose concentrations from blood/amniotic fluid. Several studies show that these parameters can predict when puppies have a higher risk of neonatal mortality.

However, to reduce the prevalence of neonatal mortality, more research is needed for better understanding of the main causes and which measures that can be taken to prevent or predict deaths.

INLEDNING

Neonatal mortalitet definieras som dödsfall som sker under de första 28 levnadsdagarna. Med tidig neonatal mortalitet menas död inom de första sju levnadsdagarna. Den neonatala mortaliteten hos hund har i vissa studier till och med visats vara över 30 % varav över 90 % avled inom den första levnadsveckan (Mila *et al.*, 2014). Orsaker till den höga neonatala mortaliteten hos hund är faktorer hos valpen, tiken, omgivningen och problem i samband med födseln (Tønnessen *et al.*, 2012). Dystoki och bakteriella infektioner anses vara de två största orsakerna till perinatal mortalitet hos valpar. Perinatal mortalitet innebär fosterdöd och tidig neonatal mortalitet (död inom de första sju dagarna). Mortalitet inom de första 24 h har ansetts vara korrelerat med hypoglykemi, uttorkning och hypotermi (Vassalo *et al.*, 2015). Den höga neonatala mortaliteten kan även bero på lång förlossningstid, tikens dåliga omhändertagande av valpen, colostrumbrist och kongenitala fel.

Valpar är mycket sårbara efter födseln jämfört med flera andra däggdjursungar och är totalt beroende av tiken (Indrebø *et al.*, 2007). Valpar är dåliga på att reglera värme och drabbas därför ofta av hypotermi. De har svårt för att hålla värmen på grund av att de inte kan darra eller inducera vasokonstriktion (Silva *et al.*, 2009). De har även mycket lite subkutant fett. Valpars njurar är inte färdigutvecklade och därför är uttorkning vanligt förekommande. Kortisolproduktionen i fostret ökar mot slutet av dräktigheten (Bonte *et al.*, 2017). Kortisol ger snabb mognad av organsystemen och bland annat stimuleras produktion av lung-surfaktant som motverkar bildning av atelektas och Respiratory Distress Syndrome hos valpen.

Fading Puppy Syndrome (FPS) beskriver en nyfödd frisk valp som efter några dagar får kliniska symptom såsom dålig tillväxt, minskad aktivitet och oförmåga att dia (Ranjan, 2010). Orsaker kan bestå av stress, genetiska defekter, infektioner och otillräckligt colostrumintag.

Denna litteraturstudie inriktas på att utreda de vanligaste orsakerna till neonatal mortalitet hos hund. Arbetet kommer utöver detta att fokusera på sätt att motverka och förutse neonatal mortalitet, med inriktning på relevanta neonatala kliniska parametrar samt betydelsen av neonatal immunitet och hjärtlungräddning.

MATERIAL OCH METODER

I litteratursökningen har jag använt mig av databaserna PubMed, Web of Science, Scopus och Google Scholar för att hitta relevanta artiklar. Jag använde samma sökord i alla databaser.

Sökord jag använde:

- neonatal mortality AND canine
- neonatal mortality AND dog
- neonatal mortality AND pupp*

LITTERATURÖVERSIKT

Allmänt om neonatal mortalitet hos hund

Den neonatala mortaliteten under de tre första levnadsveckorna kan variera från 7 % till över 30 %, vilket illustreras i Tabell 1. En fyraårig studie gjord i Frankrike inkluderade 204 537 valpar och mortaliteten inom de två första månaderna var endast 6 % (samt ytterligare 7,4 % fosterdöd) (Chastant-Maillard *et al.*, 2017a). Detta är en mycket låg mortalitet jämfört med flera andra studier.

Största delen av dödsfallen sker inom den första levnadsveckan. I en studie av Mila *et al.* (2014) skedde 91,8 % av dödsfallen under de första sju dagarna. Ytterligare en studie (Mila *et al.*, 2015) visade att 34,9 % (37/106) av valparna dog under de två första levnadsdagarna. Författarna till en tredje studie med 744 valpar (Indrebø *et al.*, 2007) rapporterar att 64 % av dödsfallen skedde under de tre första dagarna. Orsakerna till neonatal mortalitet hänger ofta ihop med sårbarheten hos den nyfödda valpen och faktorer kring födseln vilket förklarar varför andelen dödsfall nära födseln är högt.

I en storskalig studie (58 439 valpar, 224 hundraser) studerades perinatal mortalitet (Tønnessen *et al.*, 2012). Total perinatal mortalitet för den gruppen var 24,6 % för alla kullar och 9,2 % av kullarna drabbades endast av tidig neonatal mortalitet. Perinatal mortalitet förekom hos 82,6 % av alla 224 raserna.

Av all neonatal mortalitet i en studie utgjordes 18,5 % av Fading Puppy Syndrome (FPS) och 35,2 % av dessa dödsfall relaterades till tillväxtproblem (Gill, 2001). Vid FPS, där valpen föds frisk men inom några dagar får symptom och ”förtvinar” bort, anser Gill det vara logiskt att största delen av dödsfallen beror på tillväxtproblem (i detta fall oavsett näringstillgång).

