



# UNDERSØGELSE AF PCV2-STATUS I TO DANSKE BESÆTNINGER – TO ÅRS OPFØLGNING.

MEDDELELSE NR. 933

To danske slagtesvinebesætninger, som fra start så ud til at være fri for PCV2, fik løbende undersøgt blodprøver for PCV2. I den ene blev der hurtigt påvist PCV2 og i den anden kunne PCV2 påvises når vaccinationen mod PCV2 blev stoppet.

---

**INSTITUTION:** VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION

**FORFATTER:** CHARLOTTE SONNE KRISTENSEN  
LARS E. LARSEN  
CHARLOTTE KRISTIANE HJULSAGER

**UDGIVET:** 14. MARTS 2012

**Dyregruppe:** Smågrise og Søer

**Fagområde:** Sundhed/Veterinær

## Sammendrag

Konklusionen af at følge en dansk slagtesvinebesætning, som fra start så ud til at være PCV2-fri gennem en periode på to år var, at besætningen ikke var fri for PCV2 i hele perioden. Der var svingninger i PCV2-niveauet over tid. PCV2 blev påvist ved to lejligheder, og begge gange var påvisningen sammenfaldende med, at grisene i præcist de hold, som de eneste hold i perioden, ikke var vaccineret mod PCV2. Første gang PCV2 blev påvist havde besætningen samtidig et udbrud af PRRS, men da PCV2 vaccination blev genindført kunne PCV2 ikke længere påvises. Anden gang PCV2 blev påvist kunne der ikke påvises PRRS. Alligevel havde grisene flere kliniske symptomer og der kunne efterfølgende påvises PCV2 i få grise i en længere periode. PCV2-vaccination ser ud til at kunne sænke PCV2-niveauet, også under et akut udbrud af PRRS. En anden, formodet PCV2 fri

slagtesvinebesætning blev fulgt et år, men fik hurtigt påvist PCV2 i flere hold og udgik af undersøgelsen efter år 1.

#### TILSKUD

Projektet er finansieret af Boehringer Ingelheim "European PCV2 Research Award 2009".

## Baggrund

PCV2 virus er vigtig for udvikling af PMWS, en sygdom der giver økonomiske tab i svinebesætninger i det meste af verden [1]. De fleste, hvis ikke alle, grise bliver smittet på et tidspunkt i deres liv, men kun en del udvikler PMWS [1]. En del andre sygdomskomplekser såsom reproduktionsforstyrrelser, diarre og lunge-betændelse er også blevet kædet sammen med PCV2-infektion. Det er dog kun for reproduktionsforstyrrelserne, at man har kunnet påvise sammenhæng til PCV2 [2, 3]. PCV2-infektion giver nedsat immunforsvar, og derfor vil andre virus og bakterier have nemmere ved at angribe efter at PCV2 har banet vejen [4].

For at stille diagnosen PMWS skal tre diagnostiske kriterier være opfyldt [1]. Dette er dog dyrt, da der skal indsendes døde grise til laboratoriet og væv fra grisene skal undersøges. Derfor er værdien af PCR som diagnostisk metode, hvor mængden af PCV2 i blodet bestemmes, undersøgt i en del studier [5, 6, 7, 8]. Metoden duer ikke til at afgøre om den enkelte gris har PMWS eller ej [5], men ved at bruge et cut-off på  $7 \log_{10}$  PCV2-kopier/ml serum, kan man med en vis sandsynlighed forudsige, om en given besætning har problemer med PMWS.

Fra grisen smittes med PCV2 til der kan påvises PCV2 i blodet ved PCR går der 2-3 uger. I de efterfølgende cirka 100 dage vil grisen være PCV2-positiv i PCR. Antistoffer mod PCV2 kan påvises cirka 2 uger efter infektion, og hos grise der har haft PMWS persisterer antistofferne resten af grisens liv [5, 6, 7, 8].

Tidligere var PMWS karakteriseret ved høj dødelighed hos 8-12 uger gamle grise. Men sygdommen har ændret karakter, så der i dag ses let forhøjet dødelighed, lavere tilvækst og øget forekomst af uspecifikke symptomer, både hos smågrise og slagtesvin. På baggrund af disse ændringer har man omdøbt sygdommen til PCVD (Porcine Circovirus Disease). Det er stadig en udfordring at stille diagnosen, men PCR anvendes af mange dyrlæger, når det skal afklares om en besætnings problem skyldes PCV2 eller ej.

