

OZDRAVOVÁNÍ CHOVŮ SKOTU od BOVINNÍ VIROVÉ DIARHOE (BVD)

MVDr. Petr VÁCLAVEK, Ph.D.

MVDr. Pavel BARTÁK, Ph.D.



STÁTNÍ VETERINÁRNÍ ÚSTAV JIHLAVA

Referenční laboratoř pro boviní virovou diarrhoeu (BVD/MD)

Oddělení virologie

Rantířovská 93, 586 05 Jihlava

Tel.: +420 567 143 297, Web: www.svujihlava.cz, E-mail: virologie@svujihlava.cz

Obsah:

A. Charakteristika původce nákazy

1. Úvod
2. Etiologie
3. Diverzita pestivirů
4. Epidemiologie – definice pojmů (typy infekce, cesty šíření infekce)
5. Imunologie a patogenéze

B. Princip ozdravování a program eradikace a kontroly infekce BVD v chovu

1. Identifikace chovu - určení nakažového statusu stáda
2. Detekce a eliminace zdroje infekce – identifikace perzistentně infikovaných (PI) zvířat a jejich odstranění z chovu
3. Preventivní opatření - monitoring po odstranění PI zvířat a systém preventivních opatření pro zamezení reinfekce ozdraveného chovu
4. Certifikace chovu

C. Laboratorní diagnostické metody při ozdravování od BVD

1. Detekce protilátek proti viru BVD – sérologie
2. Detekce viru / antigenu / genomu BVDV – virologie

D. Kritické body ozdravování od BVD

E. Správný odběr vzorků (krev, ušní štěp, mléko, tkáň)

F. Vakcinace

G. Alternativní postupy identifikace PI zvířat a ozdravování od BVD

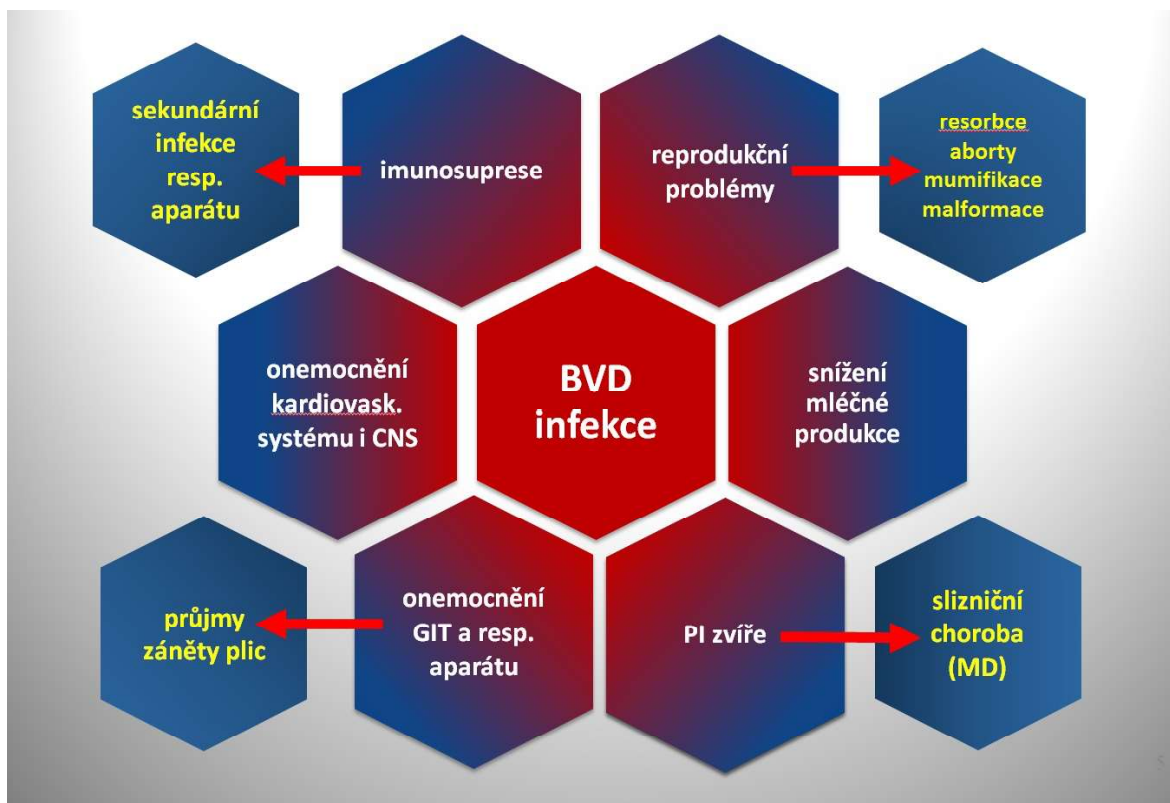
H. Literatura



A. Charakteristika původce nákazy

1. Úvod

Bovinní virová diarrhoea (BVD-MD) je celosvětově rozšířené infekční virové onemocnění, které způsobuje významné ekonomické ztráty v chovech skotu. Infekce virem BVD v různých věkových kategoriích se může projevovat širokou škálou klinických příznaků, jako jsou reprodukční problémy, imunosuprese, onemocnění respiratorního aparátu, onemocnění GIT i CNS apod.



Onemocnění probíhá většinou subklinicky, zřídka za těžších klinických příznaků nebo fatálně. V rozporu s názvem se infekce virem BVD jen výjimečně projevuje průjmem. V závažnějších případech se většinou jedná o zhoubnou formu nemoci, jež se označuje jako slizniční choroba (MD) skotu a je charakterizovaná četnými erozemi na sliznicích dutiny ústní, zákalem rohovky, krvavým průjmem a úhynem i dospělého skotu.

Infekce virem BVD ovlivňuje negativně funkce imunitního systému, což způsobuje **imunosupresi** a vede ke zvýšené vnímavosti k jiným patogenům. Časté jsou pak sekundární infekce např. boviním respiratorním syncytiálním virem (BRSV), *Mannheimia haemolytica*, rotavirem typu A, apod. Subklinické infekce BVD s alterací imunitního systému tak **potencují intenzitu klinických projevů průjmových a respiratorních onemocnění.**

Infekce BVD jsou také často příčinou významných **ztrát v reprodukci skotu**. Virus prostupuje placentou a v závislosti na stádiu březosti se infekce může projevit sníženou mírou zabřezávání, ranou

embryonální odúmrtí plodu, zmetáním, porody telat se sníženou životaschopností a kongenitálními vadami telat či narozením perzistentně infikovaného telete.

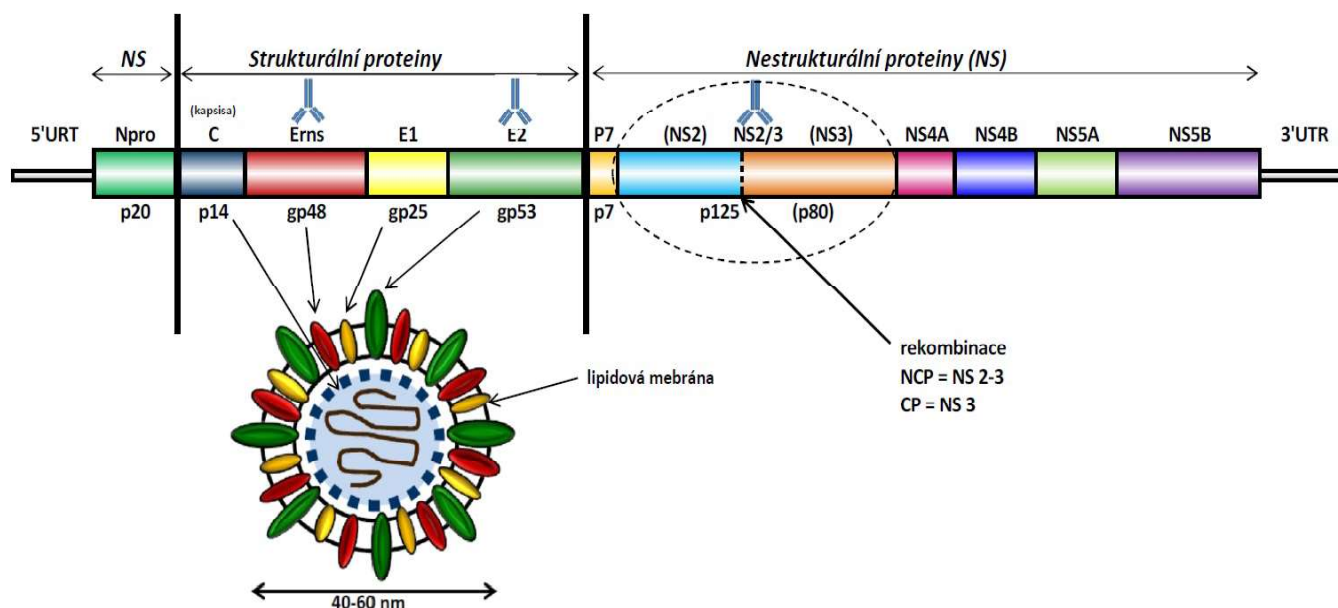
Infikovaná zvířata při akutní či perzistentní formě infekce šíří virus všemi exkrekty a sekrekty a choroba tak může být přenášena jak přímým kontaktem zvířat, tak kontaminovanými jehlami či jinými pomůckami. Specifickým projevem infekce virem BVD jsou **perzistentně infikovaní jedinci**, kteří vznikají transplacentární infekcí plodu v prvním trimestru březosti necytopatogenním virem BVD, kdy imunitní systém plodu ještě není schopen identifikovat cizorodé agens a virus BVD je akceptován jako homologní antigen. Perzistentně infikovaná zvířata jsou celoživotními šířiteli viru. **Eliminace perzistentně infikovaných zvířat z chovu a prevence před vznikem nových perzistentně infikovaných zvířat jsou základními principy k ozdravení chovu skotu od BVD.**

V Evropě je BVD virus endemicky rozšířen. První ozdravovací programy začaly v letech 1993-1994 ve Skandinávských zemích a tyto země jsou nyní již prosté od BVD (Dánsko, Švédsko, Finsko, Norsko). Ve Švýcarsku probíhal ozdravovací program d BVD v letech 2008-2012 a nyní je zde fáze monitoringu po ozdravení. Země prosté BVD je rovněž Rakousko a Německo kde probíhal NOP od roku 2011. V současné době probíhají povinné národní ozdravovací programy ve Skotsku (od 2012), Irsku (od 2012), Belgii (2015) a dále pak dobrovolné programy v některých regionech Itálie, Holandska, některých departmentech Francie, v Anglii, v některých regionech Řecka a Španělska. Mimo Evropu probíhá dobrovolné ozdravování od BVD rovněž např. v USA či Austrálii.

V České republice lze pozorovat vzrůstající trend zájmu o ozdravení od BVD a je pravděpodobné, že v souvislosti s ozdravením chovů od IBR se bude zvyšovat zájem i o ozdravení od BVD. V současné epizootologické situaci v ČR s vysokou prevalencí BVD existuje pro ozdravené chovy stále významné riziko reinfekce. Základem úspěchu při ozdravení od BVD jsou kvalitně vypracovaný ozdravovací program pro daný chov, důsledná realizace programu a následný monitoring po odstranění PI zvířat se systémem preventivních opatření pro zamezení reinfekce ozdraveného chovu (biosekurita). Nezbytná je součinnost diagnostické laboratoře s chovatelem a soukromým veterinárním lékařem daného hospodářství, případně referenční laboratoří.

2. Etiologie

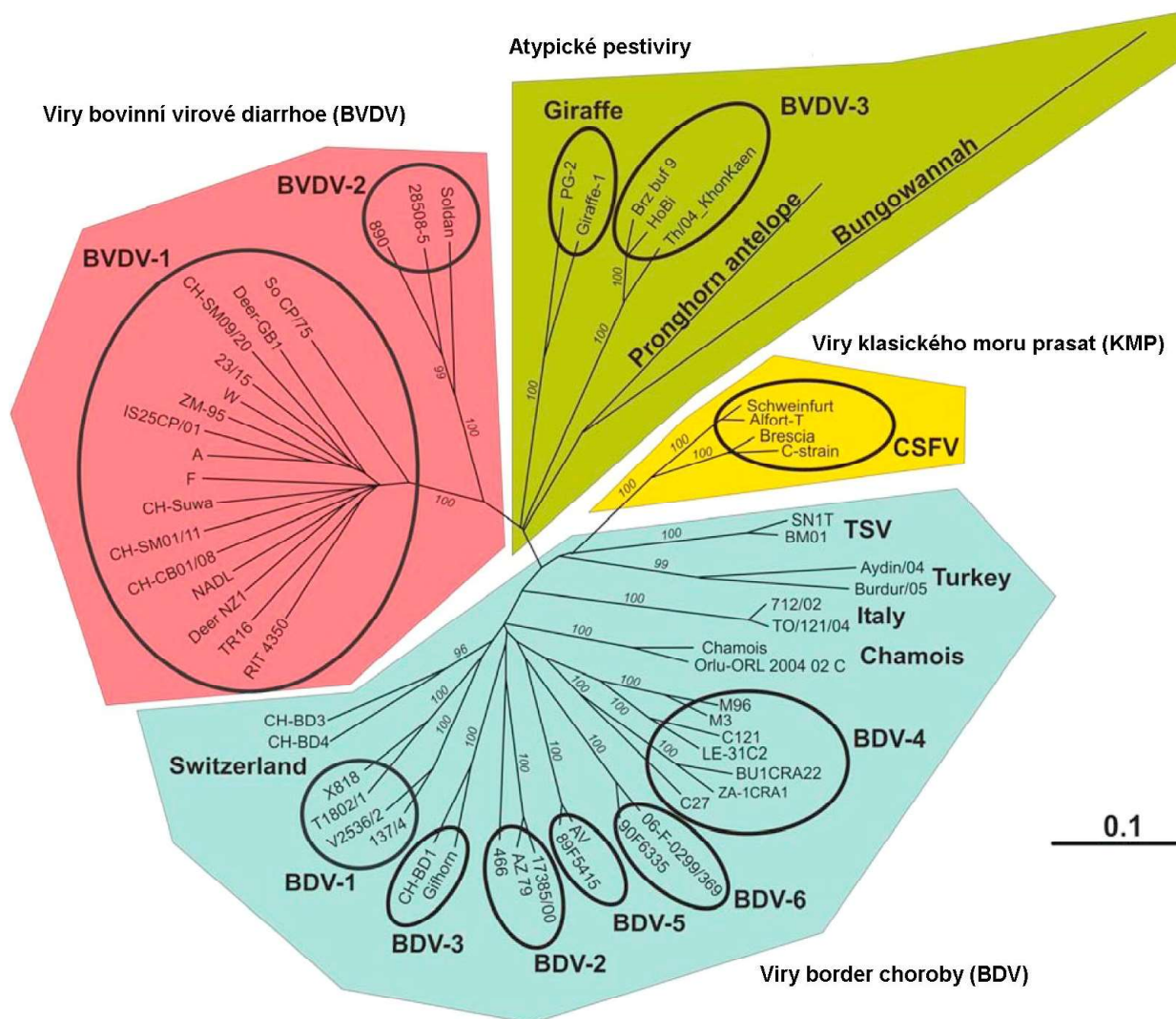
- Původcem nákazy je virus bovinní virové diarrhoe (BVDV) = RNA virus čeledi *Flaviviridae* - rod ***Pestivirus***
- dva biotypy viru - **cytopatogenní a necytopatogenní (CP – BVD, NCP – BVD)**
 - **necytopatogenní NCP BVDV** je dominantní biotyp – více než **90% izolátů**
 - více imunogenní = větší protilátková odpověď = vyšší titr neutralizačních protilátek
 - virémie s vysokým vylučováním viru oproti CP BVD
- **afinita viru BVD k lymforetikulární tkáni** = alterace imunitního systému = **imunosuprese**
- přirozeně vnímavý k viru BVDV je skot. Choroba je přenosná i na ostatní přežvýkavce (např. ovce a kozy) a prasata. Z volně žijících zvířat se mohou nakazit především jelenovití.



Obr. č. 1 Virus BVDV, genom a proteiny viru (Václavek, 2010)

3. Diverzita pestivirů

- jsou popsány dva **genotypy viru BVD – BVDV typ 1 a BVDV typ 2**
- dále je popsáno 16 subgenotypů BVD 1 a 3 subgenotypy BVD 2
- BVDV = RNA virus náchylný k mutacím a rekombinacím
- prevalence genotypů BVDV-1 a BVDV-2 se liší po celém světě: okolo 50% izolátů v Severní Americe je BVD-2, zatímco v Evropě dominuje BVD-1 (90% izolátů). Doposud byl typ BVD-2 popsán v Evropě v Německu, Polsku, Belgii, Francii, Nizozemí, Rakousku, Slovensku, Itálii, a Velké Británii. V České republice zatím nebyl typ BVD-2 oficiálně referován, ale předpokládá se, že se zde v malé míře také vyskytuje. Nejčastěji diagnostikovanými subgenotypy v ČR jsou BVD-1b a BVD-1d.
- BVDV-1 způsobuje shodné onemocnění jako BVDV-2. Výjimkou jsou některé vysoce patogenní kmeny BVDV-2 způsobující letální hemoragický syndrom u mladého dobytka.
- genetické/antigenní rozdíly mezi kmeny BVDV a mezi dalšími příbuznými pestiviry je nutno brát v úvahu vzhledem k diagnostickým metodám a vzhledem k vakcínám (vývoj vakcín, jejich efektivita potenciální kontaminace vakcín).
- vakcíny obsahují různé kmeny BVDV a to jak různé biotypy, tak genotypy 1 a 2. Efektivita vakcinace může být ovlivněna antigenní diverzitou viru BVDV v případě, že se virus vakcinační výrazně odlišuje od viru terénního.



Obr. č. 2. Klasifikace pestivirů - fylogenetická analýza založená na N^{pro} sekvenci
(upraveno, E. Petrhans et al. Vet. Res. (2010) 41:44, www.vetres.org)

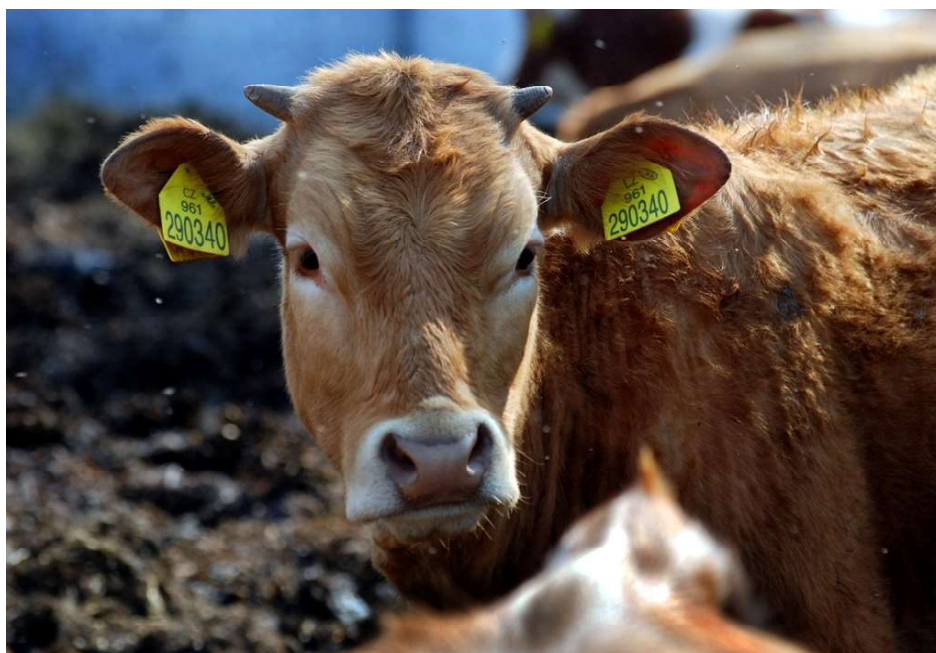
4. Typy infekce

- **transientní infekce (TI)** – akutní postnatální infekce, která se vyznačuje krátkodobou virémií. Přítomnost viru v krvi je obvykle možno detekovat v rozmezí 5 -16 dnů. Akutní virémie vyvolá standartní imunitní odpověď s tvorbou specifických protilátek. Neutralizační protilátky je možno detekovat cca 14 dní po infekci virem. Na rozdíl od vakcinačního viru, je navozená protektivní imunita po infekci terénním virem celoživotní.
- **perzistentní infekce (PI)** - vzniká při infekci plodu v prvním trimestru březosti, kdy nedojde ke zmetání. Imunitní systém plodu není ještě schopen identifikovat cizorodé agens a virus BVD je akceptován jako homologní antigen a udržuje se v lymfatickém systému a leukocytech periferní krve po celou dobu života zvířete. Další informace o **PI zvířatech** viz níže.

5. Patogenéze – definice pojmů (akutní infekce, slizniční choroba)

Projevy infekce BVD/MD

- **klinická infekce**
 - mírné subklinické infekce s alterací imunitního systému - potencují intenzitu klinických projevů průjmových a respiračních onemocnění, projevuje se zvýšenou nemocností i ztrátami úhynem
 - letální hemoragický syndrom u mladého dobytka způsobený některými kmeny BVDV-2
- **slizniční choroba** („mucosal disease“ – MD) – vzácná klinická forma, která se vyvine **pouze u PI zvířat** po superinfekci heterologním cytopatogenním kmenem viru nebo po mutaci homologního necytopatogenního biotypu na cytopatogenní. Zhoubná forma nemoci, charakterizovaná četnými erozemi, ulceracemi a nekrózami na sliznicích dutiny ústní, zákalem rohovky, krvavým průjmem, dehydratací a úhyny i u dospělého skotu.
- **fatální kongenitální infekce** - infekce plodu zejména v raném stadiu březosti způsobují odumření plodu a následné zmetání; mrtvě narozená nebo defektní telata s malformacemi či postižením CNS.

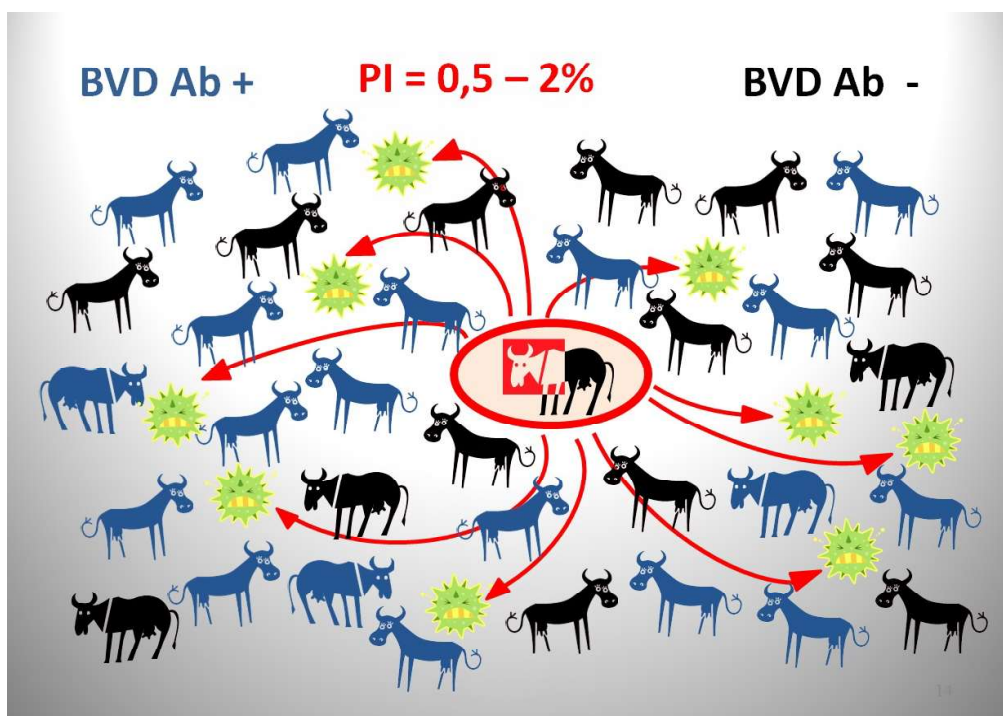


B. Princip ozdravování a program eradikace a kontroly infekce BVD v chovu

Princip ozdravování od BVD

Principem kontroly a ozdravování chovu skotu od BVD je vyhledání a eliminace zdrojů infekce tzn. perzistentně infikovaných (PI) zvířat a zabránění vzniku nových PI zvířat. PI zvířata celoživotně masivně vylučují virus do prostředí a jsou hlavním faktorem umožňujícím cirkulaci viru ve stádě. Ozdravování je realizováno na základě ozdravovacího programu.

Základní klíč BVDV = zvíře perzistentně infikované (PI) virem BVD



Perzistentně infikované (PI) zvíře:

- infikované **v prvním trimestru březosti** ncp virem BVD, kdy imunitní systém plodu ještě není schopen identifikovat cizorodé agens a virus BVD je akceptován jako homologní antigen
- **podíl PI zvířat ve stádě je většinou mezi 0,5% - 2%**
- PI telata mohou vykazovat různé abnormality, jako např. nízkou porodní hmotnost nebo tzv. „kadeřavou“ srst, obvykle však jsou bez jakýchkoli příznaků a mohou být identifikována pouze laboratorním vyšetřením
- **imunosuprese** - náchylnost k infekcím jinými mikroorganismy
- riziko vzniku slizniční formy onemocnění (MD)
- **celoživotní vylučování viru** - masivně vylučují virus do prostředí, jsou hlavním faktorem umožňujícím cirkulaci viru BVD ve stádě

- jsou imunitotolerantní vůči kmenu viru, kterým jsou infikováni
- jsou však imunokompetentní vůči jiným antigenním podnětům včetně jiných terénních a vakcinačních kmenů viru BVD antigenně odlišných, popř. vůči jiným příbuzným pestivirům
- z hlediska diagnostiky jsou jako PI zvířata posuzovány kusy **opakovaně pozitivní v testu na přítomnost viru BVD v odstupu minimálně 3 týdnů.**

Program kontroly a eradikace infekce BVD v chovu

Program kontroly a eradikace infekce BVD by měl zahrnovat tato body:

1. **Identifikace chovu** - určení nálezového statusu stáda
2. **Detekce a eliminace zdroje infekce** – identifikace perzistentně infikovaných (PI) zvířat a jejich odstranění z chovu
3. **Preventivní opatření** - monitoring po odstranění PI zvířat a systém preventivních opatření pro zamezení reinfekce ozdraveného chovu
4. **Certifikace chovu**

1. Identifikace chovu – určení nálezového statusu stáda

Na základě výsledků vyšetření níže popsanými postupy lze identifikovat chovy určením **nálezového statusu stáda** takto:

- **neidentifikovaný chov** - chov s neproveršenou nálezovou situací s možným výskytem BVD virologicky či sérologicky pozitivních zvířat a PI zvířat.
- **chov s aktivní infekcí** - chov s výskytem séropozitivních zvířat, akutně virových zvířat popř. PI zvířat, identifikovaný na základě laboratorního vyšetření stanovenými metodami průkazu viru a protilátek.
- **chov prostý PI zvířat** - chov identifikovaný na základě stanovených metod průkazu viru s negativním výsledkem vyšetření všech zvířat základního stáda, zvířat nově zařazovaných do stáda a telata narozených v průběhu 12-15 měsíců od vyřazení posledních identifikovaných PI zvířat – tzn. chov, v němž nebyla zjištěna přítomnost PI zvířat nebo z nějž již byla všechna PI zvířata eliminována.
- **chov prostý BVD** - chov sérologicky a virologicky negativní

Určení nálezového statusu je možné provést třemi postupy (nebo jejich kombinací):

a) stanovením hladiny protilátek ve vzorcích krve od indikátorových skupin zvířat (metody ELISA a NPLA)

Jedná se o vzorky sér od 6–10 ks zvířat několika věkových skupin.

- telata ve stáří 8-12 měsíců,
- jalovice ve stáří 12-24 měsíců,
- prvotelky nejdříve 1 měsíc po otelení,

U stád do 300 ks. skotu se doporučuje odebrat vzorky min. od 6 ks. zvířat z každé skupiny, u stád nad 300 ks min. 10 zvířat z každé skupiny. U stád do 10 ks skotu se vyšetří 50-100% skotu. **Výsledné vysoké procento pozitivitu a vysoké titry protilátek indikují chov s aktivní infekcí a pravděpodobnou přítomnost PI zvířat.**

V hospodářství bez aktivní infekce se provede za 5-7 měsíců opakované vyšetření indikátorových zvířat ve stejném rozsahu jako při prvním screeningovém vyšetření a provede se vyšetření bazénového vzorku mléka na přítomnost protilátek. Pokud je výsledek obou vyšetření negativní, lze hospodářství definovat **jako prosté BVD-MD**

b) stanovení protilátek v bazénovém vzorku mléka (metoda ELISA)

K vyšetření se použije bazénový vzorek mléka (dále jen BVM). V případě pozitivního výsledku vyšetření se provede doplňkové sérologické vyšetření indikátorových zvířat (viz odst. a). Důvodem je, že v mléce mohou přetrvávat protilátky určitou dobu i po vyřazení PI zvířat.

c) průkaz viru ve směsném vzorku krevního séra nebo bazénovém vzorku mléka (metody - RT-PCR a Real-Time RT-PCR)

Použije se zejména v případě vakcinovaných stád.

Pozn.: **Sérologická vyšetření nelze použít ve vakcinovaných stádech.** U vakcinovaných stád lze k určení nálezového statusu použít např. průkaz viru ve směsném vzorku krevních sér nebo v BVM. O postupu vyšetření (a, b nebo c)) rozhodne laboratoř, která bude provádět diagnostiku po konzultaci s chovatelem a soukromým veterinárním lékařem daného hospodářství, případně referenční laboratoří.

2. Detekce a eliminace zdroje infekce – identifikace perzistentně infikovaných (PI) zvířat a jejich odstranění z chovu

Za účelem identifikace perzistentně infikovaných (PI) zvířat se testují metodou detekce viru (viz kapitola C.) všechna zvířata základního stáda všech věkových kategorií, zvířata nově zařazovaná do stáda a telata narozená v průběhu 12-15 měsíců od vyřazení posledního PI zvířete.

Jako PI zvíře lze označit to, které bylo opakovaně pozitivní na přítomnost viru v odstupu minimálně 21 dní.

Diagnostické metody používané na průkazu viru, včetně indikací a limitů jednotlivých metod, jsou uvedeny kapitole C.

Tato fáze, tedy identifikace perzistentně infikovaných (PI) zvířat může z hlediska věkových kategorií probíhat různým způsobem. **Zvolený způsob má vliv na délku ozdravování, celkové finanční náklady na ozdravení chovu popř. rozložení finanční nákladů do delšího časového horizontu.**

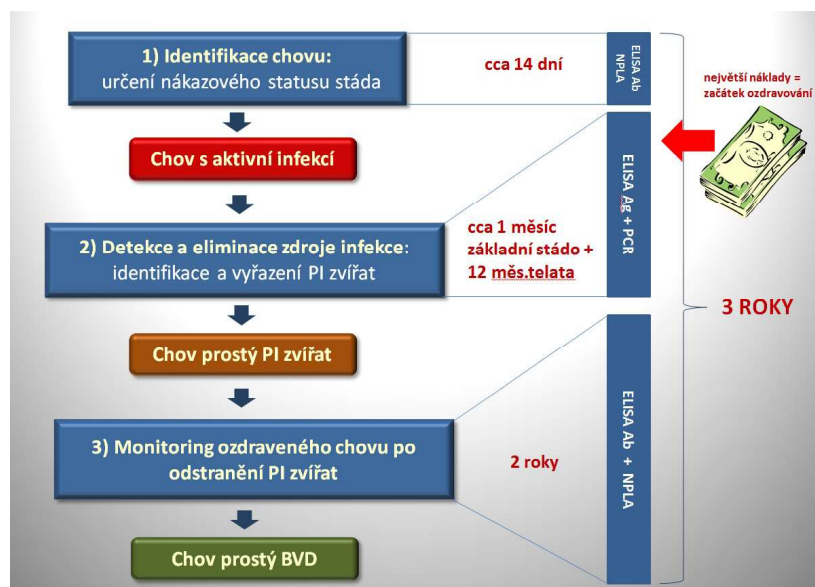
Současné nejčastěji používané postupy ozdravování chovů:

A) Klasický způsob ozdravování - kompletní testování všech zvířat z celého chovu

Standardní postup používaný v posledních letech. Využije se odběru krve základního stáda za účelem povinného monitoringu (IBR apod.), které se ve směsných vzorcích otestují na přítomnost viru BVD. Po té se odeberou a testují i další (mladší) věkové kategorie a následně je nutné testovat telata narozená v průběhu 12-15 měsíců od vyřazení posledního PI zvířete ze základního stáda.

Tento postup má své výhody v tom, že je nejrychlejší a je minimalizováno riziko administrativní chyby (identifikace PI kusů). Nevýhodou mohou být (ale nemusí) vyšší celkové náklady než níže uvedený „administrativní způsob“ ozdravování. Finanční náklady jsou vynaloženy v kratším čase, nárazově, což nemusí všem chovatelům vyhovovat.

Časový průběh ozdravení a monitoringu chovu:



B) Administrativní ozdravování – více viz kapitola „H. Alternativní postupy identifikace PI zvířat a ozdravování chovů od BVD.“

C) Kombinace mezi postupem A a B – RL pro BVD doporučuje kombinaci klasického způsobu ozdravování a administrativního ozdravování - více viz kapitola „H. Alternativní postupy identifikace PI zvířat a ozdravování chovů od BVD.“

3. Preventivní opatření – monitoring po odstranění PI zvířat a systém preventivních opatření pro zamezení reinfekce ozdraveného chovu (biosekurita)

3.1 Monitoring ozdraveného chovu po odstranění PI zvířat

Po odstranění posledního PI zvířete z chovu má chov status **chov prostý PI zvířat** (viz výše – *identifikace chovu*). K získání statusu **chovu prostého BVD** musí být chov virologicky i sérologicky negativní.

První sérologicky negativní skupina zvířat po odstranění posledního PI zvířete bývají telata ve stáří 8-12 měsíců, tj. po definitivním vymizení kolostrálních protilátek. Dospíváním těchto séronegativních zvířat takto postupem času dochází u všech věkových kategorií v chovu k negativním výsledkům testů na detekci protilátek proti viru BVD.

Chov prostý PI zvířat je dále laboratorně kontrolován v průběžném monitoringu. Monitoring je založen na **laboratorním vyšetření (ELISA Ab testem, NPLA) na přítomnost protilátek proti viru BVD:**

- 1) Sérologicky se vyšetřují nejprve indikátorová zvířata v kategorii **telat ve stáří 8-12 měsíců** - indikátorová skupina 6-10 zvířat 1-2x ročně (ihned po odstranění PI zvířat).
- 2) Dále se pak s odstupem šesti měsíců vyšetřují sérologicky **jalovice ve stáří 12-16 měsíců** - indikátorová skupina 6-10 zvířat 1-2x ročně.
- 3) A nakonec s odstupem dalších šesti měsíců vyšetřujeme i **prvotelky** - indikátorová skupina 6-10 zvířat 1-2x ročně.

Popř. lze vyšetřovat další indikátorová zvířata:

- bazénové vzorky mléka (virologicky, popř. sérologicky) - 1x ročně.
- krávy zmetalky – průběžně

V hospodářstvích v nichž je chováno do 50 ks skotu se vyšetří 50 % zvířat.

Postup monitoringu je vhodné v daném chovu individuálně nastavit ve spolupráci s laboratoří, která provádí diagnostiku a po konzultaci s chovatelem a soukromým veterinárním lékařem daného hospodářství, případně referenční laboratoří.

Pokud nejsou opakovaně během minimálně 2 letého monitoringu prokázány protilátky proti původci BVD-MD v mladších kategoriích skotu (telata, jalovice, prvotelky), je možné hospodářství považovat za **definitivně bez aktivní infekce BVD** a chov může získat **status chovu prostého BVD**.

Pokud se chovatel rozhodne po odstranění PI zvířat **vakcinovat**, je vhodné kvůli sérologickému monitoringu vyčlenit několik zvířat - telat (např. indikátorová skupina 10 zv.), které se nevakcinují a jako „**sentinely**“ je pak možné tato zvířata průběžně sérologicky testovat.

3.2 Preventivní opatření pro zamezení reinfekce/infekce BVD-MD prostého stáda (biosekurita)

Rizika zavlečení infekce do BVD prostého stáda:

- **nákup neproověřených zvířat** – např. **březi plemence s intrauterinně infikovaným fětem**, tzv. „trojské krávy“, nebo **mladí plemenní býčci** přemísťovaní za účelem přirozené plemenitby do stáda apod.
- **inseminační dávky** nakoupené v zahraničí, které nepochází ze schválených středisek pro odběr spermatu a neposkytují zdravotní garance dle **směrnice Rady 88/407/EHS**. Při zabezpečování inseminace je nutné požadovat, aby inseminační dávky pocházely ze středisek pro inseminaci skotu resp. středisek pro skladování spermatu, která plní ustanovení Vyhlášky č.380/2004 Sb. (pokud byla inseminační dávka vyrobená v ČR), resp. ustanovení směrnice Rady 88/407/EHS pokud se jedná o inseminační dávky vyrobené v zahraničí.
- **nedodržování monitoringu** - chovatel ve stádě v prostém BVD **neprovádí či zastaví následný monitoring** v době např. regionálního nálezového rizika apod.
- **biologické služby** – osoby a zaměstnanci vstupující do chovu provádějící zákroky a úkony, při kterých může dojít k přenesení viru z jiného chovu (inseminační technik, úprava paznehtů, veterinární lékař apod.). Důležité je používání jednorázových pomůcek (rukavice, jehly, pipety apod.) při hromadných veterinárních zákrocích.
- **přesun zvířat** – např. **na výstavy** – nutnost testace před a po dané akci
- **kontaminované vakcíny / autovakcíny**
- dále viz níže – kapitola D. Kritické body ozdravování

Pozn. **Nejčastějším způsobem infekce / reinfekce chovu je nakoupené PI zvíře a tzv. „trojská kráva“** – sérologicky pozitivní, ale virologicky negativní kráva, s PI plodem. Při nákupu dojde k otestování krávy, ale následně se opomene otestování narozeného telete, které je perzistentně infikované. Riziko infekce chovu přímým stykem či aerosolem je malé z důvodu vysoké citlivosti viru ve vnějším prostředí, ale nelze ho zcela vyloučit (sousední pastevní chov, volně žijící přežvýkavci apod.).

Biosekuritu (systém preventivních opatření) je nutno pro zdárné ozdravení dodržovat již během procesu ozdravování chovu.

C. Diagnostické metody při ozdravování od BVD

1. Detekce protilátek proti viru BVD – sérologie

ELISA test na detekci protilátek (ELISA Ab)

<i>Princip</i>	průkaz protilátek ELISA testem (nepřímý nebo blokovací)
<i>Materiál (vzorky)</i>	sérum, plazma, mléko, bazénové mléko
<i>Hlavní využití testu</i>	screening, identifikace chovu - určení statusu, vyšetření indikátorových skupin, monitoring - kontrola chovu po ozdravení.
<i>Limity testu</i>	Nutná opatrnost při interpretaci výsledků. Jen samotný test ELISA Ab by neměl sloužit k definitivní diagnóze. Je možný výskyt PI zvířete s protilátkami. Nepřímý ELISA test využitelný od 6. měsíce stáří zvířat , NS3 blokovací ELISA test až od 12. měsíce stáří zvířete.

NPLA nebo VNT

<i>Princip</i>	průkaz protilátek neutralizačním imunoperoxidázovým testem (NPLA) nebo virus neutralizačním testem (VNT)
<i>Materiál (vzorky)</i>	sérum, plazma
<i>Hlavní využití testu</i>	screening, sérokonverze (využití párových vzorků), stanovení titru , vysoké titry indikují silnou imunitní odezvu, diferenciace kmenů BVDV, výzkum
<i>Limity testu</i>	Test NPLA (stejně tak jako ELISA testy) nerozlišuje mezi přirozenou imunitou, mezi protilátkami získanými vakcinací popř. mezi mateřskými protilátkami. Vyšší náročnost testu.

2. Detekce viru / antigenu / genomu BVDV – virologie

E^{RNS} ELISA test na detekci antigenu (E^{RNS} Ag ELISA)

<i>Princip</i>	průkaz virového antigenu ELISA testem
<i>Materiál (vzorky)</i>	krevním sérum, plazma, plná krev, suspenze orgánů, kožní biopsie (ušní výkroje), suspenze leukocytů periferní krve
<i>Hlavní využití testu</i>	detekce PI a TI zvířat , diagnostika klinické BVD/MD, screening, kontrola plemenných býků, kontrola při prodeji a nákupu, monitoring
<i>Limity testu</i>	Při detekci antigenu z krve je možné využití E ^{RNS} ELISA testu u vzorků odebraných před příjmem kolostra nebo až po 90 d.p.p. Bez omezení je možno tento test použít při testování kožních biopsií či vzorků orgánů. Potřeba opakovaného odběru pozitivního vzorku pro potvrzení, zda se jedná o PI nebo TI zvíře. Cenově nákladnější, ale rychlejší test než testování směsných vzorků v PCR.

NS3 ELISA test na detekci antigenu (NS3 Ag ELISA)

<i>Princip</i>	průkaz virového antigenu ELISA testem
<i>Materiál (vzorky)</i>	separovaná suspenze leukocytů periferní krve
<i>Hlavní využití testu</i>	detekce PI a TI zvířat , diagnostika klinické BVD/MD, screening, kontrola plemenných býků, kontrola při prodeji a nákupu, monitoring
<i>Limity testu</i>	NS3 ELISA k detekci antigenu BVDV je vhodný jen na testování separovaných leukocytů periferní krve a u vzorků odebraných před příjmem kolostra nebo až po 90 d.p.p. Při optimalizaci testu (odběru vzorku) lze tento test použít až do tří dnů po narození. Potřeba opakovaného odběru pozitivního vz. pro potvrzení, zda se jedná o PI nebo TI zvíře. Cenově nákladnější, ale rychlejší test než je testování směsných vzorků metodou PCR.

Izolace viru

<i>Princip</i>	izolace viru na tkáňových kulturách a jeho následná detekce metodou PLA
<i>Materiál (vzorky)</i>	biologický materiál (orgány, tělní tekutiny, sekrety a exkrekty, leukocyty)
<i>Hlavní využití testu</i>	konfirmace, diferenciací kmenů BVDV a diferenciací pestivirů, výzkum
<i>Limity testu</i>	Izolace nespolehlivá od příjmu kolostra do cca 40. dnem po porodu (d.p.p.). Vysoká cena a délka testu (dlouhá inkubace).

RT-PCR a Real-Time RT-PCR (polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí)

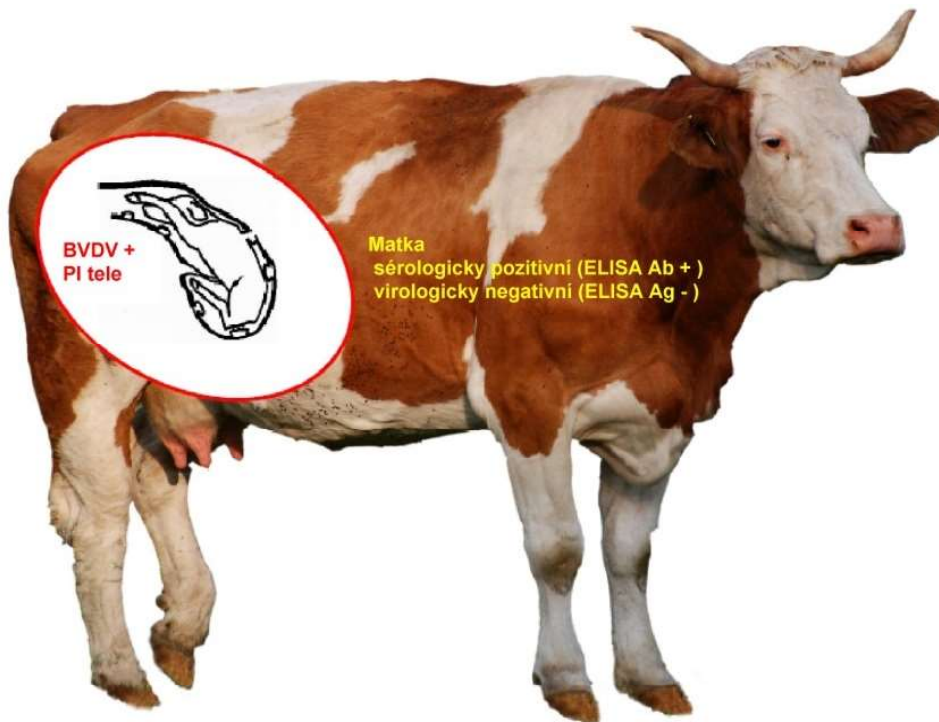
<i>Princip</i>	průkaz virové RNA testem RT-PCR a Real-Time RT-PCR ; metody detekující všechny známé varianty viru BVD + nutná analytická senzitivita min. 100 genom. kopií/reakci
<i>Materiál (vzorky)</i>	krevní sérum, krevní plazma, leukocyty, plná krev, mléko, bazénové mléko, biopsie (ušní štěpy), sekční materiál, tkáň, kožní
<i>Hlavní využití testu</i>	detekce PI a TI zvířat , diagnostika klinické BVD/MD, monitoring, identifikace chovu - určení statutu chovu screening, monitoring - kontrola chovu po ozdravení
<i>Limity testu</i>	Možnost slučování vzorků (směsné vzorky) - směs 5 až 50 vz. (krevní sérum, krevní plazma, leukocyty, plná krev, ušní štěpy). Potřeba opakovaného odběru pozitivního vzorku pro potvrzení, zda se jedná o PI nebo TI zvíře. Limitováno pro směsné vzorky krve odběrem vz. do 7. d.p.p. nebo až po 40 d.p.p. (pro testování jednotlivých vzorků bez omezení). U biopsie (ušní štěpy) možno využít bez věkového omezení. U bazénového mléka nelze identifikovat jednotlivé PI zvířata, ale přítomnost PI zvířat (zvířete) ve skupině zvířat, která se podílejí na nádoji do daného bazénu (limit do 200 zvířat / 1 bazén).

V rámci výše popsaných metod by měly být používány metody (popř. diagnostické soupravy) validované a schválené RL pro BVD.

D. Kritické body ozdravování od BVD

- 1) **precizní administrativa** – **identifikace jednotlivých kusů**, přehledně a správně vyplněné žádanky zasílané do laboratoře, správné označení vzorků, čitelná čísla zvířat = vyloučení záměny.
- 2) **odběr vzorku** – nutné zachování **identity vzorku**, zabránění **kontaminace** při odběru vzorků (např. odběr krve jednou jehlou, odběr ušních výkrojů bez omývání kleští apod.), preferovat jednorázové odběrové soupravy. Více o správném odběru vzorků viz **kapitola E. Správný odběr vzorků**.
- 3) **eliminace PI zvířat** – PI zvířata by měla být z chovu **odstraněna pokud možno co nejdříve** – dříve než přijdou do kontaktu s březími zvířaty – přerušení infekčního řetězce. Využití kožních biopsií z ucha telete usnadňuje včasné vyřazení PI zvířat z chovu (není limitováno mateřskými protilátkami).
- 4) **biosekurita** – **sytém opatření k ochraně chovu před reinfekcí / infekcí** – systematický program ochrany před reinfekcí a permanentní **monitoring** i v případě, že záhy po vyřazení posledního PI zvířete začne probíhat v chovu vakcinace.
- 5) **testování býčků** – i v případě, že zůstávají v chovu jen krátkou dobu. Při nákupu pleménika, který bude zabezpečovat přirozenou plemenitbu ve stádě bez aktivní infekce (byla eliminována PI zvířata) nebo v BVD prostém hospodářství (stádu), trvat na sérologickém i virologickém vyšetření s negativním výsledkem.
- 6) **kolostrální protilátky** – vysoké titry kolostrálních protilátek v prvních měsících po porodu mohou způsobit **falešně negativní výsledek v některých testech na detekci viru BVD** z krve zvířat. Vysoké titry mateřských protilátek blokují vylučování viru a může dojít k falešně negativnímu výsledku při testování séra v ELISA testu i při testování směsných vzorků v testu PCR. Tomu lze předejít změnou matrice – např. testováním **kožních biopsií (ušní štěpy)**.
Při detekci **antigenu z krve** je možné využít **ERNS ELISA** testu jen u vzorků odebraných před příjmem kolostra nebo **až po 90 d.p.p.** Test **PCR je u směsných vzorků krve** limitován odběrem vz. do 7. d.p.p. nebo **až po 40 d.p.p.** U **jednotlivých vzorků je PCR bez omezení**. Testování **ušních štěpů je bez věkového omezení** v ELISA Ag testu i v testu PCR.
- 7) **nákup zvířat - kontrola nově nakoupených zvířat** – karanténa s negativními laboratorními testy na BVDV – potvrzení, zda se nejedná o PI zvíře či „trojskou krávu“. Chovatelé skotu, kteří již nemají ve svém stádě aktivní infekci (byla eliminována PI zvířata) nebo docílili BVD prostého statusu, musí při jakémkoli přesunu skotu do svého stáda **vyžadovat nálezové garance**.

- 8) „trojská kráva“ – sérologicky pozitivní, ale virologicky negativní kráva, s PI plodem – nutno vyšetřit tele po narození (nebezpečí při nákupu březích zvířat). Nákup sérologicky pozitivní březí jalovice (krávy), (přestože je virologicky negativní) je největším nebezpečím, a **nejčastější cestou reinfekce ozdraveného stáda**. V takových případech je nutno tele po porodu izolovat od všech zvířat a provést vyšetření ušního štěpu. Při pozitivním nálezu vyřadit tele co nejdříve po narození.



- 9) **bazénové vzorky mléka** – jsou reprezentativní jen pro ta zvířata, která se podílejí na nádoji do daného bazénu. V případě pozitivního průkazu viru BVD v bazénovém vzorku mléka je nutné odebrat krve všech krav, které se podílely na daném nádoji (bazénu) a vyšetřit je dále testem na průkaz viru a dohledat tak PI zvířata. Pro úspěšnou identifikaci je třeba zajistit dokonalou evidenci krav obsažených v nádoji jednotlivých bazénových vzorků a evidenci krav, které se na nádoji nemohly z různých důvodů podílet (suchostojné, s mastitidami, s ATB apod.).

- 10) **informovanost - nové poznatky** o chorobě (patogenu) versus zažitá **nepravdy**, např:

„... PI zvířata se nedožijí vysokého věku...“, „... PI zvíře poznáme bez laboratorní diagnostiky podle špatné kondice, vzrůstu a časté nemocnosti...“, „...PI zvíře je vždy sérologicky negativní...“... apod.

PI zvíře nemusí být vždy sérologicky negativní ⇒ výjimky:

- PI telata s pasivně přijatými protilátkami v kolostru do stáří cca 3-6 měsíců
- PI zvířata ve vakcinovaných chovech
- PI zvíře, které se infikuje jiným typem viru BVD, než který získalo při primoinfekci
- PI zvíře po styku infekci příbuzným pestivirem (např. BVD-3, Border disease virus)

- 11) **přesnost laboratorních testů** – výběr laboratoře, možnosti diagnostiky, specifita a senzitivita testů, limity požívaných testů, konfirmace, kruhové testy

E. Správný odběr vzorků pro laboratorní diagnostiku BVD

Krev

- Krev je vhodné odebrat do HEMOS zkumavky či podobné odběrové soupravy. Krev lze v HEMOS zkumavkách skladovat **při pokojové teplotě (18-22°C) max. do 24 hodin**. V chladničce (2-8°C) **lze krve skladovat max. 3 dny**. Krve ve zkumavkách HEMOS nikdy nezamrazovat! Nejlépe doručit krve do laboratoře do 72 hodin se zachováním chladicího řetězce. Sérum lze v chladničce (2-8°C) skladovat 7 dní. Na delší skladování je nutné sérum zamrazit.
- Na detekci viru ELISA testem či PCR **není nutný odběr krve do zkumavek s K3 EDTA** či jinou sloučeninou zabraňující srážení krve. U sražené krve lze ze sérum použít jak na detekci protilátek tak na detekci viru a to bez významné ztráty citlivosti.
- **Krve odebírané za jiným účelem (např. monitoring IBR, PTB, březost) lze rovněž použít k diagnostice BVD** (monitoring, ozdravování apod.). K BVD testům v takových případech nemusíte provádět speciální odběr a naopak využijete nutný monitoring jiné choroby k ozdravování od BVD.
- Nesměsujte vzorky na farmě, **směšování vzorků probíhá v laboratoři!**
- Množství odebraných vzorků za různým účelem (screening, ozdravování, monitoring) je popsáno výše v příslušných kapitolách.

Ušní výkroje (štěpy)

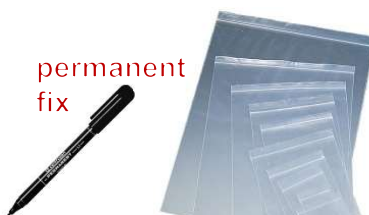
Kožní štěpy je možno (na rozdíl od krve) využívat **bez věkového omezení od prvního dne po narození**, bez rizika falešně negativního výsledku.

Potřebné vybavení a materiál k odběru: vrubovací kleště, kbelík, voda, papírové ubrousky, plastové zkumavky či sáčky.

vrubovací
kleště



papírové
ubrousky



permanent
fix



„zip“ sáčky či zkumavky

Postu odběru:

- ideální jsou větší **vrubovací kleště**, kterými se odebere cca **0,5-1 cm²** kožního štěpu
- **vrubovací kleště po každém odběru omývat vodou a otřít papírovým ubrouskem**. Od dříve doporučené dezinfekce kleští desinfekčním roztokem (např. chlornan sodný) jsme ustoupili z důvodu možných falešně negativních výsledků. Kontaminace vzorku desinfekčním roztokem může negativně ovlivnit PCR test.
- vzorek kůže dejte nejlépe do suché **plastové zkumavky** či **ZIP sáčku** (bez formalínu, či jiné tekutiny) a řádně označte permanentním fixem
- **skladovat lze vzorky max. 48 hodin v lednici** a chlazené odeslat do laboratoře popř. **lze vzorky ušních štěpů zamrazit**

Komerční odběrové soupravy na ušní štěpy

Speciální ušní známky, kde při upevnění známky kleštěmi, dojde zároveň k odběru miniaturního kožního štěpu (2-3 mm) do plastové zkumavky.

- původně vyvinuto pro kontrolu paternity a genotypizaci kvůli scrapie
- dostupné jak s ušní známkou, či jen zkumavka s identifikačním kódem
- nevhodné na směsování vzorků (určeno spíše pro ELISA Ag jednotlivě) – používáno u telat v národních ozdravovacích programech (Švýcarsko, Německo)



Mléko

K vyšetření **bazénového vzorku mléka** je nutný odběr **minimálně 0,5 l mléka**. Vzorek mléka lze odebrat do čisté PET láhve, nebo zájemcům poskytujeme sterilní NTS lahve.

Důležitá je zde **správná evidence zvířat**, která se podílí na daném nádoji bazénu. Metoda PCR je sice vysoce citlivá, ale v zájmu zachování sensitivity je námi doporučovaný **limit do 200 zvířat na 1 bazén**. Bazénové vzorky jsou reprezentativní jen pro ta zvířata, která se podílejí na nádoji do daného bazénu. V případě pozitivního průkazu viru BVD v bazénovém vzorku mléka je nutné odebrat krve všech krav, které se podílely na daném nádoji (bazénu) a vyšetřit je dále testem na průkaz viru a dohledat tak PI zvířata.

Tkáně, sekční materiál, kadáver

Zásadní je odběr sekčního materiálu z, pokud možno, **čerstvého kadáveru**. Postmortální změny mohou ovlivnit výsledek laboratorní diagnostiky.

Možno odebrat:

- **celý kadáver** – pro patologicko-anatomické vyšetření a další vyšetření (PCR, virologické, bakteriologické aj.)
- **část orgánů** – plíce, slezina, střevo apod.

Důležité je nechat sekční materiál vychladnout (nebalit teplé), jinak dochází k znehodnocení materiálu vlivem rychle probíhajících autolytických procesů. Řádně zabalený sekční materiál tak, aby nedošlo k úniku tekutin ze vzorku, tzn. trojitý obal = nepropustný obal např. igelit, savý materiál, nepropustný obal igelit. Dodržet **chladicí řetězec (2-8°C)** a doručit do laboratoře nejlépe do 24 hodin po odběru. Pokud nemohu vzorky sekčního materiálu doručit do laboratoře do 48 hod. pak je vhodné vzorky **zamrazit** (zejména pro PCR vyšetření).

Trus

Různé odběrové materiály – nádoby:

- trusovky – kelímek + víčko
- plastové nádoby s lopatičkami – různí dodavatelé (humánní medicína)
- sáčky (igelit/mikroten)
- „zip lock“ sáčky s uzavíratelnou lištou
- plastové zkumavky

Vždy zajistit před vytečením obsahu! Ideálně použít dvojitý / trojitý obal. Doporučujeme rychlý transport vzorků do laboratoře, pokud možno ihned po odběru – nejlépe **do 24 hodin** při chladničkové teplotě **2 – 8°C, popř. lze vzorky zamrazit**.

E. Vakcinace

Jako preventivní opatření pro zvýšení úrovně biosecurity u chovů s vysokým rizikem reinfekce je vhodné provádět **vakcinaci jalovic a krav po odstranění PI zvířat a to za účelem snížení rizika transplacentárního přenosu viru (fetální protekce) u březích krav**. K tomuto účelu musí být použity vakcíny k tomuto účelu určené a registrované pro použití v ČR. Způsob aplikace a vakcinační schéma se řídí dle návodu výrobce.

BVD vakcíny

Na trhu je nabídka několika BVD vakcín mezi kterými jsou rozdíly z hlediska složení a možného využití. (viz. tabulka níže – na základě SPC údajů ze dne 13. 5. 2014 – zdroj www.uskvbl.cz).

Vakcíny obsahující virus BVD dostupné v ČR	druh vakcíny	BVD složka vakcíny	použití v průběhu březosti a laktace/ kontraindikace	Virus / kmen	Deklarovaná fetální protektivita*
Bovilis BVD	monovalentní	inaktivovaná	ANO	cytopatogenní C-86	ANO
Mucosiffa	monovalentní	živá	vakcinace během prvních 6 měsíců březosti	C24V	NE
Rispoval TM 3	polyvalentní	inaktivovaná	nepoužívat v průběhu březosti a laktace	cytopatický 5960, necytopatický 6309	NE
BioBos Respi 4	polyvalentní	inaktivovaná	lze použít během březosti	BIO-25	NE
Hiprabovis Balance	polyvalentní	inaktivovaná	ANO	NADL	NE

* registrováno k ochraně plodů proti transplacentární infekci virem bovinní virové diarrhey (BVDV)

Z hlediska biosecurity a ochrany chovu před zavlečením BVD je nejvýznamnější vlastností BVD vakcín tzv. **fetoprotektivita** – tj. schopnost zabránit intrauterinní infekci a tak znemožnit rození nových PI zvířat. Na základě tohoto kritéria lze v současnosti rozdělit vakcíny na českém trhu na:

A) Fetoprotektivní vakcíny

B) Vakcíny k aktivní imunizaci skotu - ostatní vakcíny s BVD složkou (mono / polyvalentní).

Vakcíny skupiny B neposkytují potřebnou ochranu plodu a slouží pouze k aktivní imunizaci skotu, umožňují ve větší míře narození nových vironosičů (PI) a tak může stále docházet k cirkulaci BVD v chovu. Vakcíny B tudíž nejsou zcela vhodné pro použití při ozdravování či jako prevence šíření BVD ve stádě, kdy hlavním účelem využití takové vakcíny je pouze snížení klinických dopadů infekce BVD jako např. imunosuprese, respirační infekce, reprodukčních problémů apod. nikoliv však ochrana plodu před vznikem perzistentní infekce.

V neposlední řadě je důležité zmínit podstatný rozdíl ve využití živých a inaktivovaných vakcín včetně možností použití a kontraindikací v průběhu březosti a laktace.

Fetoprotektivita

Vakcíny, které poskytují ochranu plodu před intrauterinní infekcí, musí projít ověřováním fetoprotektivity čelenžním testem a schvalovacím procesem. Následně získávají statut fetoprotektivní (dle směrnice European Pharmacopoeia).

F. Kalkulace nákladů na ozdravení chovu

Referenční laboratoř pro BVD/MD na SVÚ Jihlava nabízí předběžné kalkulace nákladů na ozdravení chovu. Je vytvořen **ekonomický model s kalkulací nákladů na diagnostická vyšetření** během celého průběhu ozdravování. Navrhovaná kalkulace je provedena se simulací výskytu cca 1% PI zvířat v chovu. Podíl PI zvířat v BVD infikovaném stádě bývá většinou v rozmezí 0,3 - 2%. Odhadované náklady jsou uváděny s určitým rozpětím, neboť finální cenu za ozdravení chovu ovlivní skutečný počet detekovaných PI zvířat. Kalkulaci nákladů (viz vzor níže) obdrží zájemce včetně průvodního dopisu s **interpretací kalkulace a s doporučeným průběhem ozdravování daného chovu.**

Příklad kalkulace nákladů na ozdravení chovu:

G. Alternativní postupy identifikace PI zvířat a ozdravování chovů od BVD

➤ „ADMINISTRATIVNÍ OZDRAVOVÁNÍ“ od BVD:

Postup: založen na principu – „*tele virologicky negativní = matka není PI*“. Testují se tedy jen nově narozená telata a každým zkontrolovaným negativním teletem se administrativně označí jako BVD negativní i jeho matka. Pokud je tele detekováno jak PI tak je povinné zkontrolovat i jeho matku, která může (ale nemusí) být také BVD PI.

Tento systém je závislý na **přesné administrativě** vedené v chovu a na **správné identifikaci matky pozitivního telete**. Při špatné identifikaci matky PI telete může nastat komplikace, např. pokud při současném porodu několika telat v chovu během jedné noci dojde k nesprávnému administrativnímu přiřazení matek, může být pak při následném ozdravování kontrolována nesprávná matka. PI matka tak může omylem zůstat v chovu a ozdravovací program se pak může o další 1 rok prodloužit. SVÚ Jihlava nabízí řešení takového problému nejasné identifikace matky v podobě ověření původu telete (maternita), resp. porovnání genetického profilu potomka (telete) a rodiče (matky). K „administrativnímu ozdravování“ se přistupuje zejména s vidinou levnějšího ozdravení chovu. Je pravdou, že není třeba testovat celé základní stádo, ale pouze matky pozitivních telat, ovšem samotný proces testování rozených telat **musí probíhat déle (3 roky)** než u klasického rychlého způsobu ozdravení (1 rok). Navíc, v tomto případě neuskutečněná kontrola základního stáda, nebývá finančně nejnákladnější krok a to z důvodu menšího procenta PI zvířat mezi staršími kusy. **Oba způsoby ozdravení jsou tedy přibližně stejně nákladné.** Výhodou administrativního ozdravování zůstává, že je **suma za ozdravení chovu rozprostřena na delší periodu cca 3 let**. Je důležité rovněž brát v potaz, že v zahraničí (Irsko, Skotsko apod.) je „administrativní ozdravování“ aplikováno na celou populaci skotu v dané zemi v podobě povinného národního ozdravování od BVD. Vzhledem k tomu, že tak v těchto zemích dochází k povinnému testování všech narozených telat ve všech hospodářstvích, zásadně se snižuje možnost reinfekce chovů nově nakoupenými BVD pozitivními zvířaty. Součástí takových povinných národních ozdravovacích programů je rovněž zákaz obchodu s PI zvířaty, zákaz obchodu ozdravených chovů s neozdravenými a jiná pravidla, která vedou daný stát k brzkému ozdravení od BVD.

NRL pro BVD doporučuje výhodnou kombinaci klasického způsobu ozdravování a administrativního způsobu ozdravování.

Doporučujeme nejprve odebrat a vyšetřit telata a mladý skot (0-25 měsíců). Snadno tak dohledáme PI matky a jejich další PI potomky a ihned je vyloučíme z chovu. Až následně se vyšetřuje zbytek základního stáda (starší zvířata). **Tento postup vede k úspoře nákladů.**

Popř. doporučujeme před započítím „administrativního ozdravování“ otestovat na přítomnost viru alespoň populaci telat a mladého skotu (jalovice) do 14-15 měsíců tzn. před zařazením do reprodukce. Dojde tak ke kontrole nejrizikovější skupiny zvířat s největším procentem PI zvířat a výrazně se tak sníží celková doba ozdravení chovu i náklady na OP.

➤ **vyhledání BVD PI zvířat s využitím bazénového vzorku mléka (BVM):**

Postup: jsou testovány bazénové vzorky mléka z nádoje od laktujících krav a zároveň krve všech suchostojných krav základního stáda a jalovic testem PCR na přítomnost viru BVD – bazénové vzorky mléka (do 200 ks v bazénu) a směsné vzorky séra (do 50 ks ve vzorku). V případě průkazu viru BVD v bazénovém vzorku mléka je nutné odebrat krev všech krav, které se podílely na daném nádoji – bazénu a vyšetřit je dále testem na průkaz viru a dohledat tak PI zvířata. Pro úspěšnou identifikaci je třeba zajistit **dokonalou evidenci krav obsažených v nádoji jednotlivých bazénových vzorků a evidenci krav, které se na nádoji nemohly z různých důvodů podílet (suchostojné, s mastitidami, apod.).**

Tímto postupem je možno dosáhnout stejného výsledku jako při testování vzorků krve, ale za snížení nákladů na základní testaci a to o cca 1600 – 4800 Kč v závislosti na velikosti chovu. Míra úspory je též závislá na počtu virologicky negativních/pozitivních bazénových vzorků mléka. V extrémním případě (všechny bazény jsou pozitivní na přítomnost viru BVD) se může testace bazénových vzorků naopak prodražit.

➤ **vyhledání BVD PI zvířat sérologickým vyšetřením a následným virologickým vyšetřením sérologicky negativních zvířat:**

Postup: vyšetří se krevní séra všech zvířat od věku šesti měsíců po porodu ELISA testem na přítomnost protilátek proti viru BVD. Následně se vyšetří na přítomnost viru ELISA Ag testem jen zvířata s negativními výsledky předchozího sérologického vyšetření.

Při tomto postupu je třeba vzít v úvahu **možnosti opomenutí PI zvířat při základní identifikaci**. Tento postup vychází ze starší hypotézy, že PI zvíře je vždy sérologicky negativní. Podle současných poznatků mohou PI zvířata imunitně reagovat tvorbou protilátek na antigenní podnět jiným kmenem viru BVD a mohou tak při této metodice zůstat ve skupině sérologicky pozitivních dále netestovaných zvířat. Navíc v tomto modelu multiplikujeme diagnostickou chybu dvouúrovňovým testováním na rozdíl od jednostupňového přímého průkazu viru. Nutno též poznamenat, že tento alternativní postup nelze využít v chovech, kde probíhá vakcinace BVD.

Vzhledem k tomu, že je **tato metodika vyhledávání PI zvířat nespolehlivá a může zde snadno dojít k „úniku“ PI zvířete, referenční laboratoř pro BVD tento postup neprovádí a ani ho nedoporučuje**. Tuto metodiku jako rizikovou popisuje také OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (2008). V národních programech na ozdravení od BVD, které v posledním desetiletí probíhali nebo ještě probíhají v Evropě (Německo, Švýcarsko, Rakousko, Irsko, Skotsko, Belgie), není tato zastaralá metoda využívána a vyhledávání PI zvířat jde moderní cestou přímého průkazu viru metodou PCR nebo ELISA Ag.

H. Literatura

- Bachofen, C., et al. 2008. Co-existence of genetically and antigenically diverse bovine viral diarrhoea viruses in an endemic situation. *Vet. Microbiol.* 131, 93–102.
- Bauermann, F.V., et al., 2013. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. *J Vet Diagn Invest.* 25(1):6-15.
- Bolin, S.R., 1988. Viral and viral protein specificity of antibodies induced in cows persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus after vaccination with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 49:1040–104.
- Corbett, E.M., et al., 2011. Use of sentinel serology in a Bovine viral diarrhoea virus eradication program. *J Vet Diagn Invest.* 23(3):511-5.
- Council Directive 88/407/EHS. Směrnice rady 88/407/EHS o veterinárních požadavcích na obchod se spermatem skotu uvnitř Společenství a na jeho dovoz.
- Decaro, N., et al., 2011. Atypical Pestivirus and Severe Respiratory Disease in Calves, Europe Em. *Inf. Diseases* 17, No. 8.:1549-1552.
- EU Thematic network on control of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) BVDV Control QLRT – 2001-01573. Position paper.
- Hansen, T.R., et al., 2010. Maternal and fetal response to fetal persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Am J Reprod Immunol.* 2010. 64(4):295-306.
- Houe, H., 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVD) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89-107.
- Houe, H., Lindberg, A., Moennig, V., 2006. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18:427–436.
- Larson, R.L., et al. 2004. Bovine Viral Diarrhoea (BVD): Review for Beef Cattle Veterinarians. *Bov. Pract.* 38:93-102.
- Laureyns, J., et al. 2010. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: Reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. *The Veterinary Journal* 184, 21–26.
- Lindberg, A. 2002. Epidemiology and Eradication of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infections. *Doctoral thesis.*
- James, A., Kennedy, J.A., et al. 2006. Reverse transcription-polymerase chain reaction on pooled samples to detect bovine viral diarrhoea virus by using fresh ear-notch-sample supernatants. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18:89–93.
- Lindberg, A. 2003. Bovine viral diarrhoea virus infections and its control – A review. *Veterinary Quarterly* 25 (1): 1-16.
- Lindberg, A., et al. 2006. The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 25 (3), 961-979.
- OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (2008).
- Presi, P., et al. 2010. BVD eradication in Switzerland - A new approach. *Vet. Microbiol.* 142, 137–142.
- Robesova, B., Kovarcik, K., Vilcek, S. Genotyping of bovine viral diarrhoea isolates from the Czech Republic. *Vet Med.* 2009;54:393–398.
- Rossmann, W., et al. 2005. Control of BVDV-infection on common grassland – The key for successful

BVDV-eradication in Lower Austria. *Prev. Vet. Med.* 72, 133–137.

Rossmannith, W., et al. 2010. Voluntary and compulsory eradication of bovine viral diarrhoea virus in Lower Austria. *Vet. Microbiol.* 142, 143–149.

Van Campen, H. 2010.: Epidemiology and control of BVD in the U.S. *Vet. Microbiol.* 142 94–98.

- <http://www.bvdv-control.org/>
- <http://www.bvd-info.ch/veterinarians/>
- <http://www.animalhealthireland.ie/page.php?id=16>
- <http://www.nationalmilklaboratories.co.uk/images/pdf/bvd-eradication-for-vets---booklet.pdf>

Legislativní a administrativní informace – viz **Council Directive 88/407/EHS**.

Směrnice rady 88/407/EHS o veterinárních požadavcích na obchod se spermatem skotu uvnitř Společenství a na jeho dovoz.

STÁTNÍ VETERINÁRNÍ ÚSTAV JIHLAVA
Rantířovská 93
586 05 Jihlava
Česká republika

Tel.: +420 567 143 111
Fax: +420 567 310 592
E-mail: info@svujihlava.cz
Dat. schránka: wwkdthw
Web: www.svujihlava.cz



PRACOVIŠTĚ ČESKÉ BUDĚJOVICE
Dolní 2
370 04 České Budějovice
Česká republika

Tel.: +420 387 001 570
Fax: +420 387 319 040
E-mail: bruzkova@svu-cb.cz
Web: www.svu-cb.cz