

PROGRAMA INTEGRADO DE CONTROLE DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV)

Sara Altíssimo Pacito

Camila Baccili

Prof^a Dr^a Viviani Gomes

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo

sarapacito@usp.br

Objetivos

A Diarreia Viral Bovina (BVD) é uma doença extremamente difundida entre os rebanhos. Assim, a eliminação dos animais persistentemente infectados (PI) associada a protocolos de vacinação, são essenciais para saúde e produção animal (CHASE et al., 2015). O impacto causado pelo vírus BVDV está vinculado à prejuízos econômicos, em consequência da redução na produção de leite, performance reprodutiva, incremento da mortalidade dos animais, além de infecções secundárias (BASQUEIRA et al., 2020). O ponto chave para a diminuição de circulação viral, é a eliminação dos PI, pois estes eliminam elevadas concentrações de partículas virais através de suas excreções e secreções, sendo uma grande fonte de contaminação (LINDBERG e HOUE, 2005). Além disso, a vacinação limita a transmissão viral, reduz a severidade da forma clínica da doença, e promove a proteção fetal (WALZ et al., 2010). Atualmente no Brasil, se há registro de duas vacinas com vírus vivo modificado (MLV) e 19 vacinas inativadas (BRASIL, 2019). Sendo assim, este trabalho teve como objetivo geral avaliar prevalência de animais persistentemente infectados em fazendas leiteiras e a influência da vacinação nos resultados obtidos nos testes diagnósticos ELISA e RT-PCR do tanque de leite.

Métodos e Procedimentos

O trabalho foi conduzido em fazendas da Cooperativa Frísia Agroindustrial de setembro de 2020 a agosto de 2021, no estado do Paraná. Foram colhidas amostras do tanque de leite para a detecção de anticorpos contra P80 (n=250) e presença de RNA viral para o BVDV (n=268). A identificação de animais PI foi realizada em 56 fazendas, sendo utilizadas amostras de fragmentos da orelha dos animais recém-nascidos. As amostras de leite foram testadas para avaliação da presença de anticorpos contra a proteína não estrutural P80, por meio do teste indireto de ELISA (IDEXX[®] BVDV P80 Ab), sendo esta, relacionada à infecção viral, bem como a detecção de RNA viral, realizada por RT-PCR (Real PCR BVDV RNA Mix – IDEXX[®]). A rastreabilidade de animais PI foi conduzida por meio de ELISA antígeno viral (BVDV Ag Test IDEXX[®]), amostras consideradas positivas foram retestadas após 21 dias, para exclusão de animais transitoriamente infectados. Os dados foram analisados estatisticamente no SPSS 19.0, por meio dos testes Exato de Fisher e Qui-Quadrado. Foram considerados significativos quando $P \leq 0,05$.

Resultados

As análises foram expressas em frequência (%). A avaliação do ELISA anticorpo contra p80 evidenciou que 100% (4/4) dos rebanhos vacinados com a vacina MLV tiveram resultado positivo no tanque ($P=0,05$), enquanto as demais categorias não apresentaram diferença

significativa na distribuição ($P=0,92$), (Figura 1). Em uma segunda análise, com fazendas agrupadas em vacinadas e não vacinadas, não foi encontrada correlação significativa em relação ao resultado do ELISA P80 ($P=0,27$).

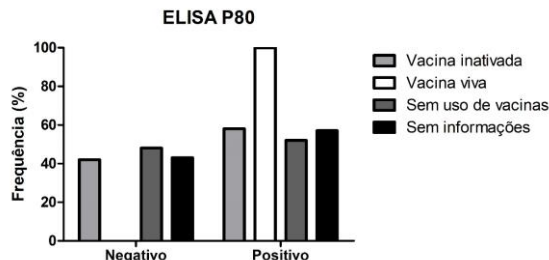


Figura 1: Frequências de resultados positivos e negativos para a detecção da proteína P80

Para o RT-PCR constatou-se que fazendas vacinadas com a formulação inativada obtiveram resultado predominantemente negativo ($P=0,045$) (Figura 2). Em relação à análise dos grupos vacinados e não vacinados, não foi encontrada diferença entre grupos ($P=0,096$). Porém, maiores taxas de tanques positivos (35%; 29/83) foram observadas em fazendas que não utilizam vacina, em relação a 27% (34/124) das que vacinam.

