



# BETYDNINGEN AF LAWSONIA OG PCV2 VIRUS FOR DAGLIG TILVÆKST HOS SLAGTESVIN

MEDDELELSE NR. 902

Grise med mere end én million Lawsonia bakterier i gødningen er ofte en gris med nedsat tilvækst i slagtesvineperioden. Der kunne ikke påvises nogen effekt af PCV2 virus på tilvæksten i denne undersøgelse

---

INSTITUTION: VIDENCENTER FOR SVINEPRODUKTION, DEN RULLENDE AFPRØVNING

FORFATTERE: MARKKU JOHANSEN

MAI-BRITT FRIIS NIELSEN

JAN DAHL

BIRGITTA SVENSMARK

POUL BÆKBO

CHARLOTTE SONNE KRISTENSEN

CHARLOTTE KRISTIANE HJULSAGER<sup>2</sup>

TIM K. JENSEN<sup>2</sup>

MARIE STÅHL<sup>2</sup>

LARS E. LARSEN<sup>2</sup>

ØYSTEIN ANGEN<sup>2</sup>

UDGIVET: 4. OKTOBER 2011

Dyregruppe: Slagtesvin

Fagområde: Sundhed, Veterinært

# Sammendrag

Resultaterne af denne undersøgelse viser at:

- Grise med store mængder Lawsonia i gødningen ( $\geq 10^6$ /gram gødning) har større risiko (OR=5,2) for at være en langsomt voksende gris.
- Grise med synlige tarmforandringer har større risiko (OR=13,2) for at være en langsomt voksende gris.
- Grise med diarré har større risiko (OR=10,1) for at være en langsomt voksende gris.

Derimod kunne der ikke påvises nogen sammenhæng mellem mængden af PCV2 virus, antistoffer mod PCV2 virus eller påvisning af PCV2 virus ved immunhistokemi i tarmlymfeknude og tilvæksten hos grise.

Undersøgelsen er gennemført i 5 slagtesvinebesætninger. I hver besætning blev 60 grise fordelt på 4 stier øremærket og vejjet efter indsættelse i slagtesvinestalden. Grisene blev fulgt i 6-8 uger hvorefter de blev vejjet igen. Grisene blev undersøgt med 14 dages mellemrum. Ved hver besøg blev der udtaget blodprøver, gødningsprøver og grisenes huld blev vurderet. Gødningsprøverne blev vurderet visuelt inden de sammen med blodprøverne blev frosset ned ved minus 80 °C.

På den sidste prøvedag blev 5 langsomt voksende grise og 5 hurtigt voksende grise aflivet. De udtagne prøver af de aflivede grise blev undersøgt for PCV2-virus i blod og gødning, Lawsonia i gødning ved real-time PCR specifik for hhv. PCV2 og Lawsonia<sup>2,3</sup> og antistoffer mod de to smitstoffer.. Endvidere blev tarmene fra de aflivede grise undersøgt og scoret makroskopisk på Laboratoriet for Svinesygdomme i Kjellerup. Der blev udtaget materiale til histologi og påvisning af antigener mod PCV2 virus og Lawsonia på DTU-Veterinærinstituttet.

For hver gris blev den maksimalt målte værdi af Lawsonia og PCV2 virus mængde i gødning og antistoffer mod de to sygdomme brugt som forklarende variabel. Sammenhængen til hurtigt/langsomt voksende grise for de maksimalt målte værdier blev undersøgt ved statistisk analyse.

## TILSKUD

" Projektet har fået tilskud fra Svineafgiftsfonden Projekt ID: VSP09/10/75.1; "Udvik. og validering af diagnostik" og Fødevareministeriets Innovationslov Journalnr.: 3412-08-02226  
"Diagnostik og reduktion af diarré sygdomme hos svin"

# Baggrund

I en ældre dansk undersøgelse blev *Lawsonia* påvist i 93,7 % af de undersøgte besætninger [1]. *Lawsonia*-bakteriens tilstedeværelse i besætningen er ikke ensbetydende med klinisk sygdom, men det antages, at den i samspil med andre smitstoffer og fodringsforhold disponerer for tarmbetændelse med diarré og nedsat tilvækst til følge.

Danske undersøgelser tyder på, at udskillelsen af *Lawsonia* i mange besætninger toppe i perioden, når grisene er cirka 12 uger gamle [2]. I mange besætninger er det nødvendigt at behandle grise 2-4 uger efter fravæning for at undgå et stort antal tilfælde af tarmbetændelse, noget der tyder på *lawsonia*-infektion senere i smågriseperioden eller efter indsættelse i slagtesvinestalden. I mange besætninger har dette medført behandlingsrutiner med antibiotika, som ikke tidligere var nødvendig. Der er derfor set en stigning i forbruget af de typer af antibiotika, som anvendes mod *Lawsonia*.

