

# Influenza i danske svin

Lars Erik Larsen på vegne af  
Pia Ryt-Hansen  
Institut for Veterinær og Husdyrvidenskab

KØBENHAVNS UNIVERSITET



# Indhold

- Hvordan smitter influenza indenfor danske besætninger – Pias PhD
- Hvordan kan vi kontrollere infektionen?
- Hvor mangler vi viden og kan I hjælpe?
- Influenza virus varianter i Danmark anno 1. November 2020
- Det zoonotiske aspect – den brændende Covid-19 platform (*"fra Kolmos til Kaos"*)

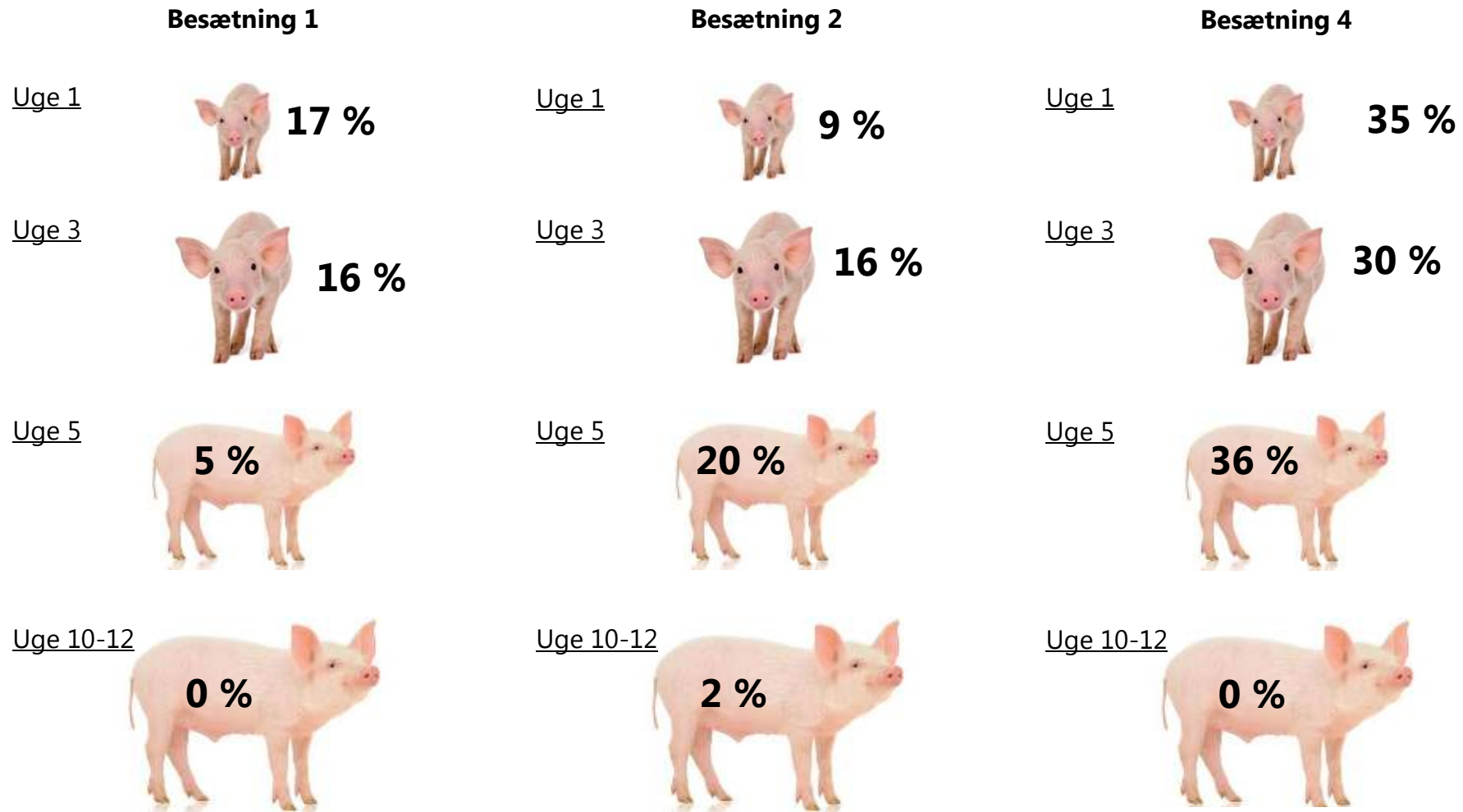
# Smittedynamik inden for besætningen

- Besætning 1:
  - H1avN2sw
  - Ikke SPF (fri for PRRSv)
  - 900 søer
- Besætning 2:
  - A(H1N1)pdm09
  - Blå SPF
  - 900 søer
- Besætning 4:
  - H1avN2sw
  - Blå SPF
  - 450 søer
- **Ingen vaccination mod influenza**



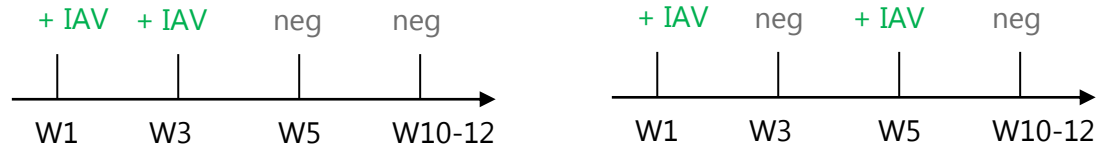
# Smitte dynamik inden for besætningen

## Prævalens af influenza



# Smitte dynamik inden for besætningen

## Prævalens af influenza



Besætning	Inficerede grise (% af total)	"Langtidsudskillere"	"Tilbagevendende udskillere"
1	36 %	7,4 %	3,7 %
2	43 %	3,6 %	-
4	68 %	20,7 %	24,5 %

# Resultater – ELISA antistoffer

## Besætning 1

2 uger før faring (AB):



uge 3



uge 10-12



## Besætning 2

2 uger før faring (AB):



uge 3



uge 10-12



## Besætning 3

2 uger før faring (AB):



uge 3



uge 10-12



98 % af de IAV inficerede grise blev smittet inden for de første 5 uger

# Smitte dynamik inden for besætningen

## Prævalens af influenza hos søer

### Besætning 1

1 uge after faring (virus)



### Besætning 2

1 uge after faring (virus)



### Besætning 3

1 uge after faring (virus)



# Smitte dynamik inden for besætningen

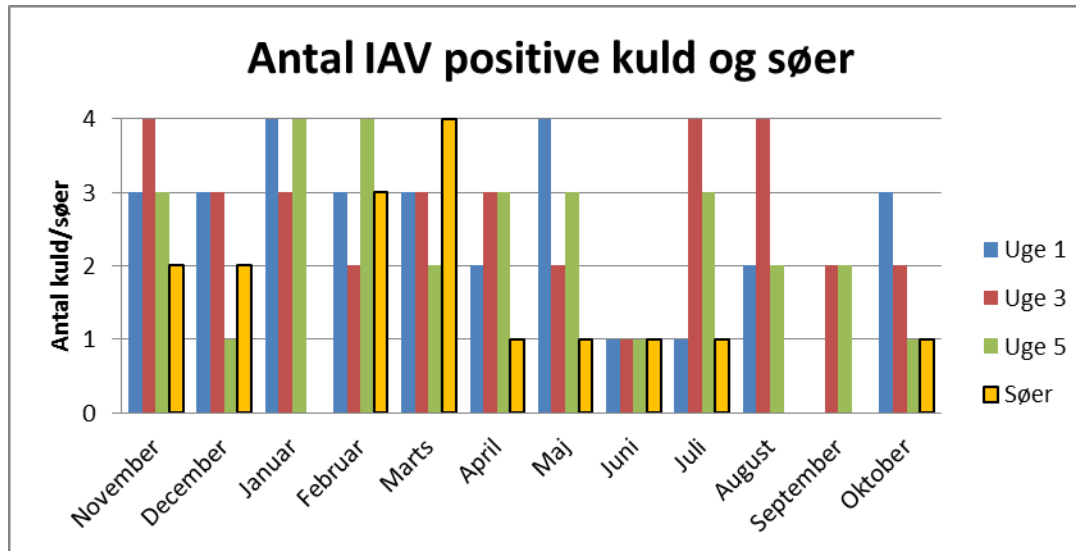
- Studie design:
  - **Besætning 4**
  - 1 besøg hver måned
  - Næsesvaber:
    - 20 pattegrise fra 4 forskellige kuld ved uge 1 + **søer**
    - 20 pattegrise fra 4 forskellige kuld ved uge 3
    - 20 grise fra 4 forskellige stier ved uge 5





# Smitte dynamik inden for besætningen

Resultater:



60 % af 1 ugers kuldene  
 69 % af 3 ugers kuldene  
 60 % af 5 ugers stierne

- Virus load faldende med alderen
- 16 IAV positive søer = 33 %
  - 14/16 (87,5 %) havde også et positiv kuld
  - 44 % af de 16 søer var 1. lægs søer

# Smitte dynamik inden for besætningen - opsummering

- Virus cirkulation i farestalden
  - Stor procentdel af pattegrise inficeret
  - Naive individer fødes dagligt
    - 3 dage gamle grise kan smittes
  - Søer spiller vigtig rolle i smittedynamikken
- Virus cirkulation i klimastalden
  - Virus kommer med fra farestalden
  - Grise blandes – nye naive individer
  - Lav IAV prævalens ved 30kg
- Generelt
  - Langtidsudskillere
  - Mulighed for re-infektion med samme subtype?



