

SLUTRAPPORT

avseende projektnummer V0530044

Framtidsfrågor för ett BVD-fritt Sverige: Duration av fosterskyddande immunitet, infektiös dos vid intrauterin smitta samt förmåga hos dagens diagnostik att detektera atypiska BVDV-stammar.

Bakgrund

Infektioner med bovint virusdiarrévirus (BVDV) är vanligt förekommande hos nötkreatur över hela världen, inklusive Sverige (Houe, 2000). Viruset ger upphov till allvarliga reproduktionsstörningar, så som omlöpningar, aborter, missbildningar och svag- eller dödfödda kalvar (Roeder et al., 1986; Moennig and Liess, 1995; Fray et al., 2000). Immunförsvaret påverkas negativt, vilket ger ökad mottaglighet för t.ex. luftvägsinfektioner och diarré hos djur i drabbade besättningar (Potgieter, 1995). Dessa effekter, kombinerat med virusets omfattande förekomst globalt gör att det anses vara en av de mest förlustbringande för nötkreatursnäringen (Houe, 2003). För att minska dessa förluster har vi i Sverige bedrivit organiserad bekämpning av BVDV-infektioner sedan 1993, i ett program som rönt stort stöd bland landets djurbönder (Alenius et al., 1997). Programmet är nu i det närmaste avslutat och Sverige är därmed ett av de första länderna i världen som utrotar denna sjukdom från nötkreaturspopulationen. Programmets framgång har till stor del byggts på att det pågått en kunskapsuppbyggnad före och parallellt med dess genomförande (se t.ex. Alenius et al., 1986; Carlsson et al., 1989; Niskanen et al., 1989; Larsson et al., 1990; Tråvén et al., 1991; Paton et al., 1995; Elvander et al., 1998; Baule et al., 1999; Lindberg et al., 2001; Stokstad et al., 2003; Ståhl et al., 2004; Kampa et al., 2007). Vi har därmed kunnat ligga i frontlinjen vad gäller ny kunskap och anpassat programmets regler och råd därefter.

Ett BVD-fritt Sverige står inför nya utmaningar där en av de främsta är att kontrollera risken vad gäller återintroduktion av viruset. Teoretiskt sett kan detta ske genom import av smittade livdjur, embryon och/eller sperma. Importkontrollen sker idag genom BVD-programmets regelverk (embryon) och krav ställda via Sveriges Djurbönders Smittskyddskontroll (livdjur och sperma). De innebär i korthet att livdjur kontrolleras i ursprungslandet, sperma kontrolleras efter import men före användning och embryon kontrolleras indirekt genom att mottagardjur testas efter iläggning. Embryoregeln infördes efter en incident under år 2000 där importembryon bedömdes vara orsaken till att tre kvigor serokonverterade mot BVDV (Lindberg et al., 2000). Nyligen (juni 2008) inträffade en incident där sperma importerad från USA var positiv vid importkontroll, vilket återigen bevisar vikten av att bibehålla god nationell biosäkerhet vad gäller BVDV.

Embryon anses generellt vara ett lågriskalternativ vid import av nytt genetiskt material. Det finns emellertid ett antal egenskaper hos BVDV som gör att risken att få in viruset med embryon är större än för många andra agens. Ett är dess i princip ständiga förekomst i fetala kalvsera (Bolin et al., 1991; Makoschey et al., 2003), vilka ofta tillsätts skölvätskor i samband med embryosamling *in vivo*. Sådana sera används även i betydande mängder vid *in-vitro* produktion av embryon (Stringfellow et al., 2004). Produkten framställs kommersiellt genom poolning av serum från mellan 500-2000 ofödda kalvar per batch (EDQM, 2001). Under endemiska förhållanden ligger prevalensen av persistent BVDV-infektion hos foster runt 8-10% vilket gör att kontaminationsgraden är i princip 100%. Detta hanteras genom att sera bestrålas eller behandlas med virucida preparat. Tyvärr finns många exempel på där

denna avdödning inte lyckats och där det fortfarande går att odla fram levande virus från serat. Detta faktum innebär att vi måste betrakta produkter där fetala kalvsera används (t.ex. embryon och levande vacciner) som en betydande riskfaktor för återintroduktion av BVDV.

Vidare finns forskning som visar på att det finns BVDV-stammar som har högre affinitet till embryon än man tidigare känt till (Waldrop et al., 2004). De internationellt godkända procedurer som finns för framställning av embryon är i dessa fall otillräckliga (Stringfellow and Seidel, 1998).

Under 2004 rapporterades om en ny, atypisk, BVDV-stam (HoBi), isolerad från fetalt kalvserum, som inte neutraliserades av sera med antikroppar mot den typ av BVDV som vi har i Sverige (Schirrmeyer et al., 2004). Senare rapporter har visat på att närbesläktade BVDV-stammar finns endemiskt i nötkreaturspopulationen i Sydostasien (Ståhl et al., 2007). Kunskap saknas huruvida den serologiska diagnostik som vi idag använder för övervakning av fria besättningar kan detektera denna typ av BVDV-stammar. En introduktion av sådant BVDV skulle därför kunna få omfattande spridning utan att upptäckas, med förödande konsekvenser som följd.

En annan frågeställning som är av stor relevans både idag och i framtiden, är hur länge en ko som en gång genomgått BVDV-infektion och aktivt bildat antikroppar förmår skydda sitt foster från att smittas ifall hon åter exponeras för viruset. Den gängse pragmatiska inställningen är och har varit att betrakta immunitet mot BVDV som livslång, ifall den är ett resultat av genomgången infektion. Det finns emellertid inte någon studie där detta undersökts – mycket beroende på att det är ett svårt försök att genomföra i länder där BVDV är endemiskt. Vi har möjlighet att besvara den frågan i Sverige, tack vare den information som samlats in i BVD-programmet och det faktum att vi har en sådan omfattande identifiering av våra nötkreatur i Kodatabasen. Förutom att frågeställningen är av stort intresse för BVDV-forskning globalt är den av avgörande betydelse för möjligheten att använda historisk information om antikroppsstatus i den händelse en besättning nysmittas med BVDV efter att ha varit fri under en längre tid. Den informationen är strategiskt viktig i beslut som rör hur man ska sanera besättningen, vilka djur som kan betraktas som skyddade (som inte kommer att föda infekterade kalvar) och vilka som måste skyddas (Lindberg, 2002).

Med ovanstående som bakgrund har detta projekt undersökt;

- A. hur länge fosterskyddande immunitet mot BVDV kvarstår,
- B. ifall de mängder virus som potentiellt skulle kunna förekomma i importerat embryomaterial/sperma förmår ge upphov till infektion då de deponeras intrauterint samt
- C. i vilken grad den serologiska diagnostik som används i rutin idag förmår detektera antikroppar mot en ny atypisk BVDV-stam (HoBi).

Material och metoder

Delstudie A1

Delstudie A1 har syftat till att studera antikroppsprofilen hos djur som genomgått BVDV-infektion för länge sedan, som ett indirekt mått på i vilken mån immuniteten kvarstår.

Djurmaterial

En serosurvey har genomförts där målsättningen var att ta omprov på kor som exponerats för BVDV under en begränsad tid i sin ungdom. För att identifiera intressanta individer användes följande inklusionskriterier:

- kon skulle ha testats antikroppspositiv med absorptionsvärde $>0,3$ vid 6-12 månaders ålder,
- den sista kronikern som påvisades i besättningen skulle vara identifierad inom 12 månader efter djuret provtagits,
- besättningen skulle ha varit friförklarad inom 24 mån efter att sista kronikern identifierats.

Med hjälp av information om antikroppsstatus och provtagningstidpunkt från BVD-programmets provtagningsregister, samt information om ålder på korna (från kokontrollen) identifierades totalt 190 kor i 67 besättningar som uppfyllde dessa kriterier.

Via ett brevutskick tillfrågades djurägarna om djuren fanns tillgängliga för provtagning. Svar erhöles från 62 lantbrukare (efter att 1 påminnelse gått ut brevlades). Totalt ställde 53 lantbrukare sina djur till förfogande för provtagning. I tre fall hade djuren redan slaktats och sex lantbrukare avstod från provtagning av andra skäl. Under den period som studien genomfördes (hösten 2005) hann husdjursföreningarnas personal provta 94 djur i 43 av dessa besättningar. De djur som inte provtogs var sådana som hann slaktas innan provtagning kunde ske.

Påvisande av antikroppar

I delstudie A1 påvisades antikroppar med en kommersiell indirekt ELISA (Svanovir BVDV-Ab®, Svanova Biotech, Uppsala) som också används, något modifierad, i rutindiagnostiken i BVD-programmet. Proverna analyserades i en spädning på 1:100, vilket är detsamma som i rutin. Resultaten rapporteras som korrigerade absorptionsvärden efter subtraktion av värdet för den positiva kontrollen. Prover som hade ett absorptionsvärde under gränsvärdet för positivt ($\leq 0,20$) analyserades även i en 1:10 spädning.

Statistisk analys

Envägssamband mellan Antikropps nivå vid omprovet och Djurets ålder vid första provet och idag, Exponeringstid (beräknad som tid från födsel till påvisande av sista BVDV-kroniker i besättningen), Tid sedan exponering (beräknad som tid från påvisande av sista BVDV-kroniker till omprov) samt Antikropps nivå vid första provet undersöktes med linjär regression i statistikprogrammet Stata (Stata Corp., College Station, TX, USA), med korrektion för upprepade observationer inom besättning.

Dessutom undersöktes ifall någon av dessa variabler kunde påverka sannolikheten att djuret skulle ha mycket höga absorptionsvärden vid omprovet (över 1,25). Detta gjordes med logistisk regression, på motsvarande sätt som ovan.

Delstudie A2

Delstudie A2 syftade till att undersöka i vilken grad kor som är antikroppspositiva efter genomgången infektion förmår skydda sitt foster om de utsätts för infektion med en stam av samma BVDV genotyp (i detta fall typ 1).

Djurmaterial

Sex djur rekryterades till försöket. Två av dessa var antikroppsnegativa, dräktiga kor från BVDV-fria besättningar. De övriga fyra rekryterades via delstudie A1. Då lantbrukarna kontaktades för denna studie tillfrågades de samtidigt om intresse att sälja djuret, ifall det

skulle vara lämpligt för infektionsförsöket. Av de 43 lantbrukare som lät provta sina djur i delstudie A1 var det 28 som kunde tänka sig detta (motsvarande 69 djur, varav 32 från köttdjursbesättningar och 37 från mjölkbesättningar). Ett viktigt kriterium för att djuret skulle kunna komma ifråga var att det skulle vara konstaterat dräktigt, samt att kalvning inte skulle vara så nära förestående vid försökets början att intransport omöjliggjordes. Då intransport skedde i slutet av mars innebar detta att i princip alla kor från köttdjursbesättningar diskvalificerades. Det var också ett antal av dessa som inte kände till dräktighetsstatus med säkerhet.

Det vidare urvalet skedde på basis av djurens antikropps nivåer. Målsättningen var att rekrytera två djur med låga nivåer (klart påvisbara antikroppar i 1:10-spädning (absorbans >0,4), men under gränsvärdet 0,20 i en 1:100-spädning) samt två djur med en måttligt hög antikropps nivå (mellan 0,3 och 0,6 i en 1:100-spädning). Totalt var det 26 djur som låg inom dessa gränser; 12 med låga och 14 med höga nivåer. Ett av de djur som rekryterats till Låggruppen insjuknade med hög feber 3 dagar efter intransport och kastade 4 dagar senare. Data på de fem djur som sedermera ingick i försöket ges i tabell 1.

Tabell 1. Ålder, ras, antikropps nivå och dräktighetsstadium inför försök för fem kor som använts i en experimentell undersökning avseende fosterskyddande immunitet mot bovint virusdiarrévirus efter tidigare genomgången infektion.

Grupp	DjurID	Ålder (år)	Ras	Abs 1:100 ¹	Abs 1:10 ¹	Dgr dräktig
Låg	336	5,8	SRB	0,19	0,79	200
Hög	501	6,6	SRB	0,36		187
	996	3,9	SLB	0,58		121
Neg. kontroll	19	5,9	SRB	0,07		142
	29	4,8	SLB	0,008		153

¹Svanovir BVDV-Ab®, Svanova Biotech, Uppsala, gränsvärde för positivt prov > 0,20

Challenge

Djuren smittades intranasalt med 2,5 ml serum innehållande 5×10^5 TCID_{50/ml} av en icke-cytopatogen BVDV-stam av typ 1b (FCS-1H). Prover för serologisk analys uttogs på dag 0, 4, 7, 15 och därefter 1 gg/vecka t.o.m. dag 63. Djuren följdes även kliniskt via rektaltemperatur, bedömning av allmäntillstånd, aptit, avföring, andningsfrekvens och förekomst av hosta. På dag 70 avlivades korna. Deras foster togs därefter skyndsamt ut från livmodern, blodprovades och avlivades därefter genom injektion av pentobarbital (50 mg/ml) i hjärtat.

Påvisande av antikroppar

Antikroppspåvisande genomfördes med samma metod som i delstudie A1. Samtliga prover analyserades i en spädning på 1:100. Virusneutralisationstest (VN) mot typstammen NADL och challengeviruset FCS-1H gjordes på dag 0-prover.

Delstudie B och C

I delstudie B studerades hur stor infektionsdos som krävs vid intrauterin smitta med BVDV vid ett tillfälle då djuret är i progesteronfas. Detta efterliknar en situation då ett embryo kontaminerat med BVDV deponeras i en recipient. Delstudie C använde prover från delstudie B för en jämförelse av hur tre olika antikroppstester detekterar serokonversioner mot det atypiska BVD-virus, och vid de låga nivåer, som användes för challenge i delstudie B.

Djurmaterial

Sex BVDV-negativa, icke dräktiga, lakterande kor rekryterades till försöket. I syfte att uppnå en synkronisering av brunster övervakades kornas cyklicitet, och fyra av dem injicerades 2

gg med 2 ml cloprostenol (Estrumat®) i.m. med ett intervall på 12 dagar. En ko injicerades 1 gg (vid tillfälle 2) och en ko var naturligt i fas.

Challenge

Strån av den typ som används vid embryotransfer (volym 250 µl) förbereddes genom att fyllas med serum innehållande virus i tre olika koncentrationer; 10^4 , 10^3 och 10^2 TCID₅₀/ml. Det virus som användes för challenge var den atypiska BVDV-stammen ”HoBi”.

Upplägget var att följa den normala rutinen vid ET vilket betyder att serum (och i normala fall även ett embryo) deponerades i livmoderhornets distala del ipsilateralt till gula kroppen 7 dagar efter observerad högbrunst. Varje viruskoncentration användes på 2 kor. Blod- och mjölkprov uttogs sedan på dag 0, 6, 14, 20 och därefter 1 gg/vecka t.o.m. dag 55 post challenge.

För att minimera risken för smittspridning mellan kor inhystes dessa parvis, utifrån smittdos, i separata stallenheter. Ingen direktkontakt var möjlig mellan djur i samma stallenhet. Strikta smittskyddsrutiner fanns på plats för att förhindra smittspridning mellan enheter. Djurskötarna påbörjade alltid skötsel i den stallenhet där djuren fått lägst smittdos, och bytte dessutom stövlar och rockar mellan stallenheterna t.o.m. dag 10 post-challenge. Händer tvättades alltid mellan besök i olika stallenheter.

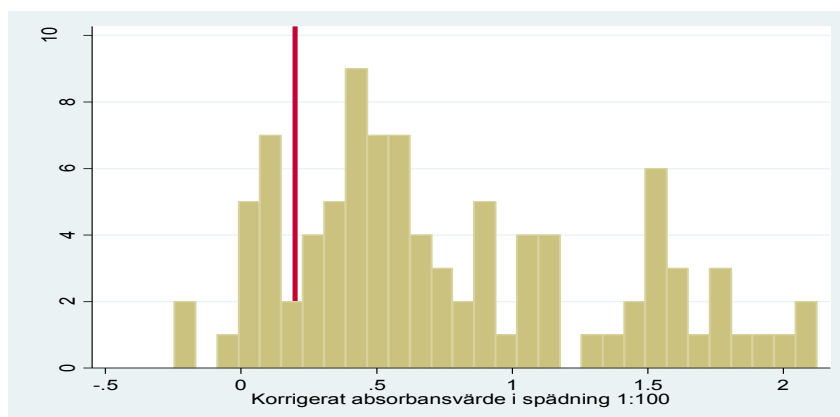
Påvisande av antikroppar

Prover på blod och mjölk analyserades med tre olika kommersiella produkter; två indirekta och en kompetitiv (blocking) ELISA (Svanovir® BVDV-Ab, Svanova Biotech, Uppsala.; HerdCHEK® BVDV Ab, IDEXX Laboratories, Westbrook, MA, USA; Ceditest® BVDV Ab, Prionics, Lelystad, Nederländerna). Alla analyser genomfördes enligt tillverkarens instruktioner. Gränsvärden för positivt prov var, för serum resp. mjölk; ≥ 25 / $>7\%$ av positiv kontroll (Svanovir®), $>0,3$ / $>0,2$ i absorbansvärde (HerdCHEK®) samt ≥ 50 / $\geq 30\%$ hämning (Ceditest®).

Resultat

Delstudie A1

Av de 94 provtagna djuren var det 17 (18%) som låg under det gränsvärde för positivt prov som används i rutin. Vid analys av dessa i en 1:10 spädning var det 13 som hade påvisbara, men låga, nivåer av antikroppar (absorbansvärde 0.046-0.177) och resterande 5 saknade påvisbara antikropps nivåer (<0.01). Resultaten visas grafiskt i figur 1.



Figur 1. Histogram över fördelningen av absorbansvärden i spädning 1:100 hos äldre kor som genomgått BVD-infektion i sin ungdom och därefter inte exponerats igen (n=94). Medelvärde för de antikroppspositiva djuren 0,92 (variationsvidd 0,24-2,12). Röd linje markerar gränsvärde för positivt prov.

Deskriptiv statistik över de 94 provtagna djuren ges i tabell 2. De provtagna djuren hade en medianålder på genomsnitt 8,6 månader vid sin första provtagning (variationsvidd 6,2-12 månader) och den genomsnittliga åldern vid omprovet var 5,7 år (3,3-12,5 år).

Ingen av de undersökta variablerna var signifikant associerad med "Absorbansvärde vid omprov" vid 5%-nivån, men "Absorbansvärde vid 1:a provet" uppvisade en tendens till samband, både generellt med "Absorbansvärde vid omprov" ($p=0,095$) och med sannolikheten att ha ett högt absorbansvärde ($>1,25$) vid omprovet ($p=0,051$).

Tabell 2. Deskriptiv statistik över 94 svenska kor som omprovats 2005 efter att ha genomgått BVD-infektion i sin ungdom och därefter inte exponerats igen.