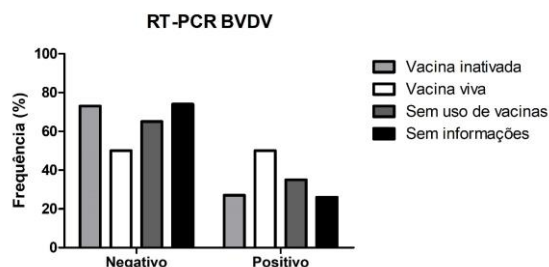


Figura 2: Frequências de resultados positivos e negativos para a detecção do RNA viral do BVDV

Por fim, a rastreabilidade de animais PI foi realizada em 21% das fazendas (56/268), gerando um total de 19.567 de amostras analisadas. A prevalência obtida no primeiro teste de ELISA Ag foi de 0,22% de resultados suspeitos (44/19.567), 2,36% de resultados positivos (462/19.567) e 96,55% (18.892/19.567) de negativos. Após 21 dias foram realizados 36,6% (169/462) re-testes para a confirmação de PI's ou de animais transitoriamente infectados. Desta forma, foi possível confirmar 100/462 animais PI, 68/462 negativos descartados.

Conclusões

Com os resultados encontrados conseguimos concluir que a prevalência de animais persistentemente infectados para BVDV na região Sul do Brasil foi de 2%. Houve uma maior frequência de tanques RT-PCR positivos em fazendas que não vacinam o rebanho. A presença de anticorpos contra p80 foi encontrada em 4/4 fazendas que utilizam a vacina viva; sendo 2/4 apresentaram a detecção de RNA viral para BVDV. Estudos que possam avaliar o mapeamento genômico das cepas de campo, comparando com as das vacinas disponíveis no mercado nacional, são necessários para elucidar as infecções geradas pelo BVDV.

Referências Bibliográficas

CHASE, Christopher C L; THAKUR, Neelu; DARWEESH, Mahmoud F. Immune response to bovine viral diarrhoea virus — looking at newly defined targets. **Animal Health Research Reviews**, v. 16, n. 1, p. 3–14, 2015.

BASQUEIRA, Natália Sobreira et al. An assessment of secondary clinical disease, milk production and quality, and the impact on reproduction in Holstein heifers and cows from a single large commercial herd persistently infected with bovine viral diarrhoea virus type 2. **Viruses**, v. 12, n. 7, p. 760, 2020.

BRASIL, 2019. Lista de produtos registrados, lista cronológica de análise de registro inicial e atos da CPV. Produtos Veterinários. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**, Brasília.

LINDBERG, Ann; HOUE, Hans. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 72, n. 1–2, p. 55–73, 2005.

WALZ, P. H.; GROOMS, D. L.; PASSLER, T.; et al. Control of bovine viral diarrhoea virus in ruminants. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 476–486, 2010.

INTEGRATED CONTROL PROGRAM OF BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV)

Sara Altíssimo Pacito

Camila Baccili

Prof Dr Viviani Gomes

School of Veterinary Medicine and Animal Science/University of Sao Paulo

sarapacito@usp.br

Objectives

Bovine Viral Diarrhea (BVD) is a widespread disease in cattle production, so the elimination of persistently infected animals (PI) associated with vaccination protocols is essential for animal health and production (CHASE et al., 2015). The impact caused by BVDV is associated with several economic losses, as a result of reduced milk production, reproductive performance, increased animal mortality, in addition to secondary infections (GROOMS et al., 2014; BASQUEIRA et al., 2020). The key to prevention is the elimination of PI, as they eliminate high concentrations of viral particles through their excretions and secretions, being a great source of contamination (LINDBERG and HOUE, 2005). Furthermore, vaccination limits virus transmission, reduces the severity of the clinical form of the disease, and promotes fetal protection (WALZ et al., 2010). Currently in Brazil, there are records of two vaccines with modified live virus (MLV) and 19 inactivated vaccines (BRASIL, 2019).

Therefore, this study aimed to evaluate the prevalence of persistently infected animals in dairy farms and the influence of vaccination on the results obtained in the ELISA and RT-PCR diagnostic tests in the bulk milk tank.

Materials and Methods

The work was carried out on farms of the Frísia Agroindustrial Cooperative from September

2020 to August 2021, in the state of Paraná, Brazil. Bulk milk tank samples were taken to detect antibodies against P80 (n=250) and to assess the presence of viral RNA (n=268). For the identification of PI, 56 farms were investigated, using samples of ear fragments from newborn animals. Milk samples were tested to assess the presence of antibodies against the non-structural protein P80, through the indirect ELISA test (IDEXX® BVDV P80 Ab), which is related to viral infection. As well, the detection of viral RNA was performed by RT-PCR (Real PCR BVDV RNA Mix – IDEXX®). The traceability of PI animals was performed by identifying the viral antigen through ELISA (BVDV Ag Test IDEXX®), samples considered positive were re-tested after 21 days, to exclude transiently infected animals. Data were statistically analyzed using SPSS 19.0, using Fisher's Exact and Chi-Square tests. They were considered significant when $P \leq 0.05$.