# Hvad med de maternelle antistoffer?

## Besætning 1

2 uger før faring (Antistoffer):



## Besætning 2

2 uger før faring (Antistoffer):




## Besætning 4

2 uger før faring (Antistoffer):



98 % af de IAV inficerede grise blev smittet inden for de første 5 uger

# Hvad med de maternelle antistoffer?

**RESEARCH ARTICLE**  
**Open Access** 

## Maternally-derived antibodies do not prevent transmission of swine influenza A virus between pigs

Charlie Cador<sup>1,4\*</sup>, Séverine Hervé<sup>2,4</sup>, Mathieu Andraud<sup>1,4</sup>, Stéphane Gorin<sup>2,4</sup>, Frédéric Paboeuf<sup>3,4</sup>, Nicolas Barbier<sup>2,4</sup>, Stéphane Quéguiner<sup>2,4</sup>, Céline Deblanc<sup>2,4</sup>, Gaëlle Simon<sup>2,4</sup> and Nicolas Rose<sup>1,4</sup>

**RESEARCH ARTICLE**  
**Maternally Derived Immunity Extends Swine Influenza A Virus Persistence within Farrow-to-Finish Pig Farms: Insights from a Stochastic Event-Driven Metapopulation Model**  
Charlie Cador<sup>1,2\*</sup>, Nicolas Rose<sup>1,2</sup>, Lander Willem<sup>2</sup>, Mathieu An...

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)  
**SCIENCE @ DIRECT®**  
Veterinary Immunology and Immunopathology 92 (2003) 23–35

**ELSEVIER**  
Veterin immunol and immunopathol  
[www.elsevier.com/locate/vv](http://www.elsevier.com/locate/vv)

Contents lists available at ScienceDirect  
**Veterinary Microbiology**  
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetmic](http://www.elsevier.com/locate/vetmic)

### Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus

W.L.A. Loeffen<sup>a,\*</sup>, P.P. Heinen<sup>b,1</sup>, A.T.J. Bianchi<sup>b,2</sup>, W.A. Hunneman<sup>a</sup>, J.H.M. Verheijden<sup>c</sup>

### Maternally-derived antibodies do not inhibit swine influenza virus replication in piglets but decrease excreted virus infectivity and impair post-infectious immune responses

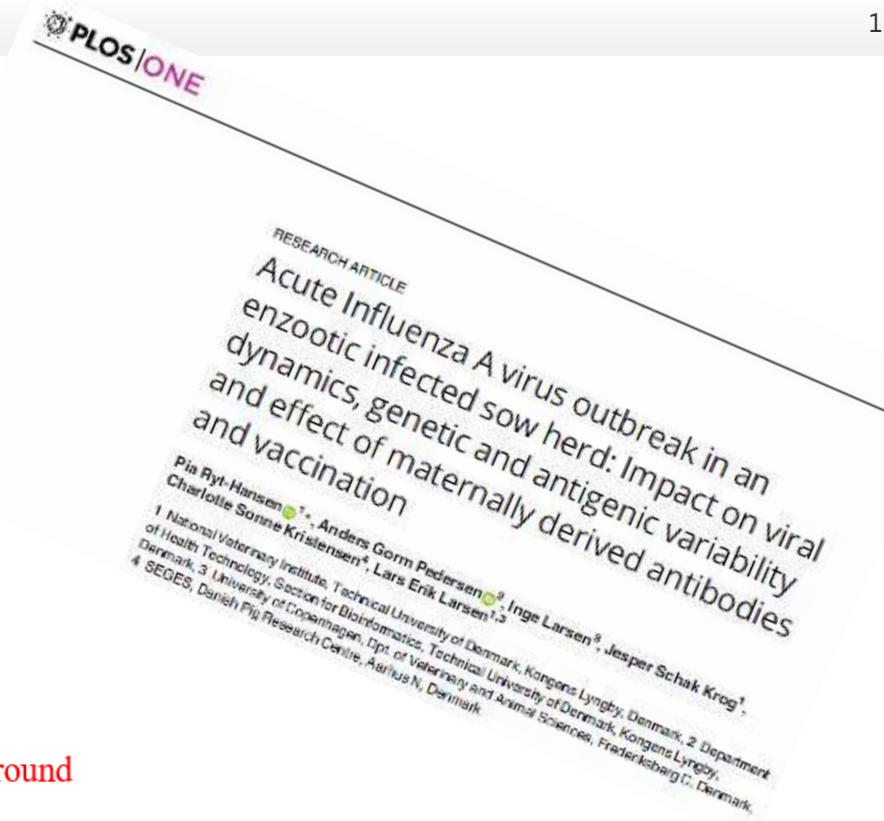
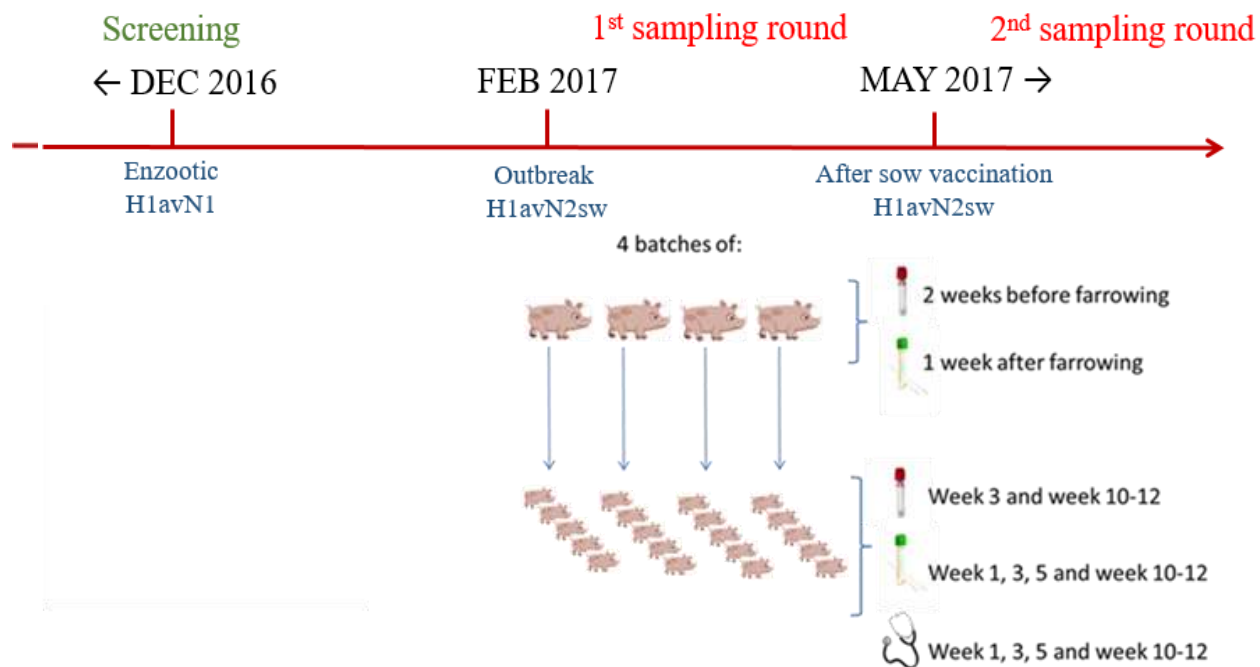
Céline Deblanc<sup>a,b,\*,1</sup>, Séverine Hervé<sup>a,b,1</sup>, Stéphane Gorin<sup>a,b</sup>, Charlie Cador<sup>b,c,2</sup>, Mathieu Andraud<sup>b,c</sup>, Stéphane Quéguiner<sup>a,b</sup>, Nicolas Barbier<sup>a,b</sup>, Frédéric Paboeuf<sup>b,d</sup>, Nicolas Rose<sup>b,c</sup>, Gaëlle Simon<sup>a,b</sup>

