

PCV2 ER PÅVIST I LYMFENUDER FRA BØRE INDSENDT TIL USK

ERFARING NR. 1716

Ved PCR er der påvist en lavgradig forekomst af PCV2 i flere lymfeknuder fra bøere indsendt til USK. I fire tilfælde blev fundet bekræftet ved immunohistokemisk undersøgelse. USK og test for PCV2 kan derfor overvejes før vaccination af soholdet mod PCV2.

INSTITUTION: SEGES SVINEPRODUKTION, DEN RULLENDE AFPRØVNING
FORFATTER: FLEMMING THORUP, SVEND HAUGEGAARD, CHARLOTTE SONNE KRISTENSEN
CHARLOTTE KRISTIANE HJULSAGER, LARS ERIK LARSEN, TIM KÅRE JENSEN
UDGIVET: 19. DECEMBER 2017

Dyregruppe: Søer
Fagområde: Veterinært

Sammendrag

Der blev påvist en lavgradig PCV2-infektion i 17 ud af 38 pools af lymfeknuder, som blev undersøgt ved PCR. Lymfeknuderne stammede fra 153 bøere indsendt til USK-repro. Fra de 17 pools, som blev fundet lavgradigt inficeret med PCV2 ved PCR, blev diagnosen bekræftet ved immunohistokemisk undersøgelse i lymfeknuder fra fire af bøerne. Søerne indgik i en undersøgelse af bøere fra i alt 12 besætninger med enten høj (> 90 %) eller lav (< 85 %) faringsprocent.

Infektion med PCV2 er en mulig årsag til omløbning, selvom det i praksis er svært at afklare, om PCV2 er årsagen til, at en specifik so er løbet om. Det er muligt at vaccinere soholdet mod PCV2, men da omfanget og betydningen af PCV2 hos søer i Danmark ikke er afklaret, er det usikkert, om vaccination kan betale sig. For at opnå mere viden om diagnostik og betydning af PCV2 hos søer blev lymfeknuder fra en afprøvning af USK undersøgt for forekomst af PCV2.

Der blev udtaget én lymfeknude fra hver bør fra 153 børe. Hver lymfeknude blev udtaget sterilt og delt i to dele. Halvdelen af hver lymfeknude blev poollet sammen med cirka fire andre halve lymfeknuder fra søer fra samme besætning. Den anden halvdel af hver lymfeknude blev fikseret individuelt i formalin. Hver pool blev undersøgt for PCV2 ved PCR. Der findes ingen referenceværdier for påvisning af PCV2 i lymfeknuder ved PCR. Ved undersøgelse af serum angives fund af mindre end 10^3 kopier som negativt, fund af 10^3 til 10^5 er lavt, 10^5 - 10^7 er moderat, hvor massiv (over 10^7 kopier) forventes ved klinisk sygdom. Sytten af de 38 undersøgte pools var lavgradigt smittede, mens resten var negative. Der blev påvist PCV2 ved PCR i pools af lymfeknuder fra både besætninger med høj og lav faringsprocent (henholdsvis fem af 18 pools og 12 af 20 pools). Fra de 17 pools, som var lavgradigt smittede med PCV2, blev de tilhørende 92 halve formalinfikserede lymfeknuder efterfølgende undersøgt ved immunohistokemisk undersøgelse. Her blev diagnosen bekræftet i fire lymfeknuder.

Påvisningen af PCV2 i lymfeknuder fra børen af slagtesøer var uventet og er en potentiel risiko for infektion af fostrene. Det bør derfor undersøges, om smitte med PCV2 kan forklare omløberproblemer, og om diagnosen kan stilles ved enten PCR eller immunohistokemisk undersøgelse for PCV2 på lymfeknuder fra børen.

Baggrund

Porcint circovirus blev opdaget i 1974 af Tischer et al., som fandt, at dette virus var uskadeligt for grise. I 1998 fandt man en variant af Porcint circovirus, som var sygdomsfremkaldende. Herefter kaldte man den sygdomsfremkaldende stamme for PCV2 og den oprindelige stamme for PCV1. I første omgang blev PCV2 fundet hos fravænnede grise med dårlig trivsel (PMWS, postweaning multisystemic wasting syndrome). Senere er PCV2 også fundet i grise med luftvejslidelser, diarré, nyresydom, hudreaktioner og reproduktionsforstyrrelser. Nu samles alle disse symptomer som "Porcine CircoVirus Associated Disease" (PCVAD). Reproduktionsforstyrrelser i soholdet som følge af PCV2 dækker over embryonal- eller fosterdød og uregelmæssige omløbere ved tidlig smitte, mens senere smitte kan give abort eller mumificering. Smitte efter dag 70 kan medføre et immunsvær i fostrene, men kan fortsat føre til abort eller fødsel af død- eller svagfødte grise.

