

INOKULERING AF NAIVE OG VACCINEREDE GRISE MED PRRSV-VARIANTEN FRA HORSENS

Charlotte Sonne Kristensen^a, Olivier Bourry^b, Lise K. Kvisgaard^c og Lars E. Larsen^c

^a SEGES Svineproduktion, ^b French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety, ^c Københavns Universitet

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Ved inokulering af en mindre gruppe nyfravænnede grise med PRRSV1-varianten fra Horsens under kontrollerede eksperimentelle forhold viste Horsens-varianten en tendens til lavere tilvækst, højere temperatur og grad af PRRSV-positive grise sammenlignet med et typisk PRRSV1-forløb. Vaccination mod PRRSV1 fire uger før inokulering forhindrede til dels disse ændringer. Der indgik et begrænset antal grise, og derfor beror konklusionerne i denne meddelelse på tendenser observeret ved deskriptiv statistik.

Resultaterne bekræfter observationerne fra de danske besætninger, som blev ramt af PRRSV1-varianten fra Horsens, som oplevede højere tab end andre PRRSV1-varianter ved introduktion i besætninger fri for PRRS, men viser samtidig, at PRRS-vaccination kan have en gavnlig effekt på forløbet.

Sammendrag

Ved inokulation af en mindre gruppe smågrise med PRRSV1-varianten fra Horsens under kontrollerede eksperimentelle forhold gav Horsens-varianten til dels anledning til lavere tilvækst og højere rektal temperatur samt grad af PRRSV-positive grise sammenligning med et typisk PRRSV1-forløb. Vaccination mod PRRSV1 fire uger før inokulering forhindrede til dels disse ændringer. Der indgik dog et begrænset antal grise, hvorfor konklusionerne i denne meddelelse beror på tendenser observeret ved deskriptiv statistik.

I det eksperimentelle forsøg indgik i alt 36 stk., fire uger gamle grise fordelt på seks forskellige grupper, de var opstaldet i seks adskilte staldrum. Grisene i gruppe 1-3 blev ved ankomst vaccineret med én af tre PRRS1-vacciner, mens grise i gruppe 4-6 forblev ikke-vaccineret. Fire uger efter

vaccination blev alle grise i gruppe 1-4 inokuleret via næsen med PRRSV-varianten fra Horsens, grise i gruppe 5 blev inokuleret med en fransk PRRS-variant, og gruppe 6 blev ikke inokuleret.

Der blev ikke observeret kliniske symptomer efter vaccination eller inokulering, men ikke-vaccinerede grise inokuleret med PRRS1-varianten fra Horsens havde en tendens til højere temperatur i dagene efter inokulering samt lavere tilvækst og en højere andel af PRRSV-positive grise. Niveaue af PRRSV i blodet var efter inokulering lavere i de tre vaccinerede grupper (gruppe 1-3) sammenlignet med ikke-vaccinerede grise i gruppe 4. Der blev ikke fundet makroskopiske forandringer ved obduktion, men fra næsten alle grise blev der påvist PRRSV i tonsiller og lungevæv.

Resultaterne bekræfter observationerne fra danske besætninger, som blev ramt af PRRS1-varianten fra Horsens, idet det tyder på, at denne variant er værre end andre PRRS1-varianter. Dog viser resultaterne samtidig, at PRRS-vaccination medfører et mildere forløb.

Baggrund

I juli 2019 blev en PRRS-negativ ornestation fundet PRRS-positiv, og efterfølgende blev flere besætninger smittet med PRRSV via sæd fra ornestationen [1]. En efterfølgende genetisk karakterisering af PRRSV fra ornestationen og de ramte besætninger viste, at der var tale om en ny PRRS1-variant, opstået som en blanding af to PRRSV-vaccinestammer [1]. De ramte besætninger oplevede færre levendefødte grise og højere pattegrisedødelighed i flere måneder efter smitte fra ornestationen [2]. Vurdering af en sygdoms indvirkning på den enkelte besætning kan være vanskelig at vurdere, da management og andre infektioner også har stor indflydelse. Derfor er eksperimentelle forsøg nødvendige for at afgøre, om en given PRRS-variant har større evne til at give alvorlig sygdom i sammenligning med andre varianter. Formålet med denne undersøgelse var derfor at sammenligne PRRSV-varianten fra Horsens med en typisk PRRS1-variant samt at undersøge effekten af tre forskellige PRRS1-vacciner mod PRRSV-varianten fra Horsens i nyfravænnede grise under kontrollerede eksperimentelle forhold.

