

Veterinærinstituttet Danmarks Tekniske Universitet DTU

PCVD` definitioner og diagnostik

Lars Erik Larsen, Veterinærinstituttet, DTU



2

PROJEKTDELTAGERE I DEN DANSKE PMWS GRUPPE

Technical University of Denmark DTU National Veterinary Institute Danish Pig Production

- Sven Erik Jorsal
- Håkan Vigra
- Vivi Bille-Hansen
- Lars E. Larsen
- Joan Klausen
- Charlotte Hjulsager
- Anette Bøtner
- Anders Stockmar
- Kitt Dupont
- Øystein Angen
- Claes Enøe
- Charlotte S. Kristensen
- Kaj Vestergaard
- Poul Bækbo




3

Diagnostik af PMWS

Vanskelig

Fordi

- uspecifikke kliniske symptomer
- PCV2 afgørende for udvikling af PMWS, men infektion med PCV2 forekommer også i mange besætninger uden tegn på PMWS
- uspecifikke vævsforandringer




4

Årsag til PMWS


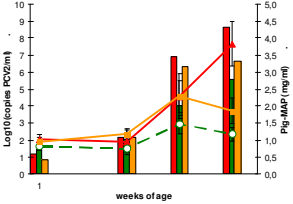
Porcint Circovirus type 2 (PCV2)

- PCV2 nødvendigt for udvikling af PMWS
- PCV2 alene ikke nok til at udvikle PMWS
 - PCV2 forekommer også i svinebesætninger uden PMWS.....altså
- Aldrig PMWS uden PCV-2 men ofte PCV-2 uden PMWS




5

Acute fase respons – syge/”raske”

Næsten alle grise gennemgår en infektion – nogle formår blot at kompensere og forbliver klinisk raske




6

PMWS diagnosen i DK

Fra april 2005 – EU definition (www.pcvd.org)

- Kliniske symptomer
 - Utrivselighed
 - Øget dødelighed efter fravæning (statistisk)
- Histopatologiske fund i lymfeknuder (i én og samme gris)
 - Depletion
 - Histiocytær inflammation
 - Påvisning af PCV2 i moderat til massiv mængde
 - 5 grise giver 95% sikkerhed hvis 50% af de syge har PMWS