PCV2 virus forekommer sandsynligvis i de fleste svinebesætninger uden at den af den grund er årsag til sygdomsproblemer [3]. Ved obduktion af grise kan det ved makroskopisk undersøgelser (dvs. påvisning af umiddelbart synlige sygdomsforandringer) alene af tarmen ikke afgøres om der er tale om en *Lawsonia* eller PCV2 virus infektion [4]. Selvom PCV2 virus kan påvises ved forandringer i tarmen er dens udbredelse og betydning for diarré ikke afklaret. Af hensyn til korrekt behandling er det vigtigt at vide om forandringer i tarmen skyldes *Lawsonia* eller PCV2 virus. Ved *Lawsonia* infektion vil *Lawsonia* vaccination eller egnede antibiotika have effekt. Hvis der derimod er tale om PCV2 virus som årsag til diarré kan PCV2 vaccination være en mulighed, hvorimod antibiotika ikke kan forventes at have en effekt.

Afprøvningens formål var at vurdere sammenhængen mellem laboratorieundersøgelser for *Lawsonia* og PCV2 virus og sygdom og tilvækst hos slagtesvin. Det blev gjort ved at teste følgende hypoteser:

1. Der er forskel i den maksimalt målte værdi af *Lawsonia* i gødning, PCV2 virus i blod eller gødning, eller antistoffer mod de to smitstoffer i langsomt (syge) og hurtigt (raske) voksende grise.
2. Der påvises hyppigere makroskopiske eller mikroskopiske forandringer i tarmen samt *Lawsonia* og PCV2 virus i tarmlymfeknuder i langsomt voksende grise end i hurtigt voksende grise.
3. Der påvises hyppigere diarré i langsomt voksende grise end i hurtigt voksende grise

# Materiale og metode

## Udvælgelse af besætninger

Slagtesvinebesætninger til undersøgelsen blev efterlyst via malingliste for dyrlæger. De praktiserende dyrlæger udtog efter indstillingen blodprøver i slagtesvinebesætninger med diarréproblemer. Der blev udtaget blodprøver i 10 besætninger hvor der blev undersøgt for antistoffer mod Lawsonia (Elisa) [5] og PCV2 virus [6]. I hver besætning blev ti styk 30 kilos grise, fem styk 50 kilos grise og fem styk 90 kilos grise blodprøvet.

Blandt de 10 undersøgte besætninger blev 5 udvalgt. Kriteriet for udvælgelsen var at grisene hovedsagligt blev smittet med Lawsonia og PCV2 i slagtesvineperioden. Derfor skulle grisene ved 30 kg være negative eller have lave niveauer af antistoffer mod Lawsonia og PCV2 i serum. Dannelsen af antistoffer skulle ske så alle prøverne enten var positive ved 50 kg eller 90 kg.

## Gennemførelse af undersøgelserne

I de 5 udvalgte besætninger blev der udtaget blod og gødningsprøver 4-5 gange fra indsættelsen ved 30 kg (10-12 uger gamle) med ca. 2 uger mellemrum. Der blev testet ca. 60 grise i hver besætning fordelt på 4 stier. Gødningsprøver blev udtaget fra endetarmen og scoret på en skala fra 0-3, hvor 3 er normal gødning, 2,5 = halvtynd, 2 = tynd, 1,5 = halvt vandigt, 1 = vandig og 0 = vanding + misfarvet gødning. Ved hvert besøg blev grisenes huld vurderet på en skala fra 0-4, hvor 4 var normal huld, 3 = lidt tynd, 2 = tynd, 1 = meget tynd og 0 = afmagret. Ved første og sidste besøg blev grisene vejede i en elektronisk slagtesvinevægt eller elektronisk brovægt. På den sidste prøvedag blev 5 langsomt voksende grise og 5 hurtigt voksende grise aflivet.

## Udvælgelse af langsomt og hurtigt voksende grise til aflivning

Som udgangspunkt blev små og utrivelige (langsomt voksende) grise anset for at være repræsentanter for syge grise ligesom de største (hurtigt voksende) grise blev anset for at være repræsentanter for raske/normale grise. Grise som havde kliniske tegn på andre sygdomme som f.eks. halebid, halthed eller lungebetændelse blev ikke udvalgt til aflivning. Da der i nogle besætninger var stor spredning i indsættelsesvægten kunne de små grise også være grise som var de mindste selvom de havde vokset normalt i forhold til indsættelsesvægten.