# Hvad når der kommer et nyt virus ind?

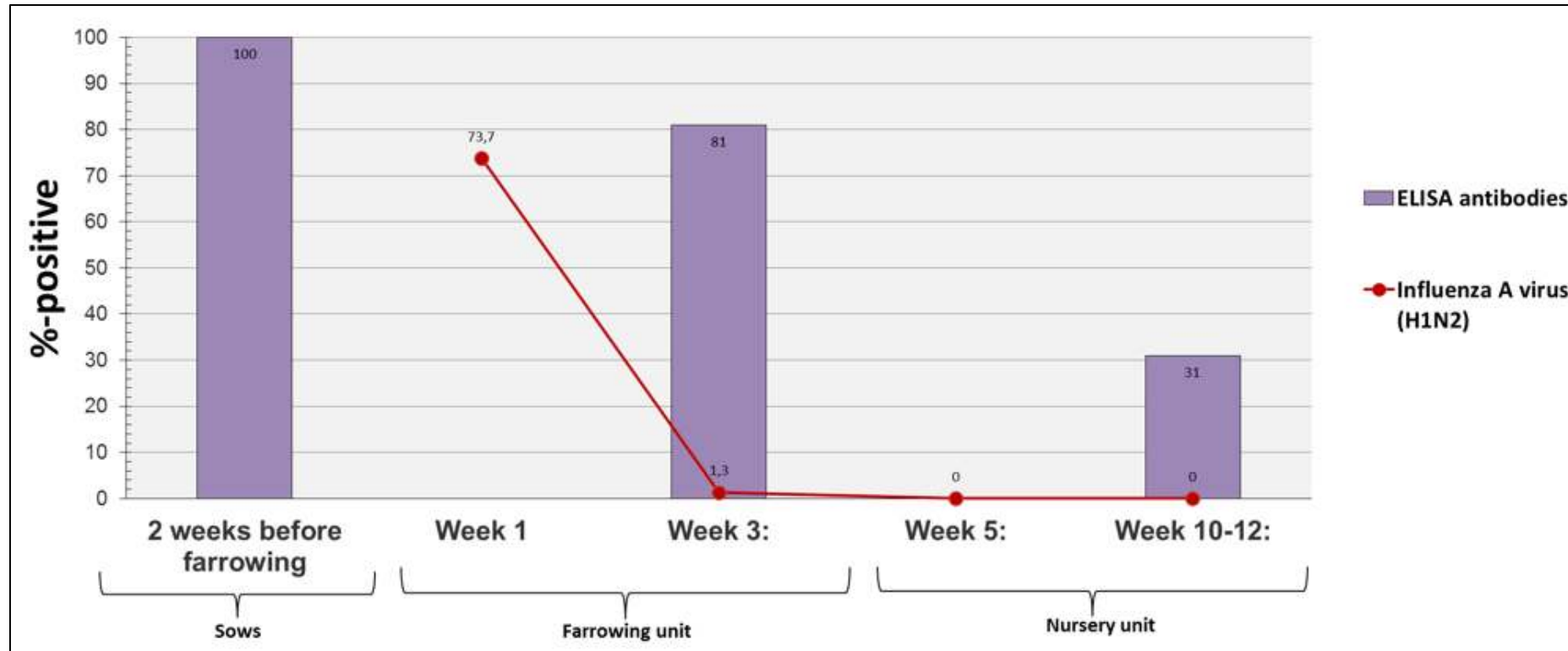
## Formål

- Dynamik af swIAV
- Effekt af masse vaccination
- Genetisk variation over tid

## Design



# 1st sampling round – udbrud af H1avN2sw

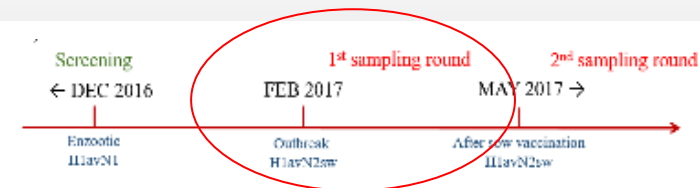


HI-test:

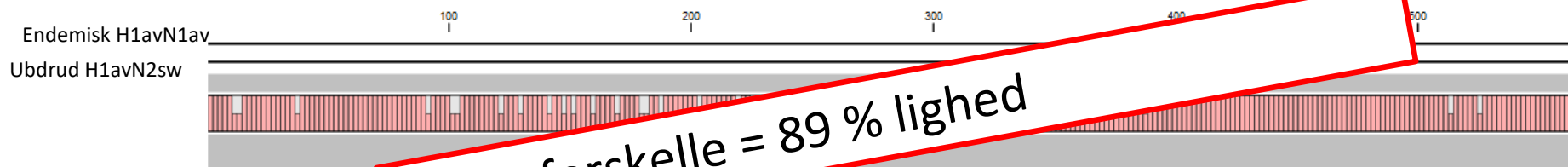
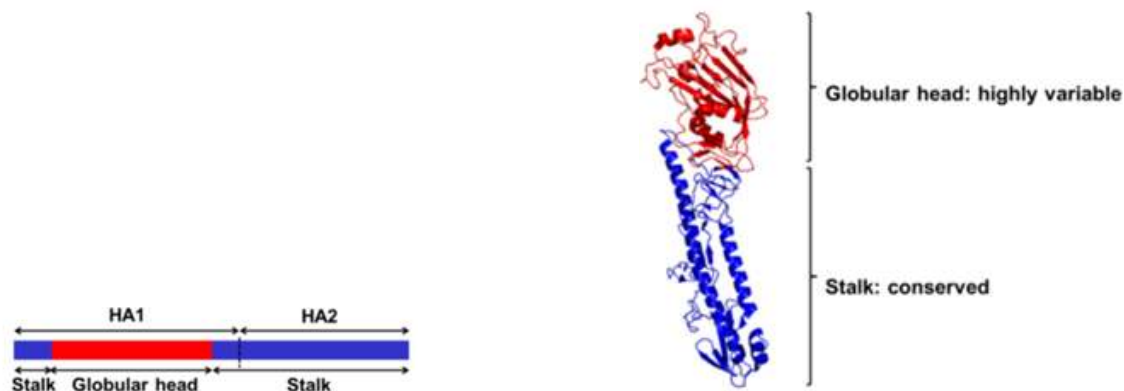
- 100 % af søerne havde antistoffer mod H1avN1
- 40 % af søerne havde antistoffer mod udbrudsstammen H1avN2sw

➤ Altså nedsat krydsreaktion indenfor H type

# Hvorfor beskyttede de maternelle ikke?



HA sekvens lighed mellem den endemiske stamme (H1avN1av) og udbruds stammen (H1avN2sw)



**60 AA forskelle = 89 % lighed**

**HA1 = globular domain**

**Receptor binding site and antigenic sites**

# Efter masse so vaccination



Total antal inficerede dyr:

FØR VAC: 73,6 %

EFTER VAC: 80 %

Antal "længerevarende" udskillere:

FØR VAC: 1,8 %

EFTER VAC: 23,3 %

Virus load (Ct-værdi):

FØR VAC: 25

EFTER VAC: 31

Antistoffer mod udbrudsstammen - søer

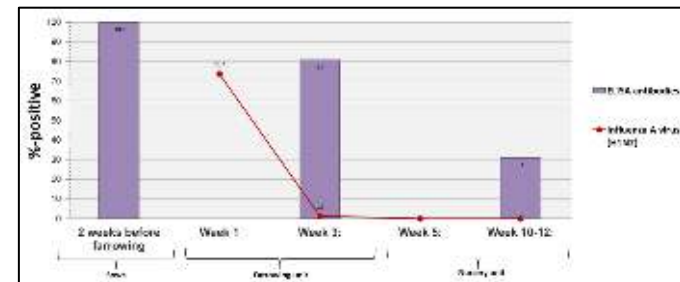
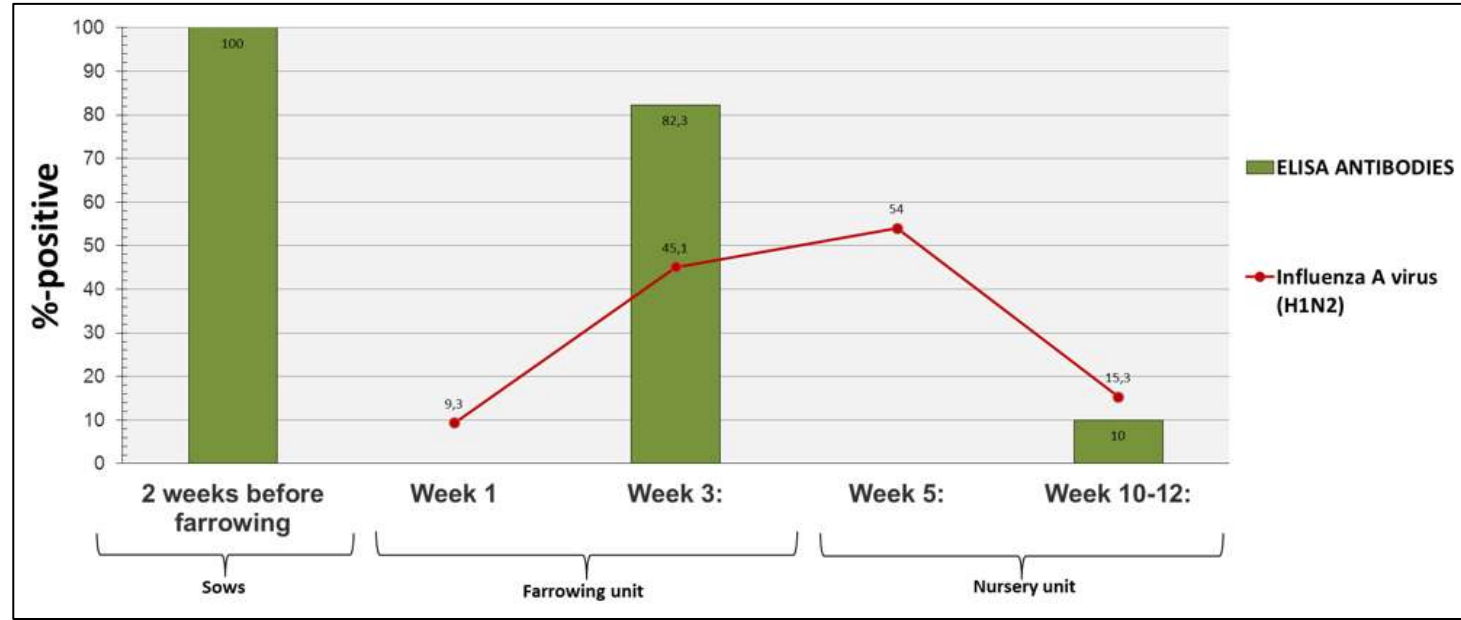
FØR VAC: 40 %

EFTER VAC: 73 %

Klinisk effekt:

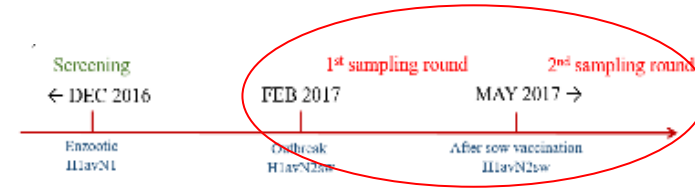
FØR VAC: Ingen sammenhæng mellem IAV og kliniske tegn

EFTER VAC: Sammenhæng mellem IAV og næseflåd og forhøjet hosteindex

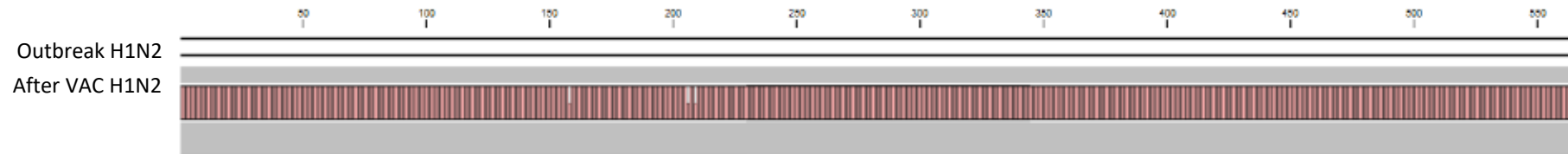




# Genetiske forskelle efter vaccination



HA-sekvens identitet mellem 1. prøveudtagningsrunde (før vaccination) og 2. prøveudtagningsrunde (efter massesovaccination)

