

SLUTTRAPPORT «REINENS IMMUNRESPONS MOT HUDBREMS»

Til:

Landbruksdirektoratet

Reindriftens utviklingsfond

postmottak@landbruksdirektoratet.no

Innholdsfortegnelse

1. Prosjektdetaljer	2
1.1. Deltagere.....	2
1.2. Nøkkeldatoer.....	2
2. Utført arbeid og resultater	2
2.1. Dyreforsøk.....	2
2.2. Isolering og stimulering av perifere mononukleære celler.....	3
2.3. Celleproliferasjon	3
2.3.1. Metode.....	3
2.3.2. Resultater	3
2.4. Cytokiner	5
2.4.1. Metode.....	5
2.4.2. Resultater	5
2.5. Antistoffer	5
2.5.1. Metode.....	5
2.5.2. Resultater.....	5
3. Problemstilling	8
4. Sammendrag av prosjektets målsetting	8
5. Resultater sammenholdt med prosjektets resultatmål.....	9
6. Forslag til hvordan oppnådde resultater kan komme reindriften til nytte.	9
7. Konklusjon.....	10
8. Artikler under produksjon	10
9. Populærvitenskapelig sammendrag	10
10. Økonomisk sluttrapport og relevante kontaktpersoner.....	10
10.1. Kommentarer til økonomisk sluttrapport.....	11
10.2. Søknad om videreføring av gjenstående midler.....	11
11. Referanser	11

1. Prosjektdetaljer

Vi er svært takknemlige for tildelingen av Kr. 827 000 til prosjektet «Reinens immunrespons mot hudbrens» (RUF sak 38/2016. Prosjektnummer UiT – Norges Arktiske Universitet: A36362). Rapporten er skrevet med utgangspunkt i Handlingsplanen for Reindriften utviklingsfonds midler til FoU 2019.

1.1. Deltagere

Prosjektleder: Prof. Kjetil Åsbakk, UiT: Veiledning, kontakt med relevante aktører og administrasjon av prosjektet. Forsker: Dr. Ingebjørg H. Nymo DVM PhD, Veterinærinstituttet: Daglig drift av prosjektet, laboratoriearbeid og rapportering. Post Doc: Dr. Javier Sanchez Romano DVM PhD, UiT: Prøvetaking. Avdelingsingeniør Hans Lian, forskningstekniker Renate Thorvaldsen og forsøksmekniker Hans Arne Solvang, UiT: Stell og koordinering av forsøksdyr. Avdelingsingeniører Eva M. Breines og Ellinor Hareide, UiT: Laboratoriearbeid.

1.2. Nøkkeldatoer

29.02.2016: Søknad innsendt
10.06.2016: Søknad innvilget
03.07.2017: Utsatt oppstart grunnet svangerskapspermisjon
09.05.2018: Oppstart dyreforsøk 1
15.12.2018: Avsluttet dyreforsøk 1
01.03.2018: Rapport om faglig og økonomisk status innsendt
24.06.2019: Utsatt sluttrapportering grunnet dyreforsøk innvilget
25.06.2019: Oppstart dyreforsøk 2
19.07.2019: Avsluttet dyreforsøk 2
01.09.2019: Sluttrapport innsendt

2. Utført arbeid og resultater

2.1. Dyreforsøk

I den originale søknaden planla vi prøvetaking av kalver fra en reinflokk, men dette skulle vise seg å bli praktisk vanskelig. I stedet ble prøvetakingen gjennomført ved UiTs dyreavdelingen da dette sikret jevnlig prøvetakinger av dyr som var vant til å håndteres og som befant seg nært laboratoriefasilitetene. Seks drektige simler allerede oppstallet ved dyreavdelingen ble rekruttert til forsøket etter jul 2018. Alle simlene kalvet i perioden 22.04.18 – 03.05.18. En simle døde under kalving grunnet dødt, infisert foster. Kalvene brukt i forsøket var 3 simler og 2 bukker. Kalvene ble tatt prøver av i perioden 24.06.18 – 11.02.19 (figur 1). Grunnet utfordringer med prøvetakingen i oppstarten av prosjektet ble ytterligere 4 simler rekruttert til forsøket etter jul 2019. Simlene kalvet i perioden 12.05.19. – 11.06.19. Kalvene brukt i forsøket var 2 bukker og 2 simler. Prøvetakinger ble gjennomført 25.06.19 og 09.07.19 (figur 1).



Figur 1. Prøvetaking av reinkalver født i 2018 og 2019 for prosjektet "Reinens immunrespons mot hudbrems".

Ved prøvetaking ble kalvene fanget på en mest mulig skånsom måte, ved å forsiktig drive simlene med sine kalver inn i et kve, hvor dyrene enkelt kunne tas fast manuelt. Personer som håndterte dem i det daglige fikserte kalvene manuelt å minimalisere stresspåvirkning av kalvene. Blodprøver ble tatt fra *Vena jugularis* (heparinrør). Området ble ikke barbert ved prøvetaking. Dyrene ble sluppet ut i gjerdet etter blodprøvetakingen og overvåket i 10 minutter for å sikre at de utøvde normal adferd (inkl. god kontakt med mor) og ikke blødde etter prøvetakingen. Ingen dyr viste symptomer på sykdom under forsøket. Dyrene fulgte de vanlige overvåkningsrutinene til dyreavdelingen under hele forsøksperioden. Forsøkene ble godkjent av Mattilsynet og hadde FOTS identitetsnummer 15579.