Results

Results were expressed in frequency (%). The evaluation of the ELISA P80 showed that 100% (4/4) of the herds vaccinated with the MLV vaccine had a positive result in the milk tank ($P=0.05$), while the others categories showed no significant difference in distribution ($P=0.92$) (Figure 1). In a second analysis, with farms grouped into vaccinated and unvaccinated, no significant correlation was founded, according to the result of ELISA P80 ($P=0.27$).

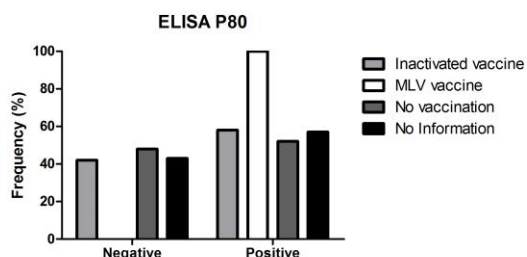


Figure 1: Frequencies of positive and negative results for the detection of P80

For RT-PCR, it was founded that farms vaccinated with the inactivated formulation obtained predominantly negative results ($P=0.045$), (Figure 2). Regarding the analysis of vaccinated and unvaccinated groups, no difference was found ($P=0.096$). However, higher rates of positive tanks (35%; 29/83) were observed in farms that do not use vaccine, compared to 27% (34/124) of those that vaccinate.

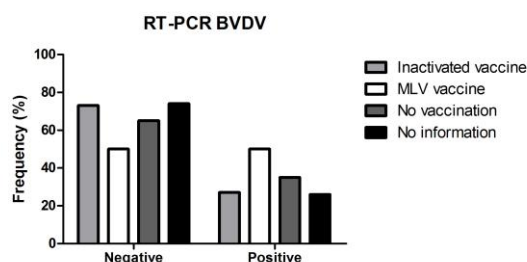


Figure 2: Frequencies of positive and negative results for the detection of BVDV viral RNA

Finally, the traceability of PI animals was performed in 21% of the farms (56/268), generating a total of 19,567 samples analyzed. The prevalence obtained in the first ELISA Ag test was 0.22% of suspicious results (44/19,567), 2.36% of positive results (462/19,567) and 96.55% (18,892/19,567) of negative. After 21 days, 36.6% (169/462) retests were performed to confirm PI's or transiently infected animals. Thus, it was possible to confirm 100/462 PI's animals, 68/462 negatives discarded.

Conclusions

We were able to conclude that the prevalence of persistently infected animals for BVDV in the

southern region of Brazil was 2%. There was a higher frequency of RT-PCR positive tanks on farms that do not vaccinate the herd. The presence of antibodies against p80 was found in 4/4 farms using the live vaccine; 2/4 showed the detection of viral RNA for BVDV. Studies that can assess the genomic mapping of field strains, comparing them with vaccines available on the national market, are needed to elucidate the infections generated by BVDV.

References

CHASE, Christopher C L; THAKUR, Neelu; DARWEESH, Mahmoud F. Immune response to bovine viral diarrhea virus — looking at newly defined targets. **Animal Health Research Reviews**, v. 16, n. 1, p. 3–14, 2015.

BASQUEIRA, Natália Sobreira et al. An assessment of secondary clinical disease, milk production and quality, and the impact on reproduction in Holstein heifers and cows from a single large commercial herd persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 2. **Viruses**, v. 12, n. 7, p. 760, 2020.

BRASIL, 2019. Lista de produtos registrados, lista cronológica de análise de registro inicial e atos da CPV. Produtos Veterinários. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**, Brasília.

GROOMS, Daniel L; BROCK, Kenny V; BOLIN, Steven R; et al. Effect of constant exposure to cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus on morbidity and mortality rates and performance of feedlot cattle. **JAVMA**, v. 244, n. 2, 2014.

LINDBERG, Ann; HOUE, Hans. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) of relevance to control. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 72, n. 1–2, p. 55–73, 2005.

WALZ, P. H.; GROOMS, D. L.; PASSLER, T.; et al. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 476–486, 2010.