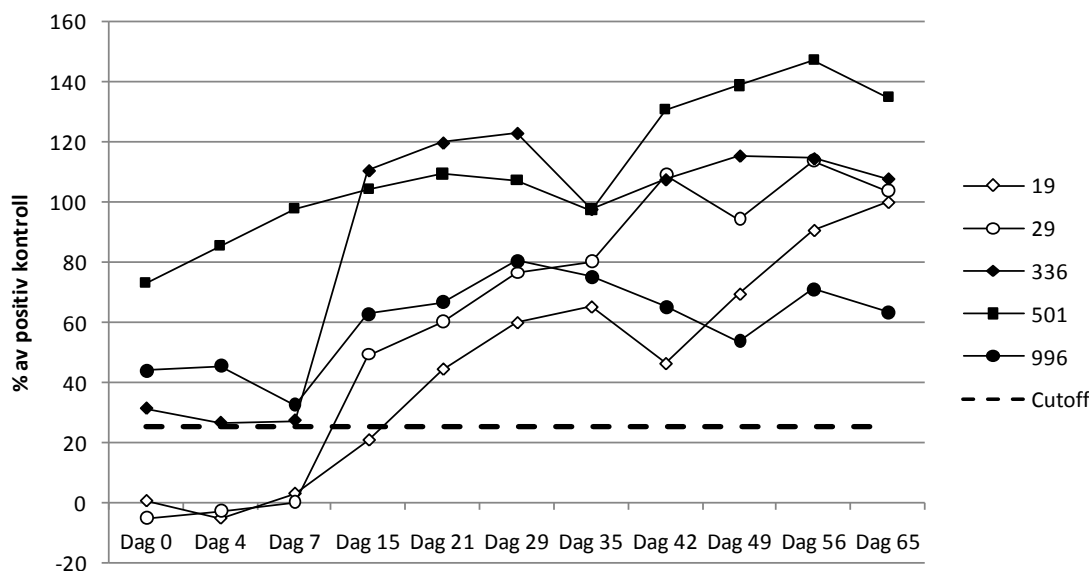
Variabel	Kategori	Antikroppsstatus vid omprov ¹		Totalt (n=94)
		Positiv (n=77)	Negativ (n=17)	
Besättningstyp	Mjölk	51	11	62
	Kött	26	6	32
Antikropps nivå	<1,25	55	17	77
	>1,25	22	0	17
	Parameter			
Exponeringstid (dgr)	median	370	373	370
	<i>min</i>	184	251	184
	<i>max</i>	710	605	710
Ålder vid 1:a prov (mån)	median	8,9	8,0	8,6
	<i>min</i>	6,2	6,2	6,2
	<i>max</i>	12	11,6	12
Absorbansvärde 1:a prov	median	0,75	0,59	0,705
	<i>min</i>	0,37	0,3	0,3
	<i>max</i>	1,41	1,43	1,43
Ålder vid omprov (år)	median	5,7	5,6	5,7
	<i>min</i>	3,3	3,3	3,3
	<i>max</i>	12,5	8,6	12,5
Tid expon. till omprov (år)	median	4,6	4,3	4,6
	<i>min</i>	2,4	2,6	2,4
	<i>max</i>	11,6	7,2	11,6

¹ Positiv = absorbansvärde $\geq 0,20$ i en spädning på 1:100; Svanovir® BVDV Ab, Svanova Biotech, Uppsala.

Delstudie A2

Resultaten av de serologiska analyserna av proven från fosterchallengeförsöket ges i figur 2. Samtliga kor svarade immunologiskt på challenge. De kor som var seropositiva sedan tidigare gick upp i antikropps nivå, med en första ökning synlig mellan dag 4 och dag 15 post-challenge. Kontrollkorna serokonverterade på dag 15 resp. 21. En av de negativa kontrollkorna uppvisade en temperaturstegring $>39^{\circ}\text{C}$ och ökad respirationsfrekvens på dag 3-4 post challenge. Djuren var för övrigt kliniskt opåverkade av infektionen.

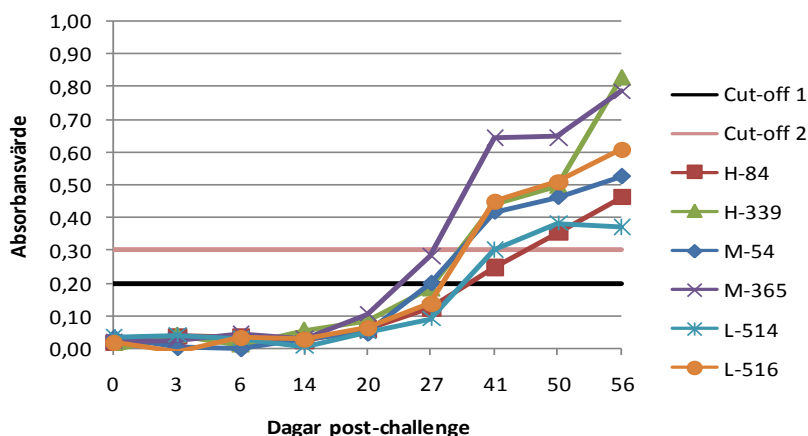
Serologisk analys av proverna från kalvarna visade att tre av fem hade serokonverterat; båda kontrollkalvarna samt kalven till kon med låg antikropps nivå. Resultaten från VN-testet visade att samtliga kor vars kalvar hade blivit infekterade hade ingen (kontrollkorna) eller låg (ko 336) titer mot challengeviruset, som var av typ 1b. Däremot hade ko 336 en förhållandevis hög titer mot NADL, vilket är en stam av typ 1a. De kor som var utvalda på basis av måttligt hög antikropps nivå hade också titrar som var i nivå med detta, men mot både challenge stammen och NADL.



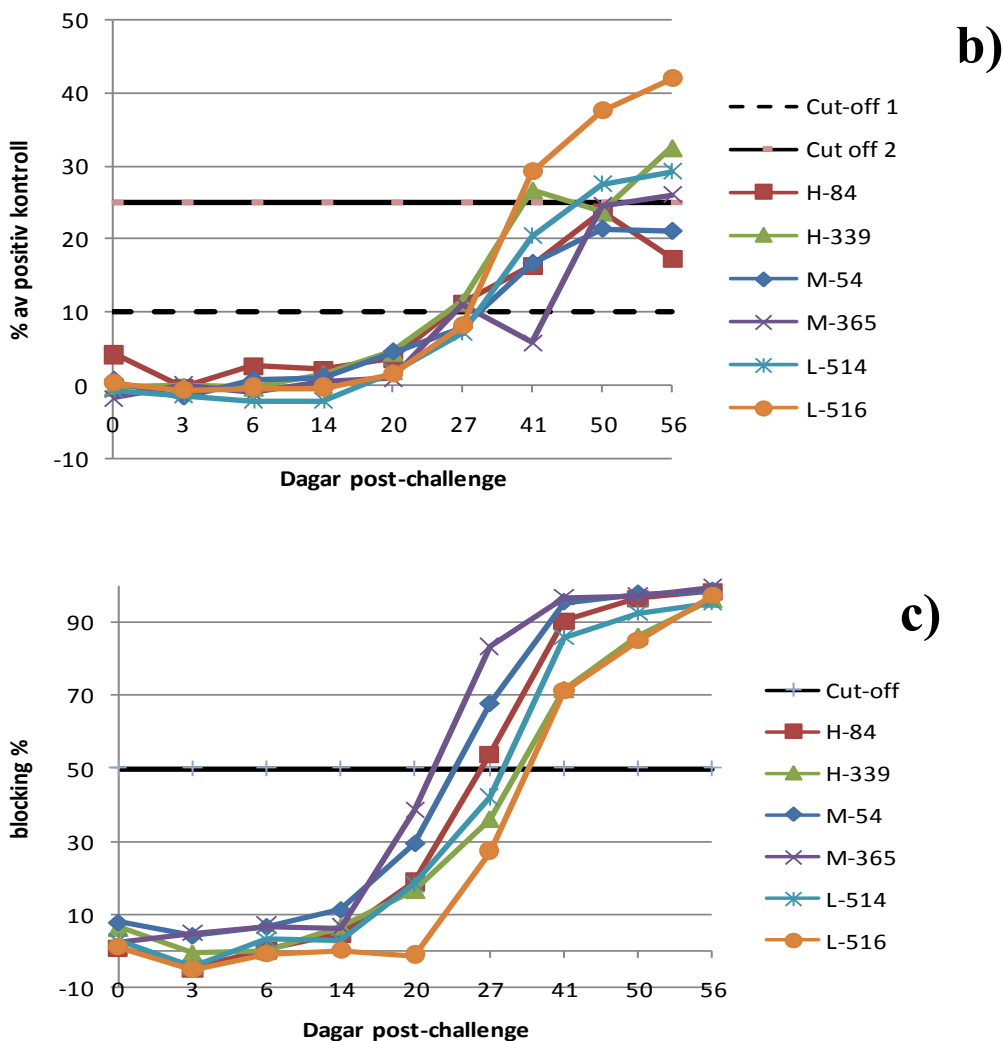
Figur 2. Resultat av antikroppsanalyser från 5 kor med olika initialt antikroppsstatus, vilka utsatts för challenge med bovin virusdiarrévirus under dräktigheten. Ko 19 och 29 var negativa kontroller. Proven analyserades i en indirekt ELISA (Svanovir® BVDV-Ab, Svanova Biotech, Uppsala). Ko 19, 29 och 336 födde antikroppspositiva kalvar.

Delstudie B och C

Resultaten av antikroppsanalyserna av serumproven från ”ET”-challengeförsöket ges i figur 3a-c. Samtliga kor serokonverterade som ett resultat av challenge, men inte i alla tester. Serokonversion över den intermediära zonen (över det högre cut-off:et) detekterades mellan dag 41 och 50 i test a), och mellan dag 41 och 56 i test b). Endast fyra av 6 djur serokonverterade vid det högre cut-off:et i test b). Serokonversion över det lägre cut-off:et detekterades mellan dag 27-41 i test a) och mellan dag 27-50 i test b). I test c) serokonverterade samtliga kor mellan dag 27-41. Det fanns inga skillnader i tidpunkt för serokonversion som kunde hänföras till infektionsdos.



a)



Figur 3. Resultat av antikroppsanalyser på serum från 6 antikroppsnegativa, icke dräktiga kor, vilka utsatts för challenge med ett atypiskt bovint virusdiarrévirus ("HoBi") under progesteronfas. Figur 3a och b visar resultaten från två kommersiellt tillgängliga indirekta ELISA-kit (a) HerdCHEK® BVDV Ab, IDEXX Laboratories, Westbrook, MA, USA; b) Svanovir® BVDV-Ab, Svanova Biotech, Uppsala), och figur 3c visar motsvarande resultat i en blocking-ELISA (Ceditest® BVDV Ab, Prionics, Lelystad, Nederländerna).

Analyserna på de individuella mjölkprover visade på serokonversion vid ungefär samma tidpunkt som serumproverna var positiva vid det högre gränsvärdet. I test a) och b) serokonverterade djuren mellan dag 41-55 (med 4 av 6 antikroppspositiva vid dag 55). I test c) var inget djur positivt före dag 55, även här 4 av 6 positiva. De djur som fortfarande var antikroppsnegativa på mjölkprov vid dag 55, i enlighet med de gränsvärden som angivits av tillverkaren, var ko 54 och 516 (som fått medel resp. låg smittdos). Dessa kor mjölkade vid tillfället ca 10 kg.

Diskussion och slutsatser

Resultaten från dessa studier ger för första gången någonsin ett nyanserat svar på frågan om huruvida genomgången BVDV-infektion ger livslång immunitet eller inte. Vi kunde visa att för en majoritet av de tidigare BVDV-infekterade djuren kommer antikropparna att kvarstå under lång tid (i vissa fall >11 år) och vid en nivå som sannolikt är fosterskyddande om djuret

skulle exponeras för samma genotyp av virus igen. Djur som har påvisbara, men låga nivåer av antikroppar, kan emellertid inte betraktas som skyddade vid en reinfektion.

Alla kor med antikroppar sedan tidigare uppvisade högst titer mot typstammen NADL. Av VN-testet kan ses att de kor som hade fosterskyddande immunitet också hade förhållandevis höga titrar både mot challengestammen, som är av typ 1b och mot NADL, som är av typ 1a. Eftersom det får betraktas som ytterst osannolikt att de genomgått infektion med virus av båda typer under sin ungdom, är vår tolkning att det istället är ett utslag av korsimmunitet. Ko 336, vars kalv infekterades, hade låg titer mot challengestammen, och det faktum att hon hade en hög titer mot den närbesläktade typstammen NADL var uppenbarligen inte tillräckligt för att erhålla fosterskydd. Detta kan tyda på att vid låga antikropps-nivåer blir också eventuell korsimmunitet lägre. Detta fynd bidrar till förståelsen för de svårigheter som generellt finns med att uppnå bred fosterskyddande immunitet via vaccination.

Våra resultat har direkt betydelse för hur man kan använda historisk information vid bedömning av en kos aktuella antikroppsstatus. Vår bedömning på basis av resultaten är att djur som har måttliga-höga antikropps-nivåer (absorbans >0,3-0,4 i en 1:100-spädning i den test som används i rutin) med hög sannolikhet är skyddade, men att man inte med säkerhet kan utgå från den historiska informationen för att avgöra vilka djur som är skyddade från att föda kroniker vid en reinfektion i besättningen. En konsekvens av detta blir att vid reinfektion av en besättning som tidigare genomgått infektion så bör antikroppsstatus fastställas för samtliga djur (även de djur som tidigare haft antikroppar) då man inleder saneringsarbetet.

Resultaten från delstudie B visar att kor i diestrus (under progesteronfas) är mycket mottagliga för ett intrauterint challenge. De kor som erhöll den lägsta dosen utsattes för en dos på mellan 100 och 500 infektiösa viruspartiklar. Vi kunde notera att serokonversion detekterades senare än vad man ser efter ett "normalt" challenge (intranasalt med upp emot 10 000 viruspartiklar eller mer). Påvisande av antikroppar i mjölk skedde också senare än förväntat, trots att dessa kor mjölkade små mängder (≈ 10 kg/dag), vilket torde ha motverkat eventuella utspädningseffekter. Man kan säga att vår målsättning att identifiera en minsta infektionsdos inte uppnåddes, eftersom samtliga kor serokonverterade. Men även om resultaten av denna studie inte gör det möjligt att dra några slutsatser om minsta infektionsdos, bidrar de till förståelsen av hur BVDV-kontaminerade fetala kalvsera, om de används i samband med embryo transfer, kan utgöra en signifikant riskfaktor för återintroduktion av BVDV i landet.

Ytterligare en slutsats som kan dras är att även om samtliga kit för antikroppsdetektion kunde påvisa antikroppar mot det atypiska "HoBi"-viruset (via denna infektionsport och med de doser som användes i försöket) så var antikropps-signalen svag och vissa djur nådde inte ens upp till gränsvärdet inom den tidsram som studien omfattade (55 dagar), med de gränsvärden som tillverkarna föreskriver. I områden där BVDV-övervakningen bygger på test av tankmjölk kan denna relativa okänslighet leda till att påvisandet av nyinfektioner missas/fördröjs. För att full ut hantera detta möjliga riskscenario för nyintroduktion bör man diskutera en sänkning av gränsvärden för tankmjölkstest möjligen i kombination med en riskbaserat förändring av övervakningens upplägg där man i högre grad provtar besättningar som nyttjar ET.

Publikationer och övrig resultatförmedling till näringen

Rapportering om projektet har gjorts inom husdjursorganisationen. Resultaten från fältstudien har rapporterats till de deltagande lantbrukarna, i det interna nyhetsbrevet Kossa Nova och på Svensk Mjölks Rådgivarsajt under 2006. Resultaten från fosterchallenge och ET-challenge har också publicerats i svensk Mjölks Forskning Special.

Två abstracts har accepterats för presentation vid 7th Pestivirus Symposium of the European Society for Veterinary Virology (16-19 september 2008);

- Lindberg, A., Gustafsson, H. Niskanen, R., Alenius, S. Challenge with an atypical BVDV strain ("HoBi") through intrauterine deposition 7 days post-oestrus, mimicking embryo transfer.
- Lindberg, A., Niskanen, R., Alenius, S. Persistence of antibodies to type I BVDV after natural infection and fetal protection against challenge with a strain of the same genotype.

Båda dessa arbeten är i manuskript för planerad publicering i *Veterinary Journal* respektive *Veterinary Microbiology*.

Referenser

- Alenius, S., Jacobsson, S.O., Cafaro, E., 1986. In: World Congress on Diseases in Cattle: Conference proceedings, Dublin, Ireland, pp. 204-207.
- Alenius, S., Lindberg, A., Larsson, B., 1997. In: 3rd ESVV symposium on pestivirus infections, Lelystadt, The Netherlands, 19-20 Sept. 1996, 19-20 September 1996, pp. 162-169.
- Baule, C., Lindberg, A., Hjort, M., Niskanen, R., Mittelholzer, C., Belak, S., Alenius, S., 1999. In: 4th ESVV symposium on pestivirus infections, Giessen, Germany, 15-19 March, 1999, pp. P1-10.
- Bolin, S.R., Matthews, P.J., Ridpath, J.F., 1991. *J Vet Diagn Invest* 3, 199-203.
- Carlsson, U., Fredriksson, G., Alenius, S., Kindahl, H., 1989. *J Vet Med A* 36, 15-23.
- EDQM, 2001. Paris, France, 29-30 March 2001, 156 p.
- Elvander, M., Baule, C., Persson, M., Egyed, L., Ballagi-Pordany, A., Belak, S., Alenius, S., 1998. *Acta veterinaria Scandinavica* 39, 251-264.
- Fray, M.D., Paton, D.J., Alenius, S., 2000. *Animal reproduction science* 60-61, 615-627.
- Houe, H., 2000. In: Internationale Fachtagung der Fachgruppe "Epidemiologie und Dokumentation": Conference proceedings, Wien, Austria, 6-8 Sept. 2000, 6-8 September.
- Houe, H., 2003. *Biologicals* 31, 137-143.
- Kampa, J., Stahl, K., Renstrom, L.H., Alenius, S., 2007. *Acta veterinaria Scandinavica* 49, 7.
- Larsson, B., Fossum, C., Juntti, N., 1990. *Veterinary microbiology* 22, 161-170.
- Lindberg, A., 2002. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Lindberg, A., Groenendaal, H., Alenius, S., Emanuelson, U., 2001. *Preventive veterinary medicine* 51, 199-214.
- Lindberg, A., Ortman, K., Alenius, S., 2000. In: 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden, 2-6 July, p. 250.
- Makoschey, B., Gelder, P.T., Keijsers, V., Goovaerts, D., 2003. *Biologicals* 31, 203-208.
- Moennig, V., Liess, B., 1995. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 11, 477-487.
- Niskanen, R., Alenius, S., Larsson, B., Juntti, N., 1989. *Zentralbl Veterinarmed [B]* 36, 113-118.
- Paton, D.J., Carlsson, U., Lowings, J.P., Sands, J.J., Vilcek, S., Alenius, S., 1995. *Veterinary microbiology* 43, 283-294.
- Potgieter, L.N.D., 1995. *The Veterinary clinics of North America* 11, 501-&.
- Roeder, P.L., Jeffrey, M., Cranwell, M.P., 1986. *Veterinary Record* 118, 44-48.
- Schirrmeier, H., Strebelow, G., Depner, K., Hoffmann, B., Beer, M., 2004. *Journal of General Virology* 85, 3647-3652.
- Stokstad, M., Niskanen, R., Lindberg, A., Thoren, P., Belak, S., Alenius, S., Loken, T., 2003. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50, 424-429.
- Stringfellow, D., Seidel, S.M. 1998.
- Stringfellow, D.A., Givens, M.D., Waldrop, J.G., 2004. *Reproduction, Fertility, and Development* 16, 93-102.
- Stahl, K., Lindberg, A., Baule, C., Alenius, S., Belak, S., 2004. In: Annual meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, 24-26 March 2004, Martigny, Switzerland.
- Tråvén, M., Alenius, S., Fossum, C., Larsson, B., 1991. *Zentralbl Veterinarmed [B]* 38, 453-462.
- Waldrop, J.G., Stringfellow, D.A., Riddell, K.P., Galik, P.K., Riddell, M.G., Givens, M.D., Carson, R.L., Brock, K.V., 2004. *Theriogenology* 62, 45-55.