Som hjælp til at udpege grise som voksede langsomt /hurtigt i slagtesvineperioden og tage højde for indsættelsesvægten blev den forventede slutvægt estimeret ved hjælp af Compertz væksthfunktion ud fra besætningens gennemsnitlige tilvækst, antal dage i undersøgelsesperioden og grisenes startvægt [7]. Langsomt voksende grise blev udvalgt blandt grise som vejede ca. 10 kg mindre end den estimerede slutvægt. Hurtigt voksende grise vejede minimum den estimerede slutvægt og typisk ca. 5-10 kg mere.

## Obduktionsundersøgelse

De aflivede grise blev enten obduceret på Laboratoriet i Kjellerup eller tarmene blev udtaget og bragt til Kjellerup.

## Laboratorieundersøgelser

De udtagne prøver af de aflivede grise blev undersøgt for PCV2-virus i blod og gødning, Lawsonia i gødning ved real-time PCR specifik for hhv. PCV2 og *L. intracellularis*.<sup>2,3</sup> og antistoffer mod de to smitstoffer ved ELISA. Endvidere blev tarmene fra de aflivede grise undersøgt og scoret makroskopisk på Laboratoriet for Svinesygdomme i Kjellerup. De makroskopiske forandringer blev scoret på en skala fra 0-3 hvor 0 = normale tarme, 1 = lette forandringer af tarmen op til 25 cm, 2 = moderate forandringer af tarmen 25-50 cm, 3 = svære forandringer over 50 cm. Længde. Der blev udtaget materiale til histologi og påvisning af antigener mod PCV2 virus og Lawsonia på DTU-Veterinærinstituttet. Mængden af antigener for PCV2 virus blev scoret på en skala fra 0-3 hvor 0 var ingen antigener, 1 = få antigener, 2 = moderat antal antigener og 3 = mange antigener. I vurderingen af Lawsonia indgik dels mængden af Lawsonia antigener scoret som for PCV2 virus og dels læsioner i H&E farvning på en skala fra 0-3 hvor 0 var normale tarme, 1 = lette forandringer af tarmen, 2 = moderate forandringer i tarmen og 3 = udtalte forandringer i tarmen.

## Statistik

Alle de statistiske beregninger tager udgangspunkt i opdelingen af grisene i fem langsomt og fem hurtigt voksende grise. I hver besætning er median, minimum og maksimum for gennemsnitlig daglig tilvækst beregnet for de to grupper. Til illustration af udviklingen af de to infektioner er median af Lawsonia og PCV2 virus mængde i gødning og antistoffer mod de to sygdomme vist på de forskellige prøveudtagnings tidspunkter.

For hver gris blev den højeste målte værdi for mængden af Lawsonia og PCV2 virus i gødning og antistoffer mod de to sygdomme brugt som forklarende variabel. Mængden af Lawsonia og PCV2 virus blev målt på en Log<sub>10</sub> skala. Antistoffer mod Lawsonia blev målt som en OD % og for PCV2 som log<sub>10</sub> (titer). Det undersøges både om der er en lineær sammenhæng mellem mængden af smitstoffer/antistoffer og hurtigt/langsomt voksende grise, samt om mængden af smitstoffer/antistoffer skal over en tærskelværdi ved at dele smitstoffer/antistoffer i flere kategorier. Sammenhængen til hurtigt/langsomt voksende grise for de maksimalt målte værdier som kontinuerlige variable blev testet ved logistisk regression med besætning som kovariate. På grund af usikkerhed ved lave mængder blev der kun medtaget værdier over 10<sup>4</sup> for Lawsonia og 10<sup>3</sup> for PCV2 i analysen som kontinuerlig variabel. De maksimalt målte værdier testet som kategoriske variable i 2x2 tabeller ved Chi i anden test, hvor der blev stratificeret for besætning (Cochran-Mantel-Haenszel).

Lawsonia og PCV2 virus mængden i blod og gødningen blev omdannet til en række kategoriske variable med to niveauer (over/under en skæringsværdi (cutoff)). Cutoff værdierne blev valgt med

spring på én log10 enhed. ( $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  etc.). Ved for eksempel en Cutoff på  $10^4$  Lawsonia bakterier per gram gødning optælles antallet af grise med mere end  $10^4$  Lawsonia bakterier og mindre end  $10^4$  Lawsonia bakterier blandt hhv. langsomt og hurtigt voksende grise. Denne fremgangsmåde gennemføres for alle skæringsværdier. Antistoffer mod Lawsonia og PCV2 virus blev undersøgt med skæringsværdier ved pos/neg, 25 % kvartil, median og 75 % kvartil. Gødningsscore blev undersøgt med skæringsværdier ved  $\leq 1,0$ ;  $\leq 1,5$ ;  $\leq 2,0$ . Forekomsten af synlige tarmforandringer, påvisning af Lawsonia i tarmen og PCV2 virus i tarm eller tarmlymfeknuder blev kategoriseret som positiv hhv. negativ.