I 2009 blev der indsendt blodprøver fra næsten 200 besætninger til Veterinærinstituttet på DTU til undersøgelse for PCV2. I 28 % af de indsendte prøver blev der ikke påvist PCV2 med PCR, og i en del af dem blev der heller ikke påvist antistoffer mod PCV2. Dette var noget af en overraskelse, da

prøverne var udtaget i besætninger, der blev mistænkt for at have et PCV2-problem. Desuden viste en 6 år gammel undersøgelse, at mere end 90 % af besætningerne i Danmark havde antistoffer mod PCV2. Det overraskende fund kan forklares med, at besætningerne har meget lav eller ingen spredning af PCV2, eller at der er variation i mængden af PCV2, der spredes blandt grisene over tid.

Projektets formål var at undersøge, om de negative PCV2-blodprøveprofiler der fandtes i nogen slagtesvinebesætninger skyldtes, at de reelt er fri for PCV2, eller om negative blodprøveprofiler skyldes variationer i smittepres over tid.

## Materiale og metode

### Besætningerne

Besætningerne blev udvalgt i december 2009 blandt de i alt 196 besætninger der havde indsendt blodprøveprofiler til undersøgelse for PCV2 ved PCR på Veterinærinstituttet i 2009, og hvor der ikke kunne påvises PCV2 i blodprøverne. Det drejede sig om 28 % af indsendelserne, svarende til 54 besætninger.

Den negative blodprøveprofil skulle bestå af mindst 10 prøver udtaget hos slagtesvin, og ejerne skulle være interesseret i at deltage i projektet.

Inden start blev der udtaget en opfølgende blodprøveprofil bestående af 10 blodprøver af slagtesvin på hhv. 30 kg, 45 kg og 90 kg. Kun hvis denne blodprøveprofil også var negativ, kom besætningen med i projektet.

Af de 54 besætninger blev der taget opfølgende PCV2-blodprøveprofiler i otte besætninger. De 46 resterende besætninger udgik af følgende årsager:

- 25 besætninger havde ingen slagtesvin
- 8 besætninger havde indsendt under 10 prøver
- 10 besætninger var siden testet positive eller ønskede ikke at deltage

Af de opfølgende prøver i otte besætninger var alle prøver negative for PCV2 i to besætninger og de blev derfor inkluderet i projektet.

Besætning 1 indkøbte 1000 7-kgs-grise hver 7. uge fra en fast leverandør. I leverandørbesætningen blev alle søer vaccineret mod PCV2 (Ingelvac CircoFLEX®) før hver faring. Desuden blev alle grise vaccineret mod PCV2 ved fravæning (Ingelvac CircoFLEX®). Besætningen bestod af to ejendomme. Fra 7-30 kg gik alle grise på ejendom I i en stor sti med dybstrøelse. Fra 30-100 kg gik de på ejendom II, som bestod af 10 veladskilte sektioner, hvoraf en blev brugt som buffersektion. Ejendom II indeholdt to hold af grise med 7 ugers aldersforskel. På grund af den store aldersforskel skete der ikke tilbageflytning af ældre grise til yngre grise. To hold grise (indsat på ejendom II i maj 2010 og september 2011) var ikke vaccineret mod PCV2. I maj 2010 blev besætningen smittet fra

sobesætningen med almindelig lungesygge og PRRS-US. Inden december 2010 var soholdet stabiliseret og der blev igen kun indsat PRRS negative grise på ejendom I.

