

Overvåkingsprogrammet for blåtunge 2009

- En vurdering

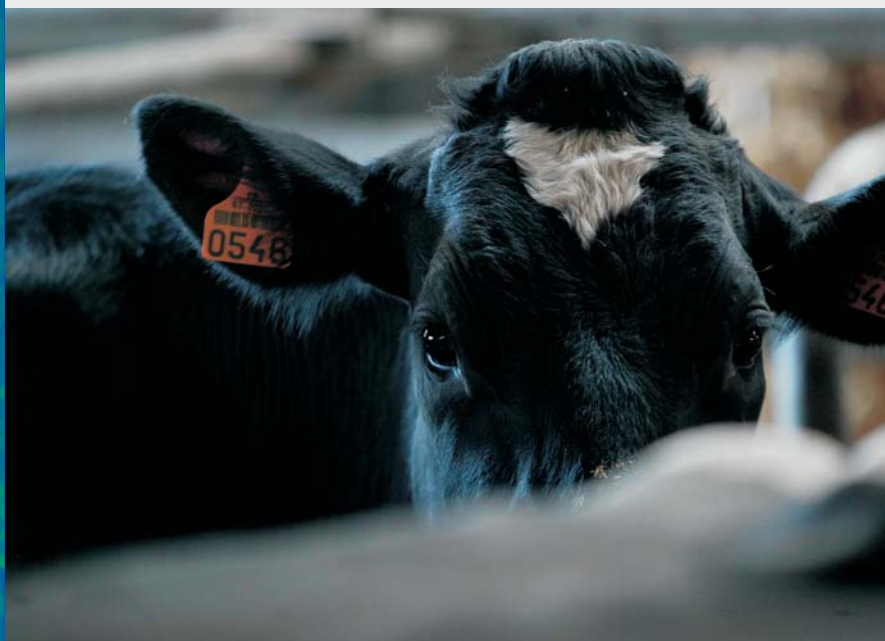
Ståle Sviland

Johan Åkerstedt

Kathrine Sønneland Håland

Siv Klevar

Tormod Mørk





Veterinærinstituttets rapportserie · 02 - 2010

Tittel

Overvåkingsprogrammet for blåtunge 2009 - En vurdering

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form omslag: Graf AS
Forsidefoto: Colourbox

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no
Faks: + 47 23 21 60 01
Tel: + 47 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Sviland S, Åkerstedt J, Håland KS, Klevar S, Mørk T. Overvåkingsprogrammet for blåtunge 2009 - En vurdering. Veterinærinstituttets rapportserie 02-2010. Oslo: Veterinærinstituttet; 2010.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når Veterinærinstituttet gjengis som kilde



Veterinærinstituttets rapportserie
National Veterinary Institute's Report Series
Rapport 02 · 2010

Overvåkingsprogrammet for blåtunge 2009 - En vurdering

Forfattere

Ståle Sviland

Johan Åkerstedt

Kathrine Sønneland Håland

Siv Klevar

Tormod Mørk

9. februar 2010

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

1. Samlet vurdering av overvåkingsprogrammet for blåtunge 2009

Bakgrunn for overvåkingsprogrammet

Etter at to melkefebesetninger i Vest-Agder ble funnet infisert med blåtungevirus serotype 8 (BTV 8) i februar 2009, ble sperre-, risiko- og observasjonssoner etablert og et omfattende kartleggingsprogram planlagt og iverksatt, hvor blant annet kystområdene fra Boknafjorden til svenskegrensen var inkludert. Mens kartleggingen pågikk anbefalte Veterinærinstituttet å avvente vaksinerings før resultatene av kartleggingen og utbredelsen av BTV 8-smittede besetninger forelå. I kartleggingsfasen ble to nye smittede besetninger påvist; en melkebesetning i Aust-Agder og en ammekubesetning i Vest-Agder. Fram til vektoraktiv sesong arbeidet Veterinærinstituttet med en risikovurdering om blåtunge i Norge. På bakgrunn av resultatene fra det omfattende kartleggingsprosjektet samt kjent kunnskap om virusinfeksjonens epidemiologi, konkluderte risikovurderingen med:

- Sannsynligheten for av BTV 8 fortsatt var til stede (per 15. mai) ble vurdert som liten
- Smittede kyr som skulle kalve før 1. juni, ble anbefalt slaktet før kalving
- Sannsynligheten for at BTV 8 skulle bli "importert" i løpet av 2009 ble vurdert som liten
- Konsekvensene hvis BTV 8 fortsatt skulle være til stede innenfor sperresonen, ble vurdert som små
- Vaksinasjon av mottakelige dyr mot BTV 8 ble ikke anbefalt per 15. mai, men ville bli vurdert fortløpende i forhold til smittesituasjonen
- Iverksettelse av et overvåkingsprogram.

Overvåkingsprogrammet for 2009 ble planlagt på bakgrunn av resultatene av kartleggingsprogrammet og risikovurderingen som ble levert Mattilsynet 15. mai 2009.

Overvåking ved hjelp av tankmelk

Ved å benytte tankmelkprøver i overvåkingen oppnådde man i hver prøveomgang å få testet en stor storfepopulasjon (ca. 80 000 kyr) i store deler av Sør-Norge. De fleste av disse kyrne går på beite i sommermånedene og tidlig på høsten slik at de er eksponert for sviknott mesteparten av den sviknottaktive perioden. Meierienes velvilje i forbindelse med innsamling og forsendelse av prøvene har bidratt til at dette ble en meget kostnadseffektiv måte å overvåke blåtunge på. Forutsetningen for at tankmelk kan benyttes i slik overvåking er at kyrne ikke tidligere har vært vaksinert eller naturlig smittet med BTV. Metoden viste seg å være meget sensitiv (følsom). En av besetningene som kun hadde ei seropositiv ku av i alt 15 lakterende kyr, ble fanget opp som positiv av testen.

To runder med tankmelkprøver ble analysert på forsommeren med negativt resultat. Resultatet bekreftet risikovurderingens konklusjon om at sannsynligheten for overlevelse av BTV 8 i Norge, etter sanering i de smittede besetningene, måtte være liten. I løpet av august måned hadde både Sverige og Danmark gjennomvaksinert sine drøvtyggerpopulasjoner, og dermed var sannsynligheten for luftbåren import av infisert sviknott også liten.

Ulempen med å benytte tankmelk i overvåking av blåtunge er at testen gir en del falske positive resultater. Endrede rutiner ved vasking i forbindelse med ELISA-testingen bidro til å redusere antall falske positive prøver. Resultatene fra overvåkingsprogrammet viste at kun 0,7 % av de undersøkte prøvene var falske positive (spesifisitet 99,3 %). Resultatene fra de positive tankmelkprøvene måtte bekreftes/avkreftes med antistoffanalyser av blodprøver fra enkeltkyr. I praksis medførte dette at enkelte distriktskontorer i Mattilsynet måtte ut og ta blodprøver i fire til fem besetninger etter hver analyserunde med tankmelk. Men dette ble av både Veterinærinstituttet og Mattilsynet funnet å være akseptabelt og praktisk gjennomførbart. Alle positive tankmelkprøver ble avkreftet ved oppfølgende undersøkelse av blodprøver.

Overvåking ved hjelp av blodprøver

Blodprøver fra kjøttfe ble først samlet inn fra september. Denne prøvekategori var planlagt som et supplement til tankmelkundøringene. Det ble derfor vurdert som uvesentlig for kvaliteten i overvåkingen at

disse prøvene ble uttatt seinere enn planlagt. Prøvene skulle dekke geografiske områder som inneholdt få melkebesetninger. I tillegg går kjøttfe mer på utmarksbeite enn melkekyr og vil i større grad være eksponert for sviknott.

I alt ble ca. 15 % av kjøttfebesetningene testet, med i gjennomsnitt åtte testede storfe per besetning. Dette var mindre enn 150 kjøttfe per fylke og måned som var planen. Prognosen for forventet prøveantall var for høyt spesielt fordi praksis med uttak av blodprøver på slakteri for overvåkingsformål, ikke var utprøvd. Cirka 35 % av kjøttfeprøvene kom fra Agderfylkene, og de resterende fordelte seg relativt likt på de andre fylkene som var med i overvåkingsprogrammet. Veterinærinstituttets konklusjon er at det ble analysert et tilstrekkelig antall blodprøver fra kjøttfe i overvåkingsområdene til å underbygge og bekrefte hovedkonklusjonene fra overvåkingsprogrammet.

Ett kjøttfe i Vestfold testet serologisk positivt. Dette dyret og besetningen det sto i hadde ikke hatt noen forbindelse med besetningene i sperresonen. Det positive dyret ble testet med tre andre serologiske metoder som ikke benyttes i rutinetesting. Alle resultatene var negative. I samarbeid med referanselaboratoriet i Pirbright, England, ble det konkludert med at dette var en falsk positiv blodprøve.

Innsendelse av blodprøver fra sau sviktet. Noe av årsaken er at informasjon om prøvetaking kom for seint ut til distriktkontorene samt at den ble uklart formidlet. Saueslaktingen er en konsentrert og hektisk periode på slakteriene, og et overvåkingsprogram som skal innbefatte prøvetaking av sau på slakteri, krever en grundig forberedelse og aksept fra involverte parter. Veterinærinstituttet mener imidlertid at manglende testing av sau ikke har vært avgjørende for kvaliteten på overvåkingsprogrammet. Sau er et dårligere indikator dyr for blåtunge enn storfe. Sau fra sperresonen ble dessuten grundig testet i kartleggingsprogrammet, alle med negativt resultat, og dyra som skulle testes i overvåkingsprogrammet, hadde gått i innlandet omgitt av områder som ble regelmessig testet ved hjelp av tankmelkprøver.

De positive besetningene

Tre av de positive besetningene ble testet regelmessig gjennom vektoraktiv sesong. Det er en ressurskrevende oppgave å ta blodprøver av storfe som befinner seg på beite, ikke minst for eierne. Veterinærinstituttet mener at overvåkingen av disse besetningene ble gjennomført på en tilstrekkelig omfattende og tilfredsstillende måte.

Passiv overvåking

Antall dyr og besetninger som ble undersøkt på grunn av klinisk mistanke, var større enn forventet. Det var en lav terskel for å prøveta dyr i denne kategorien. Antall innsendte prøver var en bekreftelse på at budskapet fra Mattilsynet og husdyrnæringene om å ha fokus på sykdommen, spesielt hos eiere, husdyrnæring og veterinærer, hadde nådd fram.

Overvåking av ville drøvtyggere

Det planlagte prøvetallet for ville drøvtyggere ble ikke nådd. Noe av årsaken til dette skyldtes for kort tid til planlegging og forberedelse av jegere og jaktlag. Men 300 dyr fra to relativt begrensede geografiske områder må anses som tilfredsstillende for å vurdere utbredelse av BTV 8-smittede dyr hos ville drøvtyggere på Sørlandet og i grenseområdene mot Sverige.

Det kunne vært ønskelig med flere prøver fra rådyr og hjort som ofte beiter på samme områder som husdyr. Men når det gjelder blåtunge, tyder det meste på at tamme drøvtyggere er smittereservoaret for den ville drøvtyggerpopulasjonen og ikke motsatt.

Ingen prøver inneholdt BTV. Sju prøver var positive for antistoffer mot BTV. De positive prøvene stammet både fra Sørlandet og Østfold. Antistofftesten ble utført på serum fra blodkoagler uttatt av jegere fra dyr skutt i felten. Man må regne med at de hygieniske forholdene angående prøveuttak ikke var optimale. Det må anses som mest sannsynlig at disse resultatene er falske positive reaksjoner. Dersom de positive resultatene skulle være korrekte, må smitte ha skjedd i 2008, da det ikke ble påvist virus i noen av prøvene.

Overvåking av sviknott

Veterinærinstituttet gjennomførte sammen med Mattilsynet overvåking av sviknott i 2007, 2008 og 2009. Fellene har vært utplassert i sydlige deler av Sør-Norge, fordi sannsynligheten for introduksjon av BTV 8 til Norge har vært størst her (3). Kysten langs Sørlandet og Sørvestlandet har dessuten et mildt klima sammenlignet med andre områder i landet. Derfor kunne man forvente at sviknottsesongen ville vare lengst i disse områdene. De fleste fellene har vært plassert i lavlandet. Det er også ønskelig med feller utplassert i fjellet for å skaffe kunnskap om sviknottforekomst der, hvor mange beitedyr befinner seg om sommeren. Men dette er det ressurskrevende å gjennomføre.

Antall fangede sviknott har vært avhengig av topografi, temperatur og værforhold på lokalisasjonen der fellene har vært i drift. Men arts sammensetningen per fangst har vært stabil og relativt uavhengig av geografisk plassering og temperatur.

Tre år med sviknottovervåking har gitt oss god kunnskap om utbredelse, artssammensetning, populasjonstetthet i ulike måneder i året samt start og opphør av sviknottaktiv periode. Både begynnelse og opphør av sviknottaktiv sesong kan variere med to til tre uker fra år til år avhengig av klimaforholdene. I et gjennomsnittså kan sviknottsesongen i Sør-Norge anslås til å vare fra månedsskifte april - mai til midten av november. Dette stemmer godt overens med hva man har funnet i Sverige og Danmark.

Konklusjon

- Veterinærinstituttet mener at overvåkingsprogrammet har blitt gjennomført på en grundig og faglig forsvarlig måte. De avvik som har skjedd i forhold til oppsatt plan, har ikke hatt vesentlig betydning for kvaliteten og resultatet av programmet
- Overvåkingsprogrammet har ikke påvist flere besetninger eller dyr som har vært smittet med BTV. Alle BTV 8 positive besetninger og dyr ble påvist via overvåkingsprogrammet for 2008 og kartleggingsprogrammet i 2009
- Sannsynligheten for at det fortsatt skal være blåtungesmitte i Norge etter avsluttet sviknottaktiv sesong i 2009, vurderes som svært liten.

Veien videre

I henhold til EUs regelverk må man gjennomføre et omfattende overvåkingsprogram i minst to år for å kunne bli erklært fri for blåtunge. Det vil derfor bli planlagt et overvåkingsprogram i 2010 tilsvarende programmet som ble gjennomført i 2009.

2. Introduksjon

Blåtunge har vært endemisk i Syd-Europa siden 1998, men funnene av blåtungevirus serotype 8 (BTV 8) i Nederland i august 2006 var det første utbruddet av blåtunge i Mellom- og Nord-Europa. Dette året spredte BTV 8 seg til fem land, og året etter ble viruset påvist i elleve land med over 50 000 smittede besetninger, inklusiv ett tilfelle på Lolland i Danmark som til da var det nordligste utbruddet. I 2008 ble det påvist 15 smittede besetninger i Danmark og 28 i Sverige i tillegg til utbrudd i en rekke andre europeiske land.

Inaktivert vaksine mot BTV 8 ble lansert i mai-juni 2008, og vaksinerings av store deler av drøvtyggerpopulasjonene i Europa begrenset effektivt en videre spredning i 2008. Sverige vaksinerte sin drøvtyggerpopulasjon sør for Väneren, og Danmark vaksinerte hele sin drøvtyggerpopulasjon.

Etter 1998 er det stadig rapportert om utbrudd av blåtunge i de europeiske middelhavlandene, men med andre serotyper enn BTV 8. I EU og OIE hadde man fokus på sykdommen, og i 2003 ble det arrangert et seminar i regi av OIE hvor fagpersoner fra Veterinærinstituttet var til stede. Det resulterte i etablering av diagnostiske metoder for påvisning av blåtunge på Veterinærinstituttet allerede i 2004. Da utbruddet i Nederland kom i 2006 ble det også et sterkt fokus på sykdommen i Norge. Veterinærinstituttet etablerte i 2007, sammen med Mattilsynet, overvåking av sviknott (*Culicoides* sp.) som er vektoren som overfører

blåtungevirus mellom dyr. I 2008 ble det i tillegg til sviknottovervåking etablert et overvåkingprogram for blåtunge som bestod av passiv, klinisk overvåking samt aktiv, serologisk overvåking av tankmelkprøver fra melkebesetninger og blodprøver fra kjøttfebesetninger.

To tankmelkprøver som ble tatt ut i desember 2008, ble positive, men analysene ble ikke foretatt før i februar 2009. Begge de positive melkebesetningene befant seg i Vest-Agder. I ett omfattende kartleggingsprogram som ble iverksatt for å finne utberedelsen av BTV 8 (egen rapport), ble det funnet to smittede besetninger til; en melkebesetning i Aust-Agder og en ammekubesetning i Vest-Agder. Påvisningen i disse besetningene skjedde i løpet av 14 dager etter at de to første besetningene ble diagnostisert positive for BTV 8. De to positive besetningene som befant seg lengst fra hverandre, hadde en avstand på ca. 110 km i luftlinje. Tre av besetningene hadde fra ett til tre positive dyr i besetningen, mens den fjerde besetningen var gjennominfisert med 27 BTV 8-positive dyr (tabell 2).

3. Vurdering av bekjempelsesstrategi: Vaksinerings - ikke vaksinerings

Inaktivert vaksine mot BTV 8 var vinteren 2009 tilgjengelig og tatt i bruk i de fleste land i Europa som hadde fått påvist denne serotypen. Erfaringene fra disse landene tilsa at vaksinen var effektiv med få bivirkninger og dermed et viktig verktøy for å bekjempe BTV 8. Det var derfor naturlig at vaksinerings ble vurdert som bekjempelsestiltak også i Norge ved et utbrudd. Da BTV 8 ble oppdaget i Norge var det sviknottfri periode. Dermed hadde man tid til å vente på resultater fra en videre kartlegging som kunne gi svar på omfanget av utbruddet, og kunne gjennomføre en grundigere vurdering av ulike tiltak, blant annet vaksinerings. Det var en felles forståelse for at en eventuell vaksinasjonskampanje ville komme i tillegg til zoosanitære tiltak og restriksjoner på flytting av dyr. En vaksinasjonskampanje for å kontrollere blåtunge, ville måtte vare i minst 3 år. En langsiktig strategi med samordnede tiltak var nødvendig for å kunne bekjempe og eventuelt utrydde BTV 8. Det samme gjaldt for hvordan man skulle forholde seg til soneinndeling og flytting av dyr innenlands i relasjon til gjeldende regelverk.

De generelle vurderingene, som ble gjort av Veterinærinstituttet, omkring iverksettelse av vaksinerings eller ikke er skissert under (1).

Ikke vaksinerings ved påvisning av blåtungepositive dyr

Denne strategien er mest aktuell dersom:

- Smitten opptrer sent på året
- Undersøkelser tyder på at det er et begrenset antall tilfeller
- Smittepresset er lavt
- Det er få eller ingen kliniske tilfeller.

Vaksinerings ved påvisning av blåtungepositive dyr

Denne strategien er mest aktuell dersom:

- Smitte oppdages på sensommer eller tidlig høst
- De meteorologiske forholdene er slik at det er fare for at smitten har eller vil kunne spre seg
- Smittepresset er høyt
- Det påvises kliniske tilfeller
- Undersøkelser tyder på at det er oppformering og spredning av smitte via sviknott.

Når det gjaldt vurdering av situasjonen i Norge per februar 2009 i forhold til kriteriene over, talte følgene punkter for å anbefale en ikke-vaksinasjonsstrategi:

- To besetninger var bekreftet positive for BTV 8
- Smitten ble påvist i februar som er sviknottfri periode, noe som utelukket overføring til nye dyr utenom eventuelle smittede foster
- Foreløpige resultater tydet på at virus ble introdusert i perioden august til oktober 2008

- Indeksbesetningen var ukjent, likeså spredningen i løpet av høyriskoperioden høsten 2008. Spøringsstudier var nødvendige
- Seropositive og PCR-positive dyr hadde sannsynligvis ikke aktiv infeksjon; smittepresset ble vurdert som lavt
- Kliniske tilfeller var ikke rapportert
- Utbredelsen var foreløpig ukjent, men de første undersøkelsene indikerte at smitten var begrenset til et relativt lite antall besetninger. Videre undersøkelser ville avklare dette
- Dyretettheten av storfe på Lista var moderat til høy, mens tettheten av drøvtyggere i resten av sperreområdet var moderat til lav under norske forhold
- Det var foreløpig ukjent i hvilken grad smittede dyr hadde blitt ført ut av sperresonen etter at smitten ble introdusert.

Imidlertid var 16 av 22 testede dyr positive i besetningen i Sør-Audnedal. Dette tydet på at replikasjon av virus kunne ha foregått i lokal sviknott. I blodprøver fra en kalv som var født i sviknottfri periode, ble det, ved hjelp av rRT-PCR, påvist lave CT verdier (høye virusmengder) i mer enn tre måneder etter fødsel. Eventuell viremi er ikke avklart, men er sannsynlig. I tillegg ble det påvist hydrocephalus (vannhode) på en fullbåren kalv fra ei seropositiv ku som ble slakta. Særlig fostervann, men også fosterhinne fra denne kalven var PCR-positiv for BTV 8. Disse funnene gir indikasjon om at transplacental smitte har forekommet to ganger i besetningen i Sør-Audnedal samt at vertikalt smittede kalver kan ha vært viremiske i tre måneder eller lenger. PCR-resultatene viste svært lave virusmengder (høye CT-verdier) i alle øvrige testede dyr, noe som tydet på at de var smittet på om lag samme tidspunkt flere måneder tidligere, og at det sannsynligvis ikke kunne være BTV 8 infisert sviknott i fjøsmiljøet. En oppformering av virus i lokal sviknott kunne ha vært en kilde for infeksjon av ville drøvtyggere høsten 2008. Det var på dette tidspunktet ikke klart hvilken rolle ville drøvtyggere hadde i forbindelse med å opprettholde blåtungesmitte gjennom sviknottfrie perioder. Av 779 blodprøver fra elg, hjort og rådyr fra Sør-Sverige høsten 2008 var all prøvene utenom en negative for antistoff mot blåtungevirus (2).

Vaksinasjon og særnorske forhold

Klimatiske og topografiske forhold samt populasjonstetthet og driftsstruktur i storfe- og småfeholdet i Norge er ikke direkte sammenlignbart med forholdene i andre land. Det var derfor behov for kunnskap om utbredelse og spredningsveier under norske forhold. Vaksinerne mot blåtunge er ikke markørvaksiner, det vil si at det ikke er mulig å skille mellom vaksinerte og smittede dyr ved hjelp av serologiske metoder. En vaksinasjonskampanje i mars 2009 ville derfor redusert mulighetene for informative kartleggingsstudier. Saueholdet i Norge er også spesielt ved at det benyttes utmarkbeite i stor utstrekning. Dette medfører at det er praktisk vanskelig å få til en god vaksinasjonsstrategi

Konklusjon

Veterinærinstituttet anbefalte ikke å iverksette vaksinasjon på det angjeldende tidspunkt. Vaksinasjon ble vurdert å kunne være et strategisk viktig tiltak i bekjempelsen av blåtunge, men det var nødvendig å ta beslutningen på et godt faglig grunnlag. Dette beslutningsgrunnlaget var for dårlig angående utbredelse av smitte. Den epidemiologiske situasjonen ble vurdert fortløpende.

4. Tiltak

Soner

Ved påvisning av de første tilfellene av BTV 8 opprettet Mattilsynet umiddelbart en sperresone på 20 km og en risikosone på 100 km rundt infiserte besetninger. Utenfor risikosonen etablerte de en 50 km bred observasjonssone (3, 4). All dyretransport ut av sonene ble forbudt, og det måtte søkes om dispensasjon i hvert enkelt tilfelle. Restriksjonene for transport av slaktedyr ble raskt lempet på slik at den kun ble

registrert hos Mattilsynet hver gang man passerte ut av soner. Alle livdyr som ble flyttet ut av soner, ble testet serologisk, for storfe også virologisk, ved hjelp av PCR.

På grunn av Norges spesielle situasjon med sau på utmarksbeite om sommeren ble Mattilsynet og husdyrnæringen enige om å opprette en stor restriksjonssone for å gjøre det praktisk mulig å sende sau på sommerbeite (fig. 1). Radius i storsonen overskred de fleste steder 150 km slik at observasjonssonen falt bort. Men det ble på dette tidspunktet vurdert som viktig å opprettholde sperresonen på 20 km. Innenfor denne sonen var det størst sannsynlighet for å påvise flere smittede besetninger.

Kartlegging av utbruddet

Det ble planlagt og iverksatt et omfattende kartleggingsprogram for å avdekke flest mulig dyr og lokaliteter som hadde eller hadde hatt BTV 8 smitte.

I sperresonen (20 km) ble alle melkebesetningene undersøkt serologisk ved hjelp av tankmelkprøver. Kartleggingen omfattet også undersøkelser av blodprøver fra alle dyr i melkebesetninger med positiv tankmelkprøve, undersøkelser av blodprøver av alle hunddyr i melkebesetninger, som hadde vært på beite i 2008 i andre geografiske områder enn de lakterende dyra, og undersøkelser av blodprøver fra alle hunddyr i rene ammekubesetninger. I kombinasjonsbesetninger med ammeku og melkeku med mer enn 50 % ammekyr ble det tatt blodprøver fra hunddyr som hadde oppholdt seg på andre geografiske områder enn melkekyrne. I alle småfebesetninger ble det tatt ut blodprøver fra inntil 50 dyr.

I risikozonen ble det tatt ut tankmelkprøver fra alle melkebesetninger som leverte melk i den aktuelle tidsperioden. I tillegg ble det tatt ut blodprøver fra ca. 100 ammekubesetninger i to områder tett inntil sperresonen hvor det var relativt få melkebesetninger.

I observasjonssonen og frisonen ble det tatt ut tankmelkprøver i alle besetninger i Rogaland begrenset nordover til øyene i Boknafjorden, sydlige deler av Buskerud, Vestfold, sydlige deler av Oppland, Akershus, syd i Hedmark samt hele Østfold.

Kartleggingsprogrammet avdekket ytterligere to smittede storfebesetninger; en melkebesetning i Aust-Agder og en kjøttfebesetning i Vest-Agder.

Påviste tilfeller

Det ble til sammen påvist blåtunge hos 34 dyr fordelt på 4 besetninger.

Tabell 1. Antall prøver og besetninger undersøkt for blåtunge i kartleggingen i februar - april 2009 fordelt på besetningskategori og sonekategori.

Sone	Kartleggingsundersøkelser		
	Undersøkte prøver	Undersøkte besetninger	Positive besetninger
Sperresonen			
<i>Melkeku (tankmelk)</i>	258	252	2
<i>Ammeku (blodprøver)</i>	4289	247	2
<i>Sau</i>	7819	382	0
<i>Geit</i>	269	38	0
<i>Totalt</i>	12635	755	4
Risikosonen			
<i>Melkeku (tankmelk)</i>	1243	1238	0
<i>Ammeku (blodprøver)</i>	1594	147	0
<i>Sau</i>	766	17	0
<i>Geit</i>	75	3	0
<i>Totalt</i>	3678	1375	0
Observasjonssonen			
<i>Melkeku (tankmelk)</i>	415	415	0
<i>Ammeku (blodprøver)</i>	51	8	0
<i>Sau</i>	77	3	0
<i>Geit</i>	-	-	0
<i>Totalt</i>	543	426	0
Utenfor sonene eller ukjent produsentnummer			
<i>Melkeku (tankmelk)</i>	1549	1527	0
<i>Ammeku (blodprøver)</i>	41	11	0
<i>Sau</i>	277	44	0
<i>Geit</i>	33	13	0
<i>Totalt</i>	1900	1592	0
Totalt	18756	4148	4

Tabell 2. Oversikt over dyr i smittede besetninger.

Besetning	Kalver og ungdyr		Voksne	
	Antall	Positive	Antall	Positive
L	40	2	28	25
K	31	1	20	2
U	59	0	15	1
N	216	1	116	1
Totalt	346	4	179	30

5. Risikovurdering gjennomført etter blåtungeutbruddet

Fra 20. februar til 15. mai 2009 arbeidet Veterinærinstituttet med en risikovurdering om blåtunge i Norge. Begrunnelsen for å gjennomføre en risikovurdering var å bli i stand til å gi best mulige faglige råd til Mattilsynet med hensyn til valg av bekjempelsesstrategi før sviknottaktiv periode i 2009. Under er sammendraget fra rapporten *Blåtunge i Norge - Status og risikovurderinger per 15. mai 2009* gjengitt. Link til hele rapporten finnes her: <http://www.vetinst.no/nor/Forskning/Publikasjoner/Rapportserie/Rapportserie-2009/6-2009-Blaatunge-i-Norge-status-og-risikovurdering>.

Sammendrag

Blåtunge (Bluetongue, BT) ble påvist i Norge for første gang 20. februar 2009, og det er per 15. mai 2009 påvist smitte hos 34 dyr i 4 storfebesetninger. Smitte er ikke påvist hos småfe. Omtrent 20 000 blod- og melkeprøver fra ca 4000 besetninger er undersøkt per 1. mai 2009. Smittekilden er ikke fastslått med sikkerhet, men antas å være infisert luftbåren sviknott fra Danmark introdusert i perioden august til oktober 2008.

Sannsynligheten for at blåtungevirus serotype 8 (BTV 8) fortsatt er til stede i Norge vurderes som liten. Storfe som var drektige da de ble smittet i 2008, vurderes som risikodyr fordi fosteret med tilhørende fostervann og fosterhinner kan inneholde BTV 8 ved kalving. Slike kalver kan være kilde til BTV 8-infeksjon for sviknott, og fostervann og -hinner kan, om de blir spist, smitte andre drøvtyggere. Smittede kyr som skal kalve før 1. juni, anbefales derfor slaktet før kalving.

Sannsynligheten for at BTV skal importeres i 2009 vurderes som liten. Dette skyldes at våre naboland vaksinerer mot BTV 8 og vil derved ha få infiserte sviknott, og at importen av drøvtyggere til Norge er liten og strengt regulert.

Konsekvensene hvis BTV 8 fortsatt er til stede innenfor sperresonen i Norge, vurderes som små for 2009. Det er en mulighet for at BTV 8 vil kunne spres gjennom infisert sviknott, men sannsynligheten for geografisk spredning utover lokal spredning vurderes som liten.

Hvis BTV 8 spres til et større geografisk område i Norge gjennom infisert luftbåren sviknott fra andre land, og dette fører til begrenset oppformering og spredning av virus, anslås konsekvensene å kunne bli moderate.

I tillegg til restriksjoner på flytting av dyr i sperre- og restriksjonssonene vil følgende tiltak bidra til at eventuell smitte blir oppdaget tidlig og redusere risikoen for spredning av BTV 8:

- Testing av besetninger i sperresonen for å avdekke og slakte risikodyr
- Overvåking i restriksjonssonen, spesielt i nærheten av sperresonen
- Overvåking i områder med øket sannsynlighet for introduksjon av smitte via luft.

Vaksinasjon av mottakelige dyr mot BTV 8 anbefales ikke slik status er per 15. mai 2009, men vil bli vurdert fortløpende i forhold til smittesituasjonen.

6. Planlegging og resultater av overvåkingsprogram for 2009

Kartleggingsprogrammet ble avsluttet midt i april 2009, rett før vektoraktiv periode startet. Det ble utarbeidet en risikovurdering på bakgrunn av resultatene fra kartleggingsprogrammet med konklusjoner som er nevnt ovenfor.

Overvåkingsprogrammet ble utarbeidet på bakgrunn av en anbefalt ikke-vaksinasjonsstrategi. En viktig forutsetning for å kunne anbefale en overvåkingsstrategi og ikke en vaksinasjonsstrategi var at sperresonen på 20 km ble opprettholdt og håndhevet strengt for flytting av storfe. Flytting av småfe fra sperresone til restriksjonssone ble vurdert å utgjøre en lav risiko for smittespredning fordi overføring av virus ved BTV 8 infeksjon fra mordyr til foster (transplacental overføring) med påfølgende smitteførende avkom kun var påvist hos storfe. Dessuten var det ikke funnet seropositive dyr blant småfe til tross for testing av rundt 9300 småfe i 500 besetninger, hovedsakelig i sperresonen.

Regelverk og vurdering angående geografisk enhet

Det har vært noe uklart hva regelverket sier om hva som skal være enheten i overvåkingsprogrammet i sonene. Veterinærinstituttet har tatt utgangspunkt i (EC) 1266/2007 Annex 1, punkt 1: *Member states may also use the 'region' as defined in Article 2(p) of Directive 64/432/EEC as the geographical unit of reference for monitoring and surveillance purposes.* I tillegg har Veterinærinstituttet forhørt seg med Paolo Castri, Italia som bl.a. har vært EU-kommisjonens rådgiver i overvåkings spørsmål. Han sier følgende: *Therefore, regarding the area of epidemiological units, you can also use Regions or other administrative subdivision (the Regulation gives this possibility). It can be easier for the activities planning than using squares.*

Veterinærinstituttet mente det var viktig å legge opp til et overvåkingsystem som sikret en faglig god overvåking, var praktisk gjennomførbart, spesielt med tanke på veterinærer og husdyrbrukere som skulle stå for det praktiske arbeidet, og som ikke krevde uforholdsmessig mye ressurser. Veterinærinstituttet var av den oppfatning at det ville være svært vanskelig å gjennomføre jevnlig testing av dyr innfor et rutenettsystem på 45 x 45 km med vårt dyrehold på utmarksbeiter og fjellbeiter i sommersesongen. Dersom man erstattet testingen av enkeltindivider med utstrakt testing av tankmelkprøver, mente Veterinærinstituttet at man ville oppnå en langt bedre overvåking enn ved testing i rutenett. Dette kunne så suppleres med testing av ett visst antall individer per fylke i samsvar med EU-direktivet. Veterinærinstituttet mente dette var en praktisk og gjennomførbar løsning som også var faglig forsvarlig.

Tankmelktesting

Serologisk testing av tankmelk for antistoffer mot BTV er den viktigste metoden for overvåking av blåtungesituasjonen. Da Norge hadde besluttet en ikke-vaksinasjonsstrategi, ble dette vurdert som en effektiv, rimelig og sensitiv metode å overvåke situasjonen på. Endrede rutiner ved vasking i forbindelse med ELISA-testingen bidro til få falske positive prøver, og dermed unngikk man unødige blodprøvetaking av enkeltindivider i tankmelk-positive besetninger.

Tankmelkprøver ble tatt inn fra aktuelle meierier i definerte områder én gang per måned fra april til og med november. Prøvene ble analysert fortløpende ved Veterinærinstituttet i Oslo og Sandnes. Veterinærinstituttet sto for innkalling av prøvene som så ble sendt laboratoriene av Tine-systemet og Q-meieriene. Melkebesetninger fra følgende fylker ble testet: Østfold, sydlige deler av Hedmark og Oppland, Akershus, Oslo, sydlige deler av Buskerud, Vestfold, Telemark, Aust-Agder, Vest-Agder, Rogaland og deler av Hordaland som var omfattet av restriksjonssonen. Besetninger i Hordaland som befant seg utenfor restriksjonssonen samt besetninger i Sogn og Fjordane syd for Sognefjorden ble dessuten testet en gang sent på høsten.

De fleste melkebesetningene ble testet seks ganger i løpet av den sviknottaktive perioden. Undersøkelsene i månedene mai og juni ble slått sammen til en prøveomgang, og i juli ble bare besetninger i sperresonen undersøkt. I resten av den vektoraktive perioden ble det gjennomført fire prøveomganger

Blodprøvetesting av individuelle drøvtyggere

Ved overvåking av blåtunge er det storfe som er best egnet indikator dyr. Blodprøvetesting var et supplement til tankmelktestingen, og hensikten var å dekke områder med få melkebesetninger. Målet var å teste 150 til 200 kjøttfe per måned i perioden april til november fra hvert fylke som er nevnt i avsnittet om tankmelktesting. Blodprøvene ble tatt ut på slakteri i forbindelse med avblødning. Mattilsynet sto for organiseringen av blodprøveuttaket. Veterinærinstituttet i Oslo og Sandnes analyserte prøvene.

Undersøkelse av kjøttfebesetninger som var oppført i det opprinnelige overvåkings-programmet for blåtunge i 2009, ble også inkludert i det nye programmet. I tillegg skulle det fra småfe i restriksjonssonen undersøkes ca. 1000 blodprøver som ble tatt på slakteri når de kom fra utmarksbeite.

Blodprøve fra ett kjøttfe i Vestfold ble serologisk positivt. Alle de 15 dyra fra besetningen ble slaktet og prøvetatt samtidig og alle var negative for antistoffer mot BTV 8. Det antistoff positive dyret var blitt innkjøpt i september 2008 sammen med et annet dyr fra en besetning i Buskerud. Samtlige dyr (99 stk) i besetningen i Buskerud ble testet, og alle var negative mht. antistoffer mot BTV.

Overvåking av sperresonen / smittede besetninger

Erfaringer fra BTV 8-utbruddet i Europa viste at sannsynligheten for nye tilfeller var mye større i de geografiske områdene som hadde hatt mange utbrudd året før, enn i andre områder (5). Det ble derfor vurdert som viktig at de positive besetningene i sperresonen ble tilstrekkelig overvåket. Spesielt gjaldt det besetningen i Sør-Audnedal der det ble vurdert som sannsynlig at lokal virussirkulering hadde forekommet i 2008. I tillegg ble det foreslått å prøveta alle storfe som ikke bidro med melk på tanken i storfebesetninger som lå i en 5 km radius fra besetning i Sør-Audnedal. Det var 18 storfebesetninger innen denne sirkelen. Blodprøvene ble planlagt tatt ut i to omganger; i slutten av juni og i andre halvdel av august. Dyr på beite i dette området var det spesielt viktig å teste.

Besetning N

Det ble planlagt uttak av ca 100 kyr/kviger en gang per måned fra midten av april til vektorfri periode i oktober/november 2009. Drektige dyr som gikk ute, var mest aktuelle, og man planla å prøveta ulike dyr hver gang slik at flest mulige dyr ble prøvetatt gjennom sesongen.

Besetning K

Det ble planlagt uttak av blodprøver av alle kyr og kviger eldre enn ett år hver måned i vektoraktiv periode. Man ønsket også blodprøver fra seropositive dyr for å se hvor lenge man kunne ettervise virus ved hjelp av PCR.

Besetning L

Det ble planlagt uttak av blodprøver av alle dyr en gang per måned i vektoraktiv periode. Seropositive dyr som ikke ble slaktet, ble utelatt når virus ikke lot seg påvise med PCR.

Besetning U

I denne besetningen var det kun funnet ei seropositiv ku. Det ble her foreslått å ta denne kua ut av melkeproduksjon og overvåke besetningen med månedlige tankmelkprøver gjennom den sviknottaktive perioden.

Blodprøvetesting av ville drøvtyggere

I forbindelse med jakt sesongen 2009 ble det foreslått å undersøke 500 felte rådyr, hjort og elg i Agder og Østfold for antistoffer mot blåtungevirus. Det ble lagt til rette for disse undersøkelsene med prøvetakingsutstyr, skjema og ferdig frankerte konvolutter, slik at prøvetaking og innsendelse ble enklest mulig for jegerne. Mattilsynets distriktskontorer kontaktet jaktlag i sitt distrikt og avtalte prøveuttak. Det var slik det var blitt gjort i Sverige høsten 2008, og responsen hadde vært svært god.

Passiv overvåking

Dette ble vurdert som viktig å undersøke flest mulig dyr som viste eller hadde vist kliniske symptomer som kunne være forenlig med blåtunge. Det ble foreslått å sende inn blodprøver (fullblod og EDTA-blod) fra mistenkelige kasus uten at besetningen formelt ble båndlagt i henhold til A-sykdom (bruk av skjønn). Mulighet for prøveinnsending uten full båndlegging ble vurdert som viktig for å senke terskelen for prøvetaking og dermed øke betydningen av passiv overvåking. Det ble presisert at prøvene måtte undersøkes raskt etter uttak.

Fortløpende rapportering av antall analyserte prøver og resultater

Mattilsynet, ved hovedkontoret, ble planlagt oppdatert en gang per uke med oversikt over antall analyserte prøver per fylke i ulike kategorier, med resultater fra den siste perioden samt akkumulerte tall for hele overvåkingsperioden

Tabell 3. Oversikt over antall undersøkte prøver/dyr i overvåkingsprogrammet for blåtunge i 2009

Kategori	Overvåkingsprogram		
	Undersøkte prøver / dyr	Undersøkte besetninger	Positive prøver
Melkeku (tankmelk)	18274	4264	124
Melkeku (tankmelk 1. prøverunde)	535	535	1
Kjøttfe (blodprøver)	4493	539	1
Småfe (blodprøver)	190	16	0
Klinisk mistanke totalt	152	38	0
Derav klinisk mistanke storfe	97	27	0
Hjortevilt (miltprøver + blod)	287 *		(Serologi) 7
Derav Elg(miltprøver + blod)	252 *		(Serologi) 7

* Antall dyr

7. Avvik fra overvåkingsprogrammet

Tankmelktesting

Tankmelktestingen i mai og juni ble slått sammen til en testomgang og i juli ble kun besetninger i sperresonen testet, på grunn av kapasitetsproblemer på laboratoriene.

Serologisk testing av drøvtyggere

Kjøttfe:

Det viste seg at svært få kjøttfe ble slaktet på sommeren i de fylkene som inngikk i overvåkingen. Først i september kom det inn blodprøver. Men 150 innkomne og analyserte blodprøver per fylke og måned i september, oktober og november ble ikke nådd. Det lavere antall prøver enn planlagt ble akseptert fordi sannsynligheten for sirkulerende virus ble vurdert som liten i perioden mai til midten av juli og risikoen for smitte dermed liten.

Kjøttfebesetninger i det opprinnelige overvåkingsprogrammet:

Her manglet det en del besetninger.

Småfe:

Det ble sendt inn svært få prøver fra småfe.

Overvåking av sperresonen / smittede besetninger

De tre positive besetningene som jevnlig skulle undersøkes, ble ikke prøvetatt i det omfang og med den hyppighet som var beskrevet i planen. Besetningene i 5 km-sonen rundt besetningen i Sør Audnedal ble kun undersøkt en gang; før beiteslipp.

Undersøkelse av ville drøvtyggere

Milt og blodkoagel fra hjertet fra i underkant av 300 ville drøvtyggere ble under søkt med henholdsvis PCR og serologi.

Oversikt over antall prøver undersøkt i overvåkingsprogrammet for 2009

I tabell 3 er det angitt antall tankmelkprøver og antall dyr og besetninger av ulike kategori som ble undersøkt i overvåkingsprogrammet for blåtunge i 2009.

Rapportering til Mattilsynet

Ukentlige rapporter til Mattilsynet over mottatte prøver og resultater fra analysene ble ikke gjennomført. Veterinærinstituttet hadde etablert et online system der alle mottatte prøver og resultater fortløpende ble registrert per produsent. Dette var et greit system for å kontrollere enkeltinnsendelser og tilhørende resultater, men det var ikke egnet for å holde oversikt over utviklingen i overvåkingsprogrammet.

8. Sviknottovervåking

Sviknottovervåkingen i Norge startet i 2007 og har foregått også i 2008 og 2009. I denne rapporten inkluderes overvåkingen fra de tre årene da dette gir et mer nyansert bilde av situasjonen ved å beskrive variasjonen i sviknottpopulasjonen fra år til år som kan ha betydning for blåtungesituasjonen

Overvåkingen startet i samarbeid med Mattilsynet og skulle ta sikte på å skaffe kunnskap om sviknottsituasjonen i Sør-Norge. Hvilke arter fantes, hvor befant de seg og hvilke mengder av sviknott kunne man forvente?

Det ble det kjøpt inn 20 sviknottfeller av typen "Onderstepoort blacklight suction trap" beskrevet av Venter og Meiswinkel i 1994 (6). Denne felletypen var anbefalt av EU-kommisjonen. Prosedyrer for fangst, oppbevaring og forsendelse ble utført i henhold til beskrivelse av Goffredo og Meiswinkel (7). Veterinærinstituttet og Mattilsynet hadde plukket ut egnede husdyreiere som skulle stå for drift av fellene og oppbevaring og forsendelse av fangsten. Noen fellevertreter deltok kun ett år mens andre har deltatt i to eller tre år. Fellevertene har hatt ulike husdyrarter slik som småfe, storfe eller hest. Fellene skulle være i drift ett døgn per uke fra overvåkingen startet. Veterinærinstituttet ved Seksjon for parasittologi har utført artsidentifisering og telling av sviknott. I 2009 ble det gjennomført analyser av et utvalg sviknottfangster for å påvise BTV 8 i sviknott fanget i 2007 og 2008 ved hjelp av PCR. Det ble ikke funnet virus i noen av sviknottfangstene.

I arbeidet med sviknottovervåkingen har Veterinærinstituttet samarbeidet med Seksjon for parasittologi ved Statens veterinärmedisinska anstalt i Sverige og senere med Veterinærinstituttet i Danmark

Med sviknott menes det i dette dokumentet arter som er påvist å kunne overføre BTV. Definisjon av sviknottaktiv periode er ifølge EUs regelverk funn av minst fem blodsugende sviknott i en felle som har vært

operativ i ett døgn. Påviser man færre enn fem blodsugende sviknott i to påfølgende uker, og dette er overensstemmende med årstid og utetemperatur, defineres perioden som sviknottfri.

Vektorsesongen 2007

På grunn av lang leveringstid for sviknottfellene startet ikke overvåkingen med de første fellene før i juli 2007. I alt 17 feller ble utplassert på 15 ulike lokalisasjoner på Østlandet, Sørlandet og Sørvestlandet. To feller var plassert inne i dyrestaller for å se om det var sviknott innendørs i vektorsesongen.

Det ble tatt 143 fangster i tidsperioden 06.07.07 - 21.11.07 (fig. 2). Det var stor variasjon mellom fellevertene hvor hyppig de hadde fellene i drift. Majoriteten av prøvene var fanget i månedene august, september og oktober; bare tre fangster ble tatt i juli. Gjennomsnittlig antall sviknott per fangst var høyere i 2007 sammenlignet med 2008 og 2009. Overvåkingen viste rikelig med aktive, blodsugende sviknott til midt i november. Mer enn 95 % av sviknottene som ble fanget, tilhørte arter som er potensielle vektorer for BTV 8. To feller var montert inne i husdyrrom. I disse fellene ble det fanget betydelig færre sviknott enn de som var plassert ute, men artssammensetningen var grovt sett den samme som for sviknott fanget ute.

Vektorsesongen 2008

Det ble gjennomført en tidsbegrenset overvåking i ett geitefjøs i februar 2008, for å undersøke om sviknott kunne gjennomføre livssyklus og overvintre inne i fjøs. Fella var i drift i fire påfølgende uker, men det ble ikke påvist sviknott i noen av fangstene. I vektorsesongen 2008 var det utplassert elleve feller på ti ulike lokalisasjoner på Østlandet, Sørlandet og Sørvestlandet. De første fellene ble satt i drift på Østlandet 12.05. Tre fangster som ble tatt på to ulike lokalisasjoner i tidsrommet 12.05 til 21.05, viste meget lav forekomst av sviknott (tre til seks stykker i hver fangst og kun et par som hadde hatt blodmåltid). I de siste ti dagene av mai steg antallet sviknott meget raskt, og antallet holdt seg på et høyt nivå fram til og med begynnelsen av oktober. Fra midten av oktober til den siste fella var i drift 19.12 ble det nesten ikke fanget sviknott. Svært få av de som ble fanget etter 15.10, hadde hatt blodmåltid.

På basis av sviknottovervåkingen som ble gjennomført i 2008, kan man anslå at vektoraktiv periode sluttet ca. 20. oktober.

Vektorsesongen 2009

Påvisning av fire storfebesetninger smittet med BTV 8 i februar 2009 medførte et stort fokus på overvåking av sykdommen inkludert vektorovervåking. Siste tredjedel av mars var det tre feller i drift i tre av de blåtungesmittede besetningene i Agder; to feller var montert inne i fjøsene og ei felle var plassert ute i oppholdsområdet for dyrene. Det ble fanget et fåtall sviknott i mars som ikke hadde hatt blodmåltid. I løpet av april ble åtte nye feller satt i drift på Østlandet og Sørvestlandet i tillegg til at det ble satt ut flere feller på Sørlandet. Blodsugende sviknott ble påvist først i månedsskifte april - mai. Antall sviknott per fangst økte merkbart i annen halvdel av mai og fikk en betydelig topp i juni som i stor grad kunne relateres til fangstene fra ei felle utplassert i Indre Østlandet, der antall fangede sviknott var usedvanlig stort den måneden. I august og september ble det fanget rikelig med sviknott, mens antallet falt betydelig i oktober og med et ytterligere fall i november. Men mengden blodsugende sviknott i noen feller var allikevel tilstrekkelig til at den vektoraktive perioden ikke kan vurderes som opphørt før 20. november.

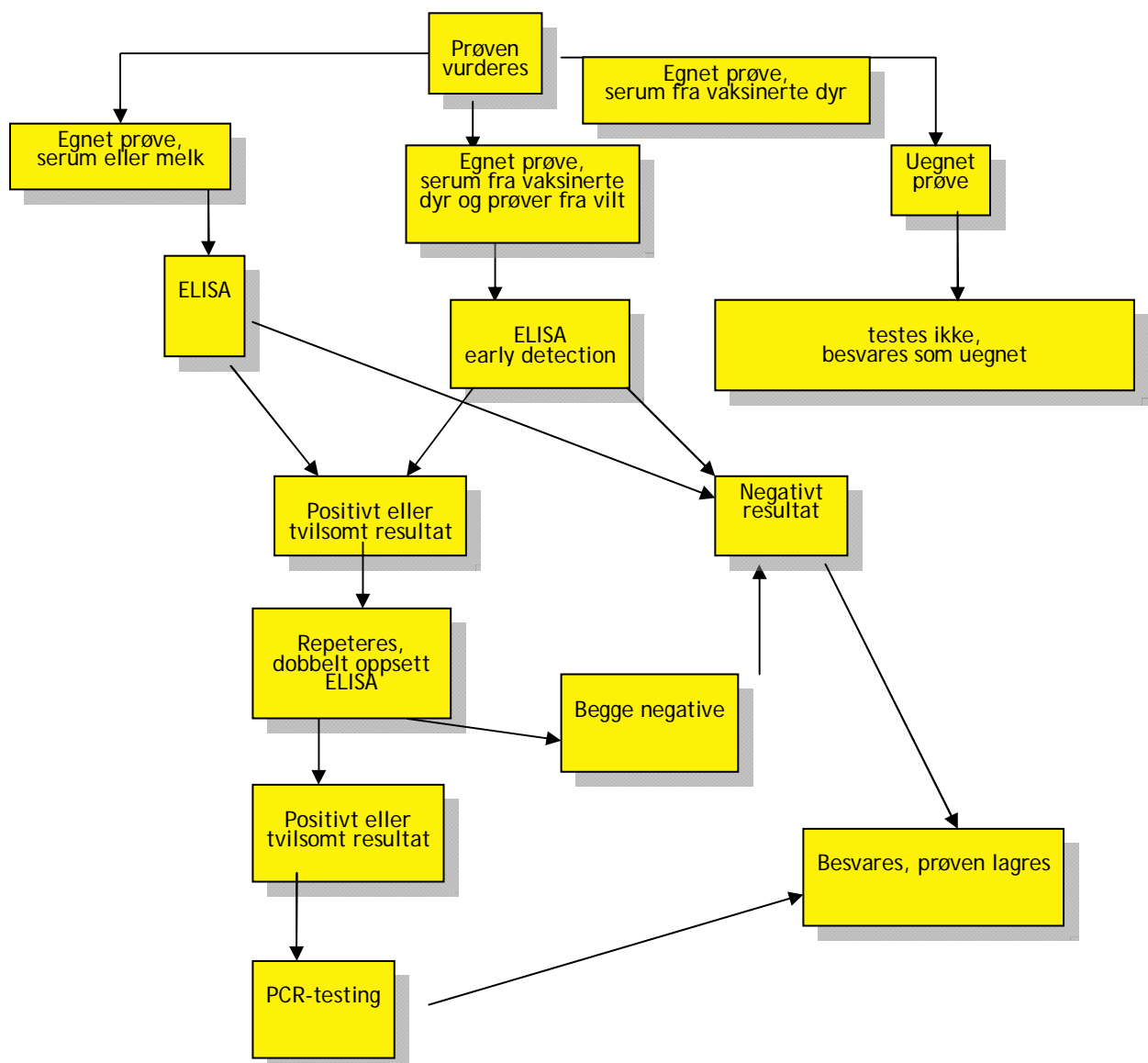
9. Analyser og metoder

Organisering

Etter funnet av blåtunge i Norge, ble det klart at prøvemengde ville overstige kapasiteten på seksjon for virologi og serologi, og det ble besluttet å overføre deler av diagnostikken til Veterinærinstituttet i Sandnes.

Seksjon for virologi og serologi fikk praktisk hjelp til å optimalisere prøvemottaket den første måneden, noe som var nødvendig for å håndtere mengdene. I tillegg ble serologiske metoder for påvisning av antistoffer mot blåtungevirus i tankmelk- og blodprøver etablert i Sandnes. To ingeniører reiste til Oslo og gikk igjennom metodene fra prøvemottak til ELISA-tester og registrering av resultater, og ble så godkjente utøvere av metodene. Faglig ble diagnostikken fulgt opp av veterinær med forskningsbakgrunn innen serologisk diagnostikk.

Beskrivelse av flyten i blåtungeundersøkelsene:



Kartleggingsfasen

I kartleggingsfasen ble melkekyrbesetninger undersøkt ved serologisk testing av tankmelk. Positive tankmelkprøver ble fulgt opp ved serologisk testing av blodprøver fra enkelt dyr. Ammekyr- og småfebesetninger ble undersøkt ved serologiske undersøkelser av blodprøver. Dersom det var seropositive individer i besetningen, ble EDTA-blodprøver undersøkt for blåtungevirus ved hjelp av molekylærbiologiske metoder.

Overvåkingsfasen

I overvåkingsfasen ble et lignende regime fulgt. Serologisk undersøkelse av tankmelk var et hovedelement i overvåkingen. Ammekyr- og småfebesetninger ble overvåket ved at blodprøver ble tatt fra dyr på slakteriet. I tillegg til overvåkingsprøvene, ble det også testet for blåtunge ved import, ved klinisk mistanke og ved ulike andre oppdrag. Blant annet ble PCR-analyse utført ukentlig på oppdrag fra Norsk Sau og Geit i paringssesongen for sau. Ved klinisk mistanke ble det utført både serologi og PCR-analyse. Det er også blitt analysert blodprøver fra alpakka, lama og kamel.

Valg av metoder

Det eksisterte et begrenset antall ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)-metoder for serologisk diagnostikk av blåtungevirus. Veterinærinstituttet prøvde forskjellige kommersielle ELISA-kit for serologisk påvisning av blåtunge både for melk og serum, og landet til slutt på kit levert fra firma ID.vet (Montpellier, Frankrike). Disse ble anbefalt etter bruk i Sverige og andre land. Metodene har fått god evaluering i forbindelse med bruken der og har scoret høyt på EUs ringtester.

Serologiske metoder som ble benyttet for å påvise antistoffer mot blåtungevirus var:

1. I melk: Indirekte ELISA for antistoffer mot blåtungevirus (ID.vet) (ME06_297)
2. I serum: Blokkerings ELISA for antistoffer mot blåtungevirus (ID.vet) (ME06_274)
3. Early detection (ID.vet) (ME06_308)

De første to serologiske metodene ble også etablert i Sandnes.

Molekylærbiologiske metoder som ble benyttet for å påvise blåtungevirus var:

4. Realtime RT-PCR for påvisning av blåtungevirus, pan assay (ME07_072)
5. RT-PCR for påvisning av blåtungevirus serotype 8 (LSI) (ME07_OXX)

Indirekte ELISA for antistoffer mot blåtungevirus (ID.vet) (ME06_297)

Brønnene i mikrotiterplaten er på forhånd adsorbent med virusprotein 7 (VP7). Virus-spesifikke antistoffer i tilsatt prøve vil binde til proteinet. Ved tilsetning av enzymkonjugert anti-drøvtyggerspesifikt antistoff, vil bundet antistoff visualiseres ved tilsetning av substrat. Mengde antistoff i prøven er proporsjonal med fargereaksjonen.

Metoden ble anvendt til påvisning av spesifikke antistoffer i tankmelk eller individuell melkeprøve mot blåtungevirus hos storfe, sau, geit, bøffel, alpakka og lama.

Blokkerings-ELISA for antistoffer mot blåtungevirus (ID.vet) (ME06_274)

Brønnene i mikrotiterplaten er på forhånd adsorbent med VP7-protein. Virus-spesifikke antistoffer i serumprøven binder seg til VP7-protein. Ved tilsetning av enzymkonjugert anti-VP7-antistoff bindes dette til VP7-protein som ikke er blokkert av antistoffer i prøven. Reaksjonen visualiseres etter tilsetning av substrat. Mengde antistoff i prøven er omvendt proporsjonal med fargereaksjonen.

Metoden ble anvendt til påvisning av spesifikke antistoffer i serum/plasma mot blåtungevirus hos storfe, sau, geit, bøffel, lama, alpakka og gnu.

Bluetongue Early detection (ID.vet) (ME06_308)

Prinsippet for denne metoden er en indirekte ELISA, hvor konjugatet binder seg til Fab-fragmentene på både IgG og IgM-antistoffer, som opptrer tidlig i immunresponsen. I og med at IgG-antistoffer består av to Fab-fragmenter og IgM-antistoffer består av ti Fab-fragmenter, så vil sensitiviteten til denne testen være høy. Metoden vil fange opp antistoffer på et tidlig stadium i sykdomsforløpet, og vil være egnet til å undersøke

vaksineresponsen hos vaksinerte dyr. Metoden kan imidlertid ikke skille mellom antistoffer fra vaksinerte og naturlig smittede dyr.

Metoden ble anvendt til påvisning av spesifikke antistoffer i serum eller plasma mot blåtungevirus hos storfe, sau, geit og villlevende drøvtyggere.

Realtime RT-PCR for påvisning av blåtungevirus, pan assay (ME07_072)

Metoden detekterer genomsegment 1 hos alle typer BTV men skiller ikke mellom serotypene.

Metoden ble anvendt til påvisning av blåtungevirus i EDTA-blod fra storfe og småfe, og vev fra villlevende dyr.

RT-PCR for påvisning av blåtungevirus serotype 8 (LSI) (ME07_0XX)

Metoden består av et BTV serotype 8-spesifikt PCR-kit fra Laboratoire Service International (LSI). Dette er en triplex RT-PCR der man i tillegg til å kunne påvise BTV serotype 8 har en internkontroll som viser om kvaliteten på RNAet er tilfredsstillende.

Metoden ble anvendt for å bekrefte funn av BTV serotype 8 i EDTA-blod og vev fra storfe.

Kvalitetssikring av metodene

Alle undersøkelser ble utført med kvalitetssikrede metoder av godkjente utøvere, og det ble satt i gang arbeid for å akkreditere metodene. Siden to av de serologiske metodene ble brukt både i Oslo og i Sandnes var det særskilt viktig å ha entydige metodebeskrivelser og nøyaktige arbeidsbeskrivelser, slik at utførelsen av undersøkelsene ble mest mulig standardisert. Det ble inkludert internkontroller på både serum og melkeprøver, og som en ekstra sikkerhet ble også alle enkeltresultater kontrollert av fagansvarlig og først rapportert etter vedkommendes godkjenning.

Ringtester

Vitenskapelig personell fra seksjon for virologi og serologi har i mange år deltatt på EUs blåtungemøter for referanselaboratoriene. I forkant av disse har det vært sendt ut ringtester arrangert av Institute for animal health, Pirbright laboratory. Resultatene fra disse ringtestene har vært presentert på EUs blåtungemøter. Veterinærinstituttet hadde i 2008 korrekte svar på både PCR- og serologi-prøvepanelene. Sandnes fikk videresendt serumprøver fra en av ringtestene. Resultatet fra Sandnes for denne ringtesten var identisk med Oslo.

Metodeevaluering

Serologisk undersøkelse av tankmelk viste seg å være effektivt for å overvåke blåtunge, og var et hovedelement i overvåkingen. Det var ønskelig med høy sensitivitet på tankmelk-metoden, noe som førte til en del falske positive resultater i testen. Ved positive tankmelkprøver (etter retesting i dobbelt oppsett) måtte sann infeksjonsstatus i besetningen avklares ved undersøkelse av individuelle blodprøver av alle lakterende dyr.

Vår erfaring viste at det var langt færre falske positive enn det som på forhånd var angitt for metoden. Majoriteten av de falske positive resultatene oppstod i sommermånedene. Det kan være mange årsaker til dette, og forhold som høyere temperatur på laboratoriet og under transport av prøvene, eller annerledes føring av dyrene om sommeren kan tenkes ha spilt en rolle.

Rapportering av resultater

Enhetlig registrering i PJS er viktig for korrekt fortløpende rapportering av resultater til Mattilsynet. Seksjon for virologi og serologi utviklet et system for registrering av hensikt, og det ble laget en veiledning for ingeniørene ved registrering av blåtungeprøver. Veilederen viser hvilken hensikt ulike innsendelser skal registreres på, og ble utarbeidet på bakgrunn av de rekvisisjonene Veterinærinstituttet laget. Tidligere erfaringer har gitt kunnskap om hvordan registrering av prøver i PJS er mest hensiktsmessig når mange aktører

er involvert. Det har ikke vært enkelt å få til en enhetlig registrering, og på det aktuelle tidspunktet var det ulik oppfatning av hvordan ting skulle registreres. Hensiktstekstene for noen av kodene har blitt revidert underveis og vil bli evaluert.

Et avvik som skjedde i starten var at falske positive tankmelkprøver ble svart ut som positive på et for tidlig tidspunkt. Et positivt utslag skal retestes i dobbelt oppsett for å confirmere at prøven faktisk er positiv, men enkelte tankmelkprøver ble rapportert som positive før denne retestingen. Da de ble testet på nytt i etterkant, ble resultatet negativt. Det var et resultat av stort tidspress for å få ut resultatene og tidsfristene var for korte.

Forventninger til svarfrister var høye. Det ble prøvd å koordinere prøvetaking med kapasiteten på laboratoriene. Det tok tid å gi beskjed om prøvetaking, og prøvetaking tok mange ganger lengre tid enn forventet. Dette gjaldt særskilt innsamling av viltprøver, men også tankmelkprøver. For novemberprøven av tankmelk ble først avtalt at prøvene skulle komme inn sent i måneden for å sikre at hele perioden med mulig aktiv smittespredning ble dekket. Allerede før prøvene kom inn begynte Mattilsynet å purre på resultater, og det ble satt frister for prøvebesvarelsen. Etter at denne fristen gikk ut tok det inntil flere uker innen laboratoriene hadde mottatt alle prøvene. På grunn av arbeid med svineinfluensa i Oslo, ble dessuten større prøvemengder herfra overført til Sandnes. Foruten store prøvemengder, forårsaket korte svarfrister unødvendig stress for medarbeiderne.

Evaluering av analysefordeling

Undersøkelser i Oslo

Viltprøver til RT-PCR-undersøkelse:

Det er registrert 295 innkomne miltprøver. Av disse er 8 prøver ikke undersøkt og 287 prøver undersøkt med metode ME07_072: Real-Time RT-PCR for påvisning av blåtungevirus (pan assay). Det ble laget samleprøve av to og to prøver. Alle prøvene var negative for blåtungevirus.

Viltprøver til serologisk undersøkelse:

Det er registrert 295 enkeltprøver som besto av mer eller mindre koagulert hjerteblod. Serum fra disse har blitt undersøkt med metode ME06_308: Bluetongue Early detection (ID.vet). Antistoffer mot blåtungevirus ble påvist i syv av disse prøvene. (en i Østfold, en i Aust-Agder og fem i Vest-Agder).

Evaluering av prøvene og analysene fra vilt

Selve utførelsen av analysene gikk greit. Derimot var utsendelse av utstyr, prøvemottak, registrering og klargjøring av prøvene for analyse ganske arbeidskrevende. Dette hadde vært lettere å håndtere dersom tidsfrister hadde blitt gitt god tid i forveien. I tillegg ble det gitt svært kort frist på å få sendt ut prøvetakingsutstyr til jegerne.

En del av prøvene fra vilt ble mottatt lenge etter innsendingsfristen. Det førte til at analysene ikke var klare i tide, og resultatene ble forsinket.

Det er per dags dato usikkert om alle eller noen av de serologisk positive prøvene er falske positive. Det ble ikke inkludert internkontroller med kjente positive prøver fra tilsvarende materialet som de analyserte prøvene. Derfor bør prøvene retestes når et slikt prøvemateriale er tilgjengelig. Det vurderes som svært lite sannsynlig med høy seroprevalens hos ville drøvtyggere samtidig som seroprevalens hos tamme drøvtyggere er svært lav. Forekomst av ville drøvtyggere med seropositive resultater over et stort geografisk område styrker mistanken om falske positive prøver.

Undersøkelser i Sandnes

I 2009 ble det på Veterinærinstituttet i Sandnes undersøkt 19201 prøver, fordelt på 4605 blodprøver og 14596 tankmelkprøver:

I kartleggingsfasen ble 3440 blodprøver fra 234 besetninger, i hovedsak småfe, samt 814 tankmelkprøver undersøkt i Sandnes. I overvåkingsfasen ble hovedmengden av prøvene fra syv meierier i Rogaland og i Vest-Agder undersøkt her. Det ble samlet inn prøver fra disse syv meierier i alt seks ganger. Siste prøvetakingsrunde i november ble supplert med tankmelkprøver fra Øst- og Vestlandet. I overvåkingsfasen ble i alt 13770 tankmelk- og 1165 blodprøver undersøkt i Sandnes. Brorparten av blodprøvene var fra ammekyrbesetninger uttatt ved fire slakterier i Rogaland.

Samarbeid mellom laboratoriene

Kommunikasjonen mellom laboratoriene har skjedd gjennom møter, både på telefon og ansikt til ansikt, telefonsamtaler og ikke minst på mail. Initialt var ingeniører fra Sandnes i Oslo for opplæring og gjennomgang av metodene. Fagansvarlig i Sandnes har jevnlig deltatt i telefonsamtaler med den interne blåtungegruppen ved Veterinærinstituttet, hvor prøvefordeling og annen informasjon har blitt utvekslet, i tillegg til flere personlige besøk i Oslo. Vitenskapelig og teknisk personell fra Oslo har også besøkt Sandnes for å studere forholdene på plass. Samarbeidet har vært givende og man har kunnet utveksle erfaringer og bidratt til gjensidig problemløsning.

10. Referanser

1. Hamnes IS, Hopp P, Høgåsen H, Jor E, Mørk T, Sviland S, Tollersrud T. 2009. Blåtunge i Norge - Status og risikovurdering per 5. mai 2009. Veterinærinstituttets rapportserie 6.
2. Sjukdomsläget hos vilt i Sverige 2008. Sveriges veterinärmedisinska anstalt 2009. SVA:s rapportserie 9. www.mattilsynet.no/aktuelt/nyhetsarkiv/regelverk/ny_forskrift_om_opprettelse_av_soner_for_bekjempe_bluetongue_67639
3. www.mattilsynet.no/smittevern_og_bekjempelse/dyr/a_sjukdommer/bluetongue/-hendelser_utbrudd/bl_tunge_nye_soner_og_endrede_regler_for_flytting_av_dyr_69525
4. Darpel, K, Oura, C, Mellor, P. Overwintering of BTV-8 in the UK & Northern Europe. Pirbright, UK: Institute of Animal Health; 2008.
5. Venter GJ, Meiswinkel R. 1994. The virtual absence of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in colder, high-lying area of the eastern Orange Free State, South Africa and its implications for the transmission of arboviruses. Onderstepoort J. Vet. Res., 61, 327-345.
6. Goffredo M, Meiswinkel R. 2004. Entomological surveillance of bluetongue in Italy: Methods of capture, catch analysis and identification of *Culicoides* biting midges. Vet. Ital., 40 (3), 260-265.



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 350 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9010 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 69 49 11
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Pb 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
7485 Trondheim
t 73 58 07 27 · f 73 58 07 88
vit@vetinst.no

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Pb 750 Semtrum · 0106 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