7

Symptomer



Veterinærinstituttet



8

Symptomer



Veterinærinstituttet



9

Autopsy Unspecific pathology

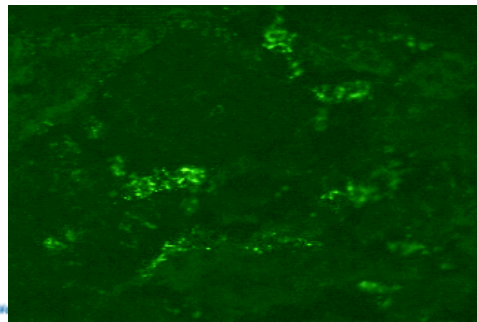


Veterinærinstituttet



10

PCV2 specific immune staining

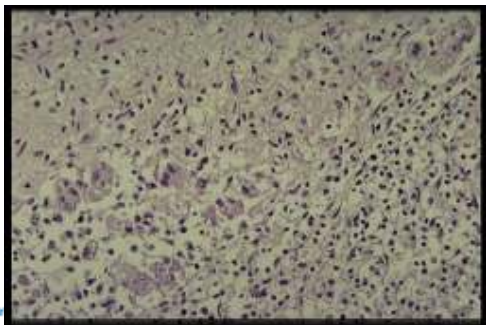


Veterinærinstituttet



11

Giant cells in lymph nodules

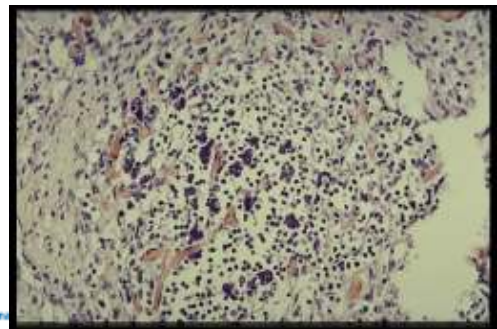


Veterinærinstituttet



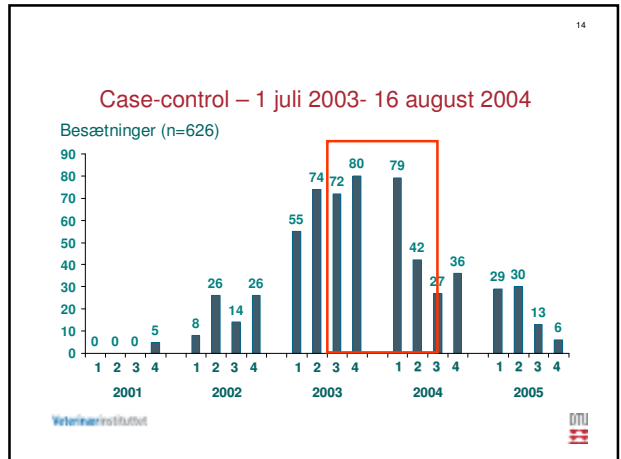
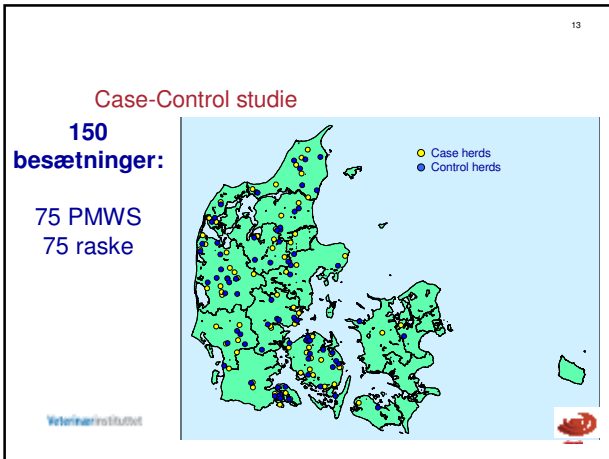
12

Lymphocytic depletion



Veterinærinstituttet





15

Data fra case-control studie

Laboratoriediagnostik kan ikke stå alene:

- I 25% af kontrol besætningerne fandtes histopatologiske fund forenelige med PMWS ved obduktion af 3 grise. (Ingen symptomer på PMWS i besætningen)
- I 78% af case-besætninger fandtes PMWS-forandringer ved obduktion af 3 utrivelige grise

Veterinærinstituttet

16

Kan PCR eller serologi bruges diagnostisk

Title: Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark

Order of Authors: Lorenc Grau-Roma, DVM, BSc; Charlotte K. Hjalager, DVM, PhD; Maria Sjölin, I PhD; Charlotte S. Møntzen, DVM; Sergio López-Soria, DVM; Clara Bravo, DVM, PhD; Jordi Casal, PhD; Anabela Botas, DVM, PhD; Miquel Nofre, DVM, PhD; Vivi Blille-Hansen, DVM, PhD; Lorenc Grau, DVM, PhD; Paul Basille, DVM, PhD; Joaquim Segalés, DVM, PhD; Lars E. Larsen, DVM, PhD

Veterinary Microbiology In Press.

Veterinærinstituttet

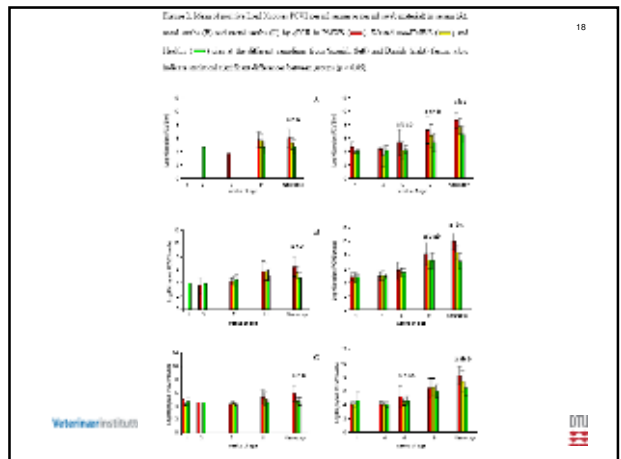
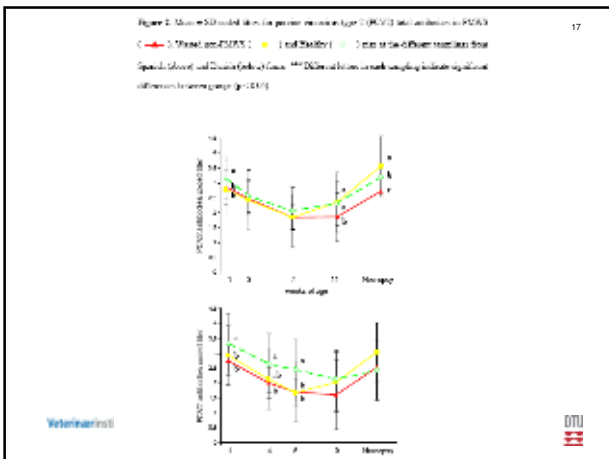


Table 6. Optimal cut-off values, sensitivity, specificity, positive predictive value (PV+) and negative predictive value (PV-) obtained from ROC analyses from serological and quantitative PCR (qPCR) techniques in each of studied samples. Quantitative PCR results are expressed as log₁₀ copies of PCV2 per ml sample.

