

DOLOČITEV PREVALENCE PERZISTENTNIH IZLOČEVALCEV VIRUSA BVD IZ RUTINSKO TESTIRANIH SERUMSKIH VZORCEV

Tina Žitnik Oitzl, Danijela Rihtarič, Ivan Toplak*

Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

ivan.toplak@vf.uni-lj.si

V raziskavo smo vključili rutinske serumske vzorce goveda, ki smo jih v laboratorij prejeli od začetka leta 2010 do aprila 2016. V priskovanih vzorcih smo s klasično metodo verižne reakcije s polimerazo (RT-PCR) dokazovali prisotnost nukleinske kisline virusa bovine virusne diareje (BVD). Skupno smo pregledali 12.008 vzorcev in prisotnost virusa BVD dokazali v 1,32% vzorcev, najnižji odstotek pozitivnih vzorcev smo ugotovili leta 2011 (0,42%), najvišjega pa leta 2015 (1,81%). Največ pozitivnih živali smo ugotovili v starostni skupini do 6 mesecev (56,60%), sledi starostna skupina od 6 do 24 mesecev (13,84%) ter starejše od 24 mesecev (8,81%). Ugotavljamo, da vsako leto pregledamo večje število vzorcev, prevsem po letu 2013, ko je bil v Sloveniji uveden prostovoljni program za priznanje statusa črede, proste BVD. V čredah, kjer je bolezen BVD prisotna, je ključna ugotovitev in izločitev vseh perzistentnih izločevalcev (PI) iz reje. Tako preprečimo nadaljno kroženje virusa in rejo pozdravimo.

Ključne besede: virus bovine virusne diareje; perzistentni izločevalec virusa; diagnostika; prevalenca

Uvod

Bovina virusna diareja je bolezen, ki povzroča velike ekonomske škode. Virus BVD spada v družino *Flaviviridae* in je soroden virusu klasične prašičje kuge in virusu borderske bolezni (1). Viruse BVD razvrščamo v genotipe 1, 2, in 3 (1), v Sloveniji smo dokazali le viruse genotipa 1 (2). Virus BVD je razširjen predvsem pri govedu, lahko pa se okužijo tudi ovce, koze in prašiči. Okužba reje se kaže s povišano telesno temperaturo, drisko, padcem mlečnosti, respiratornimi težavami in imunosupresijo. Virus pri kravah povzroča neplodnost in pregonitve, prehaja skozi placento in povzroča abortuse, anomalije telet in rojstvo nevitálnih telet (1). Če se krava okuži med 30. in 125. dnem brejosti (3), zaradi vzpostavljanja imunokompetence v tem starostnem obdobju, imunski sistem teleta virusa ne prepozna kot tujka, kar ima za posledico rojstvo klinično zdravega teleta, ki je perzistentni izločevalec (PI). PI so večinoma mlajše živali in so glavni rezervoar virusa v okuženi reji, izločajo ga v urinu, fecesu, izcedkih, mleku in semenu (1). Ključno pri kontroli in zdravljenju bolezni je odkrivanje in izločitev PI. Te živali so klinično zdrave ali slabše priraščajo, kasneje pa lahko razvijejo mukozno bolezen (1). Prevalenca PI v okuženih državah znaša med 0,3 in 2,6% (3). V Sloveniji prevalenca virusa na večjem številu testiranih vzorcev ni bila določena še v nobeni raziskavi.

Material in metode

Od začetka leta 2010 do aprila 2016 smo na prisotnost virusa BVD pregledali preko 12 tisoč serumskih vzorcev goveda. Izolacijo nukleinskih kislin smo izvedli s QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen, Nemčija). S klasično metodo PCR OneStep RTPCR kit (Qiagen, Nemčija) smo pomnožili odsek virusnega genoma v 5'nekodirajoči regiji v dolžini 300 nukleotidov. Produkte PCR smo analizirali z elektroforezo v 2 % agaroznem gelu in pri pozitivnih vzorcih dokazali produkt specifične velikosti 300 bp. S postopkom uspešno dokazujemo viruse BVD iz genotipa 1 in 2. Metoda je akreditirana po ISO 17025.