Tabell 1. Neonatal mortalitet hos hund enligt olika studier under två olika tidsramar (1 och 3 veckor) efter födelsen

| Studie | Mortalitet (%) | Tidsram |
|--------------------------------|----------------|----------|
| Mila <i>et al.</i> , 2014 | 31,3 | 3 veckor |
| Mila <i>et al.</i> , 2015 | 20,6 | 3 veckor |
| Indrebø <i>et al.</i> , 2007 | 6,9 | 3 veckor |
| Vassalo <i>et al.</i> , 2015 | 14,4 | 1 vecka |
| Tønnessen <i>et al.</i> , 2012 | 3,7 | 1 vecka |

Faktorer som påverkar neonatal mortalitet

Kongenitala defekter utgör en del av neonatala dödsfall där största delen föds levande men dör/avlivs inom de första dyggen (Gill, 2001). I en studie utförd av Nielen *et al.* (1998) utgjorde kongenitala defekter 14,9 % av dödsfallen.

Ras och tiken

Vissa raser har större benägenhet för neonatal mortalitet. Stora hundraser (irländsk varghund, leonberger, labrador retriever, newfoundlandshund) visades ha större risk för att dödsfall orsakas av trauma efter födseln på grund av att tiken, till exempel, trampar på valparna (Indrebø *et al.*, 2007). Inom de tidigare nämnda raserna dog sju (av 744 födda) 0-2 veckor gamla valpar av trauma orsakat av tiken. Traumaskador syns som blödningar, ödem och benfrakturer hos valpen (Lamm & Njaa, 2012).

Den ras som fick högst procent tidig neonatal mortalitet i Tønnessens studie var rhodesian ridgeback (11,6 %), därefter douge de bordeaux (10,4 %) och tredje högst var dalmatiner (8,8 %) (Tønnessen *et al.*, 2012). Raserna som hade 0 % tidig neonatal mortalitet var basenji och tibetansk terrier. Proportionerna av total tidig neonatal mortalitet var 3,3 % på miniatyraser och 3,7 % på stora raser. Författarna anser att anatomiska, fysiologiska och genetiska skillnader mellan raser är troliga orsaker till skillnaderna i mortalitetsprocenten.

Ytterligare en faktor är att åldern på tiken har visats vara kopplad till neonatal mortalitet (Tønnessen *et al.*, 2012). Tikar som var 8 år hade den högsta perinatala mortaliteten (13,4 %) och tikar i 2-årsåldern hade den lägsta (7,1 %). Motsägande till det hävdar Gill (2001) i sin studie att ingen korrelation mellan ålder på tiken och neonatal mortalitet upptäcktes. Dock fanns ett samband mellan antal dräktigheter tiken tidigare haft och ökande perinatal mortalitet. Valpkullar från tikar som hade genomgått en eller två dräktigheter hade lägst (15,3 %) perinatal mortalitet.

Valpens kroppsvikt

Medelvärdet av kroppsvikten vid födseln har visats vara mycket lägre hos valpar som dog under första veckan än hos valpar som var vid liv vid 8-veckors ålder (Indrebø *et al.*, 2007). Största kopplingen till dödsfall under de tre första dagarna var låg kroppsvikt. Mycket låg eller ingen mjölkproduktion uppfattades i fyra av kullarna och i en av dessa kullar dog sex av valparna till följd av svält.

Under de första 24 h efter födseln studerades 789 valpar för eventuell korrelation mellan födelsevikt och neonatal mortalitet (Groppetti *et al.*, 2015a). Valpar som dog inom 24 h hade en lägre födelsevikt än valparna som överlevde och författarna anser att man skall fokusera tidig behandling på valpar med låg födelsevikt.

Mila *et al.* (2015) genomförde en studie på 514 valpar. 81,1 % av de 37 valpar som dog under de två första dagarna hade en låg födelsevikt (lägsta 25 % kroppsviktmässigt inom sin rasstorlek). Från tre till 21 dagar efter födseln, då 477 valpar var vid liv var mortaliteten 38,5 % (52/135) hos valpar med långsam tidig tillväxthastighet och 5,0 % (17/342) för valpar som

hade en snabbare tidig tillväxthastighet. Dock påverkas tillväxthastigheten av flera faktorer som bör tas i beaktande, t.ex. näringsintag, vilket inte ingick i studien.

Kullen

Det har visats att perinatal mortalitet är kopplad till kullstorlek (Tønnessen *et al.*, 2012). Den högsta perinatala mortaliteten (19,9 %) fanns i kullar som innefattade 12 eller fler valpar. Douge de bordeaux har visats kunna ha en kullstorlek i medeltal på 8,1 valpar och för dalmatiner var det 8,4 valpar medan rhodesian ridgeback hade den största kullstorleken i medeltal med 8,9 valpar (Tønnessen *et al.*, 2012). Dessa raser har visats ha hög tidig neonatal mortalitet, alltså kan man se en trend mellan stor kullstorlek och neonatal mortalitet. Däremot fann Groppetti *et al.* (2015a) i deras studie att det inte fanns en koppling mellan kullstorlek och neonatal mortalitet under de första 24 h. Risken för neonatal mortalitet ökade dubbelt för valpar som hade dödfödda syskon i samma kull (Tønnessen *et al.*, 2012). Mila *et al.* (2015) beskriver en studie gjord på 514 valpar där valparnas födelsevikt visade sig variera med kullstorlek. I stora kullar hade 37,1 % av valparna låg födelsevikt och 12,4 % hög födelsevikt. I små kullar hade 8,6 % låg födelsevikt och 50,6 % hög födelsevikt.

