



Porcin Cytomelelagi Virus *aka* PCMV *aka* "Snotsyge" *aka* "Trompetgrise"

Betydning og diagnostik

Lars Erik Larsen, KU

Lola Tolstrup and Charlotte Sonne Kristensen, SEGES

Mette Sif Hansen, Tim K. Jensen, DTU VET

Charlotte Hjulsager, SSI

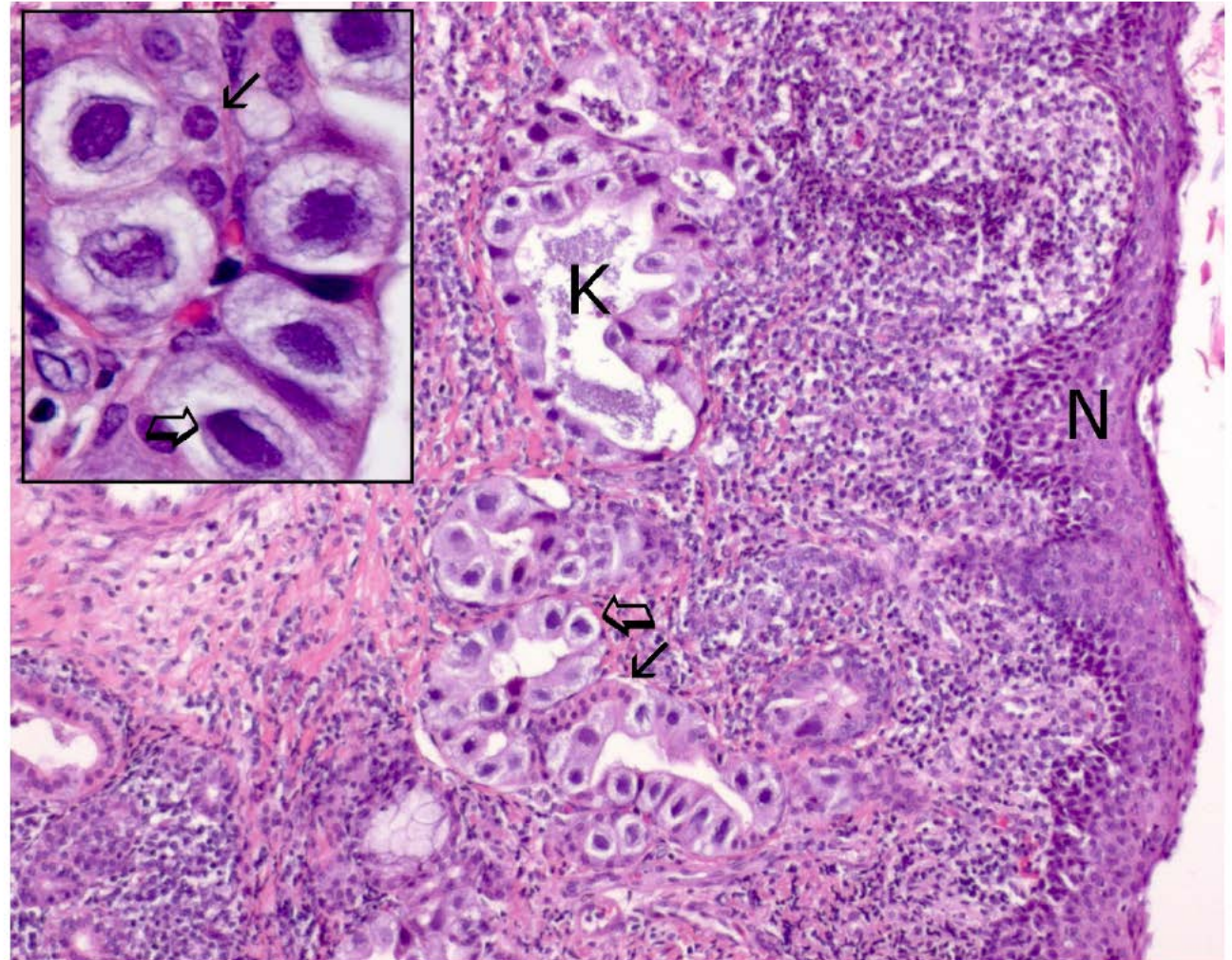
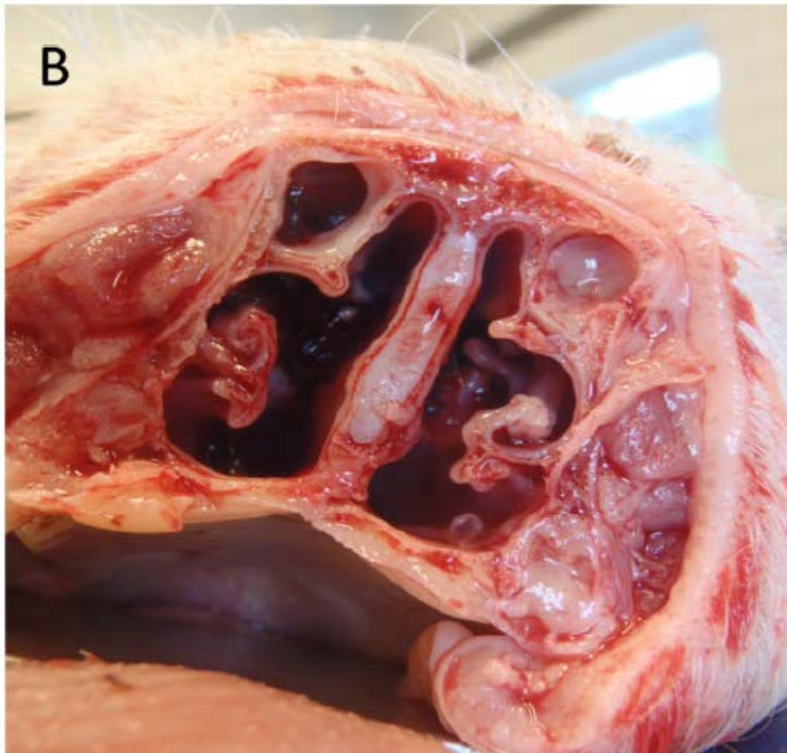
Hvad ved vi om Porcin Cytomegalovirus (PCMV)?

- Herpesvirus – det vil sige latent, "livslang" infektion
- Betændelse i næseslimhinden hos pattegrise - "Snotsyge"
- Medfødt- og tidlig infektion » alvorlig sygdom eller dødsfald
- Ældre grise » mild eller ingen sygdom
- Søer » ingen sygdom, abort eller superinfektion
- I andre lande er ~90 % af besætningerne smittet



Hvilke læsioner laver PCMV?

- Histologi:
 - Cytomegali og intranukleære inklusioner
 - "Inklusionslegeme rhinitis"



Figur 1. Histologisk billede af næseslimhinde (N) fra svin med inklusionslegeme rhinitis (PCMV infektion). I slimhinden ses kirtler (K) med PCMV inficerede epithel celler (bred pil) med virus inklusions legeme i cellekernen og normale epithel celler (smal pil). Foto: DTU Veterinærinstituttet.

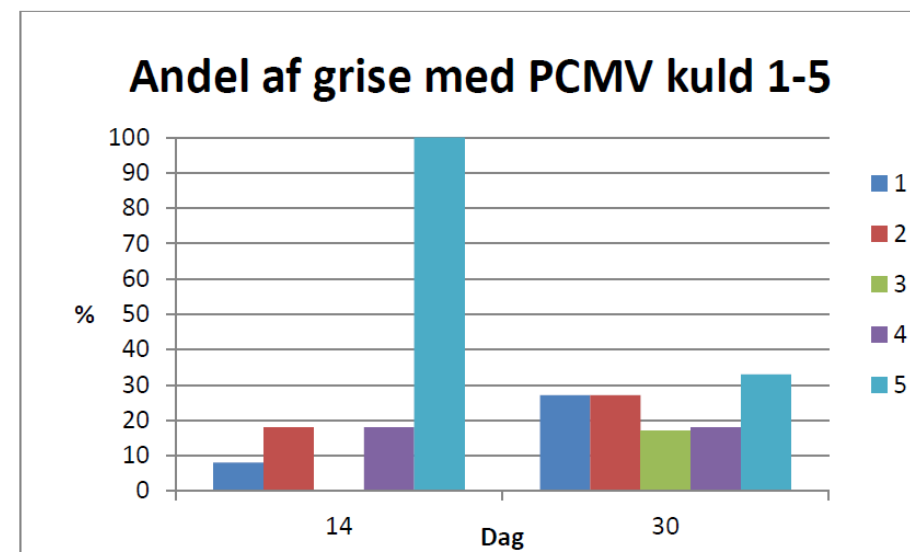
Forekomst og betydning i Danmark

• Meget få undersøgelser:

- Nielsen og Astrup, 2009. "Udenlandsk sygdom endelig fundet". Hyologisk Tidsskrift, Juni, pp., 10-11.
- G. B. Nielsen og S. L. Musse, »Kortlægning af årsager til øvre luftvejsinfektion blandt pattegrise i en sønderjysk sobesætning samt beskrivelse af infektionsforløbet ved infektion med PCMV,« 2014 (Svinefagdyrlæge opgave)

Tabel 5: Forekomsten af positive næsesvaberprøver for PCMV, angivet i total antal grise og i %

Næsesvaber, PCMV	Dag 14	Dag 30
Total antal grise	56	56
Antal grise med positiv prøve	15	18
Andel af grise med positiv prøve i % (prævalens)	27	32



Figur 1: Andel af grise med PCMV-positive prøver fordelt på kuld 1-5.

PCMV studier – veterinært speciale 2017

Health monitoring in nursery and finisher pigs by extending laboratory diagnostic screening

BSc.med.vet

Thomas Kjeldsen Kusk
s175812

BSc.med.vet

Maja Kobberø
s175813

Veterinary Master's Thesis
30 ECTS

Main supervisor

Professor Lars Erik Larsen, National Veterinary Institute, DTU

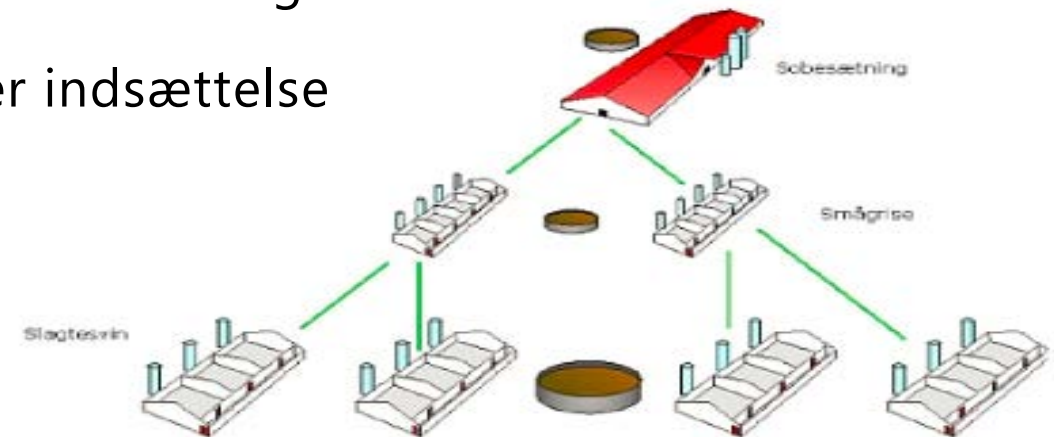
Co-supervisors

PhD student Nicole Bakkegård Goecke, National Veterinary Institute, DTU
Team Manager Charlotte Sonne Kristensen, SEGES Danish Pig Research Centre
CEO and Assistant Professor Ken Steen Pedersen, Ø-Vet and KU SUND
Senior Advisor Charlotte Kristiane Hjulsgaard, National Veterinary Institute, DTU

Submission date: 22nd of January 2018

Studiedesign

- Gentaget tværsnitsstudie
- Prøveindsamling i september, oktober og november 2017
- Besætninger
 - 6 klimastalde og 4 slagtesvinestalde
 - Aldersgrupper klimagrise: 2, 4 og 7 uger efter fravænning
 - Aldersgrupper slagtesvin: 2, 6 og 10 uger efter indsættelse
 - 2 stier tilfældigt udvalgt i hver aldersgruppe
 - 8 ud af 10 var SPF deklareret
 - Alle lokaliseret på Sjælland



Resultater

Fludigm analyser



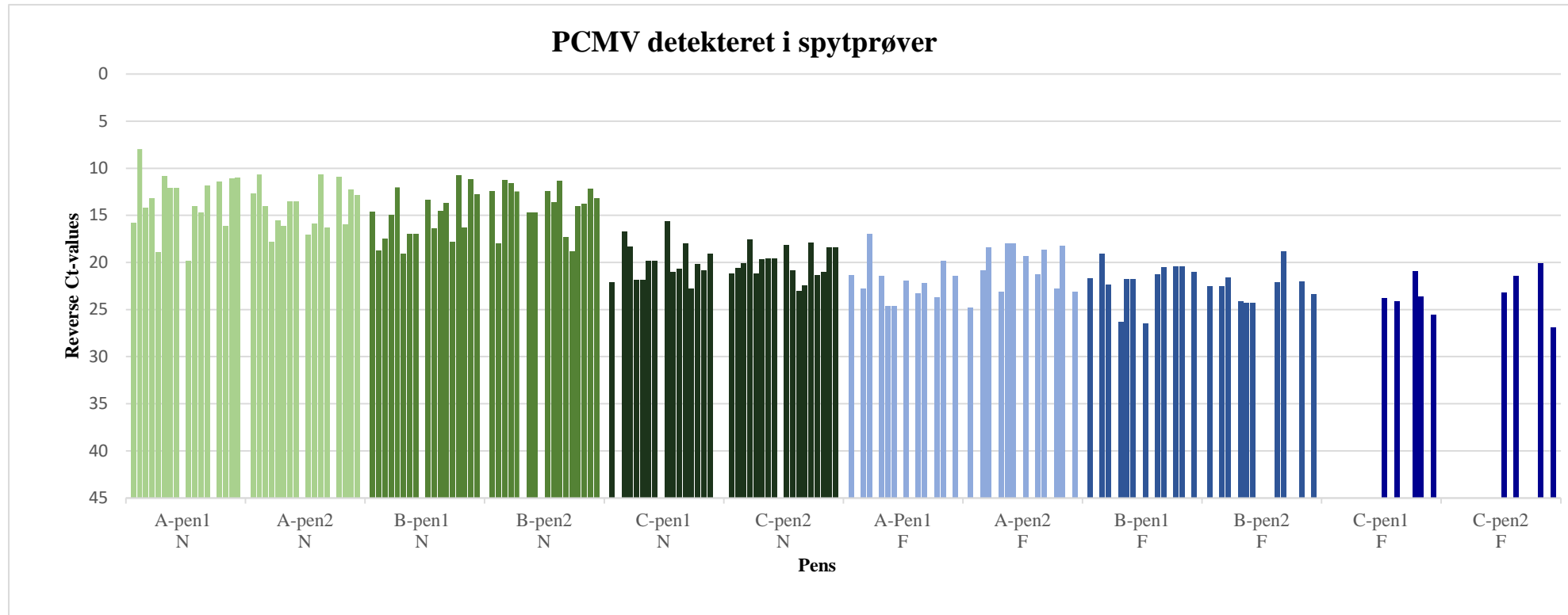
Klimastald

Prøvetagningsdato	27/11 2017		27/11 2017		27/11 2017	
	15		29		50	
Dage efter indsettelse	sti 1	sti 2	sti 1	sti 2	sti 1	sti 2
Agens	Metode					
Influenza A	PCR, apt (Ct)	22,85	15,86			
H1pdm (influenza)	PCR, apt (Ct)					
PCV2	PCR, apt (Ct)	19,73	20,21	24,16	22,98	15,86
	PCR, faeces (Ct) Log ₁₀ kopier/g					18,99 (6,07)
PCV3	PCR, apt (Ct)	25,02		24,92	27,65	27,55
	PCR, faeces (Ct)				30,29	
App	PCR, apt (Ct)				24,91	
App 2	ELISA, apt (DDN)					
App 6	ELISA, apt (DDN)					
App 12	ELISA, apt (DDN)					
M.hypopneumonia	PCR, apt (Ct)					
M.hyorhinis	PCR, apt (Ct)					
P.multocida	PCR, apt (Ct)	24,35		26,18		
S.suis 2	PCR, apt (Ct)	19,79	21,51	21,69	21,97	22,73
B.Bronchiseptica	PCR, apt (Ct)	27,82	27,69	26,17		
PCMV	PCR, apt (Ct)	11	12,81	12,74	13,16	18,36
PPV	PCR, apt (Ct)					
B.pilosicoli	PCR, faeces (Ct) kopier pr g./1000				20,81 (34,6)	16,2 (472)
Lintracellularis	PCR, faeces (Ct) kopier pr g./1000			24,93 (3,1)	19,94 (105)	14,38 (7050)
E.coli F4	PCR, faeces (Ct) kopier pr g./1000	20,43 (8210)	21,77 (5040)	27,33		
E.coli F18	PCR, faeces (Ct) kopier pr g./1000	19,87 (8130)	22,08 (3040)			
Rotavirus A	PCR, faeces (Ct)	18,67	17,3	23,69		22,52

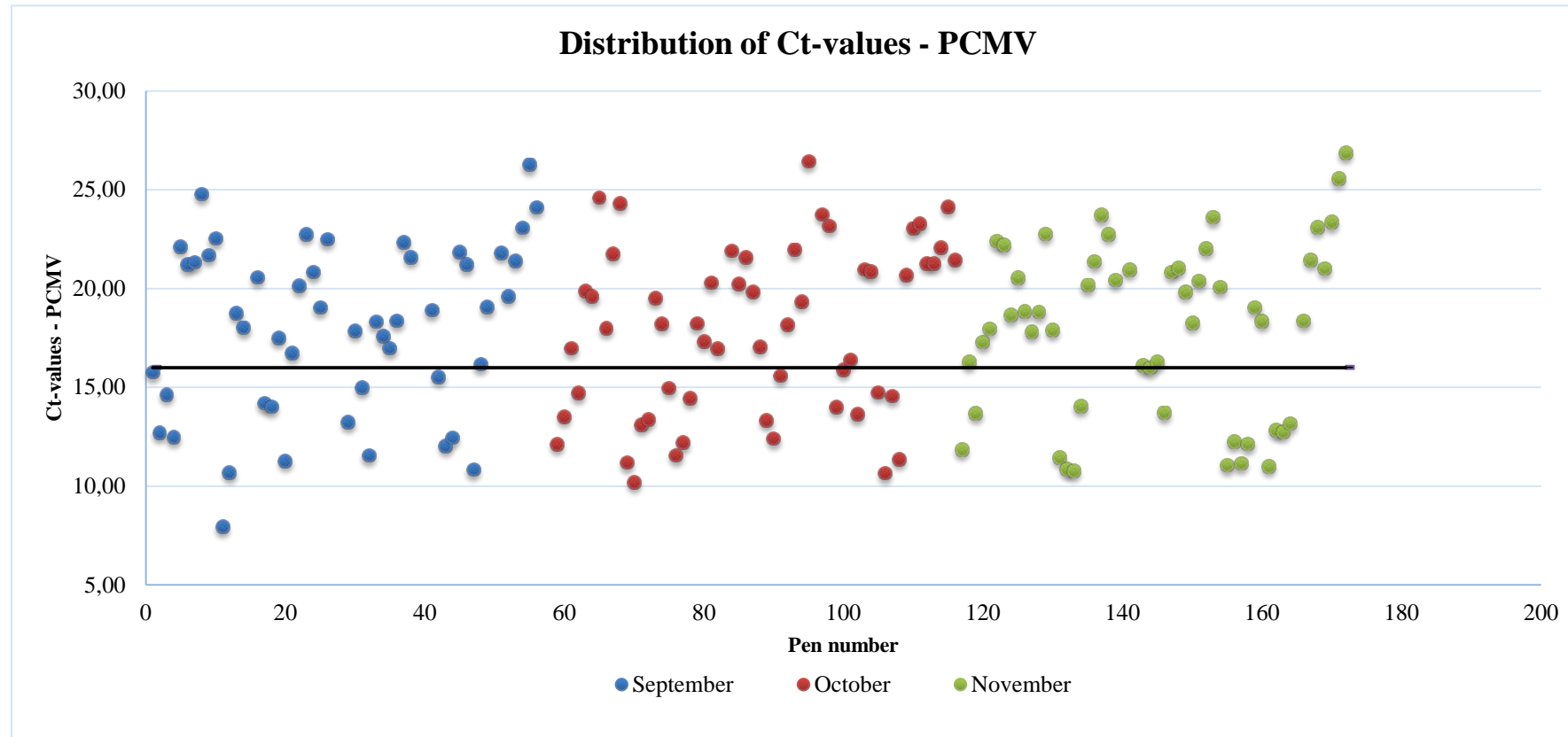
- Stien er negativ for pågældende agens
- Stien er ikke analyseret for pågældende agens
- Stien er negativ for det pågældende agens, hvor aldersgruppen var positiv ved sidste prøvetagning
- Stien er positiv for pågældende agens, uden ændring i aldersgruppen siden sidste prøvetagning
- Nyt agens er påvist i aldersgruppen siden sidste prøvetagning