Resultaterne er vist som Odds Ratio (OR) som er en slags relativ risiko samt 95 % konfidensintervaller (95 % CI). Hvis 95 % CI indeholder værdien én så er resultatet ikke statistisk signifikant på 5 % niveau. Hvis  $OR=2$  så stiger Odds Ratio med 2 for hver enheds stigning hvis der er tale om en kontinuerlig variabel. Ved en kategorisk variable med to niveauer angiver Odds Ration den "relative risiko" mellem to grupper for at være en langsomt voksende gris.

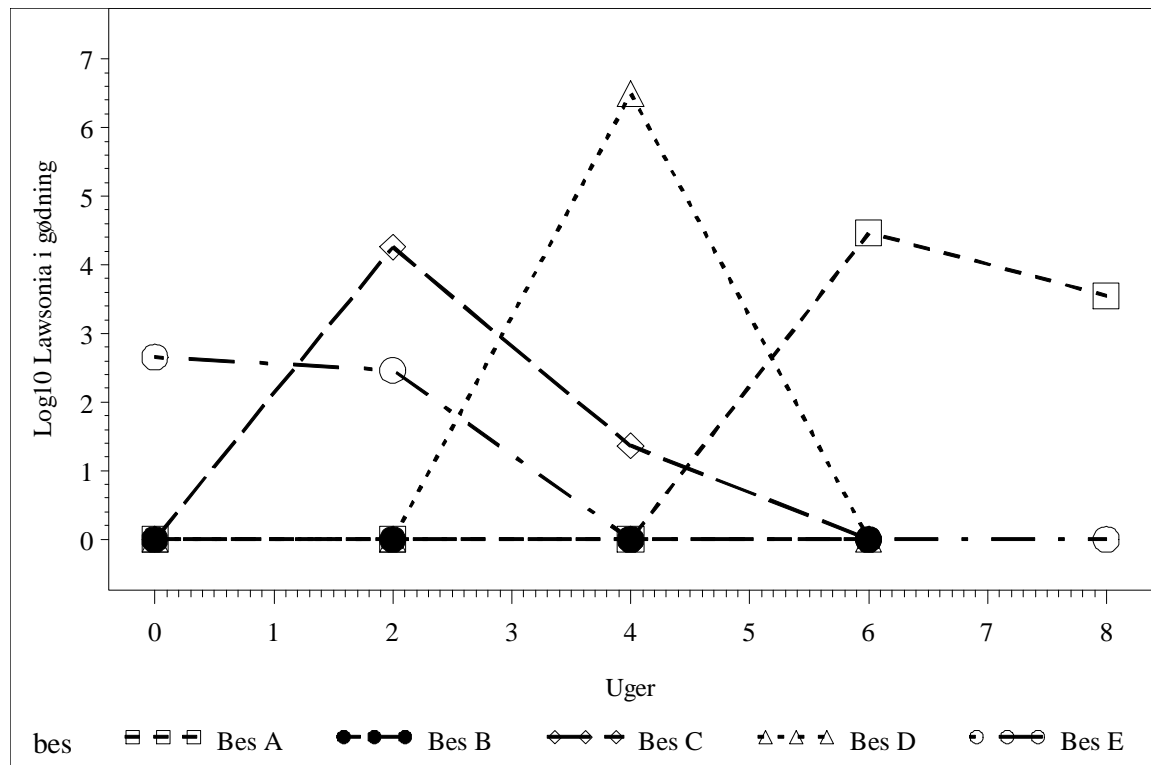
**Tabel 1.** Gennemsnitlig daglig tilvækst i hurtigt og langsomt voksende grise i de fem udvalgte besætninger

Besætning	Kategori	Antal grise	Daglig tilvækst, g/dag		
			Median	Minimum	Maksimum
A	Hurtigt voksende	5	1115	1115	1135
	Langsomt voksende	5	942	865	981
B	Hurtigt voksende	5	714	714	738
	Langsomt voksende	5	452	262	571
C	Hurtigt voksende	5	1048	976	1119
	Langsomt voksende	5	405	167	500
D	Hurtigt voksende	5	930	907	977
	Langsomt voksende	6	236	000	442
E	Hurtigt voksende	5	977	860	1209
	Langsomt voksende	5	698	558	721