Rezultati

Od 12.008 pregledanih vzorcev v letih od 2010 do 2016 smo virus BVD dokazali pri 159 (1,32 %) vzorcih živali. Najnižji odstotek pozitivnih vzorcev smo ugotovili leta 2011 (0,42%), najvišji pa leta 2015 (1,81%). Pozitivne živali smo razdelili v tri starostne kategorije. Največ, 90 vzorcev pozitivnih živali, je bilo ugotovljenih v starostni skupini do 6 mesecev (56,60 %), v starostni skupini od 6 do 24 mesecev je bilo 22 pozitivnih (13,84%) in nad 24 mesecev 14 pozitivnih (8,81%) živali (tabela 1).

Tabela 1: Ugotovljena prevalenca pozitivnih živali na prisotnost virusa BVD v letih od 2010 do 2016, s prikazom treh starostnih kategorij pozitivnih živali (do 6 mesecev, od 6 do 24 in nad 24 mesecev)

Leto	Št. test. živali	Št. poz. živali	Št. neg. živali	% pozitivnih	Starost pozitivnih živali			
					do 6 M	od 6 do 24 M	nad 24 M	ni podatka
2010	983	10	973	1,02%	0	4	0	6
2011	954	4	950	0,42%	1	0	0	3
2012	1.061	13	1.048	1,23%	5	2	1	5
2013	2.379	27	2.352	1,13%	19	0	0	8
2014	2.792	50	2.742	1,79%	35	8	5	2
2015	2.039	37	2.002	1,81%	21	6	4	6
2016 [#]	1.800	18	1.782	1,00%	9	2	4	3
Skupaj	12.008	159	11.849	1,32%	90	22	14	33
Odstotek pozitivnih živali po kategorijah					56,60%	13,84%	8,81%	20,75%

Razprava

Ugotovili smo, da je povprečna prevalenca PI živali od leta 2010 do aprila 2016 v Sloveniji znašala 1,32%. Število pregledanih rej in vzorcev se iz leta v leto povečuje, predvsem je zaznavna rast števila testiranih vzorcev leta 2014, ko je zaživel program za priznanje statusa črede, proste BVD, v katerega se rejci vključujejo prostovoljno. Odstotek pozitivnih vzorcev je bil najvišji leta 2014 (1,79%) in leta 2015 (1,81%), prav gotovo zaradi ugotavljanja in izločanja PI virusa BVD iz pozitivnih rej. V pozitivnih rejah je potrebno le enkrat pregledati vse živali na prisotnost virusa BVD, da bi ugotovili vse PI in jih takoj izločili v klanje. Po izločivi vseh PI živali iz okužene reje se uspešnost kontrolira s testiranjem živali na prisotnost protiteles v starostni kategoriji od 7 do 13 mesecev. Ugotovljena prevalenca pozitivnih živali

na virus BVD je še nižja, če upoštevamo, da so nekatere pozitivne živali lahko bile v času pregleda v akutni fazi bolezni. Ta podatek je zelo spodbuden za rejce, da se odločijo za pridobitev in priznanje statusa črede, proste BVD, do katerega pridejo v Sloveniji z izločitvijo vseh PI, kar v povprečju znaša od 1 do 2% celotnega staleža živali v reji.

Reference

1. OIE: Manual of Diagnostic Tests And Vaccines for Terrestrial Animals 2015. Chapter 2.4.8. Bovine Viral Diarrhoea.
2. Toplak I, Hostnik P, Rihtarič D, Grom J. The voluntary programme for control and eradication of bovine viral diarrhoea virus infection in Slovenia. First International Symposium of Veterinary Medicine - ISVM 2015. Novi Sad: 2015: 36-41.
3. Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995; 11(3): 425–45.

Determination of the prevalence of persistently infected animals with BVDV from routine tested serum samples

In this study we analyzed cattle serum samples which were delivered into laboratory from beginning of 2010 until April 2016. We detected nucleic acid of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) with conventional polymerase chain reaction (RTPCR). Altogether we have analyzed 12.008 samples and BVDV was detected in 1,32% of samples. The lowest percent was in year 2011 (0,42%) and the highest in 2015 (1,81%). The highest number of positive animals were detected in the age group until 6 months (56,60%), followed by the age group between 6 to 24 months (13,84%) and older than 24 months (8,81 %). We found out that the number of analyzed samples is increasing each year, particularly after 2013, when the voluntary program for control and eradication of bovine viral diarrhoea virus infection was introduced in Slovenia. In herds where BVDV is present identification and elimination of all persistently infected (PI) animals is the key element for eradication and healing of the herd.

Key words: bovine viral diarrhoea virus; persistently infected animal; diagnostics; prevalence