Dystoki

Dystoki betyder svårighet att föda ett foster och kan vara till följd av maternella eller fetala faktorer. Största delen av dödsfallen som sker inom de första 24 h är kopplade till faktorer kring födseln eller till följd av dystoki (Groppetti *et al.*, 2015a). Dystoki har visats kunna vara en dominerande orsak till neonatal mortalitet hos små raser såsom chihuahua, dvärgtax och silkytterrier (Gill, 2001). I studien utförd av Groppetti *et al.* (2015a) var 33 % av den neonatala mortaliteten kopplad till dystoki. I studien av Gill från år 2001 ingick 2143 valpar (15 olika raser och 500 kullar) där 35,6 % av alla tikar drabbades av dystoki och 24,4 % av den perinatala mortaliteten kunde kopplas till dystoki. Kvävning var orsaken till 42,5 % av all neonatal mortalitet och 82,2 % av dessa var fosterdöd eller död inom de första 24 h. Vid dystoki befinner sig valpen en längre tid i livmodern eller förlossningsvägarna och har försämrad tillgång till syre/måste påbörja andningen senare. Detta utgör en stor risk för kvävning. Födseln tar överlag lång tid hos hundar och kvävning anses vara den vanligaste orsaken till perinatal död hos valpar (Veronesi, 2016).

Virus

I USA är herpesvirus den vanligaste virala orsaken till neonatal mortalitet (Lamm & Njaa, 2012). Infektionsöverföring kan ske i livmodern eller vid födseln och valpen kan dö i livmodern eller under tre veckor efter födsel. Andra virus som kan orsaka neonatal mortalitet är Canine minute virus (parvovirus typ-1), Canine parvo virus typ-2 och Canine distemper virus (Davidson, 2003). Experimentellt har Canine parvo virus typ-2 orsakat myokardit hos neonatala valpar men det är en ovanlig diagnos att ställa under naturliga förhållanden. Canine distemper virus kan passera placentan och orsakar därmed kongenitala defekter.

Neonatal infektion av Canine herpesvirus kan orsaka septikemi eller död och valpar som överlevt infektionen har visats få neurologiska eller kardiologiska defekter (Verstegen *et al.*, 2008). Valpar som överlevt infektionen kan också vara bärare av viruset utan symtom och kan under puberteten börja utsöndra viruset.

Bakteriella infektioner

Bakteriella infektioner är, enligt vissa studier, den andra största orsaken, efter dystoki, till neonatal mortalitet hos hund (Meloni *et al.*, 2014). Bakteriella infektioner sprids till valpen under dräktigheten, vid födseln eller efter födseln. Post-mortemstudier är essentiella för att identifiera bakterier som orsakar neonatal mortalitet.

I Holland studerades 302 boxervalpar som dog vid födseln eller under den neonatala perioden och de undersöktes post-mortem (Nielen *et al.*, 1998). Största orsaken till mortalitet (33,8 %) var infektiösa patogener, där de mest förekommande var bakterierna *E. coli* och *B. bronchiseptica*. Andra största orsaken (21,9 %) var icke-infektiösa faktorer såsom malnutrition och kvävning.

Bakteriella agens

Vertikal infektion av *E. coli* är den mest förekommande infektionen för valpar (Münnich & Küchenmeister, 2014; Meloni *et al.*, 2014). Identiska *E. coli* kan hittas i vaginal utsöndring från tiken och hos valparna. Valparna kan även infekteras via tikens avföring som innehåller bakterien. Valpars tarmepitel är mera permeabelt för *E. coli* än hos en vuxen hund. Andra bakterier som har isolerats post-mortem på valpar är *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, haemolytisk *E. coli*, *Proteus mirabilis*, β -haemolytic streptococci, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus pseudointermedius*, *Bacillus* och *Streptococcus faecalis* (Meloni *et al.*, 2014).

Meloni *et al.* (2014) påvisar i sin studie att av 214 bakteriologiska provtagningar (51 valpar) var 101 (47,2 %) av proverna positiva (bakteriell kolonitillväxt efter inkubation). Det var 27 av 51 valpar (52,9 %) som dog av en bakterieinfektion orsakad av en ensam bakterie. *E. coli* var involverad i 15 av fallen. Vid histologiundersökning upptäcktes att lungorna var det mest drabbade organet och pneumoni, nekros och ödem syntes i lungorna.

Guard *et al.* (2017) undersökte fekala bakterier hos valpar vid 2, 21, 42 och 56 dagar efter födseln. *Clostridium* utgjorde 10 % av sekvenserna hittade vid dag 2 men utgjorde endast 1 % vid resten av provtagningsdagarna. Författarna tror att resultatet beror på ändringen till en mindre anaerob miljö för bakterien efter valparnas födelse. Enligt qPCR-data var antalet *E. coli* signifikant högre vid dag 2 och 21 jämfört med dag 42. *Lactobacilli* hade vid dag 21 ökat 100 gånger i distala colon på valparna. Mjölks innehåller *Lactobacilli* och konsumtion av mjölk under de första veckorna leder till den höga förekomsten av denna bakterie. Vid dag 56 hade största delen av valparna liknande fekalt mikrobiom som tikarna med dominans av Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria och Proteobacteria vilka hjälper matsmältningen och nedbrytningen av näringsämnen.