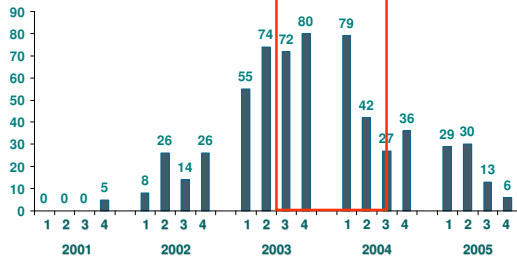
| Country | Sample | Test | Optimal cut-off | Sensitivity (CI ₉₅) | Specificity (CI ₉₅) | PV+ (CI ₉₅) | PV- (CI ₉₅) |
|---------|------------|-------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Spain | Nasal swab | qPCR | ≥5.9 | 68.6 (31.4-86.0) | 74.4 (77.8-97.4) | 68.6 (32.5-88.9) | 74.4 (67.5-80.4) |
| | | Rectal swab | qPCR | ≥5.9 | 41.2 (24.5-59.1) | 97.3 (87.7-99.9) | 93.3 (68.1-99.8) |
| | Sera | qPCR | ≥6.21 | 48.6 (31.4-66.0) | 90.7 (77.8-97.4) | 81.0 (58.1-94.6) | 68.4 (53.5-81.4) |
| | | IPMA | ≤1:1620 | 73.5 (55.6-87.1) | 88.4 (74.9-96.1) | 83.3 (65.3-94.4) | 80.9 (68.5-91.2) |
| Denmark | Nasal swab | qPCR | ≥9.2 | 86.2 (68.3-96.1) | 81.3 (54.4-96.0) | 89.3 (71.8-97.7) | 76.4 (50.1-92.2) |
| | | Rectal swab | qPCR | ≥8.1 | 50.5 (31.3-68.7) | 82.4 (56.6-96.2) | 83.3 (58.6-96.4) |
| | Sera | qPCR | ≥7.43 | 91.3 (72.0-98.9) | 46.7 (21.3-73.4) | 72.4 (54.4-90.4) | 77.8 (60.0-92.2) |
| | | ELISA | =0 | 92.9 (76.5-99.1) | 27.8 (9.7-53.5) | 66.7 (50.6-82.7) | 71.4 (29.0-96.3) |

Kan serologi og/eller PCR bruges til diagnostik af PMWS

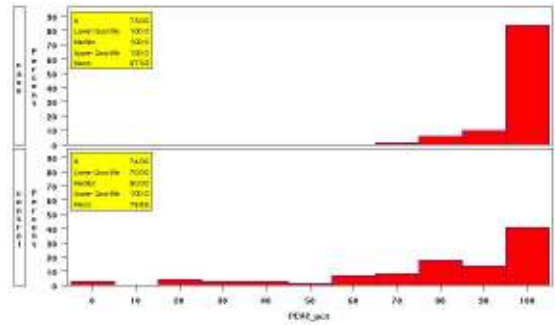
- På besætningsniveau????

Case-control – 1 juli 2003- 16 august 2004

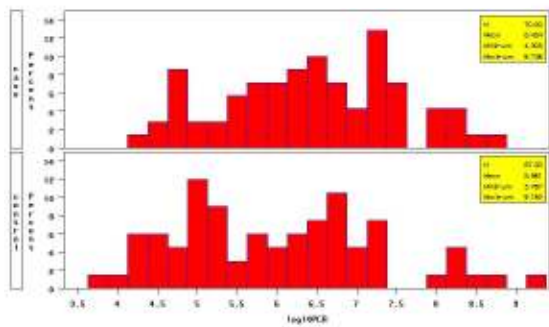
Besætninger (n=626)