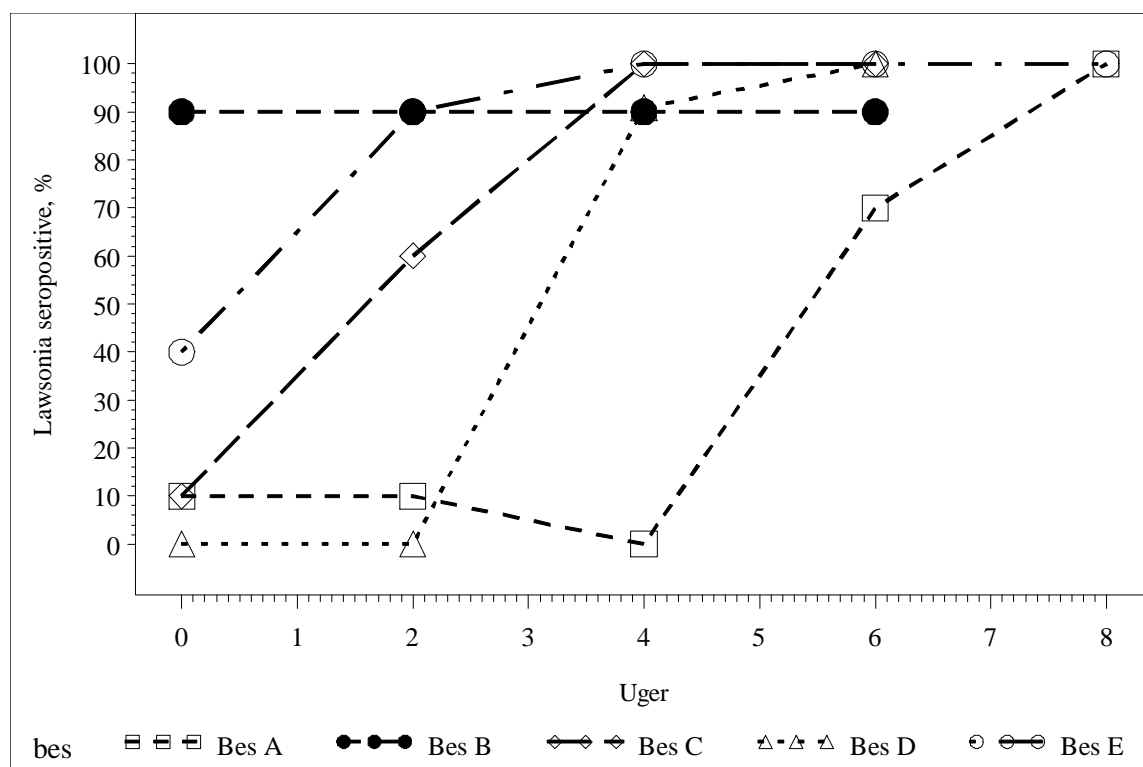
# Resultater og diskussion

## Daglig tilvækst i langsom/hurtigt voksende grise

Udvælgelsen af langsom/hurtigt voksende grise resulterede i to klart adskilte grupper i hver besætning. Median for daglig tilvækst for de hurtigt voksende grise lå mellem 930 -1135 g/dag. Tilvækst niveauet i besætningerne var forskellige. Derfor kunne en langsom voksende grise i en besætning vokse hurtigere end en hurtigt voksende gris i en anden besætning. I besætning B blev grisene behandlet med tiamulin mod luftvejslidelser umiddelbart efter indsættelse i afprøvningen og blev derfor ekskluderet fra de statistiske analyser.



Figur 1. Lawsonia mængden i gødning som median i 10 aflivede grise i fem besætninger.



Figur 2. Lawsonia antistoffer som procent positive i 10 aflivede grise i fem besætninger