Alla åtta grand danois-valparna i en studie utförd av Vela *et al.* (2006) dog neonatalt. Två valpar som hade dött 72 h efter födseln undersöktes post-mortem. Studien visar den första isoleringen av *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* hos hund. Bakterien hittades i alla organ (lungor, lever, mjälte, thymus, hjärna) i båda valparna och är därför den troliga orsaken till dödsfallen. Författarna konstaterar dock att endast 2/8 valpar i kullen undersöktes och

ytterligare studier måste göras för att benämna denna bakterie som en orsak till neonatal mortalitet.

Septikemi

Septikemi, alltså infektion som spridits till blodomloppet, är ett mycket allvarligt systemiskt tillstånd. Enligt sammanfattning av Davidson (2003) har *Escherichia coli*, betahemolytiska streptokocker, mykoplasma och ureaplasma visats orsaka septikemi hos neonatala valpar.

I en studie utförd av Schäfer-Somi *et al.* (2003) deltog 46 tikar och deras valpar avlidna på grund av septikemi. 38 av tikarna hade inga kliniska symptom (grupp 1) medan åtta tikar hade kliniska symptom av mastit (grupp 2). Från tikarna i grupp 1 var det 25 valpar och åtta valpar från tikarna i grupp 2 som dog av septikemi under första levnadsveckan. Mjölksprov från tikarna togs samt bakterieprov från de döda valparna. Bara hos fyra av de 33 valpar som dog av septikemi kunde samma bakterier isoleras från valpen och tikens mjölk, varav tre tikar hade klinisk akut mastit och en hade subklinisk mastit. Resultaten visar att av de isolerade bakterierna i mjölken och från organen på de döda valparna var det endast *E. coli*, *K. pneumoniae* och β -haem. *Streptococcus* sp. som fanns i båda. Dessa bakterier anses ha orsakat septikemin hos valparna och det bedömdes troligt att de hade infekterats via mjölken.

Motverka neonatal mortalitet

Veterinär rådgivning och fysisk hälsogranskning under dräktigheten är essentiella för att motverka neonatal mortalitet (Davidson, 2003). Rätt utfodring av tiken samt minimerad exponering för patogener med en säker valpningsbox och -miljö är relevant. Vid dystoki kan man hjälpa tiken genom administrering av kalcium och oxytocin, förutsatt att förlossningsvägarna är öppna. Kalcium ökar styrkan på myometriell aktivitet och oxytocin ökar kontraktionerna.

Kliniska parametrar

Neonatal adaption efter födsel

Av alla neonatala förändringar är lungutvecklingen den viktigaste (Vannucchi *et al.*, 2012). Valpen måste andas själv för att få tillgång till syre, vilket tidigare skedde via placentan. Vid Respiratory Distress Syndrome hos nyfödda valpar visades brist på lung-surfaktant och man såg alveolär kollaps (Manktelow & Baskerville, 1972).

Livmoder- och bukkontraktionerna vid en förlossning orsakar hypoxi hos valpen (Vannucchi *et al.*, 2012). Blodflödet till fostret minskar vilket leder till minskning av PO₂ i fostrets blod. Hypoxi stimulerar produktion av lung-surfaktant och lever-/matsmältningsenzymer men en långvarig hypoxi kan skada valpen. Hypoxi kan ge upphov till bradykardi och minskad andningsfrekvens. Vannucchi *et al.* (2012) skriver i sin sammanfattning om neonatal adaption efter födsel. Direkt efter födseln har valpar visats lida av acidosis. De hade lågt pH och hög koldioxidhalt. Alltså var acidosen både metabolisk (låg bikarbonatkoncentration) och respiratorisk (hög PCO₂). Detta balanserades inte genast när valparna började sin andning och därför led valparna av acidosis efter födseln. Vid dystoki förekommer ofta bradykardi som ytterligare förvärrar metabolisk acidosis och stress hos valpen.

APGAR-score

APGAR-score analyserar de viktigaste vitala funktionerna hos nyfödda under de första minuterna och är en hjälp för att beräkna vilka valpar som behöver behandling (Vannucchi *et al.*, 2012). APGAR-score används över hela världen inom humanmedicinen (Veronesi, 2016). Fem parametrar studeras hos människa direkt efter födsel, 1 min efter födsel och 5 min efter födsel. Parametrarna är: A är appearance, P är pulse, G är grimace, A är attitude och R är respiration. I studier av hund väljs liknande parametrar som är enkla att undersöka utan komplicerade mätinstrument. Alla parametrar ges en siffra mellan noll och två och slutsumman blir mellan noll och tio. Det finns tre klasser; om summan är under 3 är hälsan kritisk, mellan 4 och 6 är hälsan låg och mellan 7 och 10 är hälsan normal.