Materialer og metoder

Det eksperimentelle forsøg blev gennemført i Frankrig i samarbejde med French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES).

I alt indgik 36 grise i forsøget. Grisene var fire uger gamle og stammede fra ANSES' egen SPF-forsøgsbesætning. Grisene var af racen Yorkshire og fri for PRRSV, PCV2, Influenza A, *Actinobacillus pleuropneumoniae* og *Mycoplasma hyopneumoniae*. Grisene blev opstaldet i ANSES' forsøgsfaciliteter i Ploufragan, som har et højt niveau af smittebeskyttelse både eksternt og internt.

Ved ankomst (dag -3) blev grisene fordelt i seks grupper med seks grise i hver gruppe (Tabel 1). Hver gruppe var opstaldet i sit eget staldrum, der bestod af to stier med tre grise i hver. Alle 36 grise fik isat et unikt øremærkenummer. De blev foderet ad libitum med en fravænningsblanding de første 40 dage og derefter med en vækstblanding, indtil forsøget blev afsluttet. Der var ikke tilsat ekstra zink til de to blandinger, og ingen grise blev behandlet med antibiotika.

Grisene i gruppe 1-3 blev vaccineret tre dage efter ankomst (dag 0) med enten Suvaxyn PRRS MLV, Unistrain®PRRS eller Porcilis®PRRS som beskrevet i indlægssedlen for den enkelte vaccine (Tabel 1).

Tabel 1. Vaccination og inokulering i de seks grupper i det eksperimentelle forsøg.

Gruppe	Antal grise	Vaccination	Inokulering
1 (SUV)	6	Suvaxyn PRRS MLV	PRRSV-variant fra Horsens
2 (UNI)	6	Unistrain@PRRS	PRRSV-variant fra Horsens
3 (PORCI)	6	Porcilis@PRRS	PRRSV-variant fra Horsens
4 (REC)	6	Ingen vaccination	PRRSV-variant fra Horsens
5 (REF)	6	Ingen vaccination	PRRSV-variant fra Frankrig
6 (CTRL)	6	Ingen vaccination	Ingen Inokulering

Fire uger efter vaccinationerne (dag 28) blev alle grise i gruppe 1-4 inokuleret via næsen med PRRSV-varianten fra Horsens. Gruppe 5 blev inokuleret via næsen med en fransk PRRSV-variant [3], og gruppe 6 forblev som negativ kontrol (Tabel 1).

Grisene blev dagligt observeret for kliniske tegn på sygdom. På dag 0-3, 4, 7-8, 11, 15, 18, 21, 24, 28-38, 42, 44, 49, 52-53 og 56 blev temperaturen målt på samtlige grise, der ligeledes blev vejlet ved ankomst, inokulering og før aflivning. På baggrund af vejningerne blev den daglige tilvækst beregnet.

Blodprøver blev indsamlet fra samtlige grise på dag -3, 7, 14, 24, 31, 36, 42, 49 og 56. Blodprøverne blev straks efter udtagning centrifugeret, serum blev separeret fra og frosset ved -80 °C før transport til Københavns Universitet (KU). På KU blev samtlige serumprøver undersøgt for PRRSV1 ved RT-qPCR (PCR) [4] samt for antistoffer med PRRSV ved ELISA (IDEXX PRRS X3 Ab Test).

