

Aborter hos nötkreatur

Projektet är utformat och genomfört i samarbete med SHS Sven-Ove Olsson et al, OG Kjell Larsson et al, Med II Sten-Olov Jacobsson et al, Klin Kem Bernt Jones samt följande enheter inom SVA; Virologen, Bakteriologen, Kemikum samt Patologen.

Under en 12 månaders period 1987-88 undersöktes 104 aborterade kalvfoster, maternala blodprov samt i förekommande fall fosterhinnor enligt en noggrant fastställd rutin.

Materialet var slumpmässigt insänt dels från besättningar med enstaka fall av aborter dels från besättningar med abortproblem. 7 husdjursföreningar från norr till söder deltog i projektet vilket gjorde materialinsamlingen rikstäckande. Ett frågeformulär rörande besättningsläget, kons hälsostatus, m m med följde varje insänt foster.

En sammanställning av obduktionsfynd och mikrobiella diagnoser redovisas här.

Inledning

Fall av sporadiska aborter av okänd genes förekommer i alla besättningar. En abortfrekvens under 3% accepteras som naturlig, men sker en ökning av abortfrekvensen eller om det sker en anhopning av aborter inom en begränsad tidsperiod bör besättningen utredas.

Att fastställa vad som orsakat ett abortproblem i en besättning kan vara förenat med stora svårigheter. I ett flertal internationella publikationer redovisas undersökningar av stora abortmaterial diagnosticerade med alla tillgängliga laboratorieresurser. Trots intensiva försök att fastställa orsaken till aborterna har endast ca 32-37% av fallen klarats ut.

Någon liknande undersökning har inte gjorts i Sverige, varför ett projekt för att kartlägga våra vanligaste abortorsaker samt att systematisera diagnostiska rutiner, initierades.

Material och metoder

Sju husdjursföreningar Skåne semin, Kalmar semin, Södra Älvsborg, Malmen, NNP och Dala Gävleborg Husdjurstjänst, Västerbottens Husdjur ek för samt Uppsala läns husdjur deltog i projektet och var behjälpliga med insändande av aborterade foster samt blodprovstagning och ifyllande av besättningsenkäter.

Under en 12 månaders period från 1 juli 1987 till 30 juni 1988 inkom 104 foster samt blodprov från deras mödrar till patologen, SVA. I 35% av fallen medföljde även placenta. Från vissa besättningar inkom ett flertal fall, men huvuddelen av fostren var insända som enstaka fall.

- Åldern på fostren varierade mellan 2,5 - 9 mån och bedömdes efter kroppslängden mätt från hjässa till svansfäste ($M = \sqrt{L + 1} - 1$, M = ålder i månader, L = kroppslängd i cm).

Fostren undersöktes efter en fastlagd obduktionsrutin där längd, vikt och kön antecknades. Subcutana ödem samt hydropsier i bröst- och bukhåla som tecken på en intrauterin fosterdöd dagarna innan förlossningen, liksom varje tecken på intorkning och mumifiering, noterades. Likaså förekomst av subcutana, subdurala eller inre blödningar som tecken på dystoki.

Missbildningar, inflammatoriska förändringar m m inspekterades, samt i förekommande fall en noggrann genomgång av hela placenta.

Bakteriologisk undersökning

Lever, lunga, mjälte, kroppslfk, löpmagsinnehåll (aspirerat med spruta och kanyl), placenta samt förändrade organ undersöktes på följande infektionsagens: *Campylobacter spp*, *Listera monocytogenes*, *Leptospira spp*, *Salmonella spp*, mykotiska agens samt allmän bakt. inf.

Virologisk undersökning

Hjärtblod/ascitesvätska, lunga, mjälte, placenta undersöktes på följande infektionsagens: Bovint virusdiarrévirus (BVDV), Bovint parvovirus (BPV), Infektiös bovin rhinotracheit (IBR) samt *Chlamydia psittaci*.

Serologisk undersökning

Blodprov från moderdjuren undersöktes på förekomst av antikroppar mot BVDV, BPV, IBR, *Chlamydia psittaci*, *Brucella abortus* samt *Leptospira spp.*

Histologisk undersökning

Lever, lunga, hjärta, mjälte, njure, hjärna, kroppsmuskel samt placenta fixerades i 10% formalin, paraffinbäddades samt färgades rutinmässigt med Hematoxylin-Eosin.

Immunohistokemisk undersökning (peroxidas-antiperoxidas) utfördes på samtliga placentor med typspecifika sera för 5 olika svamparter.

