

Rotavirus as a risk factor for diarrhea

The association between group A Rotavirus and diarrhea in stool samples from Danish weaners 0-3 weeks post-weaning



Rotavirus som risikofaktor for diarre

Associationen mellem rotavirus gruppe A og diarre i fæces prøver fra danske fravænningsgrise 0-3 uger efter fravæning

Veterinært speciale

Louise Ellegaard Pedersen

Vejledere:

Lars Erik Larsen, DTU vet

Charlotte Kristiane Hjulsager, DTU vet

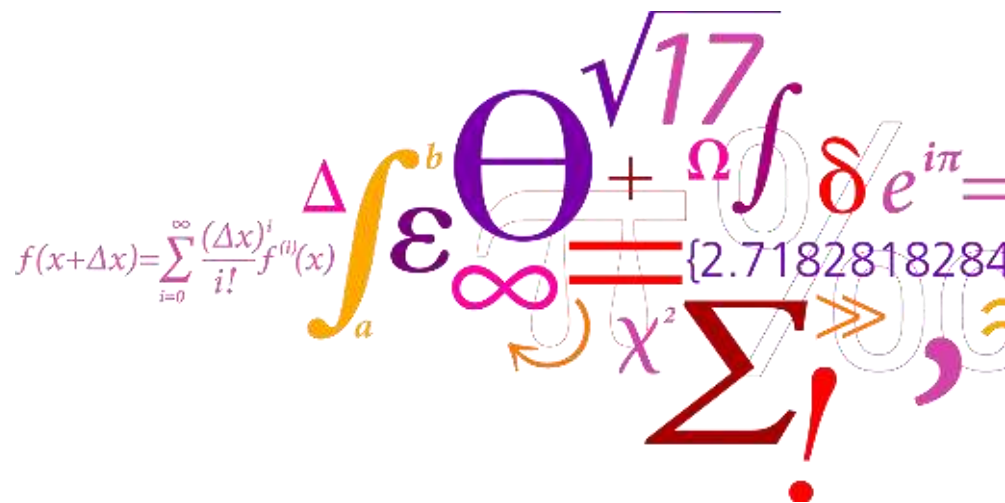
Hanne Kongsted, Aarhus Universitet

Claus Hansen, SEGES

Samarbejdspartnere:

SEGES

DTU Veterinærinstituttet



Disposition

- Diarre
- Rotavirus
- Studie: 'Rotavirus som risiko faktor for diarre'
 - Baggrund
 - Hypoteser
 - Studiedesign
 - Resultater
 - Betydning



Diarre hos fravænningsgrise

Kilde: <http://www.hyologisk.dk/artikel?id=78594>

- Definition: hyppige og tynde afføringer
- IKKE en diagnose, men et klinisk symptom

Klinisk vurdering af diarre i en besætning

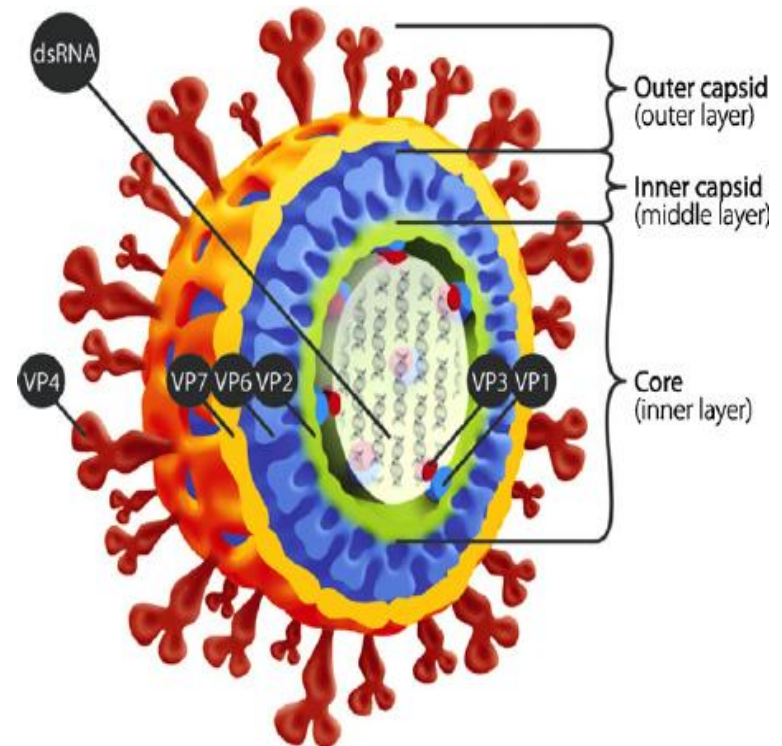
- Subjektiv evaluering af mængden af diarre-klatter
- Klinisk vurdering af enkeltdyr (tilsmudsning)
- Fæces konsistens på en score fra 1-4
 - Score 1: normal og fast
 - Score 2: blød og formet
 - Score 3: løs
 - Score 4: vandig
- Tørstofs indhold



Rotavirus i svin

- **Historik**
 - har været påvist i svin siden 1975
- **Taksonomi**
 - Slægt: *Rotavirus*
 - Familie: *Reoviridae*
- **Virion**
 - 11 segmenter af dobbelt-strengt RNA virus
 - Serogrupper: A, B, C, E og H
 - Genotyper: G (VP7) og P (VP4)

Kilde: Usonis et al. (2012)



Rotavirus overordnet

- **Kliniske tegn**

- Non-specifikke
 - Diarre (løs/vandig)
 - Nedsat appetit
 - Nedsat tilvækst
 - Dehydrering

- **Diagnostik**

- ELISA-antigen-test for rotavirus A
 - Svinelaboratoriet Kjellerup
 - DTU veterinærinstituttet

- „Real time RT-PCR“
 - DTU veterinærinstituttet (projekt sammenhæng)

CASE-CONTROL STUDIE:

Forekomst af rotavirus i fravænningsgrise 0-3 uger efter fravænnning

Baggrund:

- Velkendt problem i danske pattegrise
- Høje prævalenser fundet i fravænningsgrise i udlandet
- Odds for at en gris med diarre har rotavirus er 4 gange højere end for en gris der ikke har diarre Linares (2009) , Halaihel (2010)

Har rotavirus så betydning for danske fravænningsgrise?

Germany (2001), <i>Wieler</i>	149	4%	NA	2%	4%	0%	EM
Brazil (2003), <i>Barreiros</i>	99	55%	NA	56%	52%	NA	PAGE
Japan (2006), <i>Katsuda</i>	269	N/A	NA	67,3%	65,5%	NA	RT-PCR
Spain (2010), <i>Halaihel</i>	221	26,5%	6,5%	26,7%	47%	10,2%	RT-PCR
Japan (2013), <i>Miyazaki</i>	145	NA	NA	43%	67 %	7%	RT-PCR
Denmark(1983), <i>Svensmark</i>	1090	34,6	28,2	26,3	37,4	NA	ELISA

Kilder: *Wieler et al. 2008; Barreiros et al. 2003; Katsuda et al. 2006; Halaihel et al. 2010; Svensmark 1983; Miyazaki et al. 2013*

Formål/hypoteser

Formål: at undersøge om rotavirus er en forklarende årsag til problemer med diarre ved fravæning

Hypoteser (H0):

- 1a.** Der er ingen sammenhæng mellem **påvisning af rotavirus og forekomsten diarre** efter fravæning.
- 1b.** Der er ingen relation mellem den **kvantitative mængde af rotavirus og forekomsten af diarre**.
- 1c.** Der er ingen sammenhæng mellem **påvisning af rotavirus og forekomsten af diarre** inden for **specifikke aldersgrupper**.
- 1d.** Rotavirus **potenserer ikke effekten af E.coli diarre** efter fravæning.

Studie design – inklusions kriterier

Cases

- **Besætningsniveau**
 - Diarre i min. 25% af stierne
 - seneste 2-3 måneder

- **Sti-niveau**
 - Diarre blandt min. 4-5 grise
 - Stier med højst forekomst prioriteres
 - 3-5 diarreklatter per sti

- **Enkeltdyrs niveau**
 - Synlig klinisk diarre
 - Fæcescore: 3 eller 4
 - 0-3 uger efter fravænning

Kontroller

- **Besætningsniveau**
 - Klinisk raske grise uden problemer med diarre
 - seneste 2-3 måneder

- **Sti-niveau:**
 - Klinisk raske grise der ikke er fæceskontaminerede
 - En diarre-klat per sti tilladt

- **Enkeltdyrs niveau**
 - Klinisk raske uden tegn på diarre
 - Fæcescore: 1 eller 2
 - Alder 0-3 uger efter fravænning



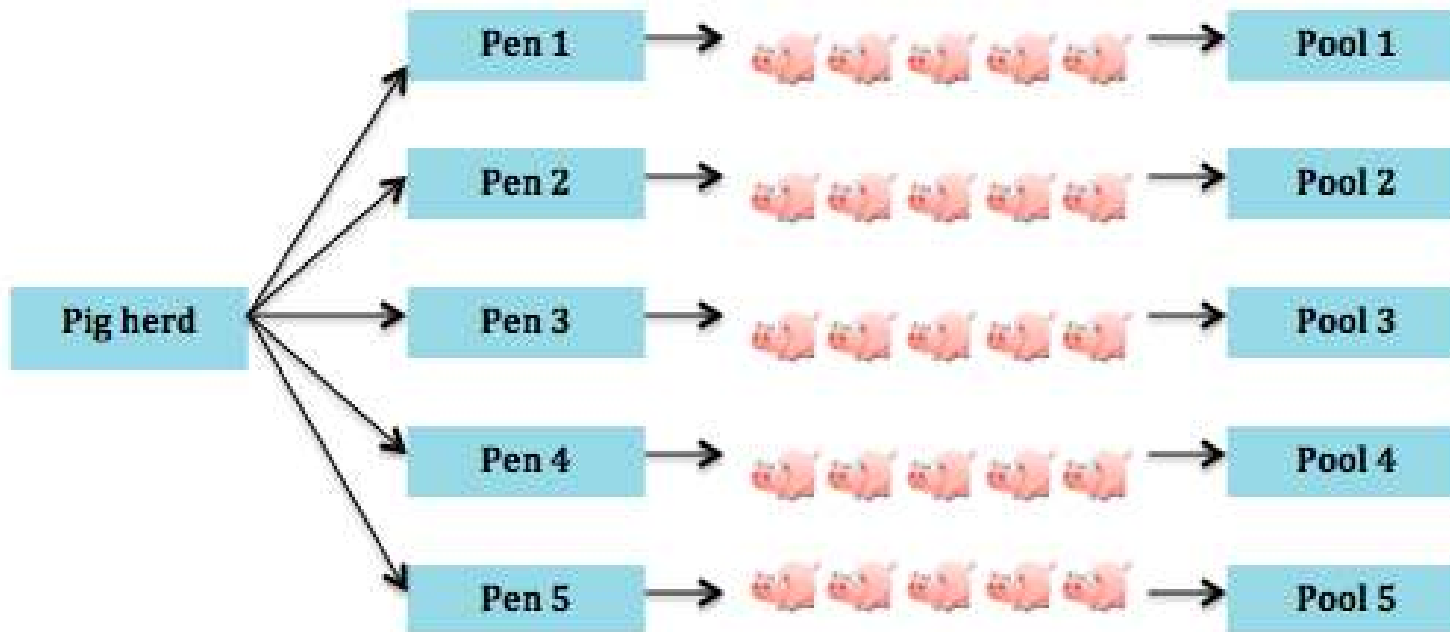
County	Herds	Fecal samples		Total
		Cases	Controls	
Region Zealand	6	75	75	150
Region of Southern Denmark	13	175	150	325
Central Denmark region	14	175	225	400
North Denmark region	7	75	50	125
Total	40	500	500	1,000



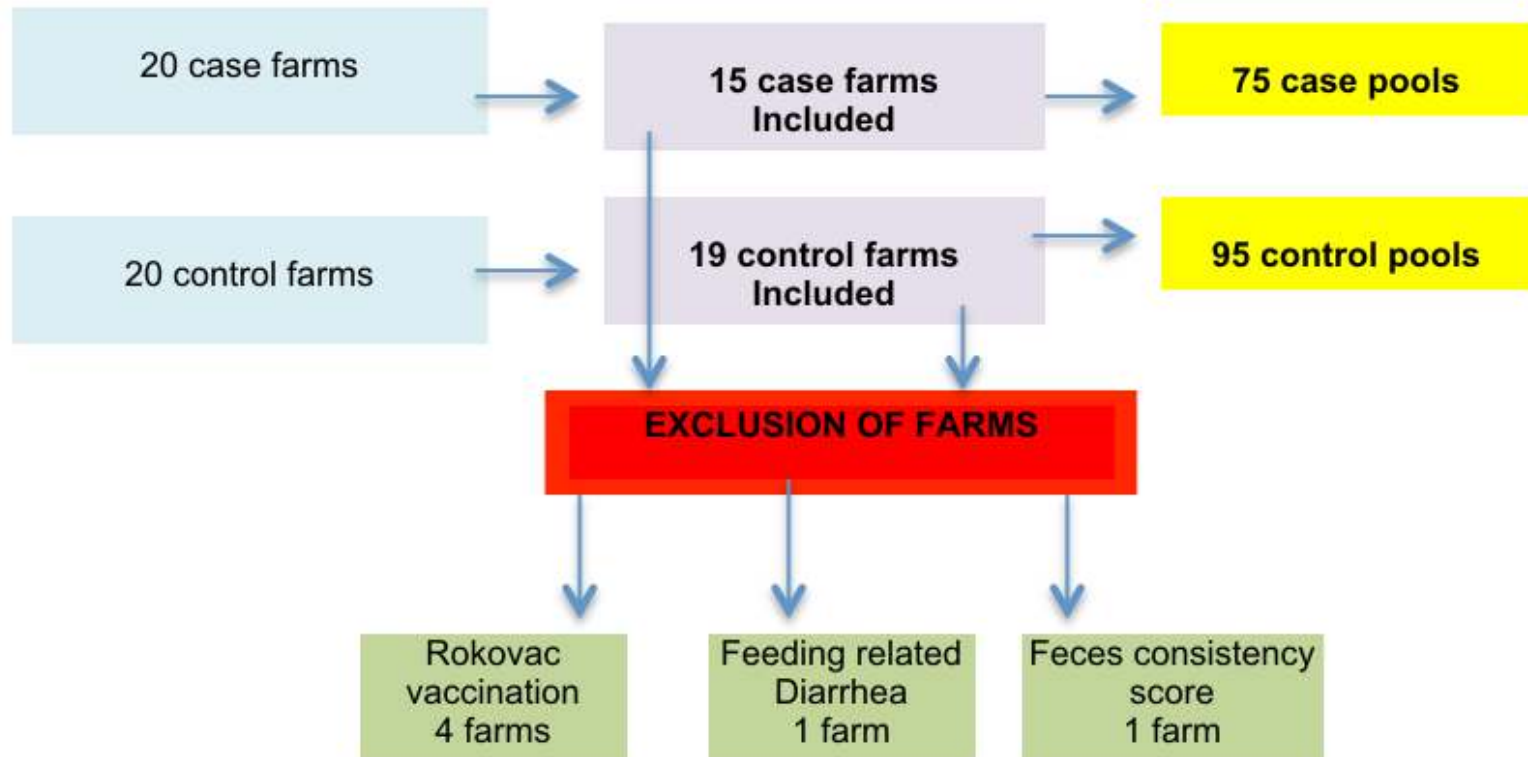
Studie design

- **40 besætninger** – ikke tilfældigt udvalgt
 - 20 case besætninger
 - 20 kontrol besætninger
- **25 fæces prøver** fra hver besætning (5 grise fra 5 stier)

Kilde: <http://vsp.lf.dk>



Resultater



Resultater: observationer

	1st week (0-7 days)	2nd week (8-14 days)	3rd week (15-21 days)	Total
Case	33 (44%)	21 (28%)	21 (28%)	75 (100%)
Control	26 (27%)	35 (37%)	34 (36%)	95 (100%)



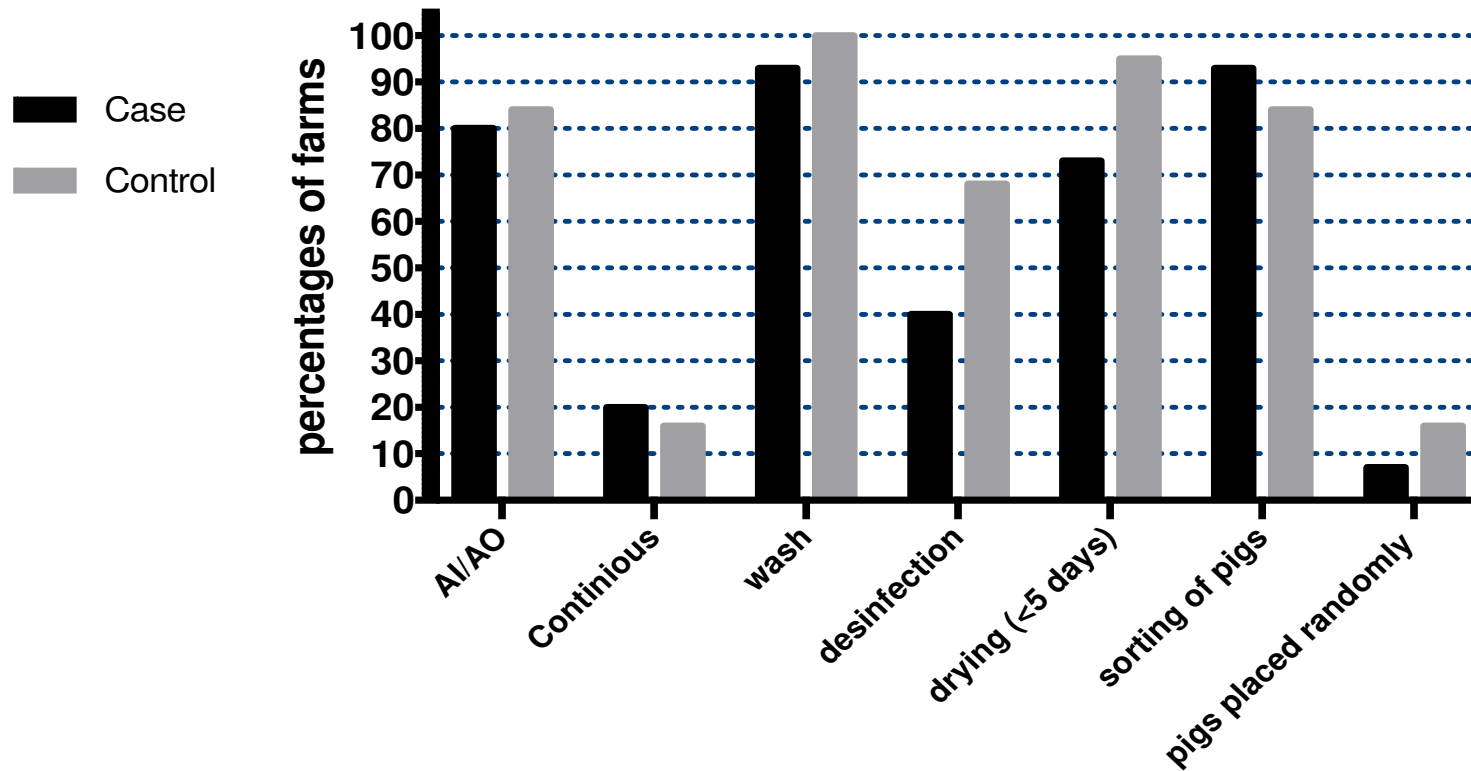
Resultater: beskrivelser af besætninger

Farm diagnoses	Gastroenteritis	Encephalitis	Others	Unspecified
Cases (15)	9 (60%)	0 (0%)	1 (7%)	6 (40%)
Controls (19)	6 (32%)	4 (21%)	0 (0%)	11 (58%)

- Stort set alle besætninger behandlede grisene med antibiotika (85%)
- Tetracyclin (Doxycyclin) var det mest anvendte antibiotikum
- Gennemsnitligt gjorde besætningerne brug af zink i 14 dage
- Alle case besætninger gav kun tørfoder, mens en større andel af controlbesætningerne også gav vådfoder

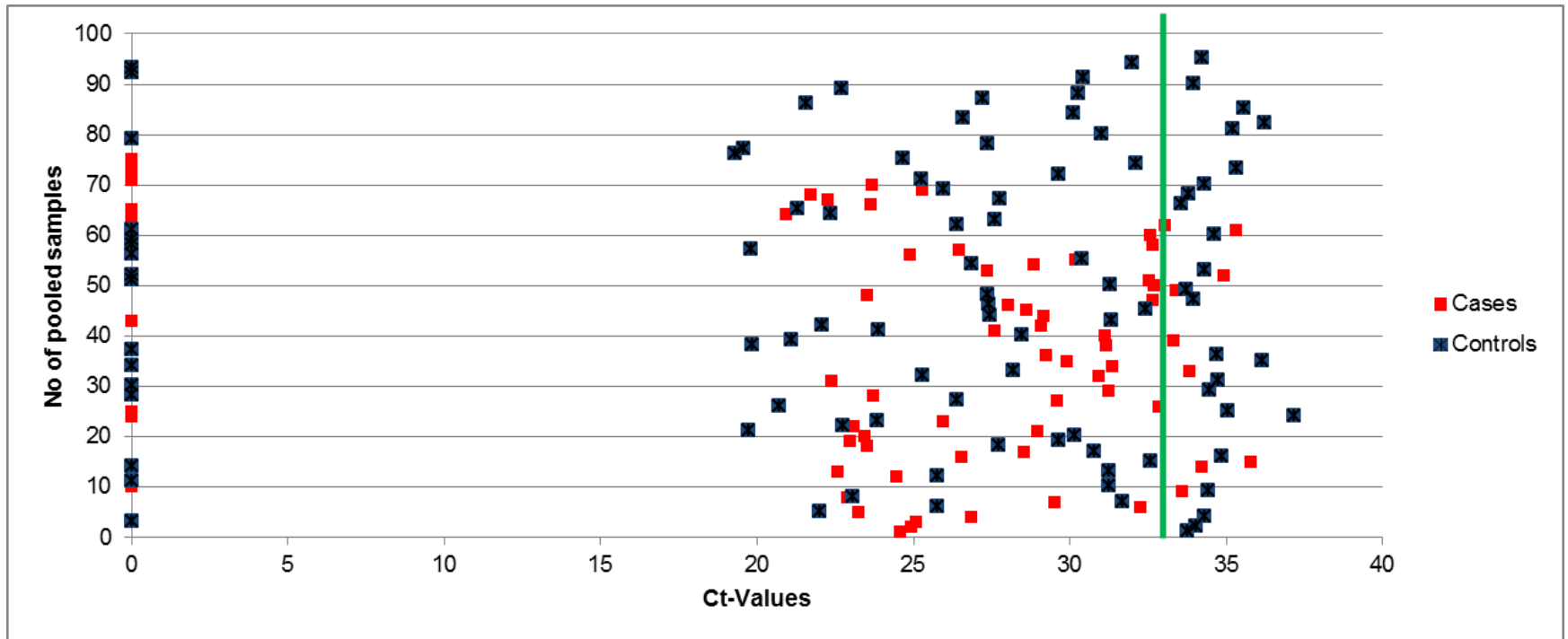
Resultater: management

Management / weaning procedure (n=34)

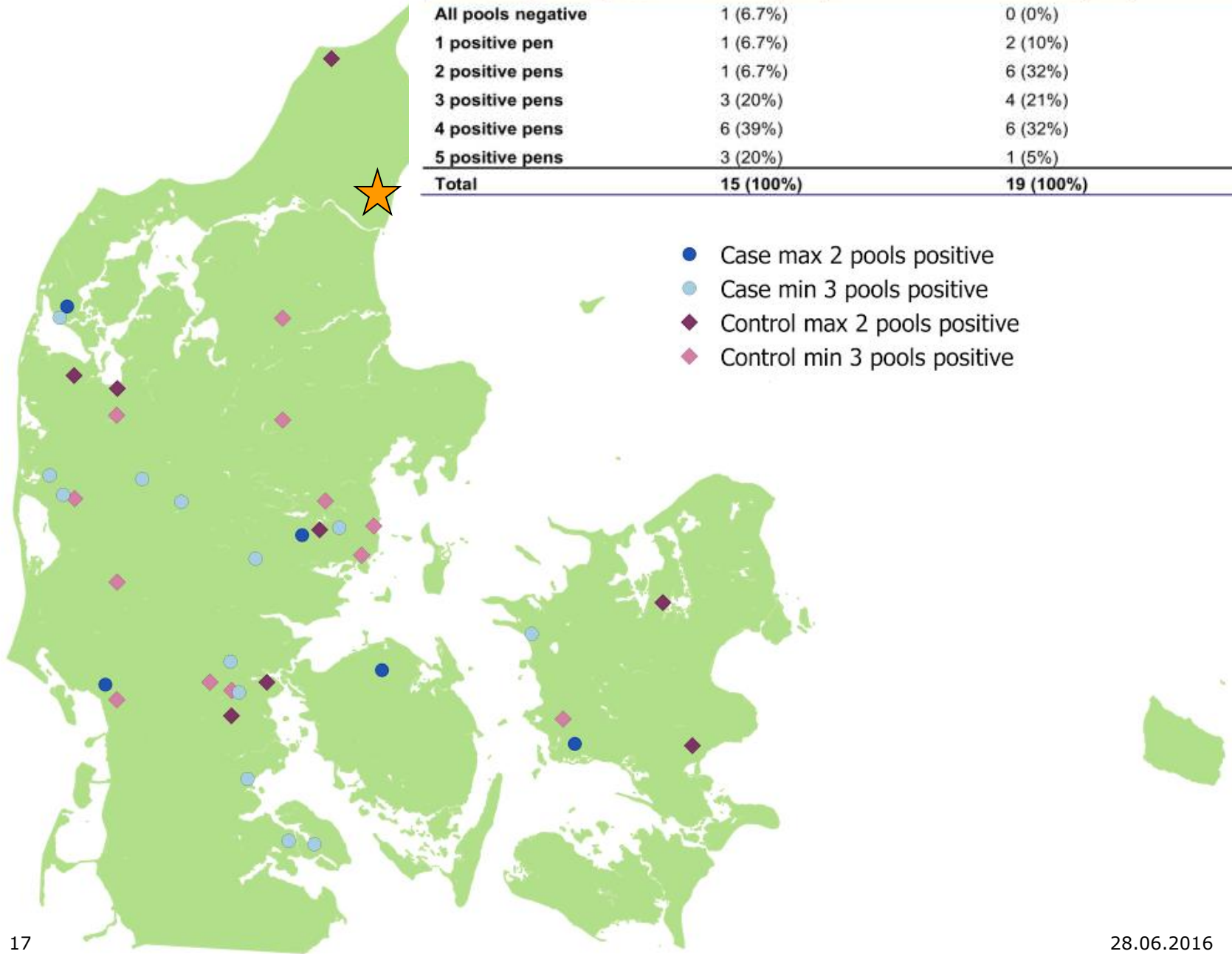


- Desinfektion (p= 0.2960)
- Udtørring (p= 0.1458)

Resultater: RT-qPCR på sti-niveau

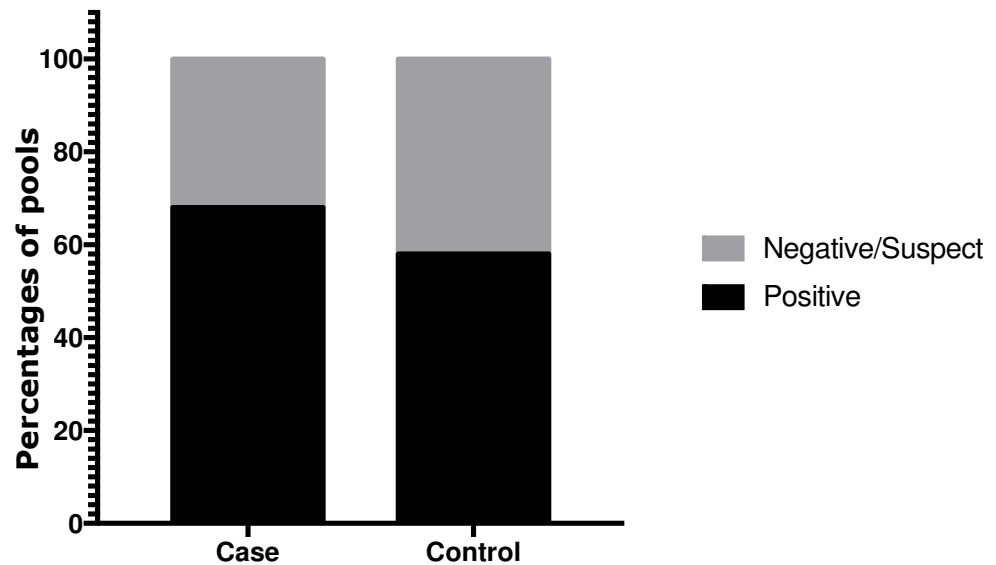


Number of positive pools	Cases (n=15)	Controls (n=19)
All pools negative	1 (6.7%)	0 (0%)
1 positive pens	1 (6.7%)	2 (10%)
2 positive pens	1 (6.7%)	6 (32%)
3 positive pens	3 (20%)	4 (21%)
4 positive pens	6 (39%)	6 (32%)
5 positive pens	3 (20%)	1 (5%)
Total	15 (100%)	19 (100%)



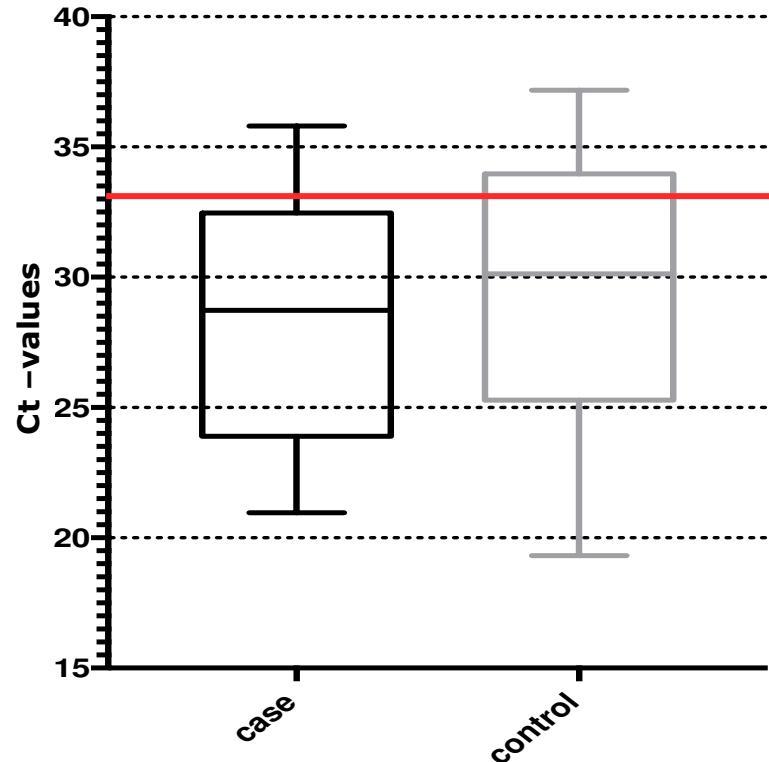
Resultater: Test af hypoteser

- 1a. Der er ingen sammenhæng mellem påvisning af rotavirus og forekomsten diarre efter fravænning. → **Hypotesen kan ikke forkastes ($p=0.20$)**



Resultater: Test af hypoteser

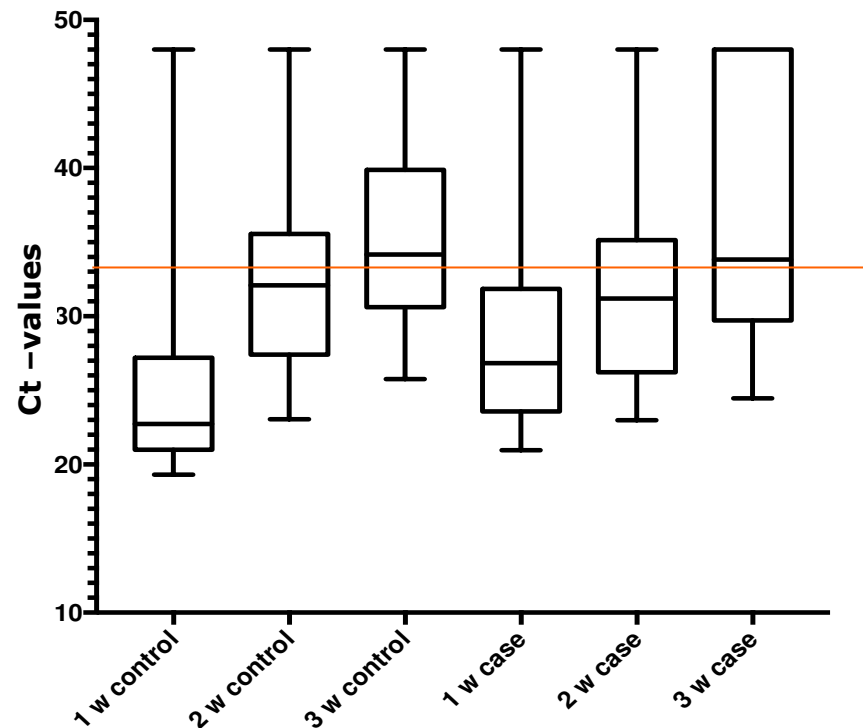
- 1b. Der er ingen relation mellem den kvantitative mængde af rotavirus og forekomsten af diarre → **Hypotesen kan ikke forkastes ($p=0.2435$)**