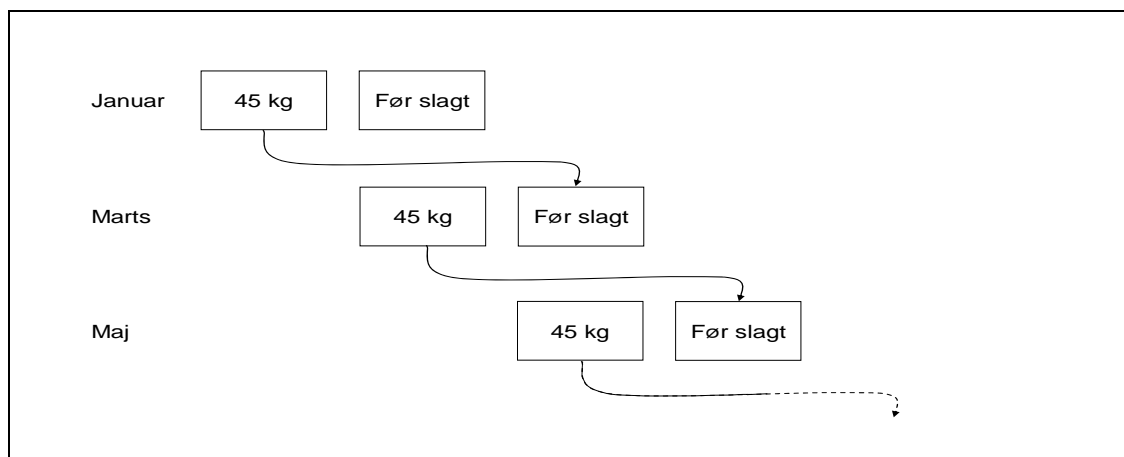
Besætning 2 var en integreret besætning med 300 årssøer på én ejendom. Besætningen var en lukket besætning, der ikke havde indkøbt avlsdyr siden 2008. Besætningen var fri for alle SPF-sygdomme men blev i september 2010 smittet med almindelig lungesygge.

### Udtagning og undersøgelse af prøver

Besætning 1 blev inkluderet i januar 2010 og fulgt gennem 2 år. Der blev udtaget blodprøver hver 7. uge (i alt 16 gange). Hver gang blev der udtaget blodprøver fra

- 10 grise på 45 kg
- 10 grise lige før slagting

Et hold af grise fik taget blodprøve to gange (bortset fra det første og det sidste hold) ved 45 kg og igen før slagting. Dvs. at f.eks. det hold, der var 45 kg i januar var det hold, der var før slagting i marts (Figur 1).



Figur 1. Skematisk fremstilling af hvordan de enkelte hold af grise i besætning 1 indgik to gange i undersøgelsen. Både ved 45 kg og lige før slagting.

I oktober 2010 blev der taget en række ekstra prøver i besætning 1 for at undersøge om det var pga. for få prøver at vi ikke påviste PCV2. Derfor blev der udtaget følgende prøver i hver af de 9 sektioner:

- 5 støvprøver fra inventar i sektionen
- Fra en udvalgt sti i hver sektion blev udtaget
- Spytprøve vha. reb
  - Stibundsprøve
  - 5 blodprøver fra grise
  - 5 kindsvab fra grise

I besætning 2 blev ligeledes inkluderet i januar 2010 og fulgt gennem 1 år. Der blev udtaget prøver hver 2. måned, i alt seks gange. Hver gang blev der udtaget blodprøver fra

- 10 grise på 30 kg
- 10 grise på 45 kg
- 10 grise lige før slagting.

Blodprøverne blev hver gang udtaget tilfældigt blandt den pågældende aldersgruppe af grise.

Blodprøverne blev undersøgt på Veterinærinstituttet. Mængden af PCV2 blev bestemt ved hjælp af PCR, på prøver, der var poolede inden for hver aldersgruppe [9]. PCR-undersøgelsen kan kun påvise over  $3 \log_{10}$  PCV2 kopier/ ml serum. Derfor vil prøveresultater angivet som negative reelt kunne betyde forekomst af PCV2 under  $3 \log_{10}$  kopier/ml. Var en pool positiv blev prøverne undersøgt enkeltvis i PCR (dette gælder kun prøver udtaget i 2011 og 2012). Prøverne fra grise lige før slagting blev også undersøgt individuelt for antistoffer mod PCV2 [10].

## Resultater og diskussion

De 52 besætninger der ikke opfyldte inklusionskriterierne fordelte sig på følgende måde:

22 havde ingen slagtesvin

8 havde for få blodprøver

3 indsendelser var foretaget af medicinalvarefirmaer i projektsammenhæng

2 var testet positive for PCV2 efterfølgende af egen dyrlæge

11 ønskede ikke at blive undersøgt for PCV2

6 blev testet positive i den opfølgende PCV2-blodprøveprofil

Derfor indgik kun 2 besætninger i undersøgelsen.