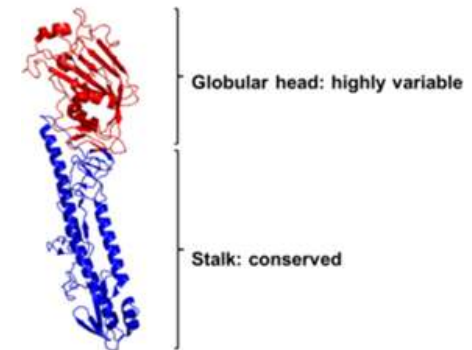


HA1 = globular domain

Receptor binding site and antigenic sites

3 amino syre forskelle:

- S159R (Ca2)
- T207A/S/N (Sb)
- Q210H (Sb)



# Opsummering

- Akut udbrud af heterolog stamme i endemisk smittet besætning
    - Meget unge smågrise blev smittet
    - SwIAV-undertyper kan ikke længere betragtes som serotyper
  
  - Efter massevaccination
    - Effekt af homologe MDA'er - forsinket infektionstid
    - Reduceret virus udskillelse
    - **MEN**
      - Forøgelse af "langvarige udskillere"
      - Lavere grad af serokonversion
      - Virus mutation – specielt i antigene sites
- } Forøger risiko for spredning indenfor besætningen

# Hvor hurtigt ændre svineinfluenza sig?

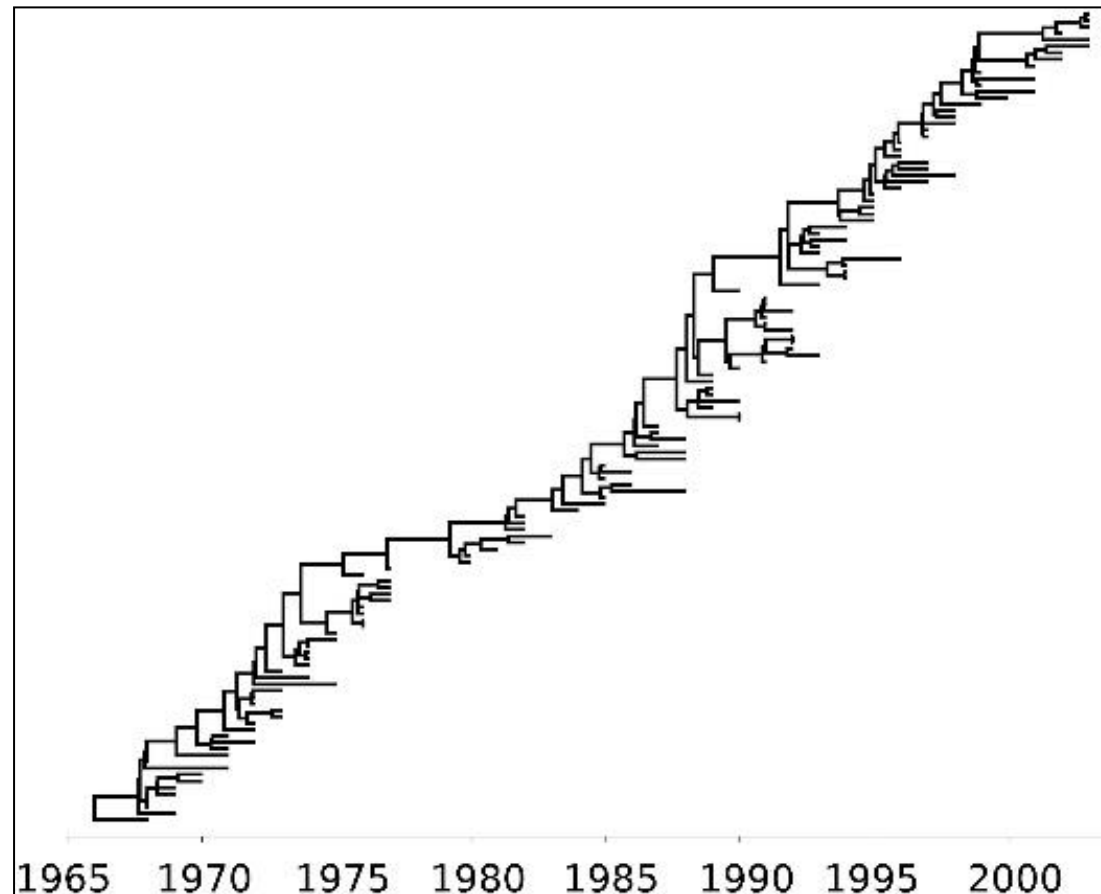
- **Dogme:**

*"Genetisk drift af svineinfluenza er meget lavere end for human influenza"*

## Human H3N2 sæson influenza:

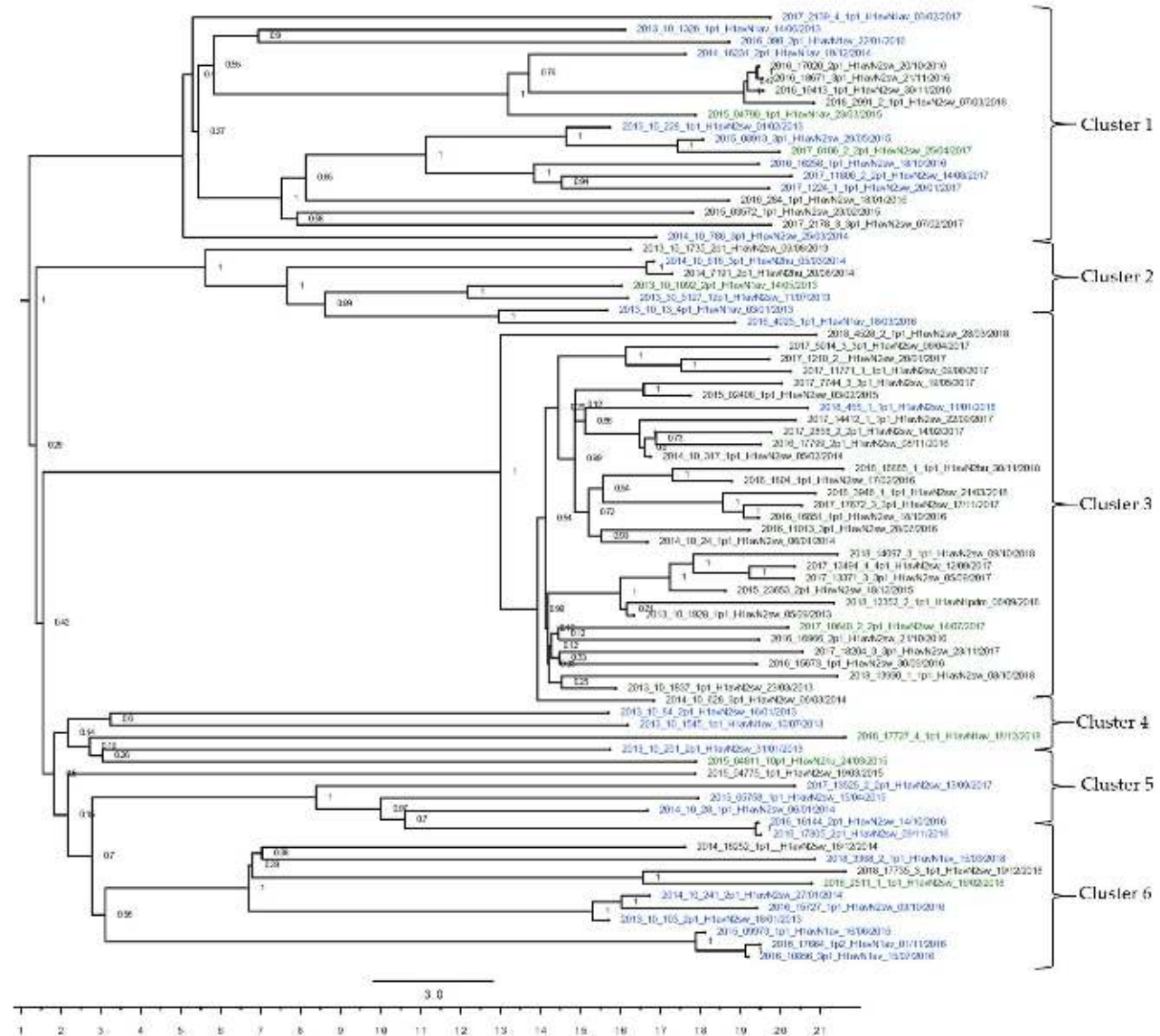
Trappelignende evolution

4-5 x 10<sup>-3</sup> nucleotide substitutions per site per year.



# Hvad med svineinfluenza avH1Nx – nationalt/regionalt

- Ingen molekylære klokke
- Mange clusters og subclusters



# swIAV ændringer indenfor EN besætning

## Besætning 3

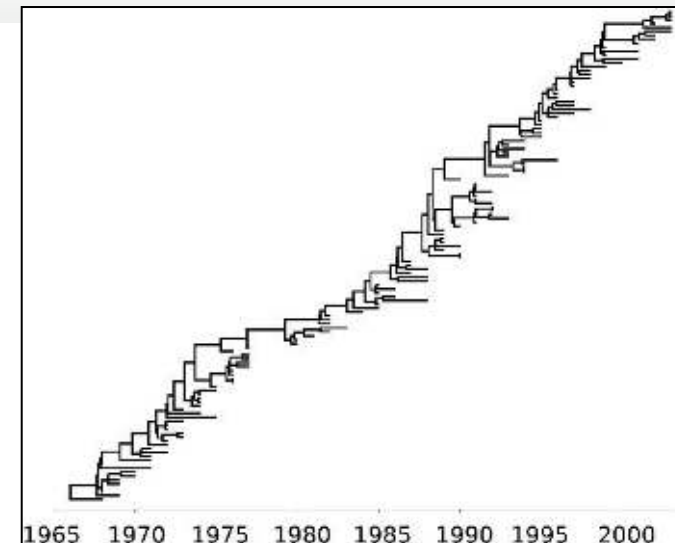
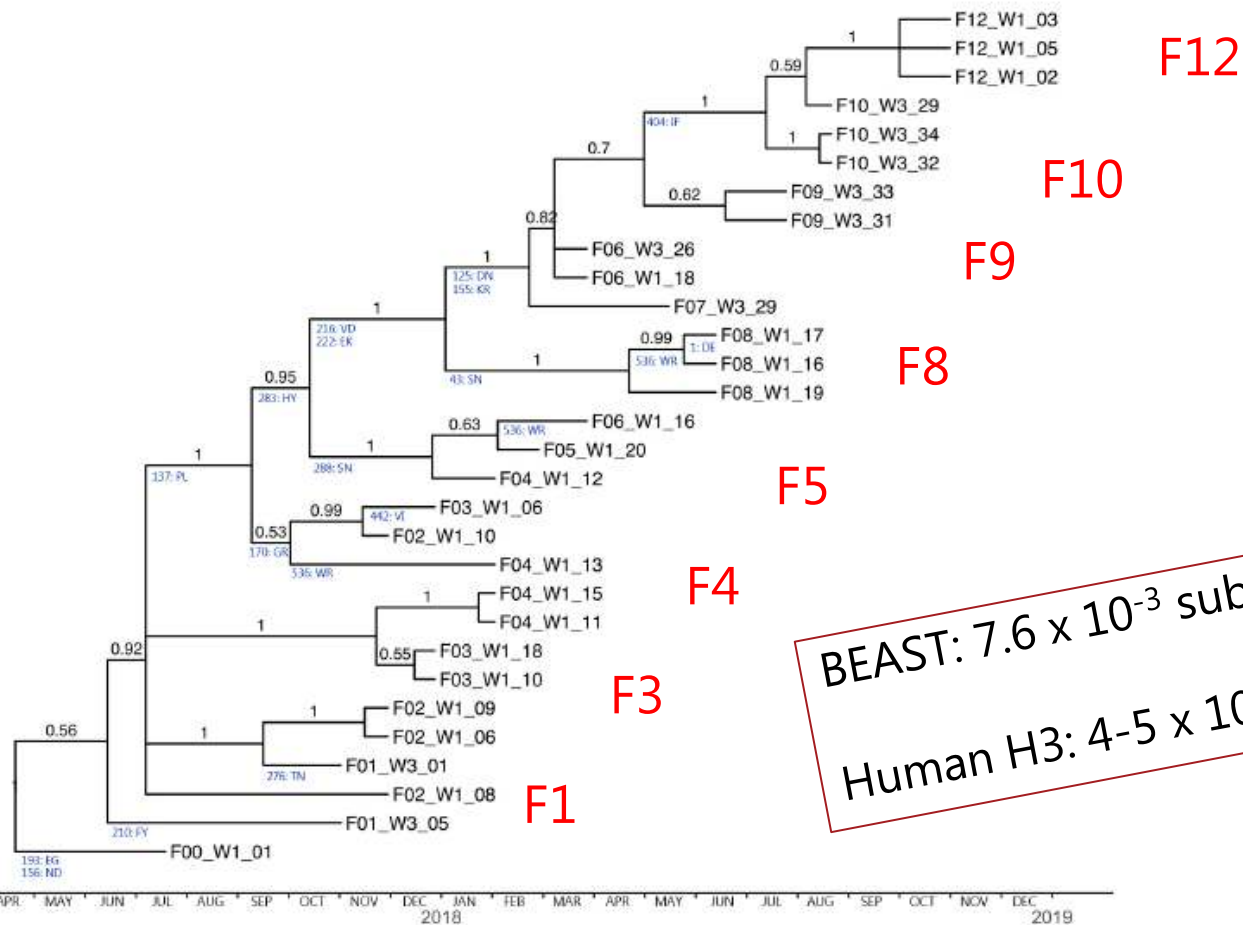
- 480 sows
- Ugehold
- Ingen vaccination
- Viruscirkulation i farestald og klimastald

## Prøveudtagning

- Månedlige næsesvabere (cross-sectional)
  - 20 grise fra fire kuld – alder: 1 uge
  - 20 grise fra fire kuld – alder: 3 uger
  - 20 grise fra fire stier – alder 5 uger (efter fravænning)
  - 4 søer fra kuldene med 1 uge gamle grise



# swIAV ændringer i EN besætning



BEAST:  $7.6 \times 10^{-3}$  substitutions/site/year  
 Human H3:  $4-5 \times 10^{-3}$  nucleotide substitutions per site per year.

Figure 2. Bayesian strict molecular clock tree of the hemagglutinin (HA) sequences. The x-axis represents time in months from 2017–2019. Branch labels represent posterior clade probabilities. Ancestral amino acid changes are indicated below the branches on which they most probably occurred, with DTLC numbering. F00\_W1\_01 sampled approx. four months before the actual study was used as an outgroup.

# swIAV ændringer - diskussion

- Influenza i svin ændre sig som i mennesker indenfor en epidemiologisk enhed
- Har dette konsekvens for krydsbeskyttelse? – kryds HI tests pending pga.
- Vi skal derfor have lov til at opdatere vaccinerne!!



# Diskussion

## Dogmer om vaccination?

- Vaccination som forsikring mod smitte med ny subtype ✓
  - Polte strategi – varighed af immunitet – Henriette og Simon!
- Vaccination under udbrud ÷
  - Fokus på næste hold søer
- Vaccination til beskyttelse af søer ✓
  - BLITZ
  - Polte strategi
- Vaccination af "nyfødte" pattegrise mod smitte i farestald ÷?
- Vaccination af pattegrise til beskyttelse af smågrise
  - Pattegrise før fravænning
    - Maternelle antistoffer ?
  - Ved/efter fravænning ?
- Vaccination af smågrise til beskyttelse af slagtesvin ✓
  - Vaccination ved dag 56

## 4.2 Terapeutiske indikationer med angivelse af dyrearter, som lægemidlet er beregnet til

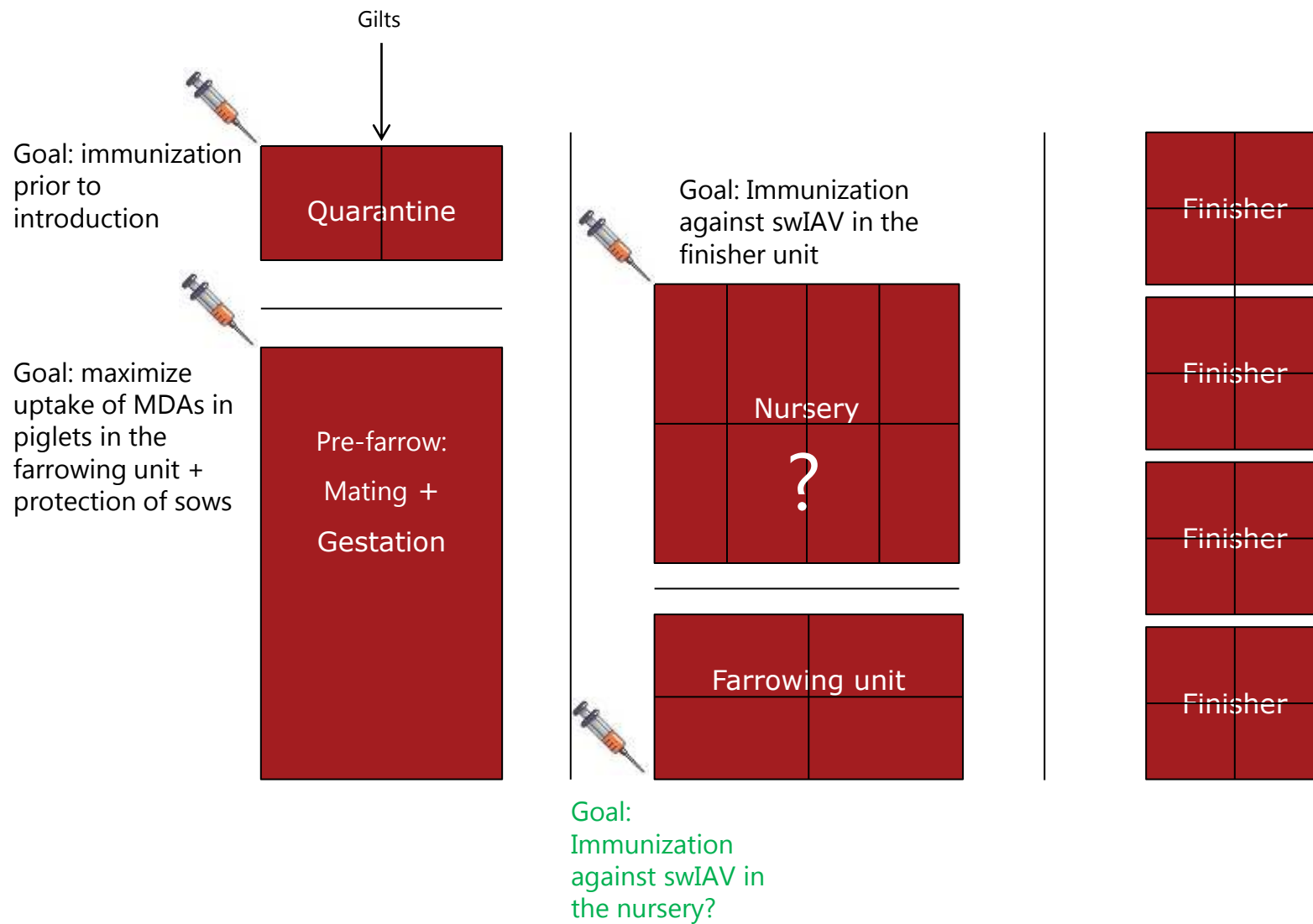
Aktiv immunisering af svin fra de er 56 dage gamle samt drægtige søer mod svineinfluenza forårsaget af subtyperne H1N1, H3N2 og H1N2 for at reducere kliniske symptomer og spredning af virus til lungeme efter infektion.

Indtræden af immunitet: 7 dage efter basisvaccination.  
 Varighed af immunitet: 4 måneder hos grise, der blev vaccineret i alderen mellem 56 og 96 dage.  
 6 måneder hos grise, der blev vaccineret første gang fra 96-dages alderen og ældre.

Aktiv immunisering af basisvaccinerede, drægtige søer ved administration af en enkelt dosis 14 dage før faring for at opnå et højt immunindhold i kolostrum, der giver pattegrisene klinisk beskyttelse i mindst 33 dage efter fødsel.







# Diskussion

## Management:

- McRebel
  - Sektionering
  - Alt ind/alt ud
  - Ingen blanding af aldersgrupper
  - Håndtering af aldersgrupper
  - Ingen fravænnede grise i farestalden
  - Sygesti
  - Hygiejne
  - Ventilation
  - Grise-flow
- Karantæne til polte
  - Tjek influenza status
- Opbrud mellem ugehold hvis udbrud
- Influenza fri besætninger?



### 3.3.7. Combination strategy (Experiment #15)

The combination strategy (#15) included homologous mass vaccination every two months, early weaning of piglets (removal 0–7 days after birth), gilt separation, homologous gilt vaccination, and a longer period between introductions of gilts (6 months). Relative to the null, this combination of interventions was the most effective at reducing prevalence (Table 4, Fig. 5 and 6). This strategy reduced the maximum prevalence by 65.4%, the endemic prevalence by 51.1%, and the endemic prevalence in piglets by 74.0%. Additionally, in 23% of simulated cases, IAV was eliminated from the breeding herd, but as with homologous mass vaccination (#10 & 11) this extinction occurred within the first few days after IAV introduction.

MDAs



Vaccination personale mfl.



Piglets



Søer og polte



"Skrue down the expectations"



**Influenza kontrol**

Pattegrise vaccination



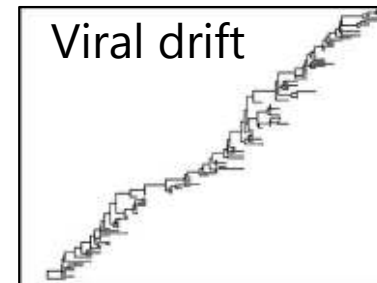
Management



Opdateret vacciner



Viral drift



# Influenza i svin – en tikkende bombe?

**Berlingske**

NYHEDER OPINION BUSINESS ADK

**Tanken, næsten ingen tør tænke: En ny pandemi, før coronaen er kvalt**

Det er ikke usandsynligt, at en ny pandemi begynder at hænge kloden, før coronavirusen er kvalt. Vores svin udgør en særlig smittetilfare og er som tikkende bombe. Anders Ingerslev dansk ekspert. For grise er i stigende grad nærmest perfekte afbalancerede fremstilling af nye influenzavirusser, der kan hoppe på os – og som vores immunforsvar ikke kan genkende.

**Information**

**KUNSTEN AT HOLDE SIG VARM**  
Fjällrävens nye 1974 Expedition-kollektion

**Forskere frygter, at influenzavirus i svin kan udløse ny pandemi hos mennesker**

Tyske forskere har fundet influenzastammer i den europæiske svineproduktion, der kan føre til pandemi hos mennesker. Flere af virusstammerne er fundet i danske svin. Eksperten betegner risikoen for en ny svineinfluenzapandemi som alvorlig.

De fire dyr, der er ramt, døde flere måneder senere. De to andre ramte svin døde der i løbet af få dage. Det er risikoen for, at de virusser, der er ramt i løbet af en dag, kan sprede sig til et stort antal svin, som igen kan udløse en ny pandemi. Det er risikoen ved moderne, intensiverede svineproduktion, siger professor Hans Jørgen Kolbech. © Steig Nygaard

Indland 16. oktober 2020 Kommentarer (7)

**Udland**

**Ny virus med potentiale til at blive en pandemi er fundet**

**MEST SETE**

**Da, har forskere fundet en ny sygdom i Kina.**

En pandemi er fundet i Kina.

University i Storbritannien er virusserne, der har fundet sig til mennesker. Det skriver det britiske videnskabsmagasin Nature.

**KØB MED RENE HÅNDTUVS OG INGEN RENT**

## **”Den brændende platform”**

**Størrelsen på svinebesætninger er steget drastisk de seneste 10-20 år**



**Influenza virus cirkulerer nu kronisk i langt de fleste besætninger**



**Flere end 200 influenza virus varianter er påvist i svin**



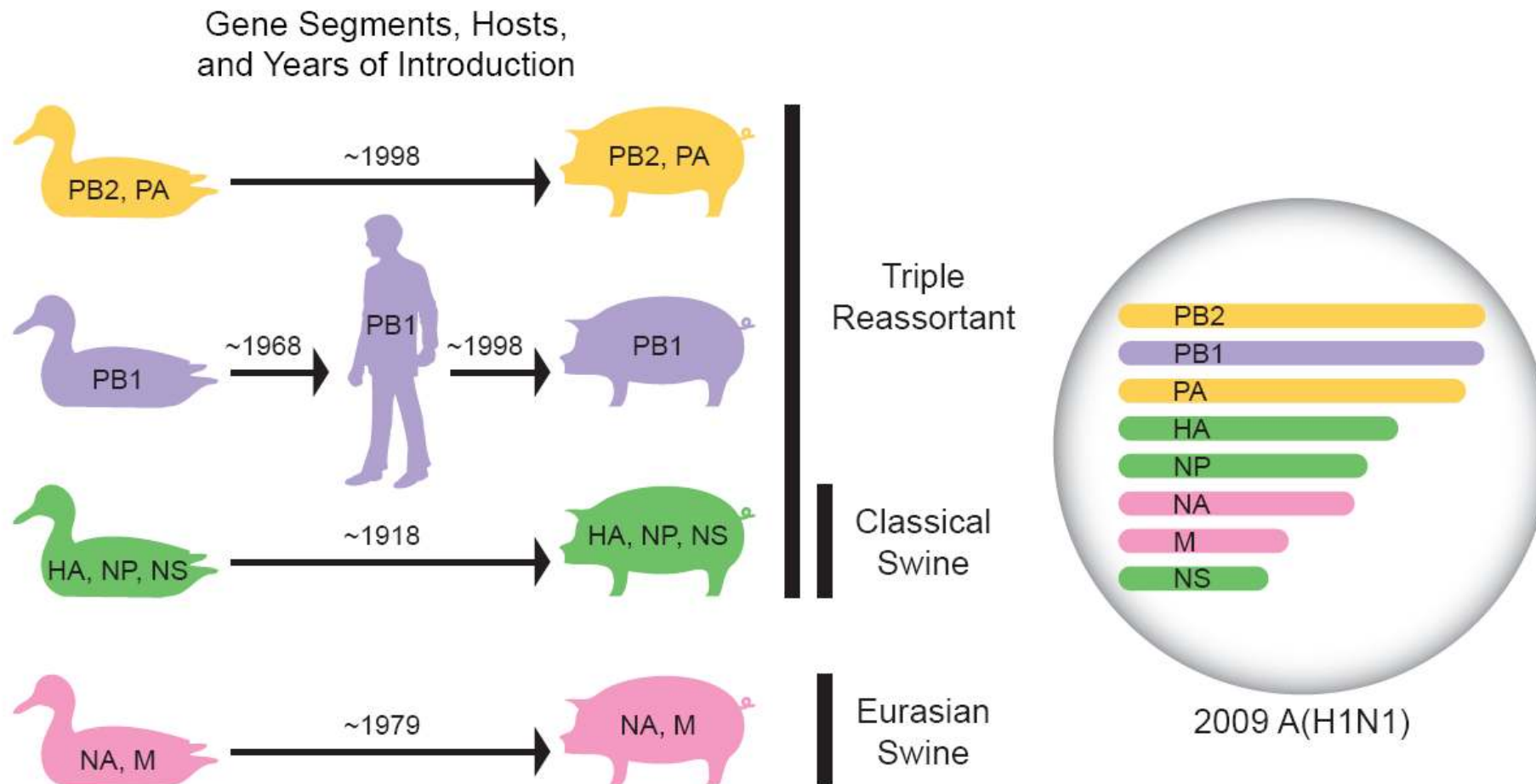
**Mange af dem med zoonotisk potentiale**



**En af dem gav anledning til 2009 H1N1 pandemien**

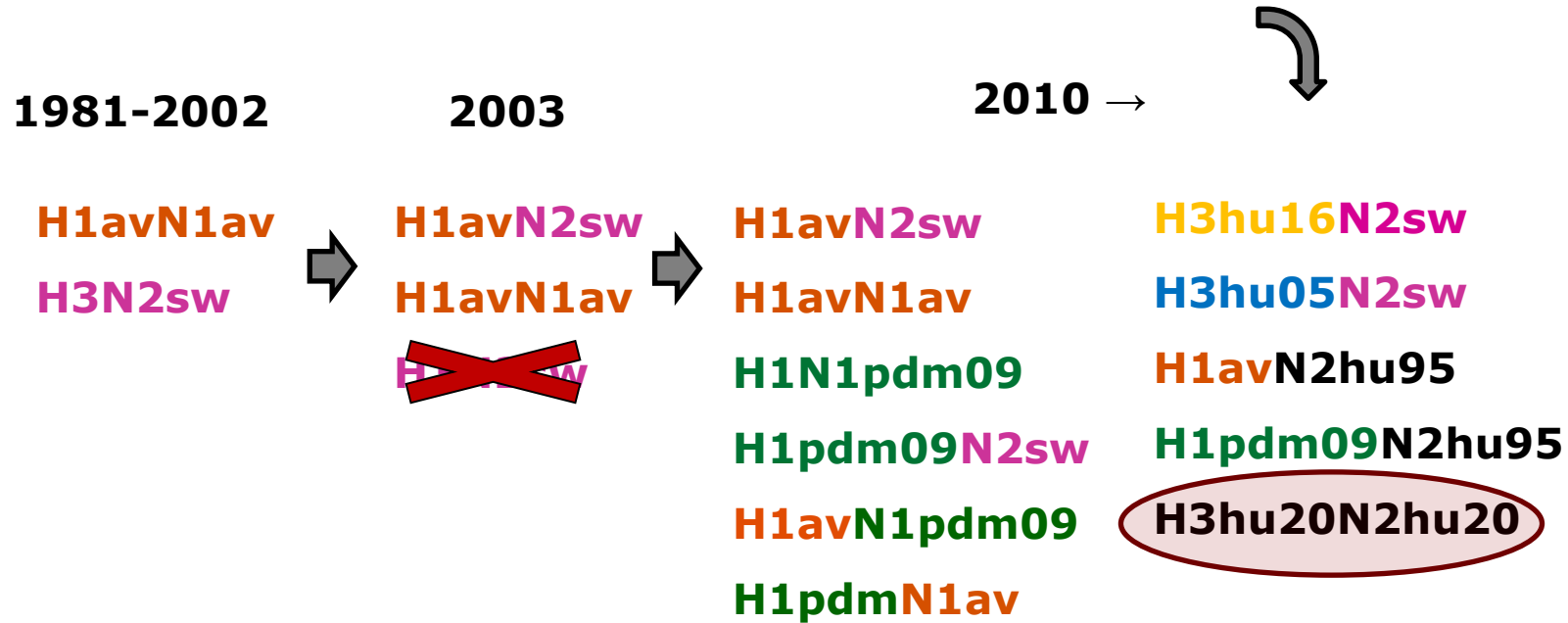
**DET KAN (VIL) SKE IGEN!**

# Pandemien i 2009 – hvor kom virus fra?



# Influenza A virus varianter i svin i DK

Human sæson influenza: **N2hu95**, **H3hu05**, **H3hu16**, **H3hu20N2hu20**



I Danmark	22 forskellige varianter
I Tyskland	35 forskellige varianter
I Kina	> 120 forskellige varianter

Flere rapporter om smitte til mennesker globalt

# Svineinfluenza overvågningen: 2 kvartal 2020

<https://www.vetssi.dk/-/media/arkiv/projekt-sites/vetdiagnostik/overvaagning/afrapportering-siv-overvgning-2-kvartal-2020.pdf?la=da>

Der blev påvist influenza A virus i 110 indsendelser, svarende til at **62 % af indsendelserne** havde mindst en positiv prøve. Andelen af positive indsendelser var den **højeste i 2. kvartal siden overvågningen startede i 2011**. De tidligere år har andelen af positive indsendelser i 2. kvartal udgjort mellem 35-58 % af indsendelserne.



# Et af de danske virus vi er bekymret for!

Accepted: 14 February 2017

DOI: 10.1111/irv.12451

SHORT ARTICLE

WILEY

## Triple-reassortant influenza A virus with H3 of human seasonal origin, NA of swine origin, and internal A(H1N1) pandemic 2009 genes is established in Danish pigs

Jesper Schak Krog<sup>1</sup> | Charlotte Kristiane Hjulsager<sup>1</sup> | Michael Albin Larsen<sup>2</sup> | Lars Erik Larsen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Frederiksberg C, Denmark

<sup>2</sup>Merial Norden A/S, Hørsholm, Denmark

Correspondence

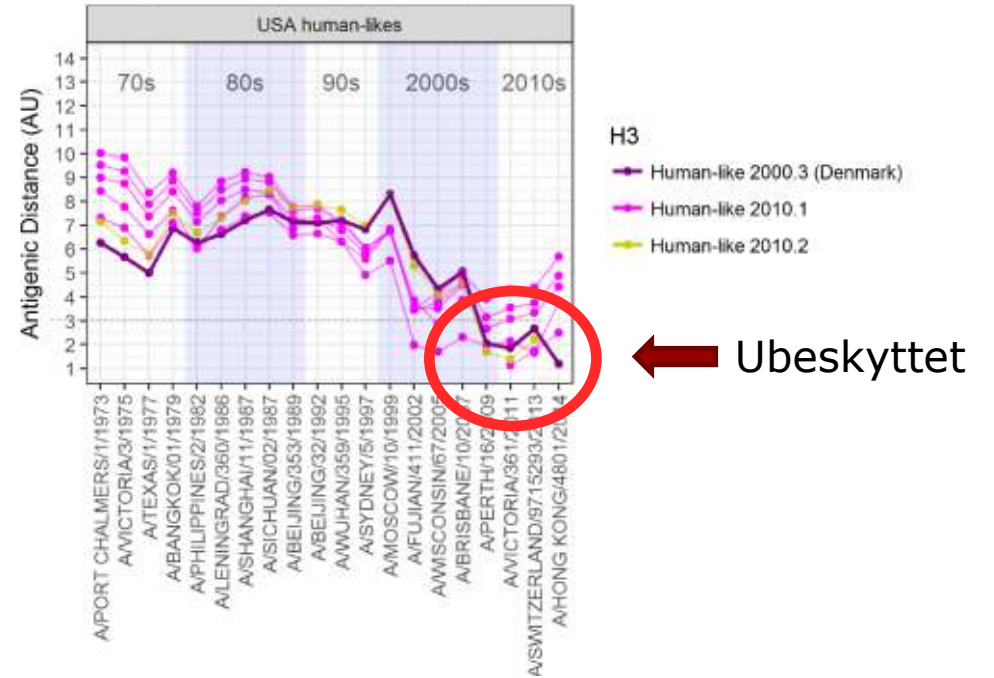
Jesper Schak Krog, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Frederiksberg C, Denmark.  
Email: jsck@vet.dtu.dk

This report describes a triple-reassortant influenza A virus with a HA that resembles H3 of human seasonal influenza from 2004 to 2005, N2 from influenza A virus already established in swine, and the internal gene cassette from A(H1N1)pdm09 has spread in Danish pig herds. The virus has been detected in several Danish pig herds during the last 2-3 years and may possess a challenge for human as well as animal health.

KEYWORDS




case report, H1N1pdm09, H3N2, influenza A virus, zoonosis

Antigenic Distance of Strains by H3 clade



# Aviær H1N1 som zoonose?

## Prevalent Eurasian avian-like H1N1 swine influenza virus with 2009 pandemic viral genes facilitating human infection

Honglei Sun<sup>a,1</sup>, Yihong Xiao<sup>b,1</sup>, Jiyu Liu<sup>a,1</sup> , Dayan Wang<sup>c,d</sup>, Fangtao Li<sup>a</sup>, Chenxi Wang<sup>a</sup>, Chong Li<sup>a</sup>, Junda Zhu<sup>a</sup>, Jingwei Song<sup>a</sup>, Haoran Sun<sup>a</sup>, Zhimin Jiang<sup>a</sup> , Litao Liu<sup>a</sup>, Xin Zhang<sup>a</sup>, Kai Wei<sup>b</sup>, Dongjun Hou<sup>a</sup>, Juan Pu<sup>a</sup>, Yipeng Sun<sup>a</sup>, Qi Tong<sup>a</sup>, Yuhai Bi<sup>e</sup>, Kin-Chow Chang<sup>f</sup>, Sidang Liu<sup>b</sup>, George F. Gao<sup>c,d,e,2</sup> , and Jinhua Liu<sup>a,2</sup>

<sup>a</sup>Key Laboratory of Animal Epidemiology and Zoonosis, Ministry of Agriculture, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, 100193 Beijing, China; <sup>b</sup>Department of Fundamental Veterinary Medicine, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, 271000 Tai'an, China; <sup>c</sup>Chinese National Influenza Center, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, 102206 Beijing, China; <sup>d</sup>World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Influenza, 102206 Beijing, China; <sup>e</sup>Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Center for Influenza Research and Early-Warning, Chinese Academy of Sciences, 100101 Beijing, China; and <sup>f</sup>School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham, Loughborough LE12 5RD, United Kingdom

### Significance

Pigs are intermediate hosts for the generation of pandemic influenza virus. Thus, systematic surveillance of influenza viruses in pigs is a key measure for prewarning the emergence of the next pandemic influenza. Here, we identified a reassortant EA H1N1 virus possessing pdm/09 and TR-derived internal genes, termed as G4 genotype, which has become predominant in swine populations since 2016. Similar to pdm/09 virus, G4 viruses have all the essential hallmarks of a candidate pandemic virus. Of concern is that swine workers show elevated seroprevalence for G4 virus. Controlling the prevailing G4 EA H1N1 viruses in pigs and close monitoring in human populations, especially the workers in swine industry, should be urgently implemented.



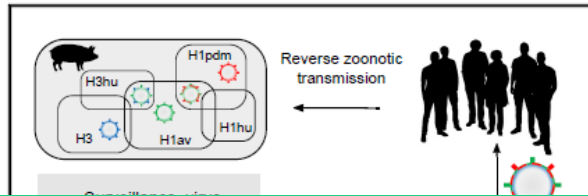
# Aviær-lignende H1N1 som zoonose?

Resource

## Cell Host & Microbe

### Surveillance of European Domestic Pig Populations Identifies an Emerging Reservoir of Potentially Zoonotic Swine Influenza A Viruses

#### Graphical Abstract



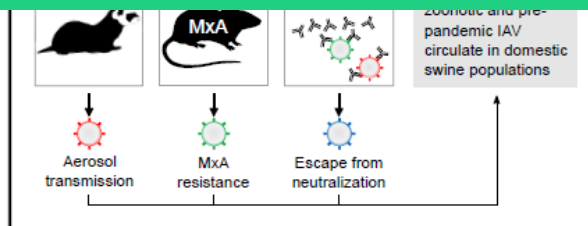
#### Authors

Dinah Henritzi, Philipp Peter Petric,  
Nicola Sarah Lewis, ...,  
Martin Schwemmle, Martin Beer,  
Timm Clemens Harder

#### Correspondence

[martin.schwemmle@uniklinik-freiburg.de](mailto:martin.schwemmle@uniklinik-freiburg.de)

**Bonus info: Over 80 % af danske avH1Nx virus har denne mutation!**



populations in Europe influenza A viruses with extended variability and antigenically distinct from human vaccine strains. Several isolates are resistant to human MxA and transmit by aerosol in ferrets. Building blocks of pre-pandemic influenza A viruses may be circulating in European swine populations.

#### Highlights

- We observe a high incidence of influenza A virus in European swine populations
- Lineages antigenically distinct from human vaccine strains were identified
- Some isolates transmitted by aerosol in ferret models showed resistance to human MxA
- European swine populations host building blocks of pre-pandemic influenza viruses



# FluZooMark – a One Health Center

Viral and host factors of zoonotic and pandemic influenza A viruses

**Støttet af Novo Nordisk Foundation 2020-2026**  
**Challenge grant 2019**

**KU, SSI, DTU, St. Jude Children's Hospital,  
Memphis USA**

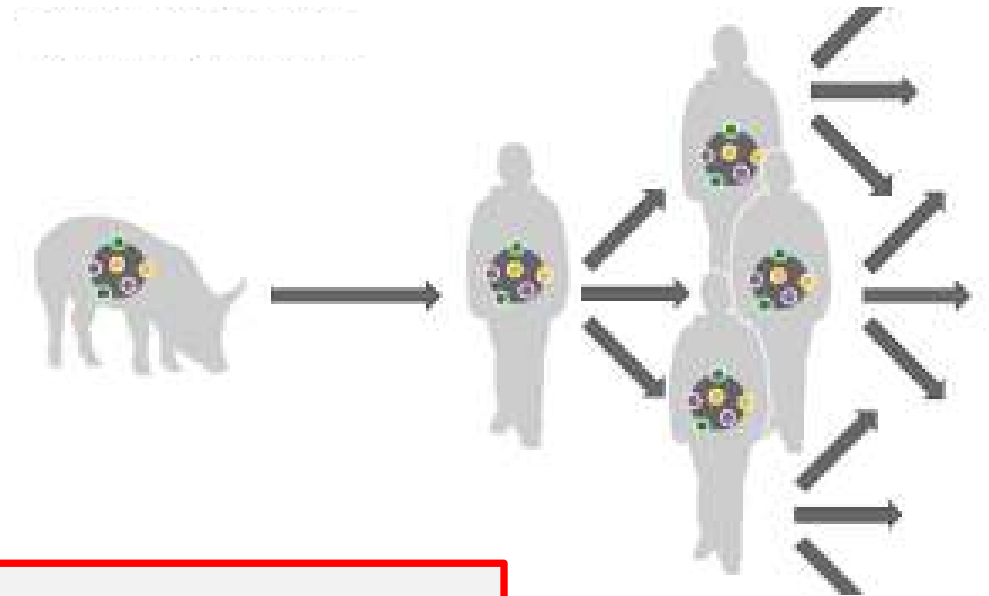
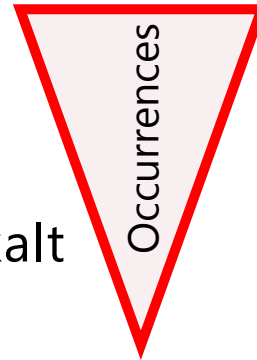
UNIVERSITY OF COPENHAGEN



# FluZooMark - formål

## Stadier i en zoonotisk pandemi

- |        |                                |
|--------|--------------------------------|
| Trin 1 | Virus forekommer i dyr         |
| Trin 2 | Eksponering af mennesker       |
| Trin 3 | Infektion i mennesker          |
| Trin 4 | Smitte mellem mennesker lokalt |
| Trin 5 | Global spredning               |



## Formål med FluZooMark

At identificere markører, der kan forudsige det zoonotiske potentiale af en given influenza virus variant – altså forudsige om et virus kan gå fra trin 2 til 3/4/5

# FluZooMark projektgruppen

Ekspert svine immunologi



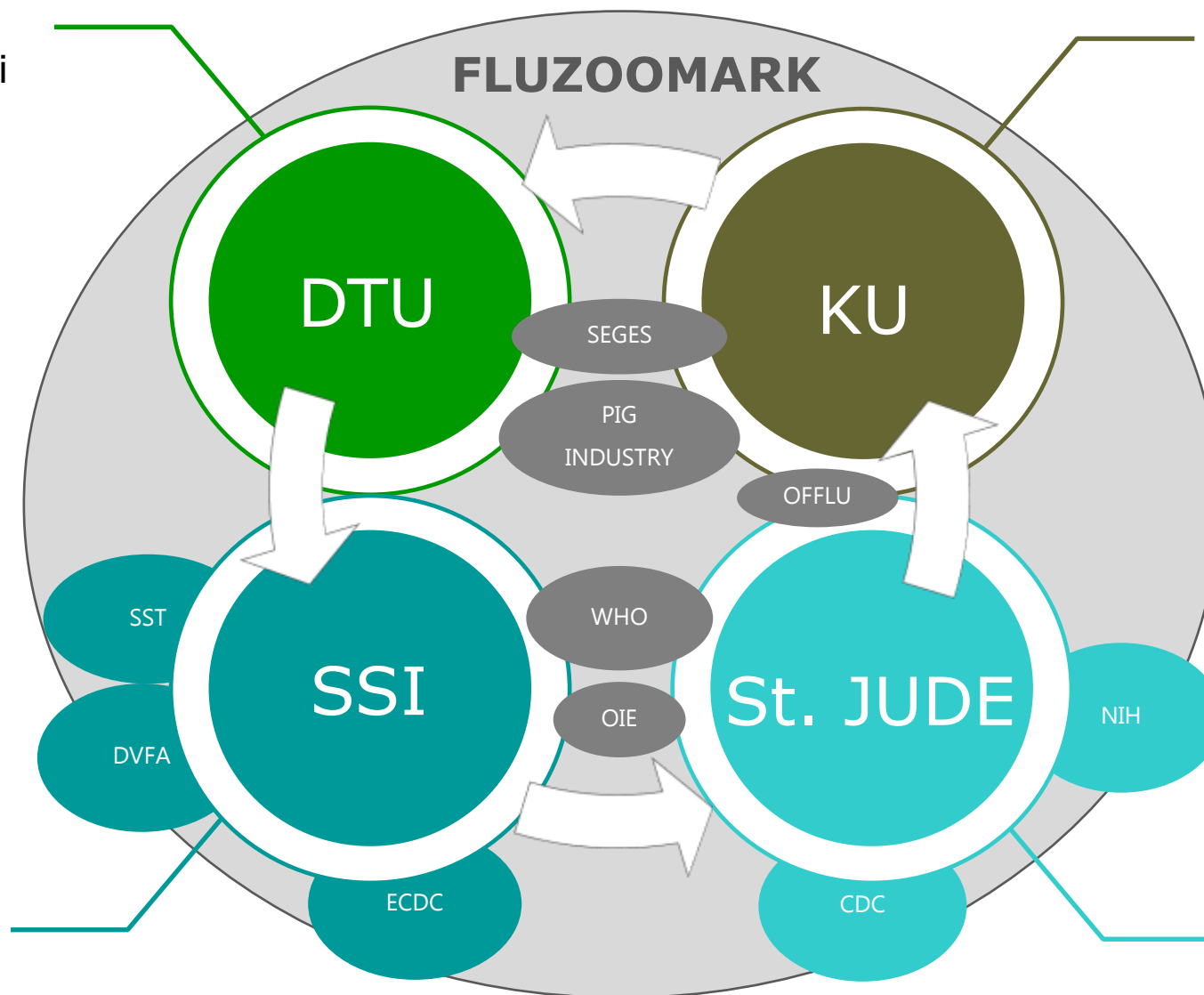
Ekspert human influenza og vacciner



Ekspert veterinær virologi



Ekspert human immunologi og dyremodeller



# Acknowledgements



## DTU Vet

- **Jesper Schak Krog**
- Charlotte Hjulsager
- Lise Kviesgaard
- Nicole Bakkegård Goecke
- Malene Rask Andersen
- Tine Skotte Hammer
- Hue Thi Trinh Tran
- Nina Dam Grønnegaard
- Sari Mia Dose
- Kerstin Skovgaard
- Sofie Maiken Riisgaard Starbæk
- Nanett Kvist Nikolaisen

## DTU Health Technology

- **Anders Gorm Pedersen**

## University of Copenhagen

- **Inge Larsen**
- Graham John Belsham

## SEGES Pig Research Center

- **Charlotte Sonne Kristensen**
- Lotte Skade
- Kirsten Pihl
- Jane Rasmussen

## IDT Biologika/CEVA

- Silke Wacheck
- Stefan Pesch
- Jens Dam
- Rikke Søgaard
- Rikke Gry Nielsen
- Anja Kibsgaard
- Michael Albin

## Herds

- Anonymous

## Veterinarians

- Gerben Hoornenborg
- Anders Elvstrøm
- Sten Larsen
- Gitte Drejer



# Spørgsmål