APGAR-score mättes i studien av Veronesi *et al.* (2009) inom 5 min efter födseln och valparna bedömdes enligt den mänskliga klassificeringen. De flesta av de valpar som dog hade en APGAR-score mellan ett och tre. Ingen valp med APGAR-score mellan 7 och 10 dog inom 24 h. Alla valpar med APGAR-score 1-6 gavs veterinärmedicinsk behandling för att öka deras chans till överlevnad. I gruppen med kritisk hälsa dog tre valpar efter 20 minuters återupplivningsförsök. Där APGAR-score 4-6 förelåg var behandlingen lyckad för 15 av 17 valpar.

APGAR-score är ofta låg för nyfödda valpar men blir bättre inom några timmar (Vassalo *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2009). Detta illustrerar att valpen adapterar sig snabbt till sin omgivning. Valpar födda genom kejsarsnitt har ofta lägre APGAR-score än vaginalt födda. Det sker normalt en minskning i kroppstemperatur under första timmen efter födseln och omgivningstemperaturen är därmed viktig under de första timmarna (Silva *et al.*, 2009). Nästan alla valpar föds enligt ovan med hypoxi. Sammanfattningsvis tyder låg APGAR-score vid födseln på att förflyttningen till ett liv utanför uterus orsakar en depression av vitala funktioner (Lúcio *et al.*, 2009).

Låg APGAR-score anses vara kopplad till neonatal mortalitet (Mila *et al.*, 2017). Under 8 h efter födseln undersöktes 347 valpar. Inom dessa första 8 h dog 10 valpar. Studien visade en korrelation mellan låg APGAR-score (< 6) och mortalitet inom 8 h efter födseln. 22 % (6/27) av valparna som hade APGAR-score under 6 dog.

Laktat- och glukoskoncentrationer

Laktat är en komponent i metabolisk acidosis som bildas när valpen lider av hypoxi och då syra ackumuleras (Groppetti *et al.*, 2010). I denna studie undersöktes laktatnivåer via navelsträngen. Laktatkoncentrationen var mycket högre ($12,2 \pm 6,7$ mmol/L) hos de valpar som dog under de första 48 h jämfört med nivåerna ($6,55 \pm 3,3$ mmol/L) för valparna som överlevde. Studien bestämde 5 mmol/L som en gräns mellan frisk valp och valp i nödläge. Laktatnivåerna var högre hos valpar som föddes vaginalt jämfört med valpar som föddes via kejsarsnitt.

Lúcio *et al.* (2009) undersökte blodgasparametrar hos valpar som föddes normalt, under dystoki och under dystoki med oxytocinadministration. Blodprov togs vid födseln och ytterligare 5 och 60 min efter födsel. Vid födseln hade valparna acidosis liksom efter 60 min. Den oxytocinbehandlade gruppen hade lägre värden vid födseln avseende bikarbonatkoncentration och TCO_2 (total mängd CO_2 i kroppen) jämfört med gruppen som föddes normalt. Denna grupp hade även

högsta PO₂ vid födseln, vilket indikerar snabb igångsättande av lungaktiviteten. Efter en timme hade alla grupper en signifikant ökning i pH och en minskning i PCO₂. I oxytocingruppen fanns det även en ökning i bikarbonatkoncentration och TCO₂.

Valpar visades i en studie ha höga laktatnivåer (en indikator för vävnadshypoxi) och lågt pH vid födseln men redan efter 60 minuter hade laktatnivåerna minskat vilket författarna anser indikera återhämtning från hypoxin vid födsel (Vassalo *et al.*, 2015). Koldioxidnivåerna var högre för valpar födda genom kejsarsnitt vilket tyder på att valparna hade andningsproblem. Glukosnivåerna vid 60 min efter kejsarsnitt var låga. Det förklarar författarna är beroende av att valparna inte diat omedelbart på grund av operationen. Valparna med < 40 mg/dL glukos hade låg APGAR-score och dåliga reflexer. Valpar med låg födelsevikt hade lägre glukosnivåer och högre laktatnivåer än de som hade normal födelsevikt.

Glukoskoncentrationen var enligt Mila *et al.* (2017) i medeltal 88 mg/dl hos valpar som dog mellan dag ett och 21 jämfört med 120 mg/dl hos valpar som var vid liv dag 21. Denna studie hittade däremot inga skillnader i laktatkoncentration mellan de valpar som dog och de levande valparna.

Amnionvätska

Prover på laktat, glukos och kortisol togs från amnionvätskan på 95 valpar i en studie gjord av Groppetti *et al.* (2015b). Inom de första 48 h dog 11 av valparna. Glukosvärdena var låga hos de valpar som dog inom 48 h, 14 mg/dl hos döda valpar och 20 mg/dl hos levande. Den nyfödda är beroende av leverglykogen och efter 8-12 h har det mesta genomgått glykolys och valpen måste nu få sitt glykogen via näringen, annars drabbas valpen lätt av hypoglykemi. Alla tre parametrarna var högre vid vaginal födsel än vid kejsarsnitt. Författarna anser att vaginal födsel orsakar större stress och längre hypoxi hos valpen vilket förklarar de höga nivåerna laktat och kortisol medan ett tidigt diande kan vara förklaringen till glukosnivåerna.

Bolis *et al.* (2017) mätte kortisolvärden i allantois- och amnionvätska vid kejsarsnitt. Valpar som dog under de första 24 h hade en högre kortisolkoncentration i amnionvätskan jämfört med valpar som var vid liv vid 24 h.