Reproduktionsproblemer ses primært i nystartede besætninger og i besætninger med en stor andel gylte (Sonne og Bach-Mose, 2009). Ved infektion i børen kan alt fra ét til alle fostre være smittede. PCV2 kan findes sammen med andre abortfremkaldende agens og kan således både være et tilfældigt fund og årsag til aborten (Castro et al., 2012).

Infektion med PCV2 fastslås i dag rutinemæssigt ved at påvise PCV2 i hjerte, lunger eller lymfeknuder fra døde grise eller i serum eller afføring. Dette kan ske ved PCR eller ved immunohistokemisk undersøgelse. PCR er en meget følsom metode, og i praksis skal der være mere end 10^7 gen-kopier pr. 500 ng oprenset total DNA, for at man kan forvente en sammenhæng til klinisk sygdom (Larsen og

Hjulsager, 2017). Denne sammenhæng gælder for blod eller næsesvabere fra smågrise, hvor tidligere undersøgelser har studeret sammenhængen mellem klinik og laboratoriefund. Konkret viden om sammenhængen mellem PCV2 målt ved PCR i lymfevæv fra søer og forekomsten af reproduktionsproblemer er sparsom. I denne undersøgelse blev en grænse på 10^3 genkopier pr. gram anvendt for at være sikker på at kunne påvise flest mulige mistænkelige pools. Ved immunohistokemisk undersøgelse farver man virus og kigger på vævet i mikroskop. Ved immunohistokemisk undersøgelse er prøven positiv, hvis der er virus nok til at opnå en synlig ophobning af farve inde i cellerne.

Flere udenlandske undersøgelser påviser en forbedring af faringsprocenten ved at vaccinere søer imod PCV2. Det er endnu ikke undersøgt, om vaccination i danske besætninger vil give en produktionsfremgang, som står mål med udgifterne til vaccine og arbejdstid. Ligeledes savnes der metoder til at udpege netop de besætninger, som bør vaccineres.

Denne afprøvning havde til formål at undersøge, om PCV2 kan påvises i lymfeknuder fra kønsorganer indsendt til USK.

Materiale og metode

I forbindelse med et specialeprojekt, hvor man undersøgte kønsorganer fra 238 udsættersøer fra i alt 12 besætninger med høj eller lav faringsprocent, er lymfeknuder blevet undersøgt for PCV2. Børene blev udtaget af slagteripersonalet og indsendt til veterinærlaboratoriet i Kjellerup, hvor de blev undersøgt ved USK-repro af to veterinærstuderende. Der kunne kun undersøges lymfeknuder, hvis de var bevaret på børen ved udtagelse. Desuden blev lymfeknuden kun udtaget, hvis den var dækket af bughinde, så den kunne udtages, uden at være forurenet under slagteprocessen og transporten.

Table 1. Data for the 12 herds in the trial

Herd	Age	Farage percentage	Vaccinate piglets against PCV2	Vaccinate sows against PCV2	Vaccinate sows against PCV2
322	750	81	Yes	Yes	Last time for 1½ years
323	860	78	?	Yes	Yes
324	750	83	Yes	Yes	No
325	645	82	No	No	No
331	1100	84,7	Yes	No	No
332	950	84	After absence	No	No
326	1380	High	Yes	At 30 kg	No
327	1300	94	Yes	At 30 kg	No
328	550	93	Yes	Yes	No
329	500	91	No	No	No
330	1230	94	?	?	?
353	1500	95	?	Yes	Vaccinate only 1. farage sows

Each lymph node was cut in half, and one half was put in a bucket together with approximately four other lymph nodes from the same herd, and was sent the same day. The other half of the lymph node was individually put in a glass with formalin. Pools of lymph nodes were examined for PCV2 by quantitative PCR at DTU. There are no clear recommendations regarding evaluation of PCR on swabs. When analyzing serum or nasal swabs, results are reported as positive if more than 10^3 copies/ml serum are found. A finding of 10^7 copies/ml serum is considered indicative of PCV2 playing a role in the clinical picture (Larsen and Hjulsgaard, 2017). These values were used in this investigation, so that findings of less than 10^3 copies per 500 ng of total DNA are considered negative, while findings of 10^3 to 10^5 copies are considered as low-grade infections. In this investigation, findings were considered positive. There were no higher values found in the investigation, so samples that were moderately infected (10^5 - 10^7) or samples with values above 10^7 copies, which are expected in clinical disease, were not found. If a pool was found positive by PCR, the other half of the lymph nodes from this pool was examined by immunohistochemical investigation.