Resultater- PCMV alle besætninger, alle indsamlinger - SPYT!

- Over 92 % af alle stier var positive
Høje niveauer i start til midt klimaperiode og lavere i sidste del af klimaperioden og op gennem slagtesvineperioden.



PCMV - Kvantitative værdier



PCMV – sammenhæng med kliniske symptomer og influenza

- Der var signifikant korrelation mellem PCMV og hoste

Table 2 p-values (Fishers exact probability test) calculated for different cut-off Cq values for respiratory viruses

Coughing event	+/-	Cq ≤ 16	Cq ≤ 18	Cq ≤ 20	Cq ≤ 22
p-value (swIAV)	0.02	0.08	0.10	0.03	na
p-value (PCMV)	0.53	0.0001	0.002	0.02	0.21

na: no analysis

- Også signifikant sammenhæng mellem PCMV (Ct<16), påvisning af svineinfluenza og kliniske tegn (p=0,003)



Occurrence and dynamics of disease in suckling and nursery pigs in a herd belonging to the RWA-program

Hele studiet blev præsenteret i morges!

30 ECTS
Nikolaj Kjer Jensen - cnd181

Veterinary Master's Thesis

Main Supervisor:

Assistant Professor Inge Larsen, KU Sund

Co-supervisor:

Professor Jens Peter Nielsen, KU Sund

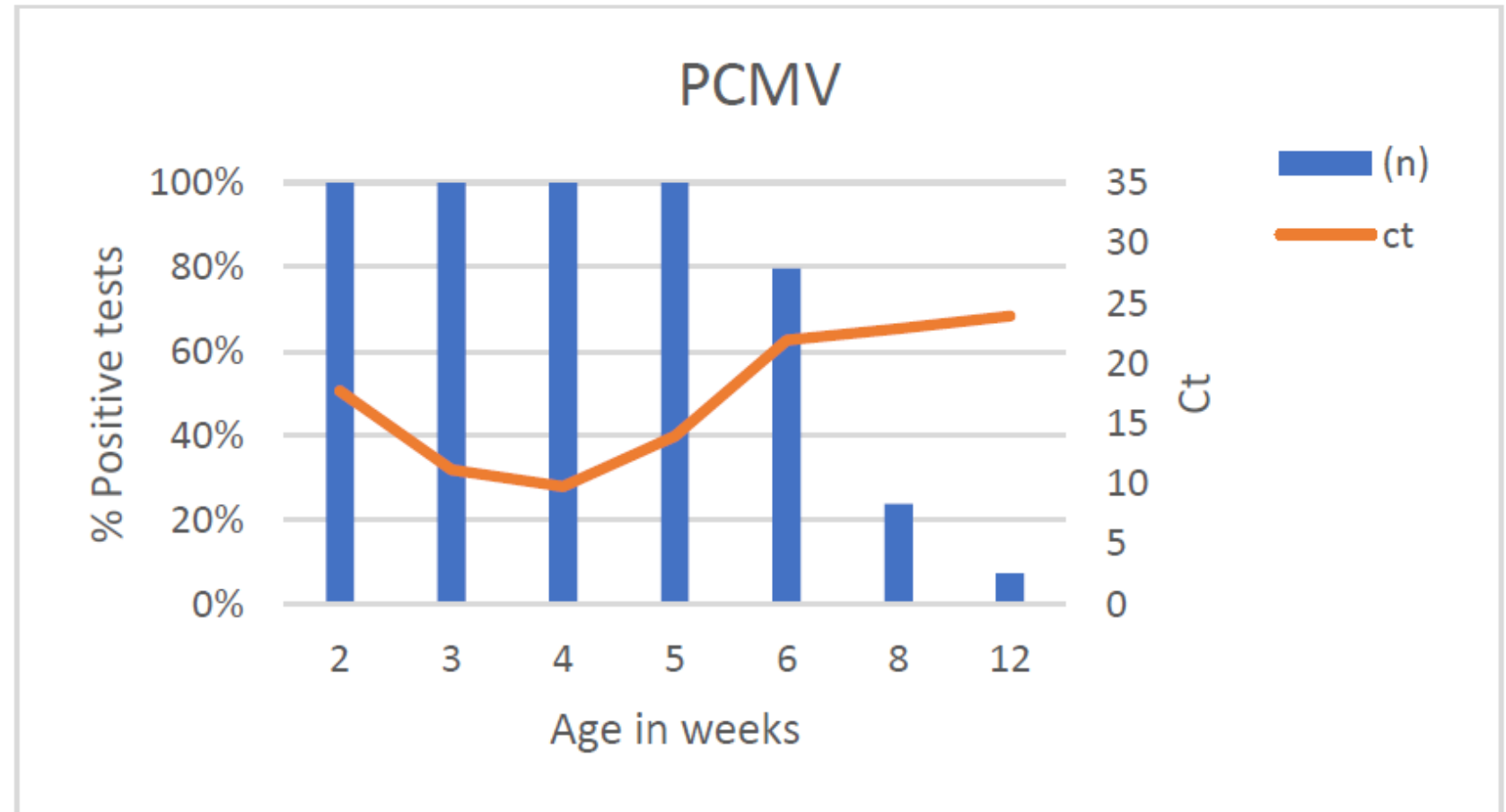
Professor Lars Erik Larsen, National Veterinary Institute, DTU

Submitted on: 14-01-2019

Studie design – recap fra i morges 😊

- En enkelt OUA besætning
- SPF + M.Hyo, AP6, Ap12 og PRRSV-2
- Øremærkning af 103 grise kort efter fødsel
- Prøve udtagning (næsesvaber og fæces) uge 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12
- Klinisk registreringer ugentligt

PCMV resultater



- Ingen forskel på OUA og behandlede grise
- Signifikant sammenhæng mellem PCMV fund og respiratoriske symptomer ($p < 0,0001$)

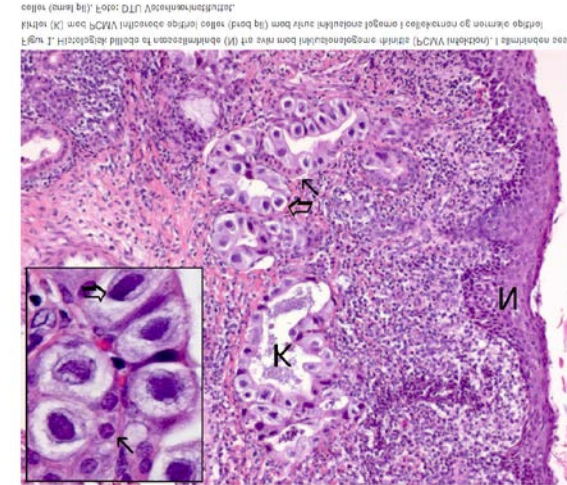
OUA projekt – 2. studium – cohorte i en OUA besætning 2019

- Foreløbige resultater

Respiratory Pathogens	Prevalence (%)						
	Birth Day	Week2	Week4	Week 5	Week 6	Week 8	Week 12
Influenza A virus	2.3	0.0	2.5	15	12.5	2.5	5.3
Influenza A pdm09H1N1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PCV2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PCV3	0.0	0.0	15	20	12.5	5	2.6
PCMV	4.7	19.5	90	97.5	97.5	92.5	7.9
PPV	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13.2
PRRSV type 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PRRSV type 2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
A. pleuropneumoniae	9.3	2.4	5	10	20	5	2.6
B. bronchiseptica	0.0	61.0	92.5	55	50	42.5	42.1
S. suis type 2	86.0	75.6	100	100	100	100	100.0
M. hyopneumoniae	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
M. hyorhinis	0.0	63.4	100	100	100	97.5	60.5
P. multocida	0.0	19.5	100	100	90	60	15.8
H. parasuis	16.3	70.7	100	100	100	97.5	97.4

PCMV - diagnostik

- Traditionelt har der været anvendt histologi
- Men også PCR på udenlandske laboratorier
- Men med den høje prævalens kan PCR så i det hele taget bruges til diagnostik?
- Seges studium udført i samarbejde med Kjellerup lab og DTU i 2018 – støttet af Svineafgiftsfonden



KVANTITATIV PCR KAN VÆRE ET GODT SUPPLEMENT TIL PÅVISNING AF CYTOMEGALOVIRUS-INFEKTION

MEDDELELSE NR.1162

Næsesvaberprøver undersøgt ved kvantitativ PCR er værdifulde i forhold til diagnostik af Porcint Cytomegalovirus-infektion på levende smågrise og kan i vid udtrækning erstatte histologi af næseslimhinde fra obducerede dyr.

INSTITUTION: SEGES SVINEPRODUKTION, DEN RULLENDE AFPRØVNING

FORFATTER: LOLA TOLSTRUP, SVEND HAUGEGAARD, LARS ERIK LARSEN*, CHARLOTTE
KRISTIANE HJULSAGER*, TIM KÅRE JENSEN*, METTE SIF HANSEN*, CHARLOTTE
SONNE KRISTENSEN

*DTU Veterinærinstituttet

UDGIVET: 4. FEBRUAR 2019

Studie formål og design

- Formål
 - At undersøge sammenhængen mellem PCMV niveauer i næsesvabere med histologiske forandringer typisk for PCMV
 - Dette med henblik på at vurdere om PCR kan anvendes som diagnostisk værktøj til vurdering af patologisk PCMV forekomst
- Design
 - I alt blev 46 grise indsendt til Kjellerup med mistanke om PCMV inkluderet i studiet
 - Grisene blev obduceret af Kjellerup laboratoriet
 - Prøver af næseslimhinden blev udtaget til formalin til histopatologisk undersøgelse og til kvantitativ PCR undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet
 - PCR analysen var standard real time PCR – det vil sige forskellig fra Fludigm anvendt i de andre studier

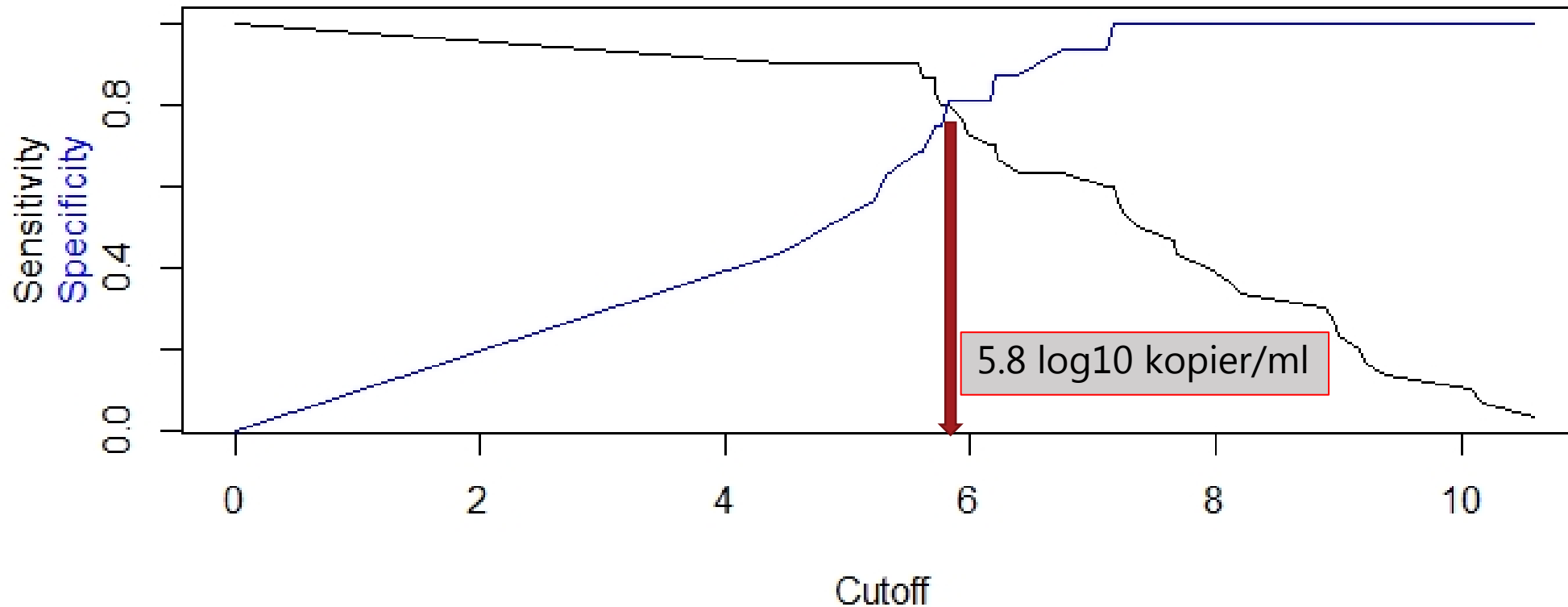
Resultater

Tabel 1. Resultater fra PCR og histologiske undersøgelser.

	Antal grise
Virus isoleret i næsesvaber	36 (78 %)
Histologisk fund:	
Ingen tegn på PCMV	9 (20 %)
Tvivlsomme tegn på PCMV Score = 1	18 (39 %)
Sikre tegn på PCMV (inklusionslegemer) Score = 2	19 (41 %)

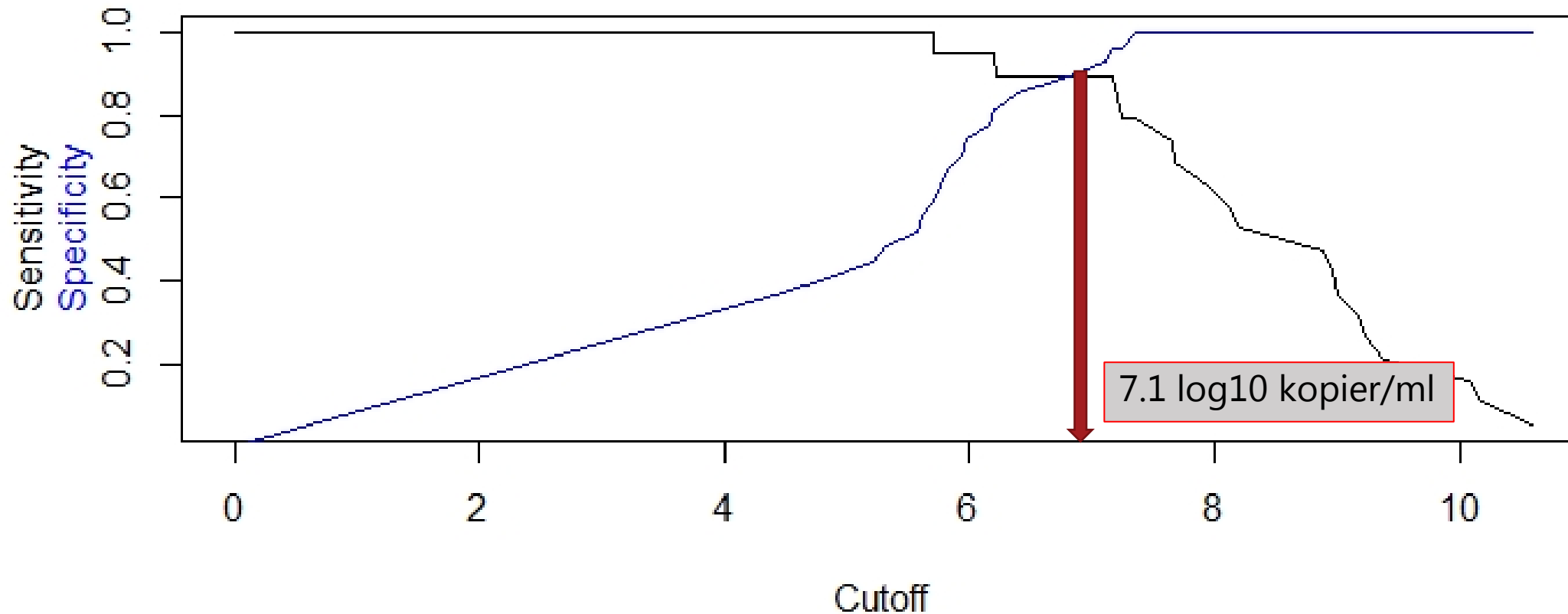
Sammenhæng PCR kvantitativt og histologi

Sensitivity and Specificity vs cut-offs, score 1+2



Sammenhæng PCR kvantitativt og histologi

Sensitiv and Specificity vs cut-offs, score 2 only



Konklusion – PCR som diagnostisk redskab

- En PCR værdi på over 5.8 log₁₀ kopier/ml indikerer sikker eller tvivlsom PCMV vurderet med histologi med en sensitivitet på 0.7 [0,53-1,00] og specificitet på 0.90 [0,52-1,00]
- En PCR værdi på over 7.2 log₁₀ kopier/ml indikerer sikker PCMV vurderet med histologi med en sensitivitet på 0.89 [0,67-0,99] og specificitet på 0.96 [0,81-1,00]
- NB – disse kopi-tal gælder for når analysen er kørt med DTUs real time assay – andre assays kan give andre resultater!
- Påvisning (plus/minus) af PCMV ved PCR siger intet om noget som helst!

Diskussion/Konklusion

- PCMV forekommer med høj prævalens i stort set alle besætninger – er der sket en stigning de sidste 5 år?
- Alle aldersgrupper kan være positive – men højest niveau omkring fravænning – store forskelle fra besætning til besætning og måske også fra ugehold til ugehold?
- Herpes virus er kendt for at reaktiveres ved stress!
- Flere studier har påvist en sammenhæng mellem klinik og høje mængder af PCMV – det kan altså optræde som primær/sekundær patogen
- Diagnostik: Patologi er stadig "golden standard", men PCR kan anvendes hvis resultatet vurderes kvantitativt
- Kontrol muligheder: Ingen specifikt...de sædvanlige management regler hjælper jo nok også på dette virus!

Tak for opmærksomheden

- Spørgsmål...og så frokost og weekend☺

