

Slutrapport SLF projekt ”Coronavirus som diarréorsak hos svenska kalvar – studie av prevalens och jämförelse mellan diagnostiska metoder”, kontrakt 237/04, ansvarig forskare Madeleine Tråvén, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU.

Bakgrund

Diarré är den vanligaste och mest förlustbringande sjukdomarna hos unga svenska kalvar. Nya rön visar också att den ökade kalvdödligheten i större mjölkbesättningar i huvudsak är förknippad med diarrésjukdomar. Ett stort antal studier över hela världen har visat att bovint coronavirus (BCV) är en av de fyra-fem vanligaste orsakerna till spädkalvsdiarré. BCV har påvisats hos 8-40% av undersökta kalvar i europeiska studier. I svenska studier har däremot få fall av BCV-infektion detekterats. Våra tidigare undersökningar har visat att BCV är relativt vanligt förekommande i samband med utbrott av diarré och hosta bland vuxna mjölkkor, så kallad vinterdysenteri, och även i samband med utbrott av luftvägsinfektion hos kalvar. Därför misstänker vi att den låga förekomsten av BCV i tidigare svenska studier av kalvdiarré beror på låg känslighet hos de kommersiella metoder som funnits tillgängliga. Nya diagnostiska metoder med hög känslighet har dock utvecklats och syftet med studien var att undersöka förekomsten av BCV-infektioner hos svenska kalvar och riskfaktorer för infektion för att kunna förbättra rådgivningen till lantbruket både vad gäller diagnostik vid sjukdomsutredningar och förebyggande kalvhälsöarbete.

Material och metoder

C:a 550 träckprover från kalvar har undersökts med en antigen-ELISA mot bovint coronavirus (BCV) utvecklad vid Danska Veterinärinstitutet och c:a 200 prover har undersökts med en realtids PCR utvecklad vid SVA. C:a 150 prover analyserades också med en kommersiellt tillgänglig antigen-ELISA. Majoriteten av proverna kom från mjölkbesättningar och de flesta provtagna kalvarna var mindre än en månad gamla. Proverna var dels inskickade till SVA 2004-2006 inom ramen för Svenska Djurhälsovårdens och SVAs diagnostikservice ”Kalvpaketet”, dels insamlade inom ramen för två andra forskningsprojekt. Dessutom studerades cirkulationen av BCV med upprepade provtagning av kalvar i 8 positiva besättningar. Blodprovstagning för undersökning av aktiv immunitet mot BCV hos kalvar kunde inte genomföras inom ramen för denna studie. Istället undersöktes kornas immunstatus mot BCV i mjölkprover från 7 BCV-positiva gårdar för att få mer kunskap om sambandet mellan vinterdysenteriutbrott hos vuxna nötkreatur och kalvdiarré orsakad av BCV.

Resultat och diskussion

Metodjämförelsen:

Den danska antigen-ELISAn visade generellt högre känslighet för BCV i träckprover än PCR-metoden. Den kommersiella ELISAn visade emellertid mycket dålig känslighet och diagnosticerade inte ett enda positivt prov i delstudie B med de mycket unga kalvarna (se nedan under prevalens). Därför användes inte den metoden i det övriga materialet. Intressant är att PCR-metoden visade högre detektionsfrekvens när proverna poolades (blandades före analysen) besättningsvis jämfört med när proverna analyserades ett och ett, vilket tyder på att metoden är känslig i sig, men störs av hämmande substanser i vissa prover, något som även visats för andra PCR-metoder på träckprover. Då det oftast är en diagnos på besättningsnivå som är intressant kan man mycket väl tänka sig att rutinemässigt använda poolade prover för diagnostik. Analys av ett poolat prov per besättning blir också mer kostnadseffektivt för djurägaren.

Förekomst av BCV:

Den danska ELISA-metoden visade 5,6% BCV-positiva prover i hela materialet. I proverna från studie B (se bilagd presentation från ESVV konferensen) som kom från mycket unga kalvar (0-7 dagar gamla), var frekvensen högre, 10,5%. På besättningsnivå hade 12,3% av besättningarna i hela materialet minst ett positivt prov. Detta är den första studie som visar att BCV är en kalvdiarréorsak att räkna med även i svenska besättningar. Den betydligt högre känsligheten hos både den danska antigen-ELISAn och PCR-metoden än i kommersiella ELISA-metoder som vi testat förklarar delvis att vi fick en högre än i tidigare svenska studier. Det kan emellertid inte helt uteslutas att kalvdiarré orsakad av BCV faktiskt också har ökat i svenska besättningar i samband med att besättningarna blivit större.

