

# Von der Bedeutung der bovinen Neosporose beim Abortgeschehen in der Schweiz

I. Fischer\*<sup>1</sup>, K. Furrer\*<sup>1</sup>, L. Audigé<sup>2</sup>, A. Fritsche<sup>3</sup>, T. Giger<sup>4</sup>, B. Gottstein<sup>1</sup>, H. Sager<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Parasitologie der Universität Bern, <sup>2</sup>Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe, Mittelhäusern, <sup>3</sup>Kantonstierarzt beider Appenzell, Herisau, <sup>4</sup>Veterinäramt, St. Gallen

## Zusammenfassung

Der einzellige Parasit *Neospora caninum* gilt weltweit als einer der wichtigsten infektiösen Abortverursacher beim Rind. In einer schweizerischen Fall-Kontroll-Studie wurden 113 Abortproblem- und 113 Kontrollbetriebe untersucht. Dabei konnte mittels PCR *N. caninum* im Hirn von 21% der insgesamt 242 untersuchten abortierten Feten nachgewiesen werden. Die zu einem *N. caninum*-Abort gehörenden Muttertiere waren zu 84% *N. caninum*-seropositiv. Betreffend aller untersuchten 226 abortierenden Muttertiere ergab sich eine *N. caninum*-Seroprävalenz von 44%. Seroepidemiologisch wurden 4505 Rinder im Zeitabstand von 3–12 Monate 2× serologisch untersucht. Dabei traten temporal starke Schwankungen in der Antikörperkonzentration auf, so dass 39% der vormaligen positiven Tiere in der zweiten Untersuchung keine nachweisbaren Antikörper mehr gegen *N. caninum* aufwiesen. Eine retrospektiv durchgeführte Befragung von 42 Problem- und 42 Kontrollbetrieben zeigte, dass sich in mehr als 80% der vormaligen Problembetriebe die Abortsituation innerhalb von 18 Monaten nach der letzten Bestandesuntersuchung verbessert hatte. In 43% dieser Betriebe wurden dabei, gemäss Aussagen der Tierhalter, keine besonderen Massnahmen zur Verminderung der Abortproblematik ergriffen. Zudem konnten im Vergleich zu Kontrollbetrieben keine signifikanten Unterschiede bezüglich Hygiene, Fütterung oder Tierumsatz gefunden werden. Auch bei Risikofaktoren wie der Anwesenheit von Hofhunden oder der ungeeigneten Entsorgung von Nachgeburtmaterial wurden keine Unterschiede zwischen Kontroll- und Problembetrieben festgestellt.

**Schlüsselwörter:** *Neospora caninum* – Abort – Rinder – Fall-Kontroll-Studie – Risikofaktoren

## The importance of bovine neosporosis for abortion in Switzerland

The protozoan parasite *Neospora caninum* is one of the most important infectious abortion causes in cattle worldwide. In a Swiss case-control-study we investigated 113 abortion problem farms and 113 control farms. It was possible to detect *N. caninum* in 21% of 242 investigated aborted fetuses by PCR upon brain samples. Eighty-four % of mothers aborting *N. caninum* positive fetuses were serologically positive for this parasite. The seroprevalence for *N. caninum* of all aborting mothers was 44%. Within a period of 3 to 12 months 4,505 cattle from the participating farms were investigated serologically at two different time points. Strong fluctuations of the specific antibody concentration could be observed, resulting in a conversion to seronegativity in the second blood sample in 39% of formerly seropositive animals. Eighteen months after the end of the study, 42 case- and 42 control-farms were questioned about their present abortion-status. Analysis of the questionnaire revealed that 80% of the former abortion problem farms observed an improvement of the situation. However, in 43% of those farms no preventive measures had been taken and no significant differences in hygiene, forage and animal turnover could be observed between case- and control-farms. Additionally, no significant differences were detected concerning risk factors such as the presence of farm dogs and the disposal procedure for placental and fetal material.

**Key words:** *Neospora caninum* – abortion – cattle – case-control-study – risk factors

\* Beide Autorinnen haben gleichermassen zur Arbeit beigetragen. Teilresultate der vorliegenden Arbeit sind bereits in den beiden Dissertationen Fischer (2000) und Furrer (2001) sowie in einer englischen Publikation (Sager et al., 2001) enthalten.

## Einleitung

*Neospora caninum* ist ein weltweit verbreiteter einzelliger Parasit, welcher bei Rindern zu erheblichen Abortproblemen führen kann. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass er zu den wichtigsten infektiösen Abortverursachern gezählt werden muss (Dubey und Lindsay, 1996; Dubey, 1999). Im Jahre 1998 wurde der Hund nach experimenteller Infektion als Endwirt identifiziert, nachdem im Kot die entsprechenden infektionstüchtigen Oozysten nachgewiesen werden konnten (McAllister et al., 1998). Im Jahr 2001 gelang darauf der erstmalige Nachweis von *N. caninum*-Oozysten im Kot eines natürlich infizierten Hundes (Basso et al., 2001). Im Entwicklungszyklus des Parasiten fungieren Rinder als Zwischenwirte. Hier findet die ungeschlechtliche Vermehrung von Tachyzoiten statt, später können Gewebezysten mit Brazzoiten bzw. Zystozysten gebildet werden. Während der Trächtigkeit kann es zu einer Reaktivierung ruhender Parasiten kommen, mit einer anschliessenden diaplazentären Übertragung auf den Feten. Reaktivierte Neosporen scheinen durch die Anwesenheit von parasiten-spezifischen Antikörpern nicht oder wenigstens nicht bei allen Tieren verhindert werden zu können. So gilt eine Seropositivität auch eher als Risikofaktor. Studien von Davison (1999) haben ein 3.5 mal höheres Abortrisiko für *N. caninum*-seropositive Rinder im Vergleich zu seronegativen Tieren ergeben. In der eigenen schweizerischen Studie betrug die entsprechende Risikoerhöhung den Faktor 4 (Sager et al., 2001).