PCV2 seropositive grise (%) – i besætninger



Fordeling af log₁₀(PCR) count

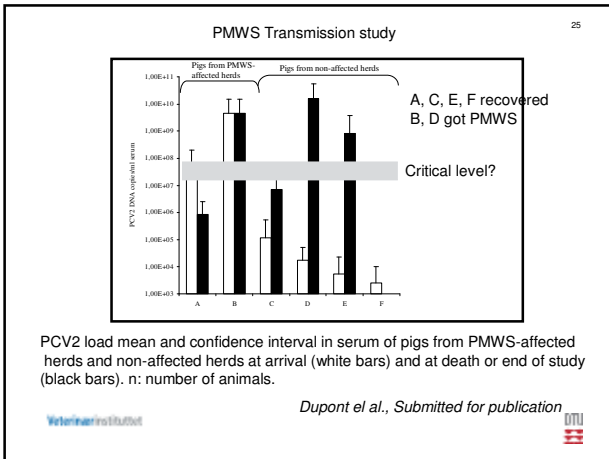


Gennemsnittet af log₁₀(PCR) i case og control

- Log₁₀(PCR) er signifikant (p=0,025) højere i case- end i kontrolbesætninger – 0,46 på log skalaen.

Men

- Der er stor variation på enkeltprøver - Covar. 0,79
- Der er stor variation på niveauet mellem besætningspar (region/dyrlægepraksis) – Covar. 0,65
- Der er lille variation indenfor besætning – Covar. 0,06



26

Konklusion

- Serologi kan benyttes til diagnostik af PCV2
- Serologi kan ikke benyttes til diagnostik af PMWS
- Kvantitativ PCR kan benyttes til diagnostik af PCV2
- Kvantitativ PCR kan ikke benyttes til diagnostik af PMWS

27

Andre PCVD's

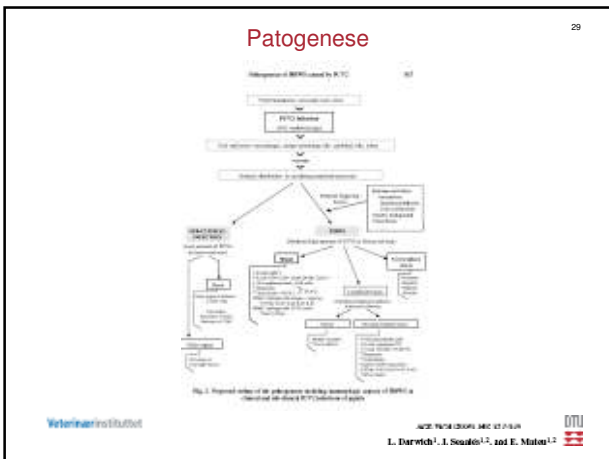
- PDNS (porcine dermatitis and dermatitis syndrome)
- Reproduktionsproblemer
- Enteritis
- PRDC
- Andre.....mere eller mindre dokumenteret

28

Koch's Postulates:

- The microorganism must be present in every case of the disease.
- The microorganism must be grown in pure* culture from the diseased host.
- The same disease must be reproduced when a pure* culture of the microorganism is inoculated into a healthy, susceptible host.
- The microorganism must then be recovered from the experimentally infected host

* The term "pure" is difficult for virus!



PCV-2 og reproduktionsproblemer 30

Figure 1. Impact of PCV2 on reproduction, with or without PRDC.

| Time point | Overall appearance | Prone to virus | Abnormally exposed | Immunologic stress | Interference of gestation |
|------------|--------------------------|----------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| 8 days | nasal discharge | + | - | + | reproductive failure |
| 10 days | nasal discharge | + | - | + | - |
| 15 days | nasal discharge resolved | + | + | - | - |
| 22 days | nasal | + | + | - | - |

H. Nauwynck et al., 2006

31

Dansk case (nyetableret besætning med indkøb af polte)
 39 fostre undersøgt :
 • Forhøjede værdier i 7 fostre

| Gris/so | IgG | PCV2 IHC | PCV2 PCR |
|---------|------|----------|----------|
| 15/66 | 62 | 0 | (+) |
| 16/66 | 154 | 0 | (+) |
| 26/23 | >100 | 0 | + |
| 27/23 | 233 | 0 | + |
| 33/59 | 77 | + | + |
| 59/117 | >100 | 0 | (+) |
| 78/130 | 82 | 0 | (+) |

Veterinærinstituttet DTU

32

PCV2 abort sekvens fylogeni

Veterinærinstituttet DTU

33

Konklusion

12/39 fostre PCV2 ved IHC
 14/39 fostre massiv PCV2 ved PCR
 16/39 fostre lavgradig PCV2 ved PCR

- PCV2 positive fostre fordelte sig på 7/8 søer. Kuldeffekt.
- Ingen korrelation ml. tilstedeværelsen af makr. forandringer og PCV2 fund.
- PCV2 abort DNA sekvensen ligner andre danske PCV2 sekvenser.