Långvarig cirkulation av BCV i kalvgrupper:

BCV-positiva prover påvisades med 3 månaders mellanrum i 3 besättningar av 8 undersökta. BCV-stammar från 2 av besättningarna kunde sekvenseras och jämföras. I den ena besättningen var sekvenserna identiska och det här är första gången man påvisar att samma BCV-stam cirkulerat under längre tid i en kalvavdelning. I den andra besättningen visade de två virusstammarna ett fåtal sekvenskillnader. Man vet idag inte exakt hur fort viruset förändras, men det troligaste är att det är frågan om upprepad introduktion av olika virusstammar och inte långvarig cirkulation av samma virus i den senare besättningen. I våra tidigare studier av BCV-utbrott i mjölkkobesättningar med 30-50 kor har viruset förefallit försvinna ur besättningen mycket snabbt efter utbrottet. De 3 upprepat BCV-positiva besättningarna i den här studien hade alla mer än 200 kor. Det är troligt att en intensiv kalvningsperiod där många känsliga kalvar föds i tät följd är en förutsättning för att BCV ska kunna cirkulera under en längre tid i en besättning.

Kornas immunitet mot BCV:

Mjölkprover från förstakalvare och tankmjölk från 7 besättningar undersöktes med ELISA-metoder för BCV-specifika IgM- och IgA-antikroppar. IgM-antikroppar tydande på en nyligen genomgången akut infektion kunde inte påvisas hos någon av korna, däremot hade de flesta kor detekterbara IgA-halter tydande på en relativt bra immunitet mot BCV-infektion. Ett bra immunitetsläge bland korna är sannolikt orsaken till att ingen av besättningarna som intervjuades uppgav att det förekommit diarréutbrott bland korna under samma stallsäsong som kalvdiarrén provtogs.

Risikfaktorer för kalvdiarré:

En intervjuundersökning om kalvhälsa och skötselrutiner genomfördes i 15 BCV-positiva mjölkkobesättningar. Samtliga dessa besättningar var ganska stora, 150-900 kor, men stora besättningar var också överrepresenterade när det gällde vilka som kunde väljas ut till intervjustudien. De flesta besättningarna gav råmjölk till nyfödda kalvar först efter ordinarie mjölkning, vilket medför att en relativt stor andel av kalvarna riskerar att få råmjölk senare än 6 timmar efter födseln. Undersökning av sköselfaktorer i BCV-fria kontrollbesättningar ingick inte i den här studien, men en jämförelse med resultaten från en annan studie av 50 slumpmässigt utvalda mjölkkobesättningar tyder på att problembesättningarna i vår studie hade sämre råmjölksrutiner än svenska besättningar i allmänhet (Silverlås, Emanuelson, de Verdier & Björkman 2008: Cryptosporidium in Swedish dairy cattle – prevalence and factors associated with infection status. Inskickad till tidskrift.) Faktorer som rimligtvis hade betydelse för smittspridningen i vår studie var att flera besättningar hade kalvdiarréutbrott i perioder när det föddes mycket kalvar och beläggningen alltså var hög. Flera besättningar hade gruppkalvningsboxar och flera satte kalvar i gruppboxar tidigt (från några få dagars ålder). Flera besättningar hade också nyligen köpt in djur, vilket kan ha fört in smittan i

besättningen.

Publikationer

1. Diagnosis and epidemiology of bovine coronavirus in Swedish neonatal dairy and beef calves. Preliminära resultat från projektet presenterades vid European Society for Veterinary Virology (ESVV) kongress september 2006 i Lissabon, se bifogat abstract och poster.
2. Epidemiology of bovine coronavirus in Swedish neonatal calf diarrhoea and evaluation of diagnostic methods. Ett manuskript för en vetenskaplig tidskrift är under bearbetning.
3. Artiklar i Husdjur och Svensk Veterinärtidning planeras.

Övrig resultatförmedling

Resultaten har förts ut i vår undervisning av veterinärstudenterna, som när de kommer ut och arbetar som veterinärer kan förmedla kunskaperna vidare till djurägare och äldre kollegor.

ERROR: invalidrestore
OFFENDING COMMAND: restore

STACK:

```
-savelevel-  
-savelevel-  
/DOCINFOpdfmark  
(Word)  
/Creator  
(  
/Keywords  
(  
/Subject  
(MadeleineTr vØn)  
/Author  
(  
Slutrapport Agria projekt CoronavirusomdiarrØorsakhossvenskakalvar studieavprevalensochj  
)  
/Title  
-mark-
```