Resultater: Test af hypoteser

1c. Der er ingen sammenhæng mellem **påvisning af rotavirus og forekomsten af diarre** inden for **specifikke aldersgrupper**

- Ingen forskel på forekomsten af rotavirus i grise med og uden diarre i de enkelte uger efter fravænning ($p=0,99$)
- **Fald i forekomsten af rotavirus positive sammenlignet med antal uger efter fravænning ($p=0,0003$)**

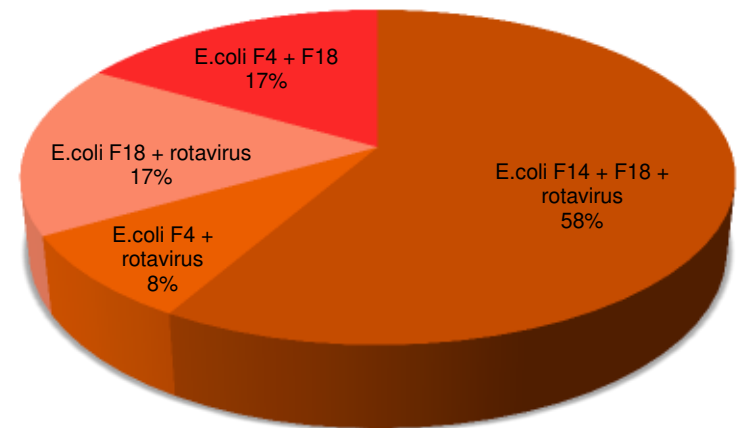


Resultater: Test af hypoteser

1d. Rotavirus **potenserer ikke effekten af E.coli diarre** efter fravæning.

→ **Hypotesen kan ikke forkastes**

- Signifikant forskel mellem forekomsten af E.coli F4 ($p=0.001$) og grise med diarre
- Ingen signifikant association for de andre patogener (rotavirus, E.coli F18 og/eller F4/F18)
- **De 2 patogener sameksisterer, men potenserer ikke effekten af hinanden**



Diskussion

Forekomst af rotavirus

- Sammenlignet med andre lande:
 - Ingen sammenhæng mellem rotavirus og diarre kunne findes!
 - Høje prævalenser stemmer overens
- Kan findes i stort set alle besætninger (stigende forekomst)
- Virulens af rotavirus er tvivlsom
 - Del af den normale mikroflora
 - Konstant cykling og eksponering, aldersbetinget immunitet
 - Forskel på pathogenicitet af stammer
 - Muligt at andre serotyper er dominerende (fx genotype C)

Konklusion

- Ingen sammenhæng mellem kvalitativ/kvantitativ påvisning af rotavirus og grise med diarre 0-3 uger efter fravænning
- Der er ingen signifikant forskel mellem antal uger fra fravænning og forekomsten af rotavirus positive grise, men antallet af positive grise er reduceres, jo ældre grisene bliver
- E.coli og rotavirus sameksisterer men potenserer ikke effekten af hinanden



Perspektivering: Hvad betyder vores fund?

Kilde:Midgley (2012)

- Landmanden: Større fokus på hygiejne og management!
- Dyrlægen: Stor sandsynlighed for at en besætning testes positiv, ved udtagning af 5 prøver i 3 stier → vaccination?
- Forskning: genotypning → virulente stammer?



Tak for hjælpen!

- **Mine vejledere**
 - Professor Lars Erik Larsen, DTU vet
 - Hanne Kongsted, AU
 - Seniorrådgiver Charlotte Kristiane Hjulsager, DTU vet
 - Seniordyrlæge Claus Hansen, SEGES
 - Svend Haugegaard, SEGES

- **Fra DTU veterinærinstituttet**
 - Laborant Hue Thi Thanh Tran
 - VIROLOGI 2. SAL
 - PCR Diagnostikken
 - Professor Nils Toft

- **Andre**
 - Juri Gall
 - Hannah Zakariassen
 - Bonnie Hoelstad

- **Landmændene**

- **Dyrlægepraksis**
 - Hyovet
 - Danvet
 - Porcus
 - Ø-Vet
 - Svinevet
 - LVK
 - Sydvet