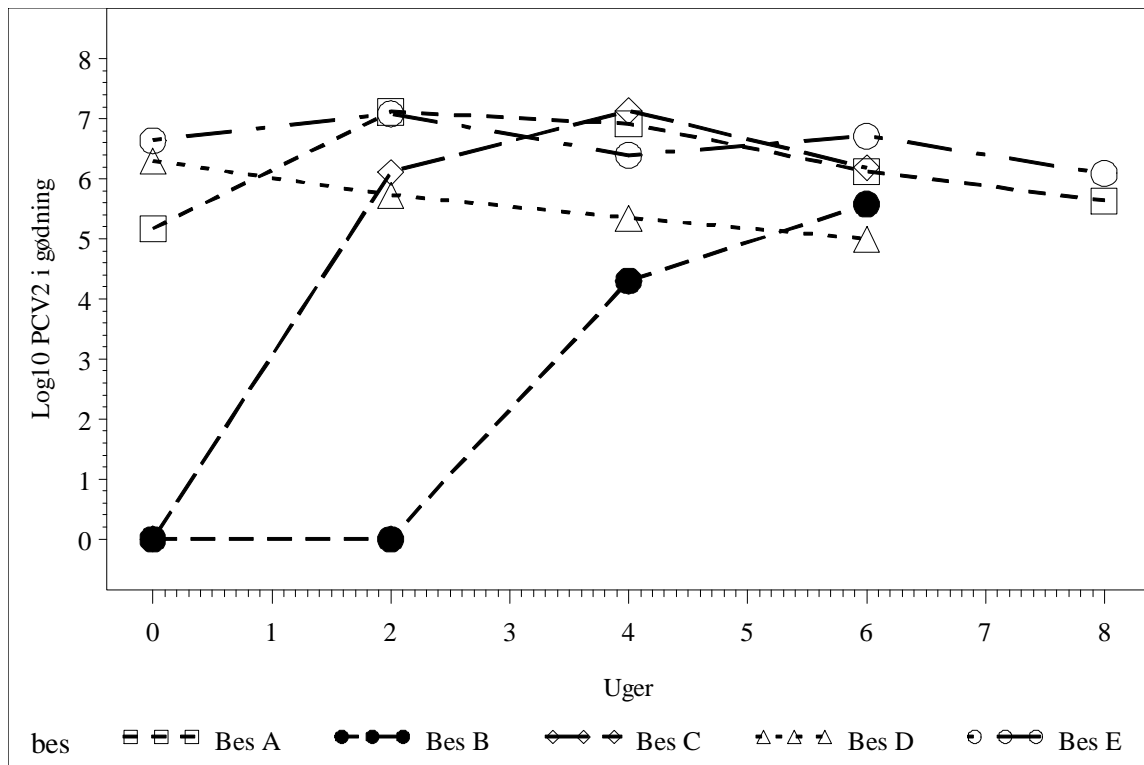
### Udskillelse af Lawsonia og PCV2 virus i gødningen i aflivede grise

Påvisning af Lawsonia og PCV2 virus i gødningen viser at begge infektioner er til stede i min 90 % af grisene i besætning A, C, D og E. I besætning B kunne Lawsonia kun påvises i 30 % af grisene - sandsynligvis på grund af antibiotikabehandling. I den enkelte besætning toppede udskillelsen af Lawsonia og PCV2 virus i hurtigt/langsomt voksende grise nogenlunde samtidigt. I besætning A, C og D toppede Lawsonia infektionen i observationsperioden henholdsvis 6, 2 og 4 uger efter forsøgsstart (Figur 1). I besætning E var Lawsonia mængden i gødningen størst ved starten af observationsperioden. Dette tyder på at infektion har været til stede i besætning E inden grisene blev indsat i slagtesvinestalden. I besætning B blev grisene behandlet med tiamulin og sandsynligvis derfor er niveauet af Lawsonia i gødningen lavt sammenlignet med de andre besætninger. I besætning A, C og D steg andelen af Lawsonia seropositive grise fra 0-10 % til 100 %. I besætning E var stigningen fra 40 % til 100 % og i besætning B var der 90 % positive ved alle målinger (Figur 2).