### Besætning 1

I maj 2010 var prøver fra både grise på 45 kg og grise lige før slagting positive for PCV2 i PCR (tabel 1). Dette var sammenfaldende med at grise i gruppen "grise før slagting" ikke var vaccineret mod PCV2. Samtidig var grise i gruppen "grise 45 kg" født i forbindelse med et akut udbrud af PRRS i sobesætningen, og de førte derfor PRRS-smitte med til besætning 1. Om denne påvisningen af PCV2 i besætning 1 skyldes den manglende PCV2-vaccination eller udbruddet af PRRS, kunne ikke afgøres. Dog blev besætningen negativ for PCV2 da PCV2-vaccinationen blev genindført, også selvom der stadig var aktiv PRRS-smittegang (høje titre mod PRRS i IPT) indtil december 2010. Grisene var fortsat negative for PCV2 i 2011 indtil juni 2011 hvor en enkelt gris før slagting var positiv. I september 2011 var grise på 45 kg ikke vaccineret og der var en enkelt gris positiv for PCV2. Da dette hold nåede slagting var alle 10 grise positive for PCV2. Selvom PCV2 vaccinationen blev genindført var der stadig få positive grise når der blev taget prøver før slagting (december 2011 og januar 2012).

Der sås generelt meget få kliniske symptomer i besætningen og normalt blev et hold leveret til slagtning over 3 uger. Men i november 2011 (hvor alle 10 grise før slagtning var positive for PCV2) blev 113 af de 1000 grise flyttet til en bufferstald, da de manglede ca. 30 kg for at nå slagtevægt da de øvrige grise blev leveret.

**Tabel 1:** Gennemsnitlig mængde af PCV2-virus i blodprøver fra grise i besætning 1 ( $\log_{10}$ PCV2 kopier/ml)

	10 grise på 45 kg		10 grise før slagtning	
	PCV2 vaccineret	PCV2 virus load (antal positive grise/antal testet)	PCV2 vaccineret	PCV2 virus load (antal positive grise/antal testet)
<b>2010</b>				
Januar	Ja	neg*	Ja	neg
Marts	Nej	Neg	Ja	neg
Maj	Ja	10 <sup>4</sup> (m**/10)	Nej	10 <sup>7</sup> (m/10)
Juni	Ja	neg	Ja	neg
August	Ja	neg	Ja	neg
Oktober	Ja	neg	Ja	neg
November	Ja	neg	Ja	neg
<b>2011</b>				
Januar	Ja	neg	Ja	neg
Marts	Ja	neg	Ja	neg
April	Ja	neg	Ja	neg
Juni	Ja	neg	Ja	10 <sup>6</sup> (1/10)
Juli	Ja	neg	Ja	neg
September	Nej	10 <sup>5</sup> (1/10)	Ja	neg
November	Ja	neg	Nej	10 <sup>6</sup> (10/10)
December	Ja	neg	Ja	10 <sup>5</sup> (3/10)
<b>2012</b>				
Januar	Ja	neg	Ja	10 <sup>5</sup> (2/10)

\*Negativ: Mængden af PCV2 var under detektionsgrænsen (<3  $\log_{10}$ kopier/ml)

\*\*Prøver fra 2010 er ikke undersøgt enkeltvis og derfor er antallet af positive grise ud af de 10 der fik taget prøve ikke kendt

Antistofniveauet for PCV2 i besætning 1 lå det meste af perioden meget lavt (titer 0-50) lige før slagtning. I november 2011 var antistofniveauet dog højt (1250-31250) hvilket, sammenholdt med at grisene var virus positive med PCR, tyder på en aktiv smitte med PCV2.

I oktober 2010 blev der udtaget en lang række ekstra prøver for at afklare om niveauet af PCV2 var meget lavt som forklaring på at vi ikke fandt PCV2 positive grise. Alle de ekstra prøver var også negative hvilket indikerer at der ikke var PCV2 i så store mængder at det kunne påvises ved den anvendte test.

## Besætning 2

I besætning 2 var blodprøverne negative de to første gange, der blev udtaget prøver. De efterfølgende to gange var grise på ca. 4 måneder og grise lige før slagtning positive, og de sidste to gange var alle tre aldersgrupper positive (Tabel 2). Derfor blev besætningen ikke fulgt mere end 1 år.

**Tabel 2.** Mængden af PCV2-virus i blodprøver fra grise i besætning 2 ( $\log_{10}$  PCV2 kopier/ml).

	Grise 30 kg	Grise 4 måneder	Grise før slagtning
Januar	neg*	neg	neg
Marts	neg	neg	neg
Maj	neg	$10^6$	$10^6$
Juli	neg	$10^6$	$10^7$
September	$10^6$	$10^5$	$10^6$
November	$10^4$	$10^6$	$10^6$

\*Negativ: Mængden af PCV2 var under detektionsgrænsen ( $<3 \log_{10}$  kopier/ml)

Antistofniveauet i besætning 2 lå meget lavt ( $<250$ ) de første 4 gange der blev taget prøver. De sidste to gange, hvor der blev påvist PCV2 i alle inkluderede aldersgrupper, var niveauet højt med titre på 6250-31250. Dette tyder på at grisene fra start kun havde antistoffer overført fra moderen, men de to sidste gange har haft en aktiv infektion og dannet deres egne antistoffer.

## Konklusion

Konklusionen fra at følge to danske slagtesvinebesætninger gennem hhv. et og to år, som fra start så ud til at være PCV2-fri, var, at besætningerne ikke var fri for PCV2 i hele perioden. De havde svingninger i PCV2-niveauet over tid. Derfor skal man være varsom i sin vurdering af PCV2's betydning på baggrund af en enkelt blodprøveprofil i en besætning. I besætning 1 blev PCV2 påvist én gang i 2010, og det var sammenfaldende med, at grisene i præcis det hold ikke var vaccineret mod PCV2 og samtidig havde et udbrud af PRRS. Dog blev besætningen testet negativ for PCV2, da PCV2-vaccination blev genindført, også selvom der stadig var aktiv PRRS-smittegang. I 2011 blev besætningen igen positiv efter udeladelse af vaccination. Denne gang var der dog fortsat få positive grise selvom vaccination mod PCV2 blev genindført. Resultaterne indikerer at PCV2-vaccination kan sænke PCV2-niveauet, selv ved aktiv PRRS-smittegang i besætningen men at PCV2 vaccination ikke helt kan fjerne virus fra besætningen.

# Referencer

- [1] Segales,J., Allan,G.M., Domingo,M., 2005. Porcine circovirus diseases. *Anim Health Res. Rev.* 6, 119-142
- [2] Pensaert,M.B., Sanchez,R.E., Jr., *Ladekjaer-Mikkelsen,A.S.*, Allan,G.M., Nauwynck,H.J., 2004. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet. Microbiol.* 98, 175-183
- [3] Nielsen,J., Vincent,I.E., Botner,A., Ladekaer-Mikkelsen,A.S., Allan,G., Summerfield,A., McCullough,K.C., 2003. Association of lymphopenia with porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 92, 97-111
- [4] Allan,G.M., Ellis,J.A., 2000. Porcine circoviruses: a review. *J. Vet. Diagn. Invest* 12, 3-14
- [5] Grau-Roma,L., Hjulsgaard,C.K., Sibila,M., Kristensen,C.S., Lopez-Soria,S., Enoe,C., Casal,J., Botner,A., Nofrarias,M., Bille-Hansen,V., Fraile,L., Baekbo,P., Segales,J., Larsen,L.E., 2009. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet. Microbiol.* 135, 272-282
- [6] Fort,M., Olvera,A., Sibila,M., Segales,J., Mateu,E., 2007. Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs. *Vet. Microbiol.* 125, 244-255
- [7] Brunborg,I.M., Moldal,T., Jonassen,C.M., 2004. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *J. Virol. Methods* 122, 171-178
- [8] Olvera,A., Sibila,M., Calsamiglia,M., Segales,J., Domingo,M., 2004. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J. Virol. Methods* 117, 75-80
- [9] Hjulsgaard,C.K., Grau-Roma,L., Sibila,M., Enoe,C., Larsen,L., Segales,J., 2009. Inter-laboratory and inter-assay comparison on two real-time PCR techniques for quantification of PCV2 nucleic acid extracted from field samples. *Vet. Microbiol.* 133, 172-178
- [10] Kristensen,C.S., Baekbo,P., Bille-Hansen,V., Botner,A., Vigre,H., Enoe,C., Larsen,L.E., 2009. Induction of porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs from PMWS unaffected herds following mingling with pigs from PMWS-affected herds. *Vet. Microbiol.*

## Deltagere

Dyrlægerne Kristian Havn, Svinevet og Morten Mortensen, Assens dyreklinik samt de to besætninger.