Statistics

The hypothesis of the investigation was that PCV2 would not be found in lymph nodes from sows.

The investigation was not designed to test whether the frequency of pools of lymph nodes was higher in herds with "low" than in herds with "high" farage percentage.

Resultater og diskussion

I undersøgelsen undersøgte man 103 børe fra søer fra seks besætninger uden reproduktionsproblemer (over 90 % i faringsprocent i andet kvartal i 2016) og 135 børe fra søer fra seks besætninger med reproduktionsproblemer (under 85 % i faringsprocent i andet kvartal i 2016) (Schultz og Jensen, 2017). Der blev udtaget lymfeknuder fra 153 af de 238 indsendte børe.

Resultaterne for undersøgelse af pools for PCV2 med PCR fremgår af Tabel 2. I forhold til DTU-Veterinærinstituttets anbefalinger anvendte man en lav grænseværdi ved definition af en positiv prøve. Dette skyldes ønsket om med sikkerhed at kunne påvise en enkelt inficeret lymfeknude i en pool trods fortynding med andre negative lymfeknuder. Ved planlægningen var det ikke forventet, at man kunne påvise PCV2 i lymfeknuder fra søer.

Tabel 2. Resultater pr. besætning ved PCR-undersøgelse af pools af lymfeknuder for PCV2

Besætning	Faringsprocent	Antal søer undersøgt ved PCR	Antal pools undersøgt ved PCR	Antal pools positive for PCV2 ved $> 10^3$ kopier/gram
322	Lav	6	3	0
323	Lav	17	4	3
324	Lav	3	1	0
325	Lav	10	2	2
331	Lav	14	3	1
332	Lav	43	7	6
326	Høj	12	5	1
327	Høj	12	6	2
328	Høj	14	4	0
329	Høj	2	1	1
330	Høj	3	1	0
353	Høj	17	1	1
12 besætninger		153	38	17 positive

Der blev undersøgt 38 pools ved PCR, og heraf var 17 pools med i alt 92 halve lymfeknuder positive. Alle positive pools var "lavgradigt positive", da antallet af genkopier var 10^3 i 15 og 10^4 i to af de positive pools. Otte af undersøgelsens 12 besætninger havde mindst én lavgradig inficeret pool. Chancen for at finde en positiv pool i en besætning stiger, hvis antallet af undersøgte pools eller antal lymfeknuder i poolen stiger. Der blev undersøgt én til syv pools pr. besætning, og de enkelte pools indeholdt fra 1-17 lymfeknuder. De fleste pools indeholdt 3-5 lymfeknuder. Desuden undersøgte man blot 1 pool i fire af besætningerne. Der var én besætning i hver gruppe, hvor mindst 3 pools blev undersøgt, og hvor alle pools var negative.

Immunohistokemisk undersøgelse på de enkelte lymfeknuder fra positive pools

Fra de positive pools blev de 92 enkeltfikserede halve lymfekirtler undersøgt ved immunohistokemisk undersøgelse. Denne metode er mindre følsom (sensitiv) end PCR ved en lav mængde PCV2 i lymfeknuderne. Metoden forventes dog at være meget sikker ved påvisning af virus, idet der kan skelnes imellem naturlig infektion, hvor virus findes inde i cellerne, og overførsel af virus ved slagting og håndtering af børen, hvor virus findes uden for cellerne. Ved immunohistokemisk undersøgelse blev der påvist PCV2 i fire af de i alt 92 undersøgte halve lymfeknuder. Der blev fundet to positive lymfeknuder fra én af besætningerne med lav faringsprocent og én positiv lymfeknude i to af besætningerne med høj faringsprocent. De fire inficerede lymfeknuder fordelte sig med tre lymfeknuder fundet i de 15 pools med 10^3 genkopier pr. gram og én positiv lymfeknude fra én af de to pools med 10^4 pr genkopier pr. gram.