Veterinærinstituttet DTU

34

PCV-2 og reproduktionsproblemer

- Kocks postulat opfyldt
- Diagnose: PCV-2 i aborterede fostre (hjerter)
- Er det en hyppig årsag?
 - Maldonado et al., 2005: 100 fostre – en PCV-2 positiv
 - Danmark: 4-5 cases
- Opstår formodentligt i forbindelse med nyetablering mm – cases i Canada, Korea, Norge og Danmark
- Hypotese: Kræver "relativ" naive søer/polte.
- Vaccination af avlsdyr efter saneringer/nyetablering/udvidelse????

Veterinærinstituttet DTU

35

PDNS

Veterinærinstituttet DTU

36

PDNS

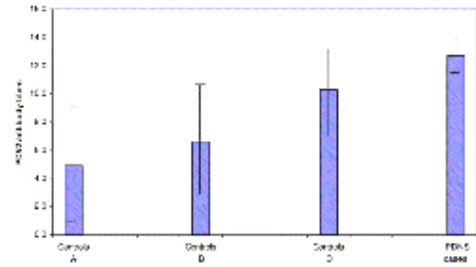
Fig 3 PCV2 antigen in moderate amount present on follicles of the lymph node of a PDNS pig.
 Fig 4: Four (necropsy) information of the spleen of a PDNS pig: immunohistochemical staining, no PCV2 antigen detected.

Venligst udlånt af N.Stockhofe, NMRI, Holland

Veterinærinstituttet DTU

PDNS – Diagnose/Patogenese

- PDNS er en PCVD, men Kocks postulat ikke opfyldt
- Type III hypersensitivitets reaktion – aflejring af antistof-antigen komplekser – men ikke PCV-2 positive!
- Wellenberg et al., 2004 (m.fl.)
 - Høje PCV-2 antistof titre
 - Alle PCV-2 positive



Antibodies in PDNS herds significantly higher than in controls

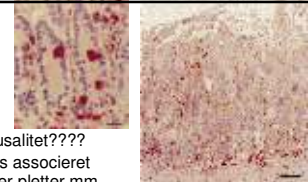
Wellenberg et al., 2004

PDNS – Diagnose/Patogenese

- Senere undersøgelser:
 - Kan skyldes reinfektion med PCV2 (Krakow 2006)
 - TT virus??? (Durban 2008)
- Diagnoses på VI:
 - Nyre og hud: Nekrotiserende vasculitis
 - VIGTIG DIFF DIAGNOSE TIL SVINEPEST

Enteritis/PRDC

- PCV-2 og enteritis – causalitet????
- Kim et al., 2004: Enteritis associeret til enteritis – virus i Peyer pletter mm
- T.K.Jensen et al., 2006 m.fl.: Hvis Lawsonia ikke PCV-2 – virus i lymfæv og i enkelte enterocytter
- Kaltenegger et al., 2007: Ingen sammenhæng mellem enteritis og PCV-2 infektion (baseret på 200 diagnostiske sager)
- Kocks postulat ikke opfyldt for enteritis og PRDC
- Diagnose pt.: PMWS +/-



Perspektiver

- Behov for adskillelse af Lawsonia og PCV2 betinget diarre
 - DFFE projekt (DSP, KU-LIFE, VI) J.P.Nielsen
 - Experimentelle infektioner lawsonia/PCV-2
 - Diagnostisk diarre pakke lanceres først i det nye år – kvantitativ diagnose – behov for feed back fra jer
 - Mål: at etablere en diagnostik metode der kan adskille de to infektioner på materiale fra levende dyr
- PCV2 og PRDC
 - PCV-2 kvantitativt er inkluderet i luftvejs pakken
 - Hvordan tolker I resultatet????

Tak til



- EU kontrakt nummer 513928
- En masse laboranter, dyrepassere og landmænd (ingen nævnt ingen glemt!)
- Team PMWS for design af hovedparten af de viste slides

Flere resultater fra EU projektet på
www.PCVD.org og
WWW.dansksvineproduktion.DK (på dansk)