Klinisk kemisk undersökning på maternala blodprov samt *kemisk undersökning* på fosterorgan utfördes även men redovisas inte här.

Diagnostiska kriterier

1. Bakteriell infektion - i renkultur förekommande eller som klart dominerande mikroorganism i löpmagsinnehåll och i placenta tillsammans med histologiskt påvisade inflammatoriska förändringar.
2. Mykotisk infektion - isolering av mykotiskt agens samt histologiska förändringar verifierade med immunoperoxidas (PAP) metodik.
3. BVDV - virusisolering från fosterorgan påvisat med immunofluorescensmetodik.
 - konstaterad BVD-infektion i besättningen samt mycket höga titrar serologiskt (>1:1250) på maternala blodproven tyder starkt på att BVD-infektionen orsakat aborten trots att det mycket sällan går att verifiera på fostret.
4. Missbildningar - grava anatomiska deformiteter.
- ⑤ Dystoki - stora fullgångna foster döda i samband med förlossningen, intravitala färskblödningar, aspiration av fostervatten samt anamnestiska uppgifter om förlossningsproblem.

6. Muskeldegeneration - histologiska förändringar
7. Ej fastställd infektion - histologiskt påvisade inflammatoriska förändringar i fosterorgan och/eller placenta men utan att kriteriet på bakteriell infektion uppfyllts.
8. Ej faställd abortorsak - inga påvisade förändringar eller mikrobiella fynd hos fostret.

Resultat

Hos 53 st (51%) av de till obduktion inkomna fostren kunde en orsak till aborten fastställas i enlighet med de ovan angivna kriterierna. Tabell 1. I 41 fall (39,4%) framkom ingen diagnos, och i 10 fall (9,6%) sågs inflammatoriska förändringar hos foster och i fosterhinnor men utan påvisande av specifik infektion.

Mykotiska infektioner som orsak till abort konstaterades i 12 fall (11,5%). *Nekrotiserande placentit* var den mest frekventa förändringen. Typ av svampinfektion redovisas i Tabell 3. *Actinomyces pyogenes* isolerades i renkultur från 7 st (6,7%) av de aborterade fostren och fosterhinnorna. Akut nekrotiserande placentit samt fokal purulent pneumoni var vanligt förekommande förändringar.

Missbildningar, de flesta mycket påtagliga, sågs hos 6 st (5,75%) av fostren. (Två fall av grav gomspalt, 1 hydrocephalus, 1 hjärtmissbildning, 1 bulldogskalv, 1 kraftig skelettdefekt.)

Aeromonas hydrophila beskrivs i litteraturen som en primär abortpatogen. Hos 6 foster (5,75%) isolerades mikroorganismen i ren- eller nästan renkultur och uppfyllde tillsammans med inflammatoriska förändringar på fostret och i fosterhinnorna kriteriet på bakteriell infektion.

Aerotoleranta campylobacter beskrivs i litteraturen vara "associerad med abortproblem". De 5 fallen (4,8%) kom från samma besättning. Hos 2 foster påvisades inflammatoriska förändringar, medan 3 foster var delvis mumifierade. Inga andra infektionsagens påvisades.

E. coli i renkultur förekom i 4 fall (3,9%). Hos 2 foster tillsammans med purulent placentit samt som allmäninfektion hos 2.

BVD-virus som abortorsak konstaterades i 4 fall (3,9%). Två av dessa var

tvillingar positiva vid virusisolering. De andra två var negativa vid virusisolering men med ledning av moderdjurens höga titrar (>1:1250) samt att besättningarna blev föremål för BVD-utredning och ett flertal kroniker påträffades finns sakliga grunder att betrakta dessa två aborter som BVD-virus orsakade.

Dystoki förelåg i 2 fall (1,9%). *Dystoki* är inte att betrakta som en abortorsak, men blir föremål för samma utredning eftersom de inbegrips i samma dödsfallskategori.

Staphylococcus spp, *β-hämolyserande streptococcer*, *Staphylococcus aureus* och *Bacillus spp* är samtliga bakteriella infektioner som kan vara letala för fostret. De uppfyllde alla kriteriet för bakteriell infektion.

Diagnosen *muskeldegeneration* är baserad på histologiskt förändrad muskulatur och verifierad genom kemisk analys av selen och spårelementhalter i muskel och leverprover.

Listeria monocytogenes, *Salmonella spp*, *Leptospira spp* samt *Campylobacter fetus* var inte funna i något av de undersökta fostren.

I Tabell 2 redovisas serologiska resultat av undersökning av maternala blodprov. Antikroppar mot bovint parvovirus (BPV) sågs hos 80,5% av korna, mot bovint virusdiarrévirus (BVDV) hos 40,2% av korna, mot *Chlamydia psittaci* hos 24% samt mot *Leptospira grippotyphosa* hos 2,8%. Ingen av de undersökta korna hade antikroppar mot infektiös bovin rhinotracheit (IBR) eller *Brucella abortus*.

Mykotiska infektioner var abortorsak i 11,5% av fallen och i Tabell 3 redovisas de olika svamparterna. *Aspergillus spp* kunde isoleras från placenta i 5 fall, från löpmage i 3 fall, samt från hud i 1 fall. Verifiering med immunohistokemi kunde med säkerhet konstateras i 10 fall (5 *aspergillus*, 2 *candida*, 3 *zygomyceter*).

Tabell 4 visar korrelationen mellan moderns BVD-titer och uterin svampinfektion. Jämförelsen var tänkt som intressant pga BVD-virus immunosuppressiva påverkan på individen. Tre av korna med hög BVD-titer hade även en (sekundär) jästsvampsinfektion, en ko med hög titer hade en *zygomykos*.

Tabell 1

Resultat av undersökning av 104 kalvfoster

Fosterdiagnos	Antal fall	% av antal diagnosticerade fall %	% av totala antalet fall %
Mykotisk abort	12	22,7	11,5
Actinomyces pyogenes	7	13,2	6,7
Missbildningar	6	11,3	5,75
Aeromonas hydrophila	6	11,3	5,75
Aerotoleranta campylobact	5	9,4	4,8
E. coli	4	7,5	3,9
Bovin virusdiarrévirus	4*	7,5	3,9
Dystoki	2	3,8	1,9
Staph spp	2	3,8	1,9
β-häm strept	2	3,8	1,9
Muskeldegeneration	1	1,9	1,0
Staph aureus	1	1,9	1,0
Bacillus spp	1	1,9	1,0
Listeria monocytogenes	0	0	0
Salmonella	0	0	0
Campylobacter fetus	0	0	0
TOTALT DIAGNOSTICERADE	53	100	51,0
Ej fastställd infektion	10		9,6
Ej fastställd abortorsak	41**		39,4
TOTALT UNDERSÖKTA			100
*VI positiva eller besättningsverifierade			
**bland dessa finns >13 mistänkta BVD-fall (kons titer ≥1:1250)			

Tabell 2

Serologisk undersökning av de 104 kor som aborterat

	Antal seropositiva	titer	% totalantal	
Brucella abortus	0	-	0	
Leptospira gripp.	3	1/200	2,8	
IBR	0	-	0	
Bovint virusdiarrévirus	4	1:10	3,8	
"	7	1:50	6,7	40,2
"	16	1:250	15,3	
"	15	1:1250*	14,4	
Bovint parvovirus	7	1:30	6,7	
"	33	1:90	31,7	80,6
"	34	1:270	32,6	
"	10	1:1250	9,6	
Chlamydia psittaci	21	1:8	20,2	24
"	4	1:16	3,8	

*sannolik abortorsak pga den höga titern

Tabell 3

Mykotiska aborter - fördelning av förekommande svamptyper

	Antal fall	% totalantal fall
<u>Aspergillus fumigatus</u>	7	6,7
Zygomycos (mucor absidia rhizopus)	3	2,9
Candida	2	1,9
Summa:	12	11,5
(Jästsvamp	4*	2,8)

*sekundärinfektion

Tabell 4

Korrelation mykotisk infektion och BVDV-titer

Antal fall	Svamptyp	BVDV-titer
6	Aspergillus	0
1	Aspergillus	1:250
1	Candida	0
1	Candida	1:250
1	Zygomycet	0
1	Zygomycet	1:250
1	Zygomycet	1:1250
1	Jästsvamp	0
3	Jästsvamp	1:1250

Diskussion

Antal diagnosticerade aborter (51%) var högt i jämförelse med liknande studier i USA (32%) och Australien (37%). Orsaken till detta kan vara att de ovan nämnda undersökningarna ej inräknar *Aeromonas hydrophila* och aerotoleranta campylobacter som möjliga abortpatogener. Räknar man bort dessa diagnoser blir frekvensen diagnosticerade fall 40,5%.

Mykotiska infektioner i placenta var den vanligaste abortorsaken (11,5%) vilket stämmer väl med utländska observationer. Det är av största betydelse att placenta inkommer till undersökning för att diagnosen med säkerhet ska kunna fastställas.

Infektioner orsakade av en rad olika bakterier, ofta ubiquitära och opportunistiskt patogena, kan i många fall vara letala för fostret dels ensamma dels i samverkan med andra faktorer.

Bovint virusdiarrévirus som orsak till aborter är förenat med många frågetecken i de flesta undersökningar. Det är liten sannolikhet att isolera BVD-virus från foster dels pga att fostermaterial är ruttet och förorenat, dels pga att fostret, om inte kroniskt infekterat, inte längre bär på viruset vid aborttillfället. I framtiden kan ny teknik typ PCR (polymerase chain reaction) där man förmerar virus DNA eller RNA öppna nya möjligheter för BVD diagnostik på foster. I undersökningen hade 15 av de aborterade korna höga antikroppstitrar mot BVDV ($\geq 1:1250$). Två av dessa kom från besättningar som senare blev föremål för utredning och där förekomst av kroniskt infekterade kalvar bekräftade misstanken. Det är mycket sannolikt att även de 13 övriga korna med titrar $\geq 1:1250$ och vars foster alla hamnade i kategorin "ej fastställd abortorsak" alla hade kastat pga BVD-infektionen. Det är även sannolikt att kor med titrar på 1:250 kan ha kastat pga BVD-infektion men där tiden mellan aktiv infektion och abort är så lång att den akuta titertoppen har hunnit sjunka. Genom att aktivt leta efter kroniskt infekterade kalvar kan misstanken på BVD-infektion verifieras.

80,6% av korna hade varierande titrar mot bovint parvovirus. Det är idag inte känt vilken roll detta virus spelar i abortsammanhang. Vid experimentella infektioner har både aborter och neonatala kalvdiarréer framkallats.

Chlamydia psittaci är sannolikt inte att räkna med som abortorsak hos nötkreatur. Titrarna är låga och ospecifika och kan härröra från apatogena tarmstammar.

Låga ospecifika *Leptospira grippotyphosa* titrar sågs hos tre kor. Betydelsen av dessa kan idag inte avgöras, men sannolikt är de utan signifikans. Att vi inte har *Brucella* i Sverige räknar vi alla med, men det är viktigt att inte glömma bort denna internationellt betydelsefulla patogen vid abortutredningar.

Ingen av korna hade titer mot IBR, men det är en infektion som däremot finns i landet i subklinisk form vilket gör det så mycket angelägnare att vi är observanta. Både på IBR-formen som ger aborter förutom rhinit och "röd mule" som på IPV-formen med pustler, vulvovaginit och infertilitet.

Sammanfattning

Abortdiagnostik är ett komplext problemområde, där orsaken till störningen kan vara multifaktoriell och ibland ligga flera månader tillbaka i tiden, vilket måste tas hänsyn till vid bedömningen av utredningen.

Det bovina fostret tycks vara mycket känsligt för infektioner. Mikroorganismer som är relativt apatogena för modern kan vara letala för fostret. Det samma gäller för placenta, som i stort sett är utom räckvidd för det maternala immunförsvaret, och en relativt apatogen mikroorganism som kommer dit via könsvägarna eller hematogent buren kan få fäste och föröka sig. En spridning till fostret sker via navelsträngen (och når då först levern) eller amnionvätska (och når då magtarmkanalen och/eller lungorna).

Det är viktigt att se aborter som ett besättningsproblem där ett nära samarbete mellan den praktiserande veterinären, djurägaren och laboratoriet är en förutsättning för att en riktig diagnos ska kunna ställas. En noggrann genomgång av den/de aborterande korna samt besättningen i övrigt är av största vikt, likaså kontroll av foderkvalitet, vattenhygien, skötselrutiner samt inte minst nyrekryteringar. Ett bra och relevant provtagningsmaterial ska skickas till laboratoriet tillsammans med en utförlig anamnes. Utförs obduktionen på gården ska lever, lunga samt löpmagsinnehåll från fostret tillsammans med placenta skickas i kylt tillstånd. Blodprov från ett flertal

kor i besättningen samt ett tankmjölksprov bör medfölja.

Stort tack riktas till Elisabeth Sjöberg för utskrifter av djurägarsvar, rapporter och manus, samt till laboratorieassistenterna på virologen, bakt lab samt patologen för ett digert analys- och preparationsarbete.

Lista över referenser kan fås hos undertecknad.

Marianne Elvander