2.2. Isolering og stimulering av perifere mononukleære celler

Perifere mononukleære celler (PBMCer) ble isolert vha. Accuspin tuber (Sigma-Aldrich) og Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich). Vi fulgte protokollen til produsenten men adderte 5 % fetalt bovin serum (FBS) til alle reagenser for å unngå celleklumping og brukte Red Blood Cell Lysis Buffer (Merck) etter første sentrifugering. Cellene ble justert til 5×10^6 celler/ml for celleproliferasjonsassayet (96-brønners plate) og til 1×10^6 celler/ml for cytokinproduksjonsassayet (24-brønners plate) i Roswell Park Memorial Institute (RPMI) medium med Antibiotic-Antimycotic solution (100X) (Sigma-Aldrich). Hypodermin A (HyA), B (HyB) og C (HyC, vist å være immunologisk homolog med *H. tarandi*¹), samt grovt larveekstrakt (CLE) ble preparert fra *Hypoderma bovis* infiserte storfe. Concanalin A (ConA) ble kjøpt (Sigma-Aldrich). Cellene i 96-brønners brettet ble stimulert med enten 10 µg/ml ConA alene eller 10 µg/ml Con A og 10 µg/ml HyA, HyB, HyC eller CLE i 72 timer. Cellene i 24-brønners brettet ble stimulert etter samme mønster, men med konsentrasjonen var 15 µg/ml i 48 timer. Cellene ble visuelt kontrollert daglig. Teknikken er tidligere beskrevet².

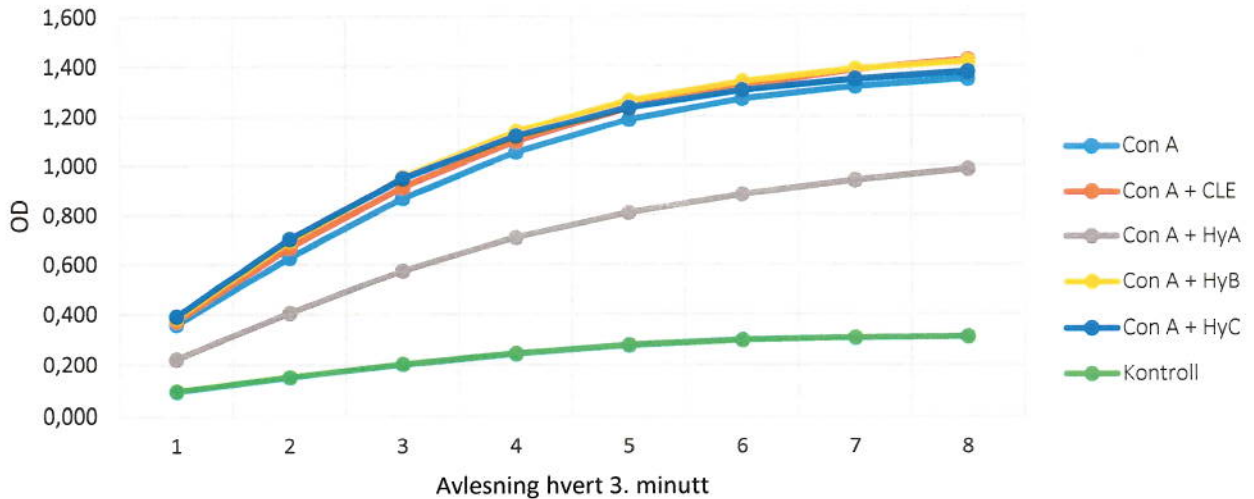
2.3. Celleproliferasjon

2.3.1. Metode

Celleproliferasjon ble målt vha. Cell Proliferation ELISA BrdU (colorimetric) (Roche) og Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek) 72 timer etter utsæd og stimulering. Samtlige avlesninger ble gjort langsgående ved 3 – 24 minutter, for å identifisere optimalt avlesningstidspunkt som definert av produsenten.

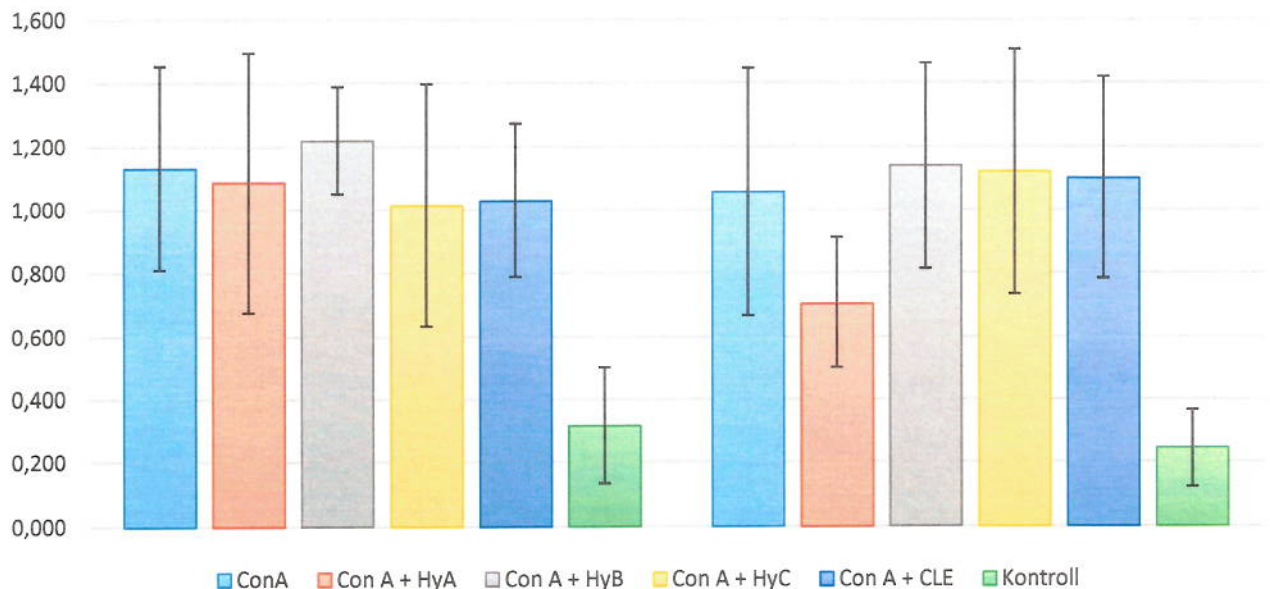
2.3.2. Resultater

Avlesning etter 12 minutter (punkt 4 på x-aksen på figur 3) ble identifisert som riktig avlesningstidspunkt da kurven etter dette begynner å flate ut samt at buffer kontrollen var under verdien oppgitt av produsenten.



Figur 3. Data fra 23.07.2018. Avlesning av OD₃₇₀₋₄₉₂ ble gjort langsgående hvert 3. minutt inntil 24 minutter for å identifisere optimalt avlesningstidspunkt. Avlesning etter 12 minutter (punkt 4) ble valgt, da kurven etter dette begynner å flate ut samt at buffer kontrollen var under cut-off verdien oppgitt av produsenten. Kurven er representativ for de resterende kurvene.

Hos storfe er det tidligere rapportert at HyA er det antigenet som i størst grad inhiberer den proliferative responsen³, tett etterfulgt av HyB, HyC og CLE². Vi fikk svært liknende resultater fra rein; HyA var det antigenet som i størst grad inhiberte proliferasjon av PBMCer. Inhiberingen startet i slutten av juli, før dette var det ingen effekt av antigenene, dette sannsynligvis grunnet manglende infeksjon (Figur 4). Nærmere analyse av dette materielt må til for å fastslå statistisk signifikans. Resultater for august - desember var liknende med resultatene presentert fra 23.07.2019 (figur 3 og 4).



Figur 4. Resultater av proliferasjonsassay i begynnelsen og slutten av juli. I begynnelsen av juli (til venstre i figuren) er det ingen forskjell mellom de ulike antigenene. I slutten av juli (til høyre i figuren) kan en se noe reduksjon i proliferasjon hos cellene som ble stimulert med HyA. Resultatene for de øvrige månedene etter juli var liknende som resultatene fra slutten av juli.

2.4. Cytokiner

2.4.1. Metode

Cellesupernatanten ble frosset ned (-80 °C) 48 timer etter utsæd og stimulering. Mengden Interleukin 4 (IL-4) ble forsøkt målt i celsesupernatant med IL-4 Bovine Uncoated ELISA Kit. Mengden interferon-gamma (IFN- γ) ble målt med IFN gamma Bovine Uncoated ELISA Kit. Mengden tumor-nekrosefaktor-alfa (TNF- α) ble målt med TNF alpha Bovine ELISA Kit. Alle fra ThermoFisher.

2.4.2. Resultater

De bovine kittene beskrevet under 2.4.1. fungerte ikke på våre prøver fra rein (de bovine kontrollene var uten anmerkninger, men det var ingen utslag på celsesupernatant fra rein). Se ytterligere diskusjon omkring dette under punkt 5.

2.5. Antistoffer

2.5.1. Metode

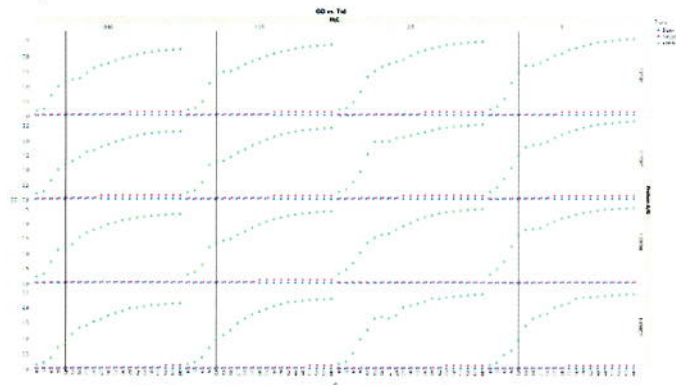
Tidligere studier av antistoffer mot hudbrems hos rein har basert seg på kanin-anti-rein antistoffer produsert i forsøksdyr ^{4,5}. Stortinget ga i mai 2015 samtykke til at EU-direktiv 2010/63/EU om bruk av forsøksdyr kan innlemmes i EØS-avtalen med hovedformål å fremme prinsippet om 3R: Erstatning (Replacement), Reduksjon (Reduction), Forbedring (Refinement) ⁶, og dermed måtte metoden endres til å ikke inkludere reagenser produsert i forsøksdyr.

Kanin-anti-rein antistoffene tidligere brukt ^{4,5}, ble erstattet med Protein A/G (ThermoFisher; fortynning 1:5000 – 1:40000 utprøvd). I tillegg ble ulike konsentrasjoner av HyC (0,16 – 5,0 $\mu\text{g/ml}$) og inkuberingslengder (3 – 60 minutter) utprøvd. Serum fra rein med hudbremslarver under huden ble brukt som positiv kontroll (fra RUF-prosjektet «Kartlegging av helse og sykdom hos rein ved økt samling og fôring» ledet av Torill Mørk) og serum fra islandsk rein (fra Morten Tryland, UiT) ble brukt som negativ kontroll (det finnes ikke hudbrems på Island). En buffer kontroll ble inkludert på alle plater. Metoden ble deretter ytterligere verifisert ved å analysere 16 islandske rein, 16 positive rein med hudbrems under huden og 16 blanke prøver. Etter etablering av ny metode ble serumprøver fra reinkalvene i forsøket undersøkt for antistoffer mot HyA, HyB og HyC.

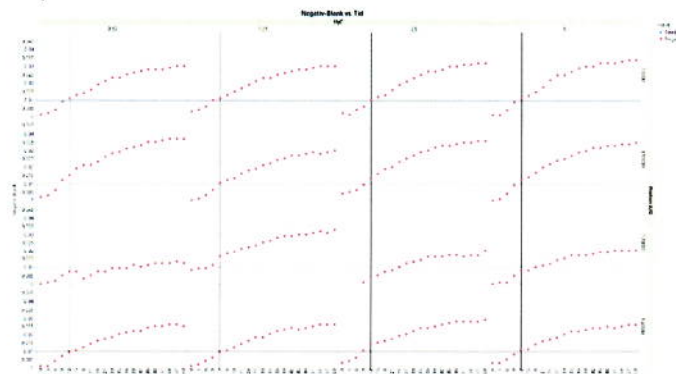
2.5.2. Resultater

Fasen med raskest økende emittering av lys var inntil 12 minutter for nesten samtlige kondisjoner og dette minutter ble derfor identifisert som korrekt inkubasjonslengde (figur 5a). Vi ville i tillegg at forskjellen mellom buffer kontroll (blank) og negativ serumkontroll skulle være $<0,01$, da økte forskjeller mellom disse to kontrollene tyder på uspesifikke bindinger (figur 5b), samtidig som vi ønsket høyest mulig OD₄₅₀-verdier for positive prøver (figur 6).

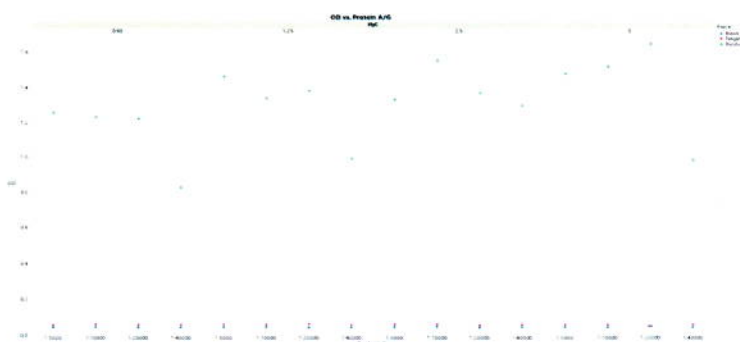
5a)



5b)



Figur 5. For etablering ELISA ble ulike inkuberingslengder (3 – 60 minutter, x-aksen nede) og fortynninger av HyC (0,16 – 5,0 µg/ml, x-aksen oppe) og Protein A/G (1:5000 – 1:40000, y-aksen til høyre) utprøvd med positivt og negativt serum og buffer kontroll for å evaluere hvilke kondisjoner som var optimale. På y-aksen til venstre er OD₄₅₀-verdier. På figur 5a sees positive prøver i grønt. Negative og blank er vanskelige å tolke på denne figuren grunnet stor differanse mellom positive prøver og negative/buffer kontroll. Derfor er OD₄₅₀-verdier for negative prøver subtrahert fra OD₄₅₀-verdier for buffer kontroll presentert i figur 5b. Resultatene for fortynningene 0,16 og 0,31 av HyC er ikke presentert da disse fortynningene ga svært lave OD₄₅₀-verdier for positive prøver. Vertikal linje er satt ved 12 minutter og horisontal linje ved OD₄₅₀ 0,01.



Figur 6. Inkludert i figuren er OD₄₅₀-verdier for positivt serum (grønn), negativt serum (rød) og buffer kontroll (blå) ved 12 minutter. På y-aksen er OD₄₅₀-verdier, på x-aksen nede er Protein A/G konsentrasjoner (1:5000 – 1:40000) og på y-aksen oppe er HyC konsentrasjoner (0,63 – 5,0 µg/ml).

Med dette som kriterier ble følgende parametere valgt; 2,5 µg/ml HyC, Protein A/G fortyning 1:20000 og 12 minutter inkubering med substrat. Metodebeskrivelsen for videre arbeid ble dermed som beskrevet her. Buffere, plater og metode for coating og blokkering av plater var som tidligere beskrevet ⁷, men konsentrasjonen av HyC var 2,5 µg/ml og vi tilsatte 300 µl blokkingsbuffer til hver brønn, etter anbefaling fra Thermo Scientific ⁸. Platene ble vasket x4 etter alle steg. Serumprøver ble fortynt 1:50 i vaskebuffer og tilsatt i duplikater (100 µl, 1 t, 37 °C). Protein A/G 1:20000 ble brukt i stedet for kanin-anti-rein antistoffer (100 µl, 1 t, RT °C). O-phenylenediamine 10 mg (OPD, Merck) ble brukt som substrat. Platen ble inkubert i 12 minutter og avlest (OD₄₅₀, Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek).

Metoden ble deretter ytterligere verifisert ved å analysere 16 islandske negative rein, 16 positive rein med hudbrems under huden og 16 blanke prøver. Gjennomsnittlig OD₄₅₀ for de positive prøvene var 0,934 med et standardavvik på 0,391. Gjennomsnittlig OD₄₅₀ for de negative prøvene var 0,060 med et standardavvik på 0,014. Gjennomsnittlig OD₄₅₀ for de blanke prøvene var 0,046 med et standardavvik på 0,002. Ved en tradisjonell utregning av cut-off ville denne blitt: (gjennomsnittlig OD₄₅₀ negative prøver) + (3 * standardavvik for gjennomsnittlig OD₄₅₀ negative prøver) = 0,060 + (0,014 * 3) = 0,105. Samtlige negative prøver er under 0,105 og samtlige positive prøver er langt over 0,105 (figur 7).

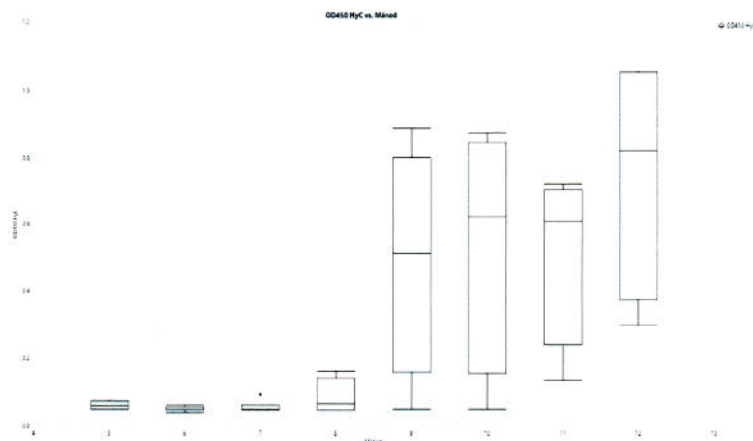


Figur 7. OD₄₅₀ resultater for 16 Hypoderma-negative rein, 16 Hypoderma-positive rein og 16 blanke prøver. På y-aksen er OD₄₅₀-verdier, på x-aksen er de tre inkluderte kategoriene. Tentativ cut-off ved OD₄₅₀ 0,105 er avmerket med en vertikal linje.

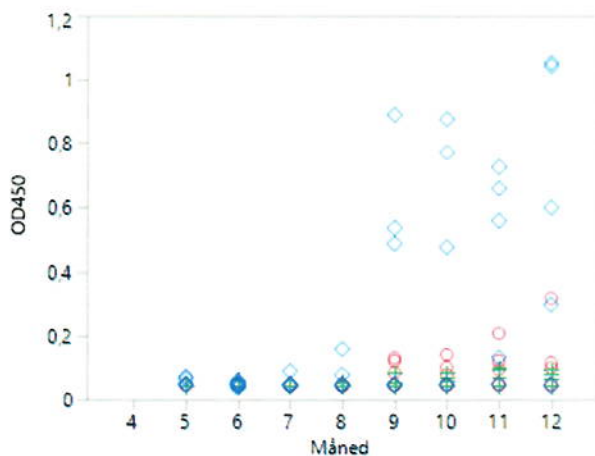
Serumprøver fra reinkalvene i forsøket ble undersøkt for antistoffer mot HyA, HyB og HyC med den beskrevne metoden. Kalvene utviklet kraftigst anti-HyC-antistoffrespons og denne begynte i august (figur 8), som tidligere beskrevet hos rein ⁴ og storfe ⁹. Kalvene utviklet en betydelig svakere anti-HyA-antistoffrespons og denne startet ikke før i november. Mengden anti-HyB-antistoffer var lavest og denne startet i oktober (tabell 1, figur 9).

Måned	OD ₄₅₀ HyA	OD ₄₅₀ HyB	OD ₄₅₀ HyC
5	0,045 (0,001)	0,045 (0,001)	0,059 (0,012)
6	0,045 (0,001)	0,047 (0,006)	0,050 (0,007)
7	0,044 (0,001)	0,043 (0,000)	0,055 (0,017)
8	0,046 (0,001)	0,044 (0,001)	0,083 (0,053)
9	0,094 (0,038)	0,059 (0,017)	0,490 (0,345)
10	0,091 (0,040)	0,064 (0,017)	0,542 (0,370)
11	0,117 (0,068)	0,076 (0,025)	0,518 (0,266)
12	0,145 (0,119)	0,072 (0,021)	0,749 (0,376)

Tabell 1. Anti-HyA/HyB/HyC-antistoffrespons hos reinkalver i perioden mai – desember. Resultatene er oppgitt som gjennomsnittlig OD₄₅₀ (standardavvik).



Figur 8. Anti-HyC-antistoffrespons hos reinkalver i perioden mai – desember. På x-aksen er månedene mai – desember oppgitt som tall. På y-aksen er OD₄₅₀-verdier for anti-HyC-antistoffer.



Figur 9. Anti-HyA (rødt), HyB (grønt) og HyC (blått)-antistoffrespons hos reinkalver i perioden mai – desember. Resultatene er oppgitt som gjennomsnittlig OD₄₅₀.

3. Problemstilling

Det finnes en rekke artikler som beskriver den basale immunologiske responsen til storfe mot hudbrems, se f. eks. ^{2,10,11-13}, og disse studiene har dannet grunnlag for utprøving av ulike vaksinestrategier ¹⁴, hvorav enkelte studier har vist lovende resultater med økt larvemortalitet *in vivo* ^{12,15-18}. Det finnes kun to artikler som beskriver anti-*Hypoderma* antistoff reaksjonen hos rein ^{4,5}, mens det er et totalt fravær av beskrivelser av den basale immunresponsen. Uten denne kunnskapen er det krevende å vurdere utvikling av vaksinasjonsstrategier og alternative bærekraftige behandlingsmetoder for reinens hudbrems.

4. Sammendrag av prosjektets målsetting

Prosjektets hovedmål var å karakterisere reinens naturlige immunreaksjon mot hudbrems gjennom å beskrive (I) antistoff responser, (II) cytokinproduksjon, (III) proliferasjon av perifere PBMCer i respons til stimulering med mitogen og relevant antigen, samt (IV) beskrive lymfocyttopulasjoner tilstede i blodet.

5. Resultater sammenholdt med prosjektets resultatmål

Vedr. hovedmål: Prosjektet har lyktes med å påbegynne arbeidet med å karakterisere reinens naturlige immunreaksjon mot hudbrems. Prosjektet har økt vår grunnleggende kunnskap om reinens immunrespons mot hudbrems, ført til utvikling av nye metoder, understreket manglende metoder, etablert kontakt med sentrale internasjonale forskningsgrupper innenfor fagfeltet, samt muliggjort videre utvikling av ideer og søknader innen fagfeltet.

Vedr. resultatmål I: Vi etablerte en ny ELISA som ikke er basert på kanin-anti-rein antistoffer^{4,5}, men på det artsuspesifikke Protein A/G. Dette for å oppfylle kravet i EU-direktiv 2010/63/EU om bruk av forsøksdyr⁶. Den nyetablerte metoden med Protein A/G er forventet å fungere også på andre arter, som tidligere vist i ELISA-teknikker med Protein A/G¹⁹. Denne metodeetableringen vil bli publisert i en separat artikkel og brukt i videre arbeid. Vi brukte deretter den nyetablerte ELISA-metoden til å analysere serumprøver fra dyreforsøket for antistoffer mot HyA, HyB og HyC. Kalvene utviklet kraftigst anti-HyC-antistoffrespons og denne begynte i august. Kalvene utviklet en betydelig svakere anti-HyA og HyB-antistoffrespons. Antistoffresponsen mot HyC er som tidligere beskrevet hos rein⁴ og storfe⁹, mens utviklingen av antistoffer mot HyA og HyB er ikke tidligere beskrevet.

Vedr. resultatmål II: De bovine kittene fungerte ikke på prøver fra rein. Tidligere undersøkelser for cytokiner hos andre hjortearter har vært suksessfulle ved å bruke bovine antistoffer mot cytokiner^{20,21} da det er stor grad av homologi mellom bovine og cervide antistoffer. Det var derfor svært uheldig og overraskende at de bovine kittene ikke fungerte som forventet. Dette er en av de utfordrende konsekvensene av å jobbe med en art hvor det forekommer begrenset med forskning og hvor kommersielle produkter ikke er umiddelbart tilgjengelige. Vi har fortsatt celledsupernatant fra dette forsøket på -80 °C og planlegger å teste ut metoden beskrevet av Rialde *et al.* for deteksjon av IFN-gamma hos hjort²⁰.

Vedr. resultatmål III: Undersøkelser av celleproliferasjon etter stimulering med ulike antigener viste at det var HyA som i størst grad inhiberte proliferasjon av PBMCer fra rein. Dette er avgjørende kunnskap for å kunne vurdere en eventuell videre utvikling av vaksiner. Inhiberingen startet i slutten av juli, før dette var det ingen effekt av antigenene, dette sannsynligvis grunnet manglende infeksjon. Dette er i stor grad sammenliknbart med tidligere resultater fra storfe³.

Vedr. resultatmål IV: Vi har ikke har lyktes med å evaluere tilstedeværelsen av lymfocyttopulasjoner i blodet, da de skulle vise seg å være vanskeligere enn antatt å få tilgang til nødvendig utstyr. Dette arbeidet var ikke spesielt tidkrevende, men økonomisk krevende, noe som gjenspeiles av at det gjenstår Kr. 41 659 i driftsmidler på prosjektet. De øvrige resultatene er ikke avhengig av denne komponenten.

6. Forslag til hvordan oppnådde resultater kan komme reindrifta til nytte.

Hudbremsen er et betydelig problem både for dyrevelferden og produktiviteten i den norske reindriftsnæringa. Fremtidige utfordringer med ivermektinresistens og endret interaksjon mellom parasitt og vert grunnet klimaendringer kan potensielt gjøre dette til et enda større problem. En basal kunnskap om reinens immunrespons mot hudbremsen, som produsert i prosjektet «Reinens immunrespons mot hudbrems» kan i fremtiden tillate utvikling av vaksinasjonsstrategier og alternative bærekraftige behandlingsmetoder. Dette kan gjøre oss bedre rustet til å håndtere et problem som er kommet for å bli og som i fremtiden potensielt kan øke i omfang

7. Konklusjon

Reinens basale immunrespons mot hudbrems virker i stor grad å være sammenliknbar med den vi finner hos storfe både når det gjelder antistoffrespons *in vivo* og immunmodulerende effekt av parasittære antigener *in vitro*.