Neonatal immunitet

Colostrum är en specifik sekretion från mjölkkörtlarna under de två första dagarna post-partum och den är mycket essentiell för valpars överlevnad (Chastant-Maillard *et al.*, 2017b). Colostrum innehåller energi, viktiga näringsämnen och är enda källan för immunglobuliner för den nyfödda samt deltar i magtarmkanalens mognad. Den spelar en stor roll i bildandet av den passiva immuniteten. Colostrum är även av betydelse för tarmens skydd via IgA, lysosymer, laktoferrin, vita blodkroppar och olika cytokiner. Transport av IgG från tarmen till blodflödet är essentiellt för valpens överlevnad och därför är diandet av colostrummjolk viktigt att följa med. Colostrum innehåller ett stort antal olika hormoner t.ex. kortisol, insulin, tyroxin, tillväxthormoner och olika tillväxtfaktorer.

IgG-nivåerna i mjölken har visats minska med 50 % inom 24 timmar efter födseln (Chastant-Maillard *et al.*, 2017b). Immunoglobulinklassen G visades vara dominerande. Colostrum innehöll i deras studie 60 % IgG, 35–40 % IgA och 5 % IgM medan IgE inte var detekterbar.

IgG absorberas via tarmlumen med hjälp av FcRn-receptorer och fritt mellan enterocyterna. Tarmväggen börjar dock snabbt differentieras genom utveckling av stavbräm och bildning av tight-junctions mellan enterocyterna. Detta begränsar IgG-upptaget och därför är diandet under de första timmarna viktigt. Tarmbarriären är stängd 12-16 timmar efter födseln. Stängningen av tarmbarriären minskar antalet patogener som penetrerar tarmväggen och kommer till blodcirkulationen. Gränsvärdet för passiv immuntransport för valpar var 2,3 g IgG/L serum vid tvådagars ålder och neonatal mortalitet låg på 44 % för valpar som hade en koncentration under värdet jämfört med 4.9 % för valpar som låg över gränsvärdet (Mila *et al.*, 2014).

Enligt Chastant-Maillard *et al.* (2012) var IgG-koncentrationen i valparnas blod endast 0,3 g/l innan colostrumintag, vilket är endast 1,5 % av IgG-koncentrationen efter 48 h. IgG-absorptionen minskade med 50 % redan vid 4 h.

Hjärtlungräddning

I vanliga fall tar tiken hand om valpen efter födseln, hon exempelvis avlägsnar fosterhinnor och håller den varm. Hjärtlungräddning skall påbörjas om valpen inte andas, låter eller rör på sig inom en minut efter födseln eller om tiken inte tar hand om valpen (Davidson, 2014). Det omfattar fyra olika områden; värme, luftvägar, andning och cirkulation (Traas, 2008).

Valpen bör torkas med handduk och gnuggas för stimulans av andningen (Traas, 2008). Hypotermi försämrar respons på hjärtlungräddning eftersom det förvärrar bradykardi, vävnadshypoxi och metabolisk acidosis.

För att fria luftvägarna skall man avlägsna fosterhinnemembran runt ansiktet och nos/svalg skall sugas rent från slem (Traas, 2008). Det kan även finnas mekonium i andningsvägarna. Om valpen har problem med andningen och man befinner sig på klinik kan syremask med tryck 20-30 cmH₂O ges i 3 sekunder så att bröstväggen expanderar. Om masken inte är tillräcklig kan valpen intuberas. Då skall ventilering ske med 30-60 cmH₂O tryck så att lungorna expanderas varefter 30 stycken en sekund långa andetag/min med 10 cmH₂O-tryck uppehålls. Vid intubering är det bra att använda laryngoskop på grund av valpens otroligt små luftvägar (Moon *et al.*, 2001).

Valpar kan ha sänkt hjärtfrekvens på grund av en normalt förekommande hypoxi och då förbättras hjärtfrekvensen ofta efter syretillförsel (Traas, 2008). Om hjärtfrekvensen fortfarande är låg efter syretillförseln skall man utföra kompressioner (1-2 tryck/s) lateralt på bröstkorgen med tumme och pekfinger.

Som sista återupplivningsförsök kan man administrera läkemedel via jugular- eller umbilikalvenen. Epinefrin (adrenalin) är det vanligaste preparatet för användning vid neonatalt hjärtstillestånd (Moon *et al.*, 2001). Läkemedel kan även injiceras direkt i benmärgen (femur/tibia). Om ingen respons ses efter 15–20 min eller vid upptäckt av en seriös kongenital defekt bör återupplivningsförsöken upphöras (Davidson, 2014).

DISKUSSION

Nyfödda valpar är på grund av sina omogna organ och immunförsvar mycket utsatta för faror eller brister i miljön, näringsintaget och metabolismen. Neonatal mortalitet hos hund kan vara mycket hög men det finns stora variationer i resultaten mellan olika studier som kan bero på miljön, omständigheterna, mänsklig insats, smittryck, osv. Största delen av dödsfallen sker under den första levnadsveckan vilket belyser att en stor del av dödsfallen är kopplade till faktorer kring födseln. Neonatal mortalitet hos hund ger upphov till förluster, både individmässigt och ekonomiskt, som skulle kunna minskas genom forskningsinsatser som åskådliggör orsaker och förebyggande åtgärder.