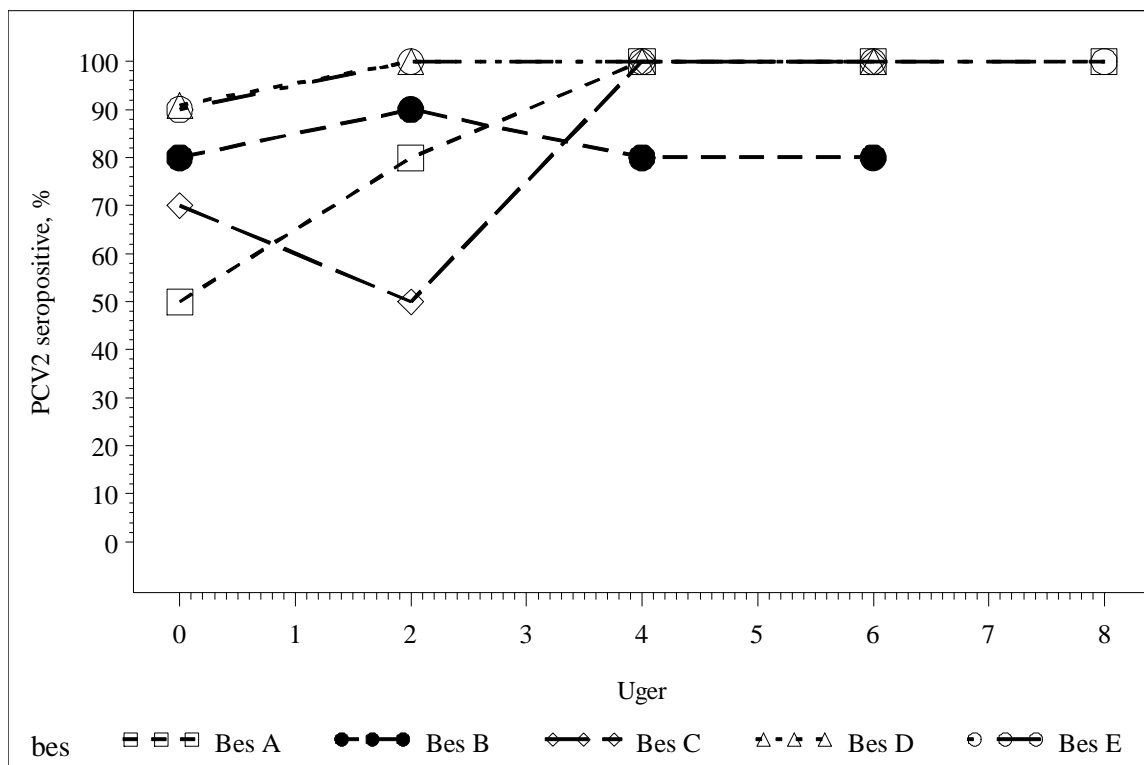
Udskillelsesmønsteret for PCV2 virus i gødning var mindre tydeligt end for Lawsonia (Figur 3). I besætning A, B og C skete der en tydelig stigning udskillelse af PCV2 i gødningen. I besætning D faldt udskillelsen fra  $10^{6.3}$  til  $10^5$ . I besætning E svingede udskillelsen mellem  $10^6$  og  $10^7$ .

Ved starten af forsøgsperioden var mellem 50-90 % af grisene seropositive for PCV2 virus. Dette kan tyde på at grisene allerede er smittede inden de indsættes i slagtesvinestalden. Med undtagelse af besætning B var 100 % af grisene seropositive samtidigt i løbet af forsøgsperioden (Figur 4).





Figur 3. Median af PCV2 virus mængde i gødning i 10 aflivede grise i fem besætninger



Figur 4. PCV2 virus antistoffer som procent positive i 10 aflivede grise i fem besætninger

### Laboratorieværdier som kontinuierlig variabel

Analysen af sammenhæng mellem langsomt/hurtigt voksende grise og den højst målte værdi af Lawsonia i gødning, Lawsonia antistoffer i serum, PCV2 i gødning og PCV2 virus antistoffer i serum viste kun en signifikant effekt af Lawsonia i gødning (OR=2,03). OR for de øvrige variable lå mellem 1,01-1,65, men var ikke statistisk signifikante (Tabel 2).

**Tabel 2.** Sammenhæng mellem langsomt voksende grise og den højst målte værdi af Lawsonia i gødning, Lawsonia antistoffer i serum, PCV2 i gødning og PCV2 virus antistoffer som kontinuierlig variabel

Variabel	Estimeret Odds Ratio	95 % Confidence interval
Log10 Lawsonia mængde i gødning	2,03	1,08-3,81
Lawsonia antistoffer i serum	1,01	0,99-1,03
Log10 PCV2 virus mængde i blod	1,45	0,77-2,74
Log10 PCV2 virus mængde i gødning	1,38	0,61-3,10
Log10 PCV2 virus titer i serum	1,65	0,66-4,16

### Laboratorie værdier som kategorisk variabel

Analysen af Lawsonia mængden i gødning som kategorisk variabel viste at Lawsonia mængder  $\geq 10^6$ /gram gødning var statistisk signifikant associeret med lav tilvækst (OR = 5,2) – Tabel 3.

Synlige forandringer i tarmen var statistisk signifikant associeret med lav tilvækst (OR = 13.2). Der var ingen sammenhæng mellem påvisning af Lawsonia ved immunhistokemi i tarm eller Lawsonia antistoffer og lav tilvækst. Resultaterne er vist i Tabel 3.

Grise med diarré (gødningsscore  $\leq 2$ ) havde større risiko for at være en langsomt voksende gris (OR = 10,1). Se Tabel 3.