8. Artikler under produksjon

A protein A/G indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of anti-*Hypoderma* antibodies in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*).

Immunomodulatory effect of *Hypoderma* antigens: *in vitro* effect on rangifer lymphocyte proliferation and cytokine production.

9. Populærvitenskapelig sammendrag

Reinens hudbremsflue er et stort problem i særlig Finnmark hvor nesten alle reinene har larver under huden og antistoffer mot parasitten. Antall reinbrems per rein og antall infiserte rein er tidligere vist å være økende med økt breddegrad nordover, sannsynligvis fordi flua er tilpasset dette klimaet. Reinen er vist å ha vondt i områdene med larver, særlig om våren når larvene er store. Videre har rein med mer hudbrems mindre kroppsfett og lavere sannsynlighet for å være drektige. Hudbrems har også en negativ effekt på vekt og behandling av mordyr mot hudbrems har en positiv effekt på kalvevekt. Årsakene til den lavere kroppsmassen hos rein med mye hudbrems er den direkte effekten av hudbremsene på dyret og at reinen bruker energi og tid på å løpe unna fluene. Larvene etterlater seg også hull i skinnen og kan dermed kan gjøre hudene mindre egnet for garving.

Hudbrems er dermed en betydelig dyrevelferdsutfordring og problemet anses som svært viktig av Landbruks- og matdepartementet. Rådet for dyreetikk, et uavhengig organ oppnevnt av Landbruks- og matdepartementet som skal vurdere prinsipielle etiske forhold rundt dyrehold, bruk av dyr og menneskers forhold til viltlevende dyr, har klassifisert problemet som et av problemene som har "...størst betydning for dyrevelferden og bør derfor tas opp med sikte på å finne løsninger".

En basal kunnskap om reinens immunrespons mot hudbremsen, er produsert i prosjektet «Reinens immunrespons mot hudbrems». Resultater fra prosjektet viser at reinens basale immunrespons mot hudbrems virker i stor grad å være sammenliknbar med den vi finner hos storfe, noe som er gunstig mht. videre håndtering av problemet hos rein. Videre arbeid med problemstillingen, i samarbeid med forskningsmiljøer som jobber med hudbrems hos storfe, vil forhåpentligvis i fremtiden tillate utvikling av vaksinasjonsstrategier og alternative bærekraftige behandlingsmetoder. Dette kan gjøre oss bedre rustet til å håndtere et problem som er kommet for å bli og som i fremtiden potensielt kan øke i omfang grunnet f.eks. resistensutvikling eller endret balanse mellom vert og parasitt grunnet klimaendringer.

10. Økonomisk sluttrapport og relevante kontaktpersoner

Økonomisk sluttrapport fra UiT er lagt ved som vedlegg 1. Kontaktpersoner ved UiT, Seksjon for organisasjon og økonomi i fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi er økonomikonsulent Gerd-Anne Haugan (gerd.anne.haugan@uit.no) og leder Christian Hansen (christian.hansen@uit.no).

10.1. Kommentarer til økonomisk sluttrapport

Det er gjenstående totalt Kr. 73 659 på prosjektet. Av dette Kr. 41 659 i driftsmidler. Årsaken til dette er beskrevet under punkt 5. Vi har dessverre ikke heller rukket å delta på konferanser/møter (budsjettet kr. 20 0000) eller publisere resultatene internasjonalt ennå (budsjettet kr. 12 000), men manuskripter er under produksjon (punkt 8) og det første forventes å submitteres før jul.

10.2. Søknad om videreføring av gjenstående midler

Vi ønsker å bruke de gjenstående driftsmidlene til å analysere serumprøver fra RUF-prosjektet «Kartlegging av helse og sykdom hos rein ved økt samling og fôring» ledet av Torill Mørk for antistoffer mot hudbrems. Det er kun to tidligere serologiske hudbrems-prosjekter på rein og disse har hovedsakelig fokusert på antall brems, geografi, tid på året og til dels alder^{4,5}. Videreføring av disse midlene vil gi oss mulighet til å samholde serologiske resultater med data ervervet i Morks prosjekt, som f.eks. alder, hold, antall hudbrems, pelsfarge, dødsårsak, generell helsestatus, tid på året, fôringsstatus og geografisk område. Morks serummateriale og database med informasjon fra obduksjoner tilbyr en unik mulighet til å utvide vår kunnskap om hvilke faktorer som påvirker sannsynlighet for å være infisert med hudbrems samt graden av infeksjon. Dette er en mulighet til å skape en gunstig synergi og ekstra resultater fra to prosjektet som allerede er finansierte. Dette arbeidet ville føre til en artikkel med den tentative tittelen «Factors affecting the presence of antibodies against *Hypoderma tarandi* in reindeer» i samarbeid med bla. Torill Mork. Vi ønsker vi også å få anledning til å bruke de resterende Kr. 20 000 til deltagelse på konferanser/møter for å presentere resultater fra prosjektet, samt å få bruke de resterende Kr. 12 000 til publisering.

Gi beskjed dersom dere ønsker en fullverdig søknad om videreføring av midler. Midlene blir stående urørte inntil videre beskjed.

11. Referanser

- 1 Boulard, C., Villejoubert, C. & Moire, N. Cross-reactive, stage-specific antigens in the Oestridae family. *Veterinary research* 27, 535-544 (1996).
- 2 Panadero, R. *et al.* Immunomodulatory effect of *Hypoderma lineatum* antigens: in vitro effect on bovine lymphocyte proliferation and cytokine production. *Parasite Immunol* 31, 72-77, doi:10.1111/j.1365-3024.2008.01072.x (2009).
- 3 Moire, N. Hypodermin a and inhibition of lymphocyte proliferation. *Parasitol Today* 14, 455-457 (1998).
- 4 Åsbakk, K., Oksanen, A., Nieminen, M., Haugerud, R. E. & Nilssen, A. C. Dynamics of antibodies against hypodermin C in reindeer infested with the reindeer warble fly, *Hypoderma tarandi*. *Vet Parasitol* 129, 323-332, doi:10.1016/j.vetpar.2005.02.007 (2005).
- 5 Åsbakk, K., Kumpula, J., Oksanen, A. & Laaksonen, S. Infestation by *Hypoderma tarandi* in reindeer calves from northern Finland—prevalence and risk factors. *Vet Parasitol* 200, 172-178, doi:10.1016/j.vetpar.2013.12.010 (2014).
- 6 Mattilsynet. *Forsøksdyr*, <https://www.mattilsynet.no/dyr_og_dyrehold/dyrevelferd/forsoksdyr/> (2019).
- 7 Landehag, J., Skogen, A., Asbakk, K. & Kan, B. Human myiasis caused by the reindeer warble fly, *Hypoderma tarandi*, case series from Norway, 2011 to 2016. *Euro Surveill* 22, doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.29.30576 (2017).
- 8 Scientific, T. ELISA technical guide and protocols. (<http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TR0065-ELISA-guide.pdf>).
- 9 Panadero, R., Lopez, C., Mezo, M., Morrondo, P. & Diez-Banos, P. Effect of early treatment with ivermectin and doramectin on the dynamics of antibody response in cattle naturally infested by *Hypoderma lineatum* and *H. bovis*. *Vet Parasitol* 73, 325-334, doi:10.1016/s0304-4017(97)00122-2 (1997).

- 10 Panadero, R. *et al.* Evaluation of an antigen capture ELISA for the early diagnosis of *Hypoderma lineatum* in cattle under field conditions. *Veterinary Parasitology* 147, 297-302, doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.04.004> (2007).
- 11 López, C. *et al.* Skin immune responses in cattle after primary and secondary infections with *Hypoderma lineatum* (Diptera: Oestridae) larvae. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 108, 285-294, doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.06.001> (2005).
- 12 Colwell, D. D. *et al.* Effect of treatment on the dynamics of circulating hypodermin C in cattle naturally infested with *Hypoderma lineatum* (Diptera: Oestridae). *Veterinary Parasitology* 113, 263-272, doi:[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00084-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00084-0) (2003).
- 13 Dacal, V. *et al.* Local and systemic cytokine responses during larval penetration in cattle experimentally infested with *Hypoderma lineatum* (Diptera: Oestridae). *Vet Immunol Immunopathol* 131, 59-64, doi:10.1016/j.vetimm.2009.03.011 (2009).
- 14 Sandeman, R. M., Bowles, V. M. & Colwell, D. D. The immunobiology of myiasis infections--whatever happened to vaccination? *Parasite Immunol* 36, 605-615, doi:10.1111/pim.12128 (2014).
- 15 Baron, R. W. & Weintraub, J. Immunization of cattle against hypodermatosis (*Hypoderma lineatum* (DeVill.) and *H. Bovis* (L.)) using *H. Lineatum* antigens. *Veterinary Parasitology* 21, 43-50, doi:[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(86\)90142-1](https://doi.org/10.1016/0304-4017(86)90142-1) (1986).
- 16 Fisher, W. F., Pruett, J. H., Howard, V. M. & Scholl, P. J. Antigen-specific lymphocyte proliferative responses in vaccinated and *Hypoderma lineatum*-infested calves. *Veterinary Parasitology* 40, 135-145, doi:[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(91\)90090-1](https://doi.org/10.1016/0304-4017(91)90090-1) (1991).
- 17 Chabaudie, N., Villejoubert, C. & Boulard, C. The response of cattle vaccinated with hypodermin a to a natural infestation of *Hypoderma bovis* and *Hypoderma lineatum*. *International Journal for Parasitology* 21, 859-862, doi:[https://doi.org/10.1016/0020-7519\(91\)90155-7](https://doi.org/10.1016/0020-7519(91)90155-7) (1991).
- 18 Pruett, J. H., Fisher, W. F. & Temeyer, K. B. Evaluation of purified products of *Hypoderma lineatum* immunogens for a vaccine against bovine hypodermamyiasis. *Southw. Entomol.* 14, 363-373 (1989).
- 19 Nymo, I. H. *et al.* A protein A/G indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of anti-*Brucella* antibodies in Arctic wildlife. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 25, 369-375 (2013).
- 20 Risalde, M. A. *et al.* Development and evaluation of an interferon gamma assay for the diagnosis of tuberculosis in red deer experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *BMC Vet Res* 13, 341, doi:10.1186/s12917-017-1262-6 (2017).
- 21 Kuo, C.-Y., Cheng, Y.-T., Ho, S.-T., Yu, C.-C. & Chen, M.-J. Comparison of anti-inflammatory effect and protein profile between the water extracts from Formosan sambar deer and red deer. *Journal of Food and Drug Analysis* 26, 1275-1282, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.02.005> (2018).
-

Mvh.

Ingebjørg H. Nymo

Dr. Ingebjørg Helena Nymo DVM PhD