Neonatal mortalitet är svår att sammanfatta på grund av att det finns stor variation av potentiella orsaker. Dystoki bidrar stort till neonatal mortalitet, speciellt kvävning som medföljer av dystoki. Bakterier medverkar också genom att valpen kan infekteras på flera ställen; i livmodern, under födseln eller efter födseln. Andra orsaker är låg födelsevikt, ålder på tik och stor kullstorlek. Valpar som föds med låg födelsevikt har större risk att dö under den neonatala perioden och därför lönar det sig att väga de nyfödda. Genom detta urskiljs de valpar som har större risk att dö och man kan hålla ett extra öga på dem. Angående ålder på tik och stor kullstorlek finns det även motsägande studier och därför benämner jag inte dem som primära orsaker. I vissa studier upptäcktes skillnader i mortalitet mellan raser men det kan mycket väl vara den individuella genetiken snarare än beroende på rasen och därför krävs ytterligare forskning kring det.

För att motverka neonatal mortalitet är hälsogranskning av valpen väsentlig. För att minimera risken för bakteriella infektioner eller utveckling av septikemi krävs en säker miljö liksom snabba ingripanden vid dystoki. APGAR-score är en snabb och enkel metod där ägaren själv kan avgöra vilka valpar som kräver behandling. Det vore troligen ytterst lönsamt att utbilda uppfödare till att använda sig av APGAR-score. Svenska Kennelklubben (SKK) har en uppfödarutbildning som innefattar ”hunduppfödning”, ”inför valpkullen”, ”valpkullen är här” och ”valparna flyttar” (SKK, 2018). Det kunde vara värdefullt att inkorporera APGAR-score i liknande utbildningsprogram. Blodprov eller provtagning av amnionvätskan kräver tillgång till djurvårdspersonal och är vanligen inte möjligt för ägaren att utföra men om det är tillgängligt ger det fördjupad information om vad som händer i valpens kropp. Det krävs mera studier för att definiera vilka parametrar som är mest relevanta för bedömning av neonatal mortalitet utöver redan kända såsom laktat, kortisol och glukos. Höga värden av laktat och kortisol indikerar hypoxi och stress medan låga glukosvärden tyder på dåligt näringsintag.

Colostrumintag är ytterst viktigt eftersom det bidrar med både näring och immunitet som ger valpen ett bra utgångsläge för tillväxt och bekämpning av patogener. Det kan möjligen finnas en koppling mellan lågt colostrumintag och infektioner och därför är det viktigt att djurägare upplyses om betydelsen av colostrum. Tidigt diande är viktigt eftersom absorptionen i tarmen minskar snabbt efter födseln. Den nyfödda valpen skall dessutom torkas, hållas varm och luftvägarna frigöras. Vid behov är hjärtlunggräddning mycket värdefullt att kunna utföra och skolning av valpuppfödare i den tekniken skulle kunna minska frekvensen dödsfall som sker direkt efter födseln.

Studierna som redovisas i denna litteratursammanställning är utförda utanför Sverige och det skulle vara intressant om det utfördes studier av förekomst och orsaker till neonatal mortalitet i Sverige. Förekommer samma problem i Sverige? Sverige har bra veterinärvård, omfattande vaccineringsprogram och lågt smittryck och kan därför förväntas skilja sig från andra länder. För framtiden anser jag att forskning med syfte att ta fram motsvarigheter till hundens colostrum skulle vara synnerligen relevant. En ytterligare följdfråga är hur man kan minska förekomsten av dystoki. Varför är det ett så stort problem hos hund? Spelar rasaveln och avelsmålen en roll i detta och hur ser framtiden ut? Avslutningsvis kan man konstatera att neonatal mortalitet är ett relevant problem hos hundar men som det finns ypperliga möjligheter att förebygga.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Bolis, B., Prandi, A., Rota, A., Faustini, M. & Veronesi, M.C. (2017). Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns. *Theriogenology*, 88:264-269.
- Bonte, T., Del Carro, A., Paquette, J., Charlot Valdieu, A., Buff, S. & Rosset, E. (2017). Foetal pulmonary maturity in dogs: Estimated from bubble tests in amniotic fluid obtained via amniocentesis. *Reproduction in Domestic Animals*, 52:1025-1029.
- Chastant-Maillard, S., Freyburger, L., Marcheteau, E., Thoumire, S., Ravier, J.F. & Reynaud, K. (2012). Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, 47:190-193.
- Chastant-Maillard, S., Aggouni, C., Albaret, A., Fournier, A. & Mila, H. (2017b). Canine and feline colostrum. *Reproduction in Domestic Animals*, 52:148-152.
- Chastant-Maillard, S., Guillemot, C., Feugier, A., Mariani, C., Grellet, A. & Mila, H. (2017a). Reproductive performance and pre-weaning mortality: Preliminary analysis of 27, 221 purebred female dogs and 204, 537 puppies in France. *Reproduction in Domestic Animals*, 52:158-162.
- Davidson, A.P. (2003). Approaches to Reducing Neonatal Mortality in Dogs. I: Concannon, P.W., England, G., Verstegen, J. & Linde-Forsberg C. (red), *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. New York: International Veterinary Information Service, A1226-0303. Tillgänglig: ResearchGate. [2018-02-12]
- Davidson, A.P. (2014). Neonatal resuscitation: improving the outcome. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 44:191-204.
- Gill, M. (2001). *Perinatal and late neonatal mortality in the dog*. Diss. Sydney: The University of Sydney.
- Groppetti, D., Pecile, A., Del Carro, A.P., Copley, K., Minero, M., Cremonesi, F. (2010). Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology*, 74:1187-1196.
- Groppetti, D., Martino, P.A., Ravasio, G., Bronzo, V. & Pecile, A. (2015b). Prognostic potential of amniotic fluid analysis at birth on canine neonatal outcomes. *Veterinary Journal*, 206:423-425.
- Groppetti, D., Ravasio, G., Bronzo, V. & Pecile, A. (2015a). The role of birth weight on litter size and mortality within 24h of life in purebred dogs: What aspects are involved?. *Animal Reproduction Science*, 163:112-119.
- Guard, B.C., Mila, H., Steiner, J.M., Mariani, C., Suchodolski, J.S. & Chastant-Maillard, (2017). S. Characterization of the fecal microbiome during neonatal and early pediatric development in puppies. *PLoS ONE*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175718>
- Indrebø, A., Trangerud, C. & Moe, L. (2007). Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, doi: 10.1186/1751-0147-49-S1-S2. 2018-02-05
- Lamm, C.G. & Njaa, B.L. (2012). Clinical approach to abortion, stillbirth, and neonatal death in dogs and cats. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 42:501-513.
- Lúcio, C.F., Silva, L.C., Rodrigues, J.A., Veiga, G.A., Vannucchi, C.I. (2009). Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. *Reproduction in Domestic Animals*, 44:208-210.