Resultaterne i denne undersøgelse er interessante, da påvisningen af PCV2 i lymfeknuder fra børen hos søer var uventet. Ved immunohistokemisk undersøgelse blev fundet bekræftet ved fund af inficerede lymfeknuder i fire af de 17 pools. Dette fund bekræfter forekomsten af PCV2 i lymfeknuder hos søer men antyder, at kun få af søerne var så inficerede, at PCV2 kunne påvises ved immunohistokemisk undersøgelse. Grænseværdierne for, hvornår et fund af PCV2 er kritisk, bør afklares, herunder skal sikkerheden ved diagnostik på lymfeknuder ved henholdsvis PCR og immunohistokemisk undersøgelse undersøges. Det er ikke muligt ud fra denne begrænsede undersøgelse at angive, hvor mange lymfeknuder der bør undersøges fra hver so, og hvor mange børe der bør undersøges for at opnå god sikkerhed ved undersøgelsen.

Indtil disse spørgsmål er afklaret, bør PCV2-infektion overvejes som én af mange årsager til omløbning / lav faringsprocent. Inden vaccination igangsættes, kan man lave USK på et antal udsættersøer. USK vil afklare, om der findes andre sandsynlige årsager til omløberproblemet, som bør håndteres først. I forbindelse med USK kan man undersøge lymfeknuder fra søerne og på baggrund af resultatet overveje, om det vil være relevant at igangsætte vaccination imod PCV2.

Konklusion

Ved at undersøge 38 pools af lymfeknuder fra 153 sobøre ved PCR blev der påvist 17 pools, som var lavgradig positive for PCV2. Søerne kom fra besætninger, som var udvalgt efter en lav (< 85 %) eller høj (> 90 %) faringsprocent. Der blev påvist positive pools af lymfeknuder fra begge typer af besætninger. Ved undersøgelse af enkelte lymfeknuder fra de positive pools ved immunohistokemisk undersøgelse blev fundet bekræftet i fire af lymfeknuderne. To af de fire positive lymfeknuder var fra søer fra besætninger med lav faringsprocent, og to lymfeknuder var fra besætninger med høj faringsprocent.

Der bør ikke være PCV2 i lymfeknuder fra søer, men betydningen for reproduktionsresultaterne af, at der er PCV2 i lymfeknuderne kendes ikke. Det er fortsat uklart, om fund af PCV2 i børen bør lede til

vaccination af soholdet. Hvis man overvejer at vaccinere soholdet imod PCV2 på grund af reproduktionsproblemer, kan man undersøge bødrene fra en række omløbere ved USK og herunder få udtaget lymfeknuder til undersøgelse for PCV2. USK kan ofte vise, om andre forhold forklarer omløbningerne, mens undersøgelse for PCV2 indikerer, om dette virus er hyppigt hos omløberne.

Referencer

Castro, A., Cruz, T. F., Salgado, V. R., Kanashiro, T. M., Ferrari, K. L., Araujo Jr, J. P., Brandão, P. E. and Richtzenhain, L. J. (2012). Detection of porcine circovirus genotypes 2a and 2b in aborted fetuses from infected swine herds in the State of São Paulo, Brazil. <i>Acta Veterinaria Scandinavica</i> . 54, 29.
Larsen, L. E.; Hjulsager, C. K. 2017. Porcint cirkovirus 2 (PCV2). DTU veterinærinstituttets hjemmeside. Forside › Diagnostik › › Sygdomme A-Z › › Porcint cirkovirus type 2 (PCV2) http://www.vet.dtu.dk/Diagnostik/Sygdomme-A-Z/Porcinecirkovirus-type2-PCV2 28/4-2017
Schultz, A.; Jensen, L. M. 2017. Case-kontrol studie af udsatte søer fra miljøer med lav og høj faringsprocent. Veterinært speciale. Københavns Universitet, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet.
Kristensen, C. S. og Bach-Mose, K. 2009. Pcv2 og betydning for reproduction. Notat nr. 1309. Svineproduktion. 7 pp.
Tischer, I., Rasch, R. & Tochtermann, G. 1974, Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. <i>Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A</i> , 226, 153–167 (1974).

Deltagere

Professor Lars Erik Larsen, seniorrådgiver Charlotte Kristiane Hjulsager og professor Tim Kåre Jensen, DTU Veterinærinstituttet.

Professor Henrik Elvang, Sektion for Experimental Animal Models, Institut for Veterinær- og Husdyrvidenskab, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet.

Dyrlæge Anne Schultz, Vet-team

Dyrlæge Lars Morten Jensen, Porcus

Afprøvning nr. 1508
Aktivitetsnr.:075-110400

//CSK//



Tlf.: 33 39 45 00

svineproduktion@seges.dk

Ophavsretten tilhører SEGES. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

SEGES er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.