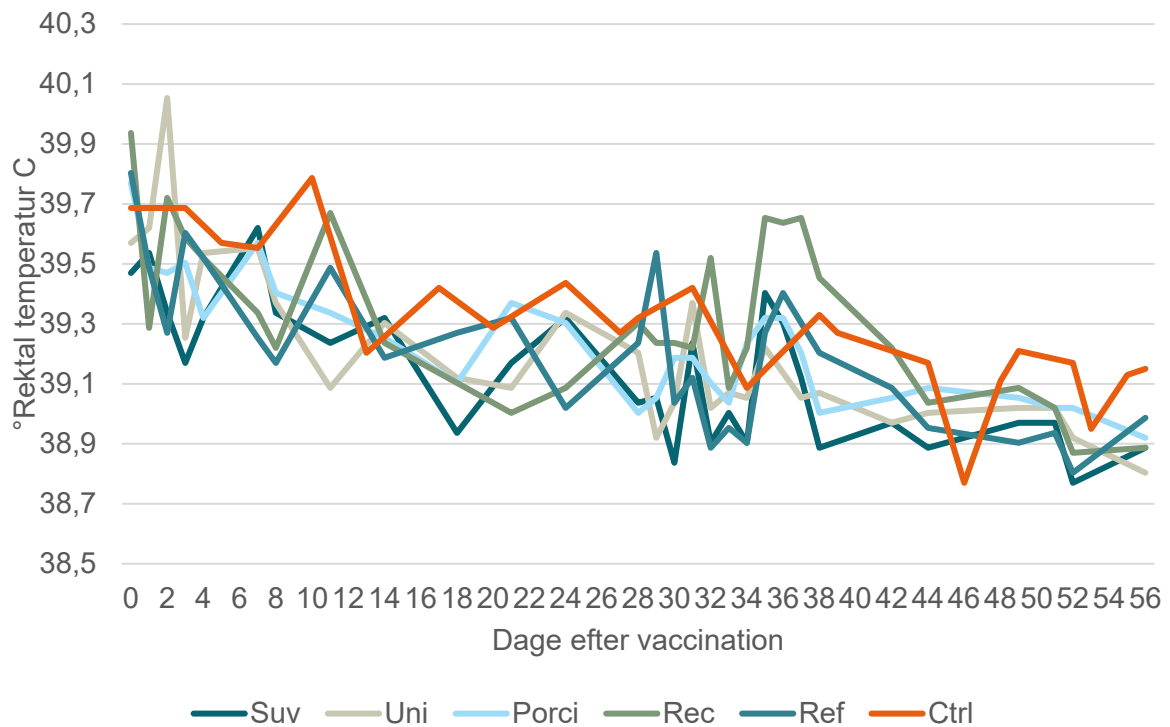
Alle grisene blev aflivet ca. fire uger efter inokulering. Der blev foretaget en overordnet inspektion af grisen, og ydre og indre organer og patologiske fund blev beskrevet. Tonsiller (mandler) og lunger blev udtaget fra alle grise ved obduktionen. Vævsprøven blev frosset ved -80 °C inden transport til KU. På KU blev vævsprøverne undersøgt for PRRSV1 ved PCR [4].

Resultater og diskussion

Der indgik et begrænset antal grise i de eksperimentelle forsøg, da grisene skal opstaldes i sikre laboratorier med ekstrem høj smittebeskyttelse. Dette gør det vanskeligt at inkludere nok grise til at kunne påvise statistisk sikre forskelle, hvorfor konklusionerne i denne meddelelse beror på tendenser observeret ved deskriptiv statistik.

Ingen grise udviste kliniske symptomer efter vaccination eller inokulering, ligesom der ikke blev observeret makroskopiske forandringer ved obduktion.

Efter inokulering (dag 28) med PRRSV-varianten fra Horsens havde de ikke-vaccinerede grise (gruppe 4) en højere gennemsnitlig temperatur end de andre grupper, startende ca. en uge efter inokulering og de næste fire dage (Figur 1).