**Tabel 3.** Sammenhæng mellem langsomt voksende grise og gødnings score og laboratorieresultater for Lawsonia som kategorisk variabel

Parameter	Ja/Nej	Antal langsomt voksende grise	Antal hurtigt voksende grise	Odds Ratio	95 % CI
Antistoffer mod Lawsonia (OD %) $\geq$ 81 (tredje kvartil)	Ja	7	4	2,3	0,5 – 11,1
	Nej	14	16		
Lawsonia mængde $\geq$ $10^6$ /gram gødning	Ja	15	7	5,2	1,3 – 21,1
	Nej	6	13		
Synlige forandringer i tarmen	Ja	18	6	13,2	2,3-76,7
	Nej	3	14		
Lawsonia påvist ved immunhistokemi i tarm	Ja	13	9	2,0*	0,6 – 6,9
	Nej	8	11		
Diarré, gødnings score $\leq$ 2	Ja	18	8	10,1	1,9 -52,9
	Nej	3	12		

\* besætningseffekt ikke med

Analysen af laboratorieresultater for PCV2 virus som kategorisk variabel viste ingen sammenhæng med lav tilvækst. Resultater for PCV2 antistoffer  $>$  Log<sub>10</sub> 4,5 (tredje kvartil), PCV2 virus i gødning  $\geq$   $10^7$ /gram og påvisning af PCV2 virus ved immunhistokemi er vist i Tabel 4. Den manglende sammenhæng mellem PCV2 virus og nedsat daglig tilvækst kan måske skyldes at mange af grisene allerede smittes inden indsættelse i slagtesvinestalden.

**Tabel 4.** Sammenhæng mellem lav tilvækst i slagtesvin og laboratorieresultater for PCV2 virus som kategorisk variabel

Parameter	Ja/Nej	Antal langsomt voksende grise	Antal hurtigt voksende grise	Odds Ratio	95 % CI
Antistoffer mod PCV2 virus i serum $\geq 10^{4,5}$ I (tredje kvartil)	Ja	10	8	1,4	0,4 - 5,1
	Nej	11	12		
PCV2 virus mængde i gødning $\geq 10^7$ /gram	Ja	13	14	0,8	0,2 - 2,8
	Nej	8	6		
PCV2 virus påvist ved immunhistokemi i tarmlymfeknude	Ja	9	9	1,0	0,3 - 3,4
	Nej	12	11		

## Konklusion

Resultaterne af denne undersøgelse viser at:

- Grise med store mængder Lawsonia i gødningen ( $\geq 10^6$ /gram gødning) har større risiko (OR=5,2) for at være en langsomt voksende gris.
- Grise med synlige tarmforandringer havde større risiko (OR=13,2) for at være en langsomt voksende gris.
- Grise med diarré havde større risiko (OR=10,1) for at være en langsomt voksende gris.

Derimod kunne der ikke påvises nogen sammenhæng mellem tilvækst hos grise og

- mængden af PCV2 virus i gødning eller blod
- antistoffer mod PCV2 virus eller
- påvisning af PCV2 virus ved immunhistokemi i tarmlymfeknude
- påvisning af Lawsonia i tarm
- antistoffer mod Lawsonia

# Referencer

- [1] Stege, H.; Jensen, T.K; Møller, K.; Bækbo, P. & Jorsal, S.E. (2000). Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Preventive Veterinary Medicine* 46:279-292.
- [2] Vestergaard, K. & Stege, H. (2003). *Lawsonia intracellularis* (LI): Smittedynamik i integrerede so/slagtesvinebesætninger. [Meddelelse nr. 590, Landsudvalget for Svin](#)
- [3] Segalés, J.; Allen, G.M.; Domingo, M., *Porcine Circovirus Disease in Straw*, B., Zimmerman, J.J.; D'Allaire, S.; Taylor, D.J.: *Diseases of Swine*, 9th ed. p. 299-308 , 2006.
- [4] Jensen, T. K; Vigre, H; Svensmark, B.; Bille-Hansen, V.: Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*  
In: *Journal of Comparative Pathology*, vol: 135(4), p. 176-182 (2006). W.B./Saunders Co. Ltd.
- [5] Boesen, H. T., Jensen, T. K., Møller, K., Nielsen, L. H., & Jungersen, G. 2005, "Evaluation of a novel enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of porcine proliferative enteropathy", *Vet. Microbiol.*, vol. 109, no. 1-2, pp. 105-112
- [6] Kristensen, C.S., Bækbo, P. , Bille-Hansen, V., Bøtner, A, Vigre, H. , Enøe, 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* 138: 244–250
- [7] Winsor, C.P. (1932). The Compertz curve as a growth curve, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 18 p. 1-8.