Die epidemiologische Bedeutung des Hundes bleibt bisher unklar, wird jedoch als relativ gering eingeschätzt, obwohl Studien in den USA (Anderson et al., 2000) und den Niederlanden (Bartels et al., 1999) die Anwesenheit von Hunden auf Betrieben mit Rindviehhaltung als Risikofaktor für Abortausbrüche bezeichneten. Beim Rind wurde die Situation in der Schweiz bereits vor einigen Jahren aufgrund von seroepidemiologischer Studien sowie histologischen und molekularbiologischen Untersuchungen an abortierten Rinderfeteten beschrieben. Die Seroprävalenz bei zufällig ausgewählten Rindern aus konventioneller sowie Mutterkuhhaltung betrug 11 bzw. 15% (Gottstein et al., 1998). Bei der Untersuchung von Hirnmaterial aus 83 abortierten Rinderfeteten mittels *N. caninum*-PCR erwiesen sich deren 24 (29%) als positiv (Gottstein et al., 1998). Diese Zahlen wiesen bereits damals auf die potenziell grosse Bedeutung dieses Parasiten im bovinen Abortgeschehen in der Schweiz hin.

Die vorliegende Studie wurde so ausgerichtet, dass die Relevanz von *N. caninum* beim Abortgeschehen in der Schweiz detaillierter abgeklärt werden konnte. Dazu wurde eine Fall-Kontroll-Studie konzipiert, die (i)

eine repräsentative Anzahl von Aborten untersuchen liess und die (ii) zusätzliche Informationen über mögliche infektiologische Risikofaktoren im Zusammenhang mit Aborten, insbesondere in Assoziation zu *N. caninum*-verursachten Aborten, liefern sollte. Um auch Aussagen über die Persistenz von Abortproblemen auf Betriebsebene machen zu können, wurden 1½ Jahre nach Abschluss der Studie ein Teil der beteiligten Betriebe auf ihre aktuelle Abortsituation hin befragt.

## Tiere, Material und Methoden

### Studienaufbau

Die Fall-Kontroll Studie wurde in Zusammenarbeit mit den Kantonstierärzten der Kantone beider Appenzell, Bern, Luzern, Neuenburg, St. Gallen und Waadt geplant und durchgeführt. Die ausgewählten Kantone sollten mit ihrer geografischen Verteilung und der jeweiligen Rinderpopulation den ungefähren Schweizer Durchschnitt repräsentieren. Es war geplant, in jedem der 6 Kantone 20 Problem- und 20 Kontrollbetriebe auszuwählen und in die Studie einzuschliessen. Die Problembetriebe wurden durch mindestens 2 Aborte innerhalb der letzten 4 Monate oder durch eine Abortrate von mindestens 20% innerhalb der letzten 12 Monate definiert. Ein Betrieb, welcher diese Bedingungen erfüllte, wurde mit Auftreten des nächsten Abortes in die Studie aufgenommen, zugleich wurde durch den Kantonstierarzt ein dazugehöriger Kontrollbetrieb eruiert. Weitere Details zu den Auswahlkriterien wurden bereits in der Arbeit von Fischer (2000) und Sager et al. (2001) beschrieben.

### Probensammlung

Alle Aborte, welche während der Studiendauer auftraten, wurden – sofern noch vorhanden – zusammen mit der Plazenta, einem Vaginaltupfer sowie maternalem Serum durch die Bestandestierärzte gesammelt und zur Untersuchung weitergeleitet. Innerhalb von 2 Wochen wurden zusätzlich Serumproben von allen geschlechtsreifen Rindern des Bestandes entnommen. Eine zweite Blutprobe wurde 3 bis 12 Monate später von allen Tieren gesammelt, die noch auf dem Betrieb vorhanden waren.

### Untersuchungsmethoden

Die Feten wurden nach einem Standardprotokoll seziiert und die entnommenen Organe für bakteriologische, virologische sowie parasitologische Direktnachweisverfahren vorbereitet und anschliessend an die kollaborierenden Institute weitergeleitet. Die einzelnen Untersuchungsmethoden sowie das infek-

tiologische und pathologische Untersuchungsspektrum sind bereits publiziert worden und werden somit an dieser Stelle nicht mehr näher erläutert (Sager et al., 2001; Fischer, 2000). Die Seren der abortierenden Muttertiere wurden auf Antikörper gegen das Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis- (IBR/IPV-) und das Bovine Virusdiarrhoe- (BVD-) Virus untersucht. Die serologische Abklärung auf *N. caninum* erfolgte sowohl bei den Aborttieren als auch bei den übrigen geschlechtsreifen Tieren der beteiligten Betriebe (Sager et al., 2001; Fischer, 2000).

## Fragebogen

Die an der Studie beteiligten Problem- und Kontrollbetriebe der Kantone Appenzell und St. Gallen wurden auf Initiative der Kantonstierärzte ca. 1½ Jahre nach Abschluss der Probensammlung auf ihre aktuelle Betriebssituation hin befragt. Dazu wurde ein Fragebogen eingesetzt, welcher durch die Bestandestierärzte an die Betriebe verteilt wurde. Die Fragen zielten auf die aktuelle Bestandesgrösse, die Anzahl der aufgetretenen Aborte seit Abschluss der Probensammlung, die Einschätzung der Abortsituation durch den Besitzer bzw. den Betriebstierarzt, durchgeführte Massnahmen zur Verringerung der Abortrate, das Vorhandensein von Hofhunden und die Art der Entscheidung von Nachgeburten und Abortmaterialien.

## Ergebnisse

### Abortuntersuchungen

An der Studie beteiligten sich 113 Problem- und 113 Kontrollbetriebe. Während der 1½ Jahre dauernden Probensammlung wurden 242 Aborte von 226 Muttertieren registriert und labortechnisch soweit als

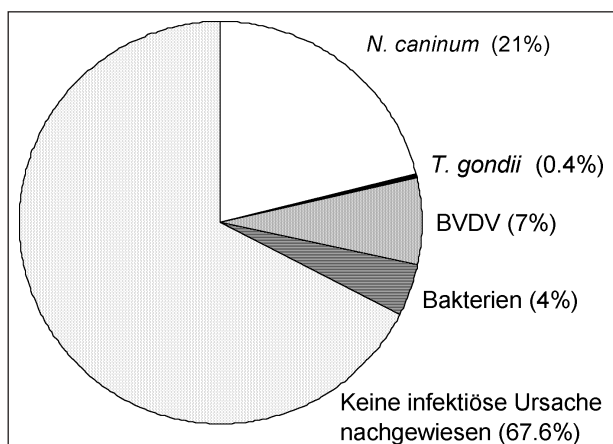


Abbildung 1: Relative Verteilung der nachgewiesenen Aborterregere. In 9 Fällen (4%) wurden folgende Bakterien nachgewiesen: *C. burnetti* (2 Fälle), *L. monocytogenes* (2 Fälle), *L. serjoe* (2 Fälle), *A. pyogenes* (2 Fälle) und *C. psittaci* (1 Fall).

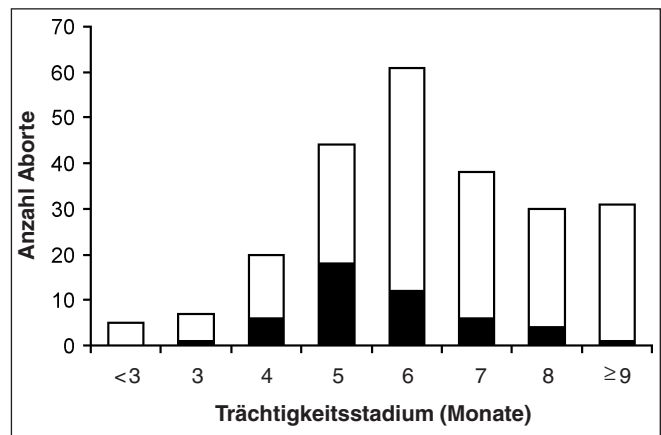


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung der Aborte auf die Trächtigkeitsdauer. Die durch *N. caninum* verursachten Aborte sind schwarz, alle übrigen Aborte durch weisse Säulen dargestellt. Die letzte Säule (≥9) beinhaltet Aborte im 9. Monat sowie Totgeburten und lebensschwache Kälber, welche innerhalb von 3 Tagen nach der Geburt verendeten.

möglich untersucht. Die Aborte verteilten sich in 215 Fällen auf Problem- und in 27 Fällen auf Kontrollbetriebe. Die Untersuchung der Feten erbrachte in 50 Fällen (21% der analysierten Feten) den Nachweis von *N. caninum* mittels PCR im Hirnmaterial. In einem Fall konnte *Toxoplasma gondii* im ZNS nachgewiesen werden. Der Nachweis von BVDV erfolgte mittels Zellkultur und/oder PCR aus Thymus in 7% der abortierten Feten. Es ergab sich keine Assoziation zwischen *N. caninum*- und BVDV-Nachweis, indem *N. caninum* und BVDV gleichzeitig nur in einem Fall gefunden werden konnte. In 4% der Feten wurden Bakterien (Spektrum s. Abb. 1) nachgewiesen, wobei sich auch hier keine Assoziation zu *N. caninum* oder BVDV offenbarte. In 69% der Fälle konnten keine infektiösen Ursachen nachgewiesen werden (Abb. 1). Betriebe, in welchen *N. caninum*-bedingte Aborte nachgewiesen wurden, hatten signifikant mehr Aborte innerhalb der Studienperiode zu verzeichnen (2.5 Aborte pro Betrieb  $\pm$  S.D. = 1.6) als Betriebe ohne *N. caninum*-verursachte Aborte (1.6 Aborte  $\pm$  S.D. = 0.9; t-Test, P = 0.003). Es war jedoch nur in 7 Betrieben möglich, *N. caninum* in mehr als einem der verworfenen Feten nachzuweisen (5 Problem- und 2 Kontrollbetriebe).

Die abortierenden Mutterkühe waren zwischen 2 bis 14 Jahre alt. Die meisten Aborte (sowohl *N. caninum*-bedingt als auch andere) wurden im Alterssegment zwischen 3 bis 7 Jahren beobachtet. Damit korrelierte diese Altersverteilung mit derjenigen der normalen Rinderpopulation in der Schweiz, so dass keine signifikante Häufung der Aborte in einer bestimmten Altersgruppe gefunden werden konnte. Das Alter der Feten wurde aufgrund der Scheitel-Steisslänge (SSL) bestimmt. Generell begannen sich die Aborte ab dem 4. bis zum 9. Trächtigkeitsmonat anzuhäufen (Abb. 2). Die meisten *N. caninum*-positiven

Feten wurden zwischen dem 4. und 7. Monat, mit Höhepunkt im 5. Monat gefunden (relativer Monatsanteil 41%; der Anteil an allen *N. caninum*-positiven Aborten lag bei 38%). Damit wird klar, dass das grösste durch *N. caninum* verursachte Abortrisiko im 5. Trächtigkeitsmonat liegt, der dazugehörige Wert lag signifikant höher im Vergleich zu allen anderen Durchschnittswerten ( $\chi^2$ -Test,  $P < 0.01$ ). Demgegenüber wurden Aborte im 9. Monat und Totgeburten signifikant weniger häufig durch *N. caninum* verursacht ( $\chi^2$ -Test,  $P = 0.01$ ).

### Serologische Untersuchungen

Alle während der Studie abortierenden Tiere wurden serologisch mittels ELISA auf Antikörper gegen *N. caninum* geprüft. Bei 210 untersuchten Tieren konnten die serologisch erhobenen Ergebnissen direkt mit den PCR-Resultaten der Abortuntersuchung verglichen werden (Tab. 1). Es zeigte sich, dass von den 92 *N. caninum*-seropositiven Muttertieren nur deren 42 auch einen *N. caninum*-PCR positiven Feten abortierten. Umgekehrt wurden in 8 Fällen *N. caninum*-DNA im fetalen Hirnmaterial nachgewiesen, obwohl die Mütter serologisch negativ waren und sogar bei späteren Untersuchungen negativ blieben (Tab. 1). Bei allen teilnehmenden Beständen wurden ebenfalls die nicht-abortierenden Tiere serologisch auf Neosporose untersucht. Insgesamt konnten 4505 Tiere beim Eintritt des jeweiligen Betriebes in die Studie geprüft werden. Eine zweite Untersuchung wurde 3–12 Monate nach der ersten Blutentnahme durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt standen noch 3551 der ursprünglich getesteten Tiere zur Verfügung. In der ersten Untersuchung erwiesen sich 17% der Tiere als serologisch positiv für *N. caninum*, während bei der zweiten Untersuchung noch 61% der vormalig seropositiven Rinder erneut seropositiv waren. Somit wiesen 39% der ursprünglich 543 seropositiven Tiere bei der zweiten Untersuchung keine nachweislichen anti-*N. caninum* Antikörper mehr auf. Im Gegenzug konvertierten 90 Tiere von ursprünglich seronegativ zu seropositiv.

Seropositivität für *N. caninum* in der ersten Untersuchung stellte sich als Risikofaktor sowohl für Aborte

generell ( $\chi^2$ -Test,  $P < 0.01$ ) als auch für *N. caninum*-verursachte Aborte ( $P < 0.01$ ) heraus, nicht jedoch für vermehrtes Umrindern und sonstige Fruchtbarkeitsprobleme ( $P = 0.19$ ). Tiere, welche im Verlauf der Studie serokonvertierten und Antikörper gegen *N. caninum* entwickelten, zeigten signifikant häufiger Fruchtbarkeits- ( $\chi^2$ -Test,  $P = 0.013$ ) und generelle Abortprobleme ( $P < 0.01$ ) als Tiere, welche bereits bei der ersten Untersuchung seropositiv waren bzw. seronegativ blieben. Die Serokonversion führte jedoch nicht zu häufigeren *N. caninum*-verursachten Aborten ( $P = 0.692$ ). Zudem konnte keine altersabhängige Zunahme der Serokonversionen beobachtet werden ( $P = 0.744$ ). Grundsätzlich festgestellte Tendenzen waren die Folgenden: Betriebe mit mindestens einem *N. caninum*-verursachten Abort weisen eine höhere Bestandesseroprävalenz auf als Problembetriebe, welche keine *N. caninum*-Aborte zu verzeichnen hatten (Student t-Test,  $P < 0.01$ ), oder als Kontrollbetriebe ( $P < 0.01$ ). Die Streuung war jedoch so gross, dass die Seroprävalenz nicht als Kriterium zur Diagnose einer *N. caninum*-verursachten Abortproblematik in Einzelbeständen beigezogen werden konnte (ROC-Analyse, Details hier nicht gezeigt; s. auch Sager et al., 2001; Furrer, 2001).

### Auswertung Fragebogen

Ungefähr 1½ Jahre nach Abschluss der Probensammlung wurden die Betriebe der Kantone St. Gallen und beider Appenzell im Auftrag der Kantonstierärzte noch einmal angeschrieben und mittels Fragebogen auf ihre aktuelle Situation befragt. Insgesamt 42 Problembetriebe (14 davon mit mindestens einem *N. caninum*-Abort) und 42 Kontrollbetriebe haben eine Antwort zurückgeschickt. Einer der Problembetriebe und zwei Kontrollbetriebe waren in der Zwischenzeit ohne Tiere und von 3 weiteren Betrieben fehlten Angaben zum Bestand. Bei den verbleibenden Problembetrieben waren noch durchschnittlich 42% [range: 10–76%], bei den Kontrollbetrieben 44% [range: 16–94%] der vormalig untersuchten Tiere auf dem Hof. Es ergab sich damit kein signifikanter Unterschied zwischen den Problem- und Kontrollbetrieben (Student t-Test,  $P = 0.33$ ). Von den ursprünglichen Kontrollbetrieben schätzten 72% der Tierhalter ihre aktuelle Abort-Situation als problemlos ein (keine Abortprobleme 55% bzw. Abnahme von Aborten 17%). Demgegenüber standen 80% der ehemaligen Problembetriebe, welche ihre aktuelle Abort-Situation ebenfalls als problemlos einschätzten (51%) oder zumindest einen Rückgang der Aborte verzeichnen konnten (29%). In 5% der Kontroll- und in 2% der Problembetriebe wurde innerhalb der letzten 18 Monate eine Zunahme der Abortrate verzeichnet (Tab. 2A). Die Situation in den vormaligen Problem- und Kontrollbetrieben hatte sich so weit an-

Tabelle 1: Vergleich zwischen der *N. caninum*-Serologie von abortierenden Muttertieren und dem Nachweis des Parasiten aus den Hirnen der entsprechenden Aborte mittels PCR.

PCR	Serologie		Total Tiere
	+	-	
+	42	8	50
-	50	110	160
Total Tiere	92	118	210

geglichen, dass aufgrund der aktuellen Einschätzung der Abortsituation keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden konnten ( $\chi^2$ -Test,  $P = 0.52$ ). Die wichtigsten Massnahmen, welche Tierhalter zur Behebung oder zur Prävention der Abortproblematik ergriffen haben, beinhalteten das Ausmerzen von Aborttieren (15 Problem- und 11 Kontrollbetriebe) sowie das Ausmerzen von Tieren aus anderen Gründen (4 Problem- und 6 Kontrollbetriebe). Weitere Massnahmen betrafen eine (teilweise) Futterumstellung (5 Problem- und 6 Kontrollbetriebe) sowie Verbesserung der Hygiene (1 Problem- und 2 Kontrollbetriebe). Bei 5 Problembetrieben wurden weitere Massnahmen erwähnt, welche die serologische Untersuchung auf *N. caninum* und die gezielte Auswahl von (problemlosen) Zuchtlinien, bzw. Wechsel des Stieres beinhalteten. Keine Massnahmen ergriffen zu haben, wurde von 18 Problem- und 26 Kontrollbetrieben angegeben (Tab. 2B). Zwischen den Problem- und Kontrollbetrieben ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der ergriffenen Massnahmen ( $\chi^2$ -Test,  $P = 0.167$ ). Eine Entsorgung der Plazenta über die Kadaverentsorgungsstelle erfolgte nur in 6 Kontroll- und 4 Problembetrieben. In

allen anderen Betrieben gelangte das Nachgeburtsmaterial auf den Miststock oder wurde gezielt den Wildtieren (Füchsen) zur Fütterung vorgelegt (Tab. 2C). Es bestand somit kein signifikanter Unterschied in der Entsorgungspraktik, weder zwischen den Kontroll- und Problembetrieben, noch zwischen Problembetrieben mit oder ohne *N. caninum*-Abortproblematik. Auf 90% der Problem- und 83% der Kontrollbetriebe befanden sich während der Studienperiode eigene oder fremde Hunde. Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Problem- und Kontrollbetrieben festgestellt werden.

## Diskussion

Nachdem in der Schweiz bereits in früheren Studien die Bedeutung von *N. caninum*-infektionen als wesentliche Abortursache bei Rindern gezeigt werden konnte (Gottstein et al., 1998 und 1999), galt es nun mittels einer Fall-Kontroll-Studie nach Faktoren zu suchen, welche zu vermehrten Aborten führten, aber auch zur Ursachenabklärung eingesetzt werden konnten. Da bereits ein weitgehender Teil der Studienresultate in Form von zwei Dissertationen (Fischer, 2000; Furrer, 2001) sowie eines englisch verfassten Zeitschriftenartikels (Sager et al., 2001) veröffentlicht worden ist, nehmen wir hier nur noch zusammenfassende Kernaspekte in die Diskussion auf, mit Schwergewicht auf weiterführende Nachuntersuchungen.

Während in der Regel bei Rinderaborten die vorgeschriebenen bakteriologischen Untersuchungen der Plazenta und die Serologie des Muttertieres auf IBR/IPV nur in Ausnahmefällen zu einem positiven Ergebnis führten, konnten nach Untersuchung des Feten (oder Teilen davon) in immerhin 31% der Fälle infektiöse Abortursachen nachgewiesen werden. Am häufigsten wurde dabei *N. caninum* gefunden. In nur einem Fall wurde im Abort gleichzeitig *N. caninum* und BVDV nachgewiesen. Dieser Befund ist insofern von Bedeutung, als dass andere Publikationen einen synergistischen Effekt von BVDV und *N. caninum* zur Abortauslösung diskutierten (Björkman et al., 2000). Dies konnte, zumindest was den direkten Erregernachweis anbelangt, hier nicht bestätigt werden. Aufgrund der hier gesammelten Erkenntnisse sollte zur Abklärung einer Beteiligung von *N. caninum* am Abortgeschehen der direkte Nachweis dieses Parasiten im Hirn eines abortierten Feten mittels PCR die Methode der Wahl sein. In der Studie wurde gezeigt, dass nur in 42 von 92 serologisch *N. caninum*-positiven und gleichzeitig abortierenden Muttertieren eine Übereinstimmung mit dem direkten Parasitenachweis im abortierten Feten vorlag. Dies bedeutet, dass seropositive Muttertiere nicht nur normale Trächtigkeitsverläufe aufweisen können, sondern dass bei

Tabelle 2: Auswertung der Fragebogen aus vormaligen Problem- (P-) und Kontroll- (K-) Betrieben der Kantone St. Gallen und beider Appenzell.

<b>A</b>		
<b>Einschätzung Abortsituation</b>	<b>P-Betriebe</b>	<b>K-Betriebe</b>
Keine Aborte	21	23
Abnahme der Abortzahl	12	7
Gleichbleibende Situation	7	10
Zunahme der Abortzahl	1	2
<b>Total Betriebe</b>	<b>41</b>	<b>42</b>
<b>B</b>		
<b>Massnahmen*</b>	<b>P-Betriebe</b>	<b>K-Betriebe</b>
Keine	18	26
Ausmerzungen Aborttiere	15	11
Ausmerzungen andere Tiere	4	6
Futter	5	6
Hygiene	1	2
Andere Massnahmen**	5	0
* Mehrfachnennungen sind möglich		
** Serologische Untersuchungen und züchterische Massnahmen		
<b>C</b>		
<b>Entsorgung Plazenta</b>	<b>P-Betriebe</b>	<b>K-Betriebe</b>
Miststock	33	34
Fütterung Wildtiere	4	2
Kadaverentsorgungsstelle	4	6