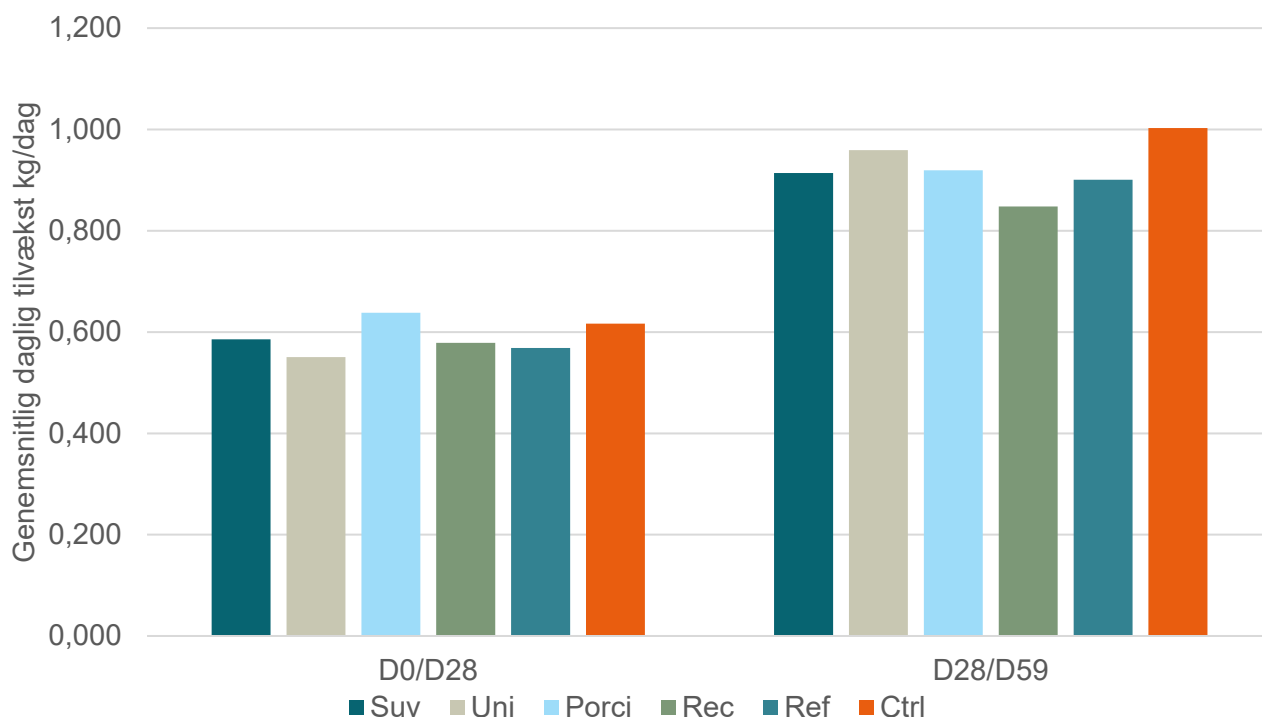


Figur 1. Gennemsnitlig rektal temperatur for de seks grupper af grise, vaccineret dag 0 og inokuleret med PRRSV dag 28 jf. Tabel 1.

Grisene i gruppe 4 (REC), som ikke var vaccineret og inokuleret med PRRSV-varianten fra Horsens, havde en tendens til lavere daglig tilvækst end de andre grise, på trods af at grisene ikke udviste kliniske symptomer på sygdom (Figur 2).

Der var ingen tendens til temperatur forhøjelse eller nedsat tilvækst hos grise, der var vaccineret mod PRRSV1 og inokuleret med PRRSV-varianten fra Horsens (gruppe 1-3), eller i gruppen, der var inokuleret med det franske referencevirus (Figur 1 og 2).

At SPF-grise inokuleret med PRRSV under eksperimentelle forhold sjældent bliver klinisk syge, er vist i flere eksperimentelle forsøg [3,5].



Figur 2. Gennemsnitlig daglig tilvækst (kg/dag) i perioden efter vaccination (D0-28) samt efter inokulering med PRRSV (D28-59) jf. Tabel 1.

Påvisning af PRRSV1

Efter vaccination kunne der påvises PRRSV1 i blodet på alle vaccinerede grise fra dag 7 (Tabel 2). Dette stemmer overens med andre undersøgelser, som også finder, at grisene bliver viræmiske efter vaccination mod PRRS [6]. Ved inokulering var alle grise i gruppe 2 og 3 fortsat PRRSV1-positive, hvorimod kun halvdelen af grisene i gruppe 1 var PRRSV1-positiv (Tabel 2).

Dag 14 efter vaccination havde alle grise i de vaccinerede grupper antistoffer mod PRRSV. De ikke-vaccinerede grise, som blev inokuleret med PRRSV, havde alle dannet antistoffer dag 42 (14 dage efter inokulering). Dette stemmer ligeledes overens med andre undersøgelser, som finder, at antistoffer dannes inden for 14 dage efter vaccination eller smitte [6].

Tabel 2. Påvisning af PRRSV1 i blod ved PCR efter vaccination

Gruppe	Antal grise	Antal PRRSV1-positive grise ved PCR-undersøgelse af blod			
		Dag -3	Dag 7	Dag 14	Dag 24
1 (SUV)	6	0	6	6	3
2 (UNI)	6	0	6	6	6
3 (PORCI)	6	0	6	6	6
4 (REC)	6	0	*	-	-
5 (REF)	6	0	-	-	-
6 (CTRL)	6	0	-	-	-

*Ikke undersøgt.

Efter inokulering var alle grise i gruppe 2 og 3 fortsat PRRSV1-positive ved undersøgelse af blodprøver tre og otte dage efter inokulering (dag 31 og 36) (Tabel 3). Den anvendte PCR skelner ikke

mellem, om der påvises "vaccine"-PRRSV eller "inokulerings"-PRRSV, hvorfor det er svært at sige, hvilket PRRSV der gør, at grisene er PRRSV1-positive.

Tabel 3. Påvisning af PRRSV1 i blod ved PCR efter inokulering.

