

Vaccination mod ondartet lungesyge

En klinisk afprøvnng af to vacciner i en slagtesvinebesætning smittet med Ap 2

Forord

Denne fagdyrlægeopgave tager udgangspunkt i en klinisk afprøvning af to vacciner mod ondartet lungesyge som fandt sted i 2014 (april –dec) i én dansk slagtesvinebesætning. De to vacciner Porcillis®APP Vet. og Hyobac APP2 Vet. er i øjeblikket de eneste ap-vacciner som markedsføres på det danske marked. Afprøvningen var en del af VSP projektet : Vaccination mod ondartet lungesyge, som jeg var tilknyttet som daglig projektleder på, sideløbende med fagdyrlægestudiet med opstart ultimo 2011. Projektarbejdet blev udført i forbindelse med mit job i VSP, hvor jeg er ansat i Sundhedskontrollen til daglig. Projektet bestod af en 1. del med afklaring af hvilke vacciner det var relevant og muligt at medtage i en klinisk afprøvning under danske forhold. I den forbindelse lavede jeg en litteraturopgave, som blev afleveret i oktober 2012 som en del af fagdyrlægeuddannelsen. Sidenhen gik en rum tid med at få skrevet og godkendt protokollen til den kliniske afprøvning, som udgjorde 2. del af projektet. Første udgave af protokollen blev indsendt i marts 2013 og omfattede afprøvning af 3 vacciner, hvoraf den ene ikke var godkendt til markedsføring i Danmark. Trods fremskaffelse af den ønskede dokumentation, lykkedes det ikke at få sundhedsstyrelsens godkendelse af denne protokol. Efter udtagning af den ikke-godkendte vaccine fra forsøgsprotokollen, blev der endelig givet grønt lys til at udføre afprøvningen i dec 2013. Sideløbende blev der i hele 2013 søgt efter egnede besætninger via dyrlæger og VSPs hjemmeside, og flere kandidatbesætninger blev besøgt og efterfølgende opgivet igen. På baggrund af SPF-databasen og telefoniske henvendelser lykkedes det primo 2014 at finde en egnet besætning.

Marts 2015, Lise-Lotte Brøckner

Sammendrag

Ondartet lungesyge forårsaget af *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Ap) er en meget tabsvoldende sygdom i svineproduktionen både i Danmark og andre lande med intensiv svineproduktion. Svinebesætninger kan være smittet med én eller flere serotyper af ap-bakterien og i Danmark er det hyppigst Ap 2 og Ap 6. Ofte medfører smitten ikke tydelige tegn på sygdom, men vil manifestere sig kronisk med nedsat tilvækst og forringet foderudnyttelse. Udover kronisk infektion kan der opstå akutte udbrud af sygdommen, med øget dødelighed og øget antibiotikaforbrug, udsættelse af leverancer til slagteriet, kassation af grise ved slagtning og forringet dyrevelfærd til følge. Ved at undersøge de tilgængelige Ap-vacciners effekt på foderforbruget i slagtesvineperioden hos Ap 2 smittede grise skulle dyrlæger og svineproducenter bedre kunne vurdere den mulige økonomiske gevinst ved at vaccinere slagtesvin mod ondartet lungesyge i besætninger, hvor infektionen ikke nødvendigvis forårsager akutte udbrud, men må formodes at give en produktionsøkonomisk forringelse.

I den gennemførte afprøvning af to Ap-vacciner i én Ap2-positiv slagtesvinebesætning, kunne der ikke påvises nogen signifikant forskel på foderforbruget mellem uvaccinerede og Ap-vaccinerede grise. En stikprøve af de uvaccinerede grise var i de første 3 hold (sektioner) negative for Ap 2, undersøgt 3 uger efter indsættelse i slagtesvinestalden, men med tiden viste de fleste af holdene sig at være positive for Ap 2, på dette tidspunkt hvor vaccinegrupperne kun var vaccineret første gang. Dette blev tolket som at der var sket en hel/delvis gennemsmitning i de fleste hold, inden vaccinerne kunne have nået at udøve deres fulde virkning. Blandt de hold der ikke var serokonverteret tidligt, blev der post hoc lavet en analyse af de kun 28 stier der kunne indgå, for at se om resultaterne på foderforbruget pegede i retning af et lavere forbrug hos de vaccinerede grupper. Dette viste sig at være tilfældet, men uden signifikans og desuden var der ikke styrke nok i analysen med det lave antal gentagelser.

Der var heller ingen signifikante forskelle på nogen af de øvrige valgte parametre i afprøvningen. Der blev foruden foderforbrug analyseret på daglig tilvækst, dødeligheden, samt antal behandlingsdage.

Medicinforbruget var forsvindende lavt i alle grupper, idet der ikke blev foretaget behandlinger mod luftvejslidelser i nogen af holdene og dødeligheden var under landsgennemsnittet i forsøgsperioden. Lungeforandringer blev undersøgt ved USK på en stikprøve af lunger fra hver gruppe og der var ingen signifikante forskelle mellem vaccinerede og uvaccinerede grise, hverken på ap-relaterede eller øvrige forandringer som begge blev opgjort både med prævalens og udbredelse. For alle grupperne var der dog påfaldende stor forekomst af Ap-relaterede lungeforandringer på slagtetidspunktet.