denselben Tieren andere Abortursachen ebenfalls auftreten, wahrscheinlich in einem ähnlichen ätiologischen Verteilungsmuster wie bei seronegativen Tieren. Die Schlussfolgerung ist somit, dass mittels Serologie ein stark überproportioniertes Bild der direkten Beteiligung von *N. caninum* am Abortgeschehen vermittelt wird, was wiederum darauf hinweist, dass für die Diagnostik der direkte Parasitennachweis eine primäre und zentrale Rolle einnimmt. Es traten aber auch 8 Fälle auf, bei denen *N. caninum* im Feten nachgewiesen wurde, ohne dass das Muttertier serologisch positiv war. Dieselben Muttertiere erwiesen sich bei späteren Untersuchungen – sofern nicht schon ausgemerzt – serologisch weiterhin als negativ. Auch diese Tatsache schränkt den Aussagewert der Serologie im Vergleich zur PCR ein.

Die geschlechtsreifen Tiere der an der Studie beteiligten Bestände wurden im Zeitabstand von 3–12 Monaten ein zweites Mal serologisch auf Antikörper gegen *N. caninum* untersucht. Bei der ersten Proben-sammlung wurde eine Seroprävalenz von 17% registriert. Bis zur 2. Untersuchung waren knapp 28% der seropositiven und 20% der seronegativen Tiere nicht mehr auf dem Betrieb. Es konnte festgestellt werden, dass signifikant mehr serologisch *N. caninum*-positive Rinder entfernt (geschlachtet oder verkauft) wurden, als seronegative Tiere (Sager et al., 2001). Dieser Effekt könnte zum Teil mit verminderter Milchleistung und Fertilität dieser Tiere erklärt werden, wie dies in verschiedenen Publikationen für seropositive Tiere beschrieben worden ist (Thurmond and Hietala, 1996; Waldner et al., 1998). Zum andern mag es sich aber auch um gezielte Ausmerzaktionen gehandelt haben, da den Tierärzten die Resultate der Bestandesserologie auf Anfrage übermittelt wurden, und da schon damals zur Diskussion stand, *N. caninum*-seropositive Tiere bei Fruchtbarkeitsproblemen unter noch zu definierenden Umständen zu eliminieren oder zumindest nicht mehr zur Aufzucht einzusetzen (Hässig und Gottstein, im Druck).

In der zweiten serologischen Untersuchung der verbliebenen Tiere sank der Anteil der *N. caninum*-positiven Tiere auf knapp 12%. Dies konnte nicht mit der vermehrten Ausmerzungen von seropositiven Tieren erklärt werden, sondern beruhte hauptsächlich auf einem drastischen Absinken der Antikörperkonzentration bei 212 Tieren, so dass diese, nach einem ersten positiven Resultat, in der zweiten Serologie negativ waren. Einzelne Fälle von Schwankungen in der Antikörperkonzentration wurden bereits in anderen Publikationen beschrieben (Conrad et al., 1993; Pare, 1997). Dass dieses Phänomen in unserer Studie jedoch bei 39% der seropositiven Tiere auftrat, überraschte dennoch. Demgegenüber wurden 90 Tiere identifiziert, welche in einer ersten Serologie negativ, in der

zweiten jedoch *N. caninum*-positiv waren. Ob es sich hierbei um neu infizierte Tiere handelte, oder um solche, welche zwischenzeitlich einen temporären Abfall der Antikörperkonzentration zu verzeichnen hatten, lässt sich hier nicht beantworten. Grundsätzlich kann davon ausgegangen werden, dass seropositive Tiere vorgängig mit *N. caninum* in Kontakt gekommen sind, und gemäss dem heutigen Wissensstand den persistierenden Parasiten in sich tragen. Bei ungefähr 7% der serologisch negativen Tiere ist es jedoch möglich, dass sie ebenfalls mit *N. caninum* in Berührung gekommen sind, die Konzentration der spezifischen Antikörper jedoch (temporär?) unterhalb der Nachweisgrenze lag.

Obwohl in Beständen mit *N. caninum*-bedingter Abortproblematik eine Tendenz zu höherer Seroprävalenz gegenüber anderen Beständen festgestellt werden konnte, kann dies nicht als sicherer Indikator zur Abklärung von Abortursachen gelten. In einem Betrieb traten während der Studie in Folge zwei durch *N. caninum* verursachte Aborte auf (Nachweis mittels PCR in den Feten), obwohl beide Muttertiere wie auch der ganze übrige Bestand serologisch negativ waren.

Ein grosser Teil der Betriebe, welche mit einer Abortproblematik in die Studie eintraten, verzeichneten während der 18 Monate dauernden Probensammlung nur einen (50%) oder zwei (29%) Aborte. Nur bei 21% der Problembetriebe wurden 3 oder mehr Aborte registriert (Sager et al., 2001). Es muss davon ausgegangen werden, dass sich der Hauptteil der Aborte jeweils vor Eintritt der Betriebe in die Studie ereignet hatte, und dass sich die Situation in vielen Fällen nach einer gewissen Zeit wieder normalisierte. Diese Vermutung wurde auch durch die später durchgeführte Befragung der Betriebe bestätigt. Bei den ursprünglichen Problembetrieben hatten 80% eine Verbesserung der Situation oder gar das gänzliche Fehlen von Aborten innerhalb der letzten 18 Monate verzeichnen können. Demgegenüber beurteilten 71% der vormaligen Kontrollbetriebe ihre aktuelle Abortsituation als problemlos. Gemäss Aussagen der Tierhalter wurden in 62% der damaligen Kontroll- und 43% der Problembetriebe keine gezielten Massnahmen zur Verbesserung der Abortsituation ergriffen. In denjenigen Betrieben, in welchen Massnahmen ergriffen wurden, handelte es sich primär um Ausmerzaktionen von abortierenden Muttertieren und Tieren, welche verminderte Leistungen zeigten oder aus anderen Gründen aus dem Bestand genommen wurden. Weitere Massnahmen waren Fütterungsumstellung und verbesserte Hygiene. Es konnten dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen vormaligen Problem- und Kontrollbetrieben festgestellt werden. Die getroffenen Massnahmen unterschieden sich auch nicht

signifikant zwischen Problembetrieben, in welchen sich die Abortsituation verbesserte, gegenüber solchen, in welchen sich die Situation nicht änderte oder sogar verschlechterte. Auch bei den Risikofaktoren, wie dem Entsorgen der Plazenta auf dem Miststock, ergaben sich keine Unterschiede zwischen Problem- und Kontrollbetrieben. Interessant war auch, dass zur Zeit der Probensammlung für die Studie auf mehr als 80% beider Betriebskategorien Hunde gehalten wurden, bzw. Hunde verkehrten. Diese Befunde führen zur Schlussfolgerung, dass die Bedeutung der Hunde für die Übertragung von *N. caninum* auf die Rinderpopulation relativ gering ist. Dies zumindest unter hiesigen Bedingungen, da andere Autoren das Auftreten von Abortausbrüchen auf Hunde in den Beständen zurückführten (Bartels et al., 1999; McAllister et al., 2000). Allgemein gültige Empfehlungen zur Bekämpfung und Prophylaxe von *N. caninum*-bedingten Aborten sind zum jetzigen Zeitpunkt schwierig zu formulieren. Eine Optimierung der Hygienebedingungen, sowohl im Tierbereich wie bei der Futterlagerung, ist grundsätzlich erstrebenswert. Mittelfristig kann es sich lohnen, Aborttiere auszumerzen, und Zuchtlinien ohne Abortanamnese zu fördern. Von einem generellen Ausmerzen aller seropositiven Tiere ist jedoch aufgrund der festgestellten Schwankungen und Unsicherheiten abzusehen.

Auf einen Einsatz der in den USA entwickelten *N. caninum*-Vakzine sollte zur Zeit verzichtet werden. Bis anhin konnte in Studien nur die Unschädlichkeit, nicht aber die Wirksamkeit zur Verhinderung von Aborten gezeigt werden (Andrianarivo et al., 1999

und 2000). Über die Bedeutung des Immunsystems zur Verhinderung der vertikalen Übertragung von *N. caninum* wird jedoch weiterhin geforscht (Innes et al., 2001). Andere, bisher erst präliminäre Ansätze bestehen in einem potenziellen Einsatz von Kokzidioziden bzw. Kokzidiostatika bei Trägartieren. Ziel ist es, den Parasiten entweder ganz abzutöten, oder zumindest die vertikale Übertragung zu verhindern (Gottstein et al., 2001). Bis jedoch ein praxistaugliches Konzept zur Verfügung steht, dürfte noch einige Zeit vergehen.

## Dank

Unser Dank gebührt den Kantonstierärzten der Kantone Luzern, Bern, Neuenburg und Waadt (Dres. P. Infanger, C. Huggler, P.-F. Gobat und P.-A. DeMeuron) für ihren Einsatz bei der Auswahl der Problem- und Kontrollbetriebe, sowie allen beteiligten Bestandestierärzten für das Sammeln der Feten und die Probenentnahmen. An der Untersuchung der Aborte waren das Institut für Tierpathologie (A. Waldvogel), das Institut für Veterinär-Bakteriologie (P. Boerlin) sowie das Institut für Veterinär-Virologie (M. Strasser) der Universität Bern beteiligt. Die *N. caninum*-PCR wurde von N. Müller fachtechnisch betreut. Ebenfalls danken wir den Tierhaltern auf den Problem- und Kontrollbetrieben für ihre Bereitschaft, Informationen zu Tieren und zum Betrieb zu liefern. Die Studie wurde finanziell vom Bundesamt für Veterinärwesen (BVET Projekt Nr. 973.105/1.98.8) und von allen beteiligten Kantonen unterstützt.

### Importance de la néosporose bovine en relation avec l'avortement en Suisse

Le parasite unicellulaire *Neospora caninum* est mondialement un des agents responsables d'avortements infectieux les plus importants chez les bovins. Dans une étude suisse incluant des témoins pour les cas, 113 exploitations avec des problèmes d'avortement ainsi que 113 exploitations témoins ont été étudiées. Ainsi, au moyen de PCR, *N. caninum* a été décelé dans le cerveau de 21% des 242 foetus avortés. Les mères d'avortons causés par *N. caninum* étaient séropositives pour *N. caninum* dans 84% des cas. Si 226 mères ayant avorté étaient considérées, une séroprévalence liée à *N. caninum* de 44% cas était constatée. Les sérums de 4505 vaches ont été examinés à deux reprises au cours d'un intervalle de 3 à 12 mois. Des variations avec le temps importantes des concentrations des anticorps ont été constatées si bien que 39% des animaux auparavant positifs ne présentaient aucuns anticorps contre *N. caninum*

### L'importanza della Neosporosi bovina in casi di aborto in Svizzera

Il parassita unicellulare *Neospora caninum* è universalmente considerato uno degli agenti infettivi più importanti che provocano l'aborto nel manzo. In uno studio svizzero di casi singoli controllati sono state esaminate 113 aziende con problemi di aborto e 113 aziende di controllo. Tramite PCR è stato possibile dimostrare la presenza del parassita *N. caninum* nel cervello del 21% di 242 feti abortiti esaminati. Gli animali matricini degli aborti con presenza di *N. caninum* sono risultati nel 84% dei casi sieropositivi al parassita *N. caninum*. La sieroprevalenza per il *N. caninum* negli animali matricini che avevano abortito è risultata del 44%. 4505 manzi sono stati esaminati 2 volte in un lasso di tempo di 3–12 mesi dal punto di vista sieroepidemiologico. Sono state riscontrate grandi variazioni temporali per quel che riguarda la concentrazione di anticorpi. Nel 39% degli animali risultati positivi durante il primo

lors du deuxième examen. Une étude rétrospective de 42 exploitations avec ou sans problèmes a démontré que, au sein de 80% des exploitations antérieurement à problèmes, la situation liée à l'avortement s'était améliorée en l'espace de 18 mois après le dernier examen de l'exploitation. Selon les propriétaires, dans 43% de ces exploitations aucune mesure particulière n'avait été utilisée pour diminuer la problématique des avortements. De plus, aucune différence concernant l'hygiène, l'alimentation et la rotation des animaux n'a été révélée en comparaison avec les exploitations témoins. De plus, dans le cas de facteurs de risque, comme la présence de chien de cour ou l'élimination inadéquate du placenta, aucune différence entre les témoins et les exploitations à problème n'a été détectée.

esame, al secondo esame non sono stati riscontrati anticorpi contro il *parassita N. caninum*. Un'inchiesta retrospettiva eseguita in 42 aziende con problemi e 42 aziende di controllo ha mostrato che nell'80% delle aziende con problemi precedenti la situazione riguardante l'aborto è migliorata entro 18 mesi dopo l'ultimo esame dell'azienda. Nel 43% di queste aziende, secondo le dichiarazioni dei proprietari, non è stata presa alcuna misura per cercare di migliorare la problematica dell'aborto. Inoltre non è stata riscontrata alcuna differenza rispetto alle aziende di controllo per quel che concerne igiene, foraggiamento o compravendita degli animali. Anche per que che concerne fattori a rischio come la presenza di cani da cortile o l'eliminazione della placenta, non sono state riscontrate differenze tra le aziende di controllo e le aziende con problemi.

## Literatur

- Anderson B.C.: Contamination of feedstuffs caused by farm dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2000, 217:1294.
- Andrianarivo A. G., Choromanski L., McDonough S.P., Packham A.E., Conrad P.A.: Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. *Int. J. Parasitol.* 1999, 29:1613–1625.
- Andrianarivo A. G., Rowe J.D., Barr B.C., Anderson M.L., Packham A.E., Sverlow K.W., Choromanski L., Loui C., Grace A., Conrad P.A.: A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. *Int. J. Parasitol.* 2000, 30:985–990.
- Bartels C.J., Wouda W., Schukken Y.H.: Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*. 1999, 52:247–257.
- Basso W., Venturini L., Venturini M.C., Hill D.E., Kwok O.C., Shen S.K., Dubey J.P.: First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol.* 2001, 87:612–618.
- Björkman C., Alenius S., Manuelsson U., Ugglä A.: *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet. J.* 2000, 159:201–206.
- Conrad P.A., Sverlow K., Anderson M., Rowe J. et al.: Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1993, 5:572–578.
- Davison H.C., Otter A., Trees A.J.: Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.* 1999, 29:1189–1194.
- Dubey J.P.: Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 1999, 84:349–367.
- Dubey J.P., Lindsay D.S.: A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 1996, 67:1–59.
- Fischer I.: Molekularbiologischer bzw. serologischer Nachweis der bovinen Tritrichomonose und Neosporose (Teil I der Neo'99-Studie). Dissertation, Universität Bern, 2000.
- Furrer K.: Molekularbiologischer bzw. serologischer Nachweis der bovinen Neosporose (Teil II und Schlussbericht der Fall-Kontroll-Studie Neo '99). Dissertation, Universität Bern, 2001.
- Gottstein B., Hentrich B., Wyss R., Thür B., Busato A., Stärk K.D., Müller N.: Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. *Int. J. Parasitol.* 1998, 28:679–691.
- Gottstein B., Hentrich B., Wyss R., Thür B., Bruckner L., Müller N., Kaufmann H., Waldvogel A.: Molekular- und immundiagnostische Untersuchungen zur bovinen Neosporose in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1999, 141:59–68.
- Gottstein B., Eperon S., Dai W.J., Cannas A., Hemphill A., Greif G.: Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol. Res.* 2001, 87:43–48.
- Hässig M. und Gottstein B.: Epidemiological investigation of *Neospora caninum*-induced abortions in Swiss dairy farms. *Vet. Rec. Im Druck.*
- Innes E.A., Wright S.E., Maley S., Rae A., Schock A., Kirvar E., Bartley P., Hamilton C., Carey I.M., Buxton D.: Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* 2001, 31:1523–1534.



McAllister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A., McGuire A.M.: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 1998, 28:1473–1478.

McAllister M.M., Björkman C., Anderson-Sprecher R., Rogers D.G.: Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2000, 217:881–887.

Pare J., Thurmond M.C., Hietala S.K.: *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. J. Parasitol. 1997, 83: 82–87.

Sager H., Fischer I., Furrer K., Strasser M., Waldvogel A., Boerlin P., Audigé L., Gottstein B.: A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. Vet. Parasitol. 2001, 102: 1–15.

Thurmond M.C., Hietala S.K.: Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. Am. J. Vet. Res. 1996, 57: 1559–1562.

Waldner C.L., Janzen E.D., Ribble C.S.: Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1998, 213: 685–690.

---

### Korrespondenzadresse

Dr. Heinz Sager (heinz.sager@ipa.unibe.ch) und Prof. Dr. Bruno Gottstein (bruno.gottstein@ipa.unibe.ch),  
Institut für Parasitologie, Universität Bern, Länggass-Strasse 122, 3012 Bern, Fax 031 631 26 22

Manuskripteingang: 17. April 2002

In vorliegender Form angenommen: 15. Mai 2002