Gruppe	Antal grise	Antal PRRSV1-positive grise ved PCR-undersøgelse af blod				
		Dag 31	Dag 36	Dag 42	Dag 49	Dag 56
1 (SUV)	6	3	5	3	3	0
2 (UNI)	6	6	6	4	2	1
3 (PORCI)	6	6	6	4	2	0
4 (REC)	6	3	3	6	6	3
5 (REF)	6	3	6	6	6	3
6 (CTRL)	6	-*	-	0	-	-

*Ikke undersøgt.

To uger efter inokulering var der en tendens til, at færre af de vaccinerede grise var PRRSV1-positive i blodet (Tabel 3). Alle tre vacciner så ud til at sænke andelen af PRRSV1-positive grise efter inokulering, sammenlignet med de ikke-vaccinerede grise i gruppe 4 og 5.

PRRSV1 blev påvist i tonsiller og lunger fra alle grise i gruppe 1-5, på trods af at de fleste af de vaccinerede grise var PRRSV1-negative i blodet ved aflivning. En PRRSV-negativ blodprøve er derfor ingen garanti for, at der ikke fortsat kan påvises PRRSV i vævet ved PCR. Her vil en undersøgelse af en blodprøve for forekomst af antistoffer mod PRRSV dog være positiv og afsløre, at grisen har været smittet med PRRSV, som det også blev påvist i dette studie.

Konklusion

Smågrise inokuleret med PRRSV1-varianten fra Horsens og opstaldet under kontrollerede eksperimentelle forhold havde en tendens til lavere tilvækst, højere temperatur og grad af viræmi sammenlignet med et typisk PRRSV1. Grise, der var vaccineret mod PRRSV1 fire uger før inokulering, så ud til at være påvirket i mindre grad.

Resultaterne bekræfter observationerne fra danske besætninger, som blev ramt af PRRSV1-varianten fra Horsens, idet denne variant har givet højere tab end andre PRRSV1-varianter i besætninger fri for PRRS. Den viser samtidig, at PRRS-vaccination kan medvirke til et mildere forløb. Et begrænset antal grise indgik i de eksperimentelle forsøg, da grisene skal opstaldes i sikre laboratorier med ekstrem høj smittebeskyttelse. Dette gør det vanskeligt at inkludere nok grise til at kunne påvise statistisk sikre forskelle, og derfor beror konklusionerne i denne meddelelse på tendenser observeret ved deskriptiv statistik.

Referencer

- [1] Kvisgaard, L.K., Kristensen, C.S., Ryt - Hansen, P., Pedersen, K., Stadejek, T., Trebbien, R., Andresen, L.O., Larsen, L.E., 2020. A recombination between two Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV-1) vaccine strains has caused severe outbreaks in Danish pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13555>
- [2] Kristensen, C.S.; Christiansen, M.G.; Pedersen, K. (2020): Produktionstab 5 måneder efter smitte med ny PRRS1-variant. Notat nr. 2008, SEGES Svineproduktion.
- [3] Eclercy J, Renson P, Lebret A, Hirschaud E, Normand V, Andraud M, Paboeuf F, Blanchard Y, Rose N, Bourry O. A field recombinant strain derived from two type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV-1) modified live vaccines shows increased viremia and transmission in spf pigs. *Viruses* (2019) 11: doi:10.3390/v11030296
- [4] Wernike, K., Bonilauri, P., Dauber, M., Errington, J., LeBlanc, N., Revilla-Fernández, S., Hjulsager, C., Isaksson, M., Stadejek, T., Beer, M., Hoffmann, B., 2012. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: interlaboratory ring trial to evaluate real-time reverse transcription polymerase chain reaction detection methods. *J Vet Diagn Invest*, 24, 5, 855-866
- [5] Kristensen, C.S., Kvisgaard, L., Palowski, M., Holmegaard, S., Hjulsager, C.K., Heegaard, P., Bøtner, B., Stadejek, T., Haugegaard, S., Larsen, L.E. 2017. Efficacy of single versus double vaccination with modified live vaccines against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus types 1 and 2 in pigs. *Vaccine* 27-NOV-2017 DOI information: 10.1016/j.vaccine.2017.11.059

NAV nr.: 1170

Forsøget blev gennemført i overensstemmelse med den franske lovgivning inden for dyreforsøg og protokollen godkendt af « comité d'éthique n°16 » den 23/01/2020, N° APAFiS 2020012315156912, af dyrevelfrædskomiteen (approval n° 2020-02-04-09) den 5/02/2020 og af forskningsministeriet 14/02/2020.

//KMY//

Dyregruppe: Smågrise

Fagområde: Veterinær

Nøgleord: PRRS, PRRSV, smitte, eksperimentelt forsøg,



Tlf.: 33 39 45 00

svineproduktion@seg.es.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.