- Manktelow, B.W. & Baskerville, A. (1972). Respiratory distress syndrome in newborn puppies. *Journal of Small Animal Practice*, 13:329-332.
- Meloni, T., Martino, P.A., Grieco, V., Pisu, M.C., Banco, B., Rota, A. & Veronesi, M.C. (2014). A survey on bacterial involvement in neonatal mortality in dogs. *Veterinaria Italiana*, 50:293-299.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., Rossig, L. & Chastant-Maillard, S. (2014). Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine*, 116:209-213.
- Mila, H., Grellet, A., Feugier, A. & Chastant-Maillard, S. (2015). S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*, 93:4436-4442.
- Mila, H., Grellet, A., Delebarre, M., Mariani, C., Feugier, A. & Chastant-Maillard, S. (2017). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine*, 143:11-20.
- Moon, P.F., Massat, B.J. & Pascoe, P.J. (2001). Neonatal critical care. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 31:343-365.
- Münnich, A. & Küchenmeister, U. (2014). Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: cornerstones of practical approach. *Reproduction in Domestic Animals*, 49:64-74.
- Nielen, A.L., Van der Gaag, I., Knol, B.W. & Schukken, Y.H. (1998). Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *The Veterinary Record*, 142:602-606.
- Ranjan, A. (2010). Fading puppy syndrome: An overview. *Veterinary Practitioner*, 11:171-173.
- Schäfer-Somi, S., Spergser, J., Breitenfellner, J. & Aurich, J.E. (2003). Bacteriological status of canine milk and septicaemia in neonatal puppies-a retrospective study. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 50:343-346.
- Silva, L.C., Lúcio, C.F., Veiga, G.A., Rodrigues, J.A. & Vannucchi, C.I. (2009). Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment after normal birth, vaginal dystocia or caesarean section in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 44:160-163.
- SKK (2018). *SKKs uppfödarutbildning*. <https://www.skk.se/sv/uppfodning/utbildning-for-uppfodare/SKKs-uppfodarutbildning/> [2018-03-08]
- Tønnessen, R., Borge, K.S., Nødtvedt, A. & Indrebø, A. (2012). Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*, 77:1788-1801.
- Traas, A.M. (2008). Resuscitation of canine and feline neonates. *Theriogenology*, 70:343-348.
- Vannucchi, C.I., Silva, L.C., Lúcio, C.F., Regazzi, F.M., Veiga, G.A. & Angrimani, D.S. (2012). Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. *Reproduction in Domestic Animals*, 47:177-181.
- Vassalo, F.G., Simões, C.R., Sudano, M.J., Prestes, N.C., Lopes, M.D., Chiacchino, S.B. & Gomes Lourenço, M.L. (2015). Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Topics in Companion Animal Medicine*, 30:16-21.
- Vela, A.I., Falsen, E., Simarro, I., Rollan, E., Collins, M.D., Domínguez, L. & Fernandez-Garayzabal, J.F. (2006). Neonatal mortality in puppies due to bacteremia by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44:666-668.

- Veronesi, M.C., Panzani, S., Faustini, M., Rota, A. (2009). An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*, 72:401-407.
- Veronesi, M.C. (2016). Assessment of canine neonatal viability-the Apgar score. *Reproduction in Domestic Animals*, 51:46-50.
- Verstegen, J., Dhaliwal, G. & Verstegen-Onclin, K. (2008). Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: a review. *Theriogenology*, 70:304-319.