Indholdsfortegnelse

Forord	2
Sammendrag	3
Baggrund	5
Litteraturgennemgang	5
Formål	7
Hypoteser:	7
Materialer og Metoder	8
Forsøgsdesign:	8
Statistik	8
Stikprøvestørrelsen:	8
Statistiske metoder/modeller	9
Besætning	9
Gennemførelse	11
Indsættelse i slagtesvinestalden (sektion 1-6) under afprøvningen:	11
Vaccination:	12
Blodprøvning:	12
Behandling med antibiotika:	13
Levering:	13
Udtagning af lunger til USK:	13
Data	13
Besætningsdata og slagtedata	13
USK	14
Serologi	14
Resultater	15
Serologi	15
Produktionsparametre	16
Lungelæsioner	17
Diskussion	18
Konklusion	20
Perspektivering	21
Referencer :	22
Bilag	24
Bilag 1	24

Bilag 2	25
Bilag 3	25
Bilag 4	26
Bilag 5	28

Baggrund

Ondartet lungesyge forårsaget af *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Ap) kan være en meget tabsvoldende sygdom i svineproduktionen både i Danmark og andre lande med intensiv svineproduktion (Gottschalk and Taylor, 2006). Mange besætninger er smittet med én eller flere serotyper af bakterien. Ofte medfører smitten ikke tydelige tegn på sygdom, men vil manifestere sig kronisk med nedsat tilvækst og forringet foderudnyttelse. Danske undersøgelser fra multisite-besætninger tyder på at den daglige tilvækst hos hold, der var smittet med ondartet lungesyge, var ca 30 g/dag (fra 30kg til slagtevægt) lavere end hos hold, som ikke var smittet (Busch et al., 2006). Betydningen af ondartet lungesyge for foderudnyttelsen er til gengæld ikke veldokumenteret.

Udover kronisk infektion opstår der også akutte udbrud af sygdommen, hvilket udover øget dødelighed og produktivetsforringelsen også medfører øget antibiotikaforbrug, udsættelse af leverancer til slagteriet, kassation af grise ved slagting og forringet dyrevelfærd. I velsektionerede systemer, ses sådanne udbrud oftest sent i slagtesvineperioden. (Busch et al., 2006).

Brugen af vacciner til smågrise/slagtesvin mod ondartet lungesyge i Danmark synes hidtil begrænset og primært rettet mod forebyggelse af de akutte udbrud med dødsfald, der optræder sidst i slagtesvineperioden i en del af besætningerne. Brug af Ap-vaccination til begrænsning af følgerne af kroniske og subkliniske infektioner, har så vidt vides ikke været anvendt. Kun for den ene af de tilgængelige vacciner i Danmark, er der publiceret effektivitets undersøgelser.

Litteraturgennemgang

Der findes en del publicerede feltafprøvninger af vaccinen Porcilis® APP; både kontrollerede afprøvninger med parallelle forsøgsgrupper (kontrol og forsøgsgrupper) og før/efter-undersøgelser. I de fleste undersøgelser er grisene vaccineret 1. gang ved ca 6 uger og igen 4 uger senere. Observationsperioden er ikke altid tydelig afdækket ; i nogle er undersøgelserne er det fra 1. vaccination til slagting , i andre er det først fra indsættelse i slagtesvinstalden. Gennemgående er det dog ret små forskelle i daglig tilvækst hos, der i enkelte undersøgelser præsenteres som værende statistisk signifikante. F.eks. finder Pommier et al.

(1996) en forskel på +6 g, $p < 0.05$ og Lopez et al. (1998) en forskel på +12 g $p < 0.05$. Til sammenligning finder Martelli et al. (1996) en forskel på 26 g ikke statistisk signifikant ($p = 0,08$) – måske fordi der er for få dyr med i undersøgelserne. I før/efter-undersøgelserne finder Ridremont et al. (2000) ligeledes en forskel på hele 38 g værende ikke statistisk signifikant ($p = 0,86$) trods et meget stort antal dyr (80.000) men meget få observationer (12 besætninger). Derimod finder Valks et al. (1996) en forskel på 27 g ($p = 0,03$) statistisk signifikant. Ud fra disse resultater må det formodes, at der kun kan forventes en mindre forskel i daglig tilvækst (10-25 g) i slagtesvineperioden mellem vaccinerede og uvaccinerede grise. En nyere undersøgelse af Sacristán et al. 2014 viser heller ikke nogen stor eller signifikant forskel i daglig tilvækst (12 g, NS) mellem vaccinerede og uvaccinerede grise fulgt fra 6-26 uger.

Effekten af vaccination på forekomsten af brysthindear og lungelæsioner er rapporteret meget varierende for Porcilis® APP's vedkommende. F.eks. fandt man i flere undersøgelser, at der var en reduceret forekomst af Ap-relaterede lungelæsioner og brysthindear (Pommier et al, 1996; Martelli et al, 1996; Lium et al., 1998 (dog NS for pleuritis)), mens Nymark og Dahl (2000) og Jirawattanapong et al., (2008) ikke har kunnet bekræfte dette. Dog påviste Nymark og Dahl (2000) en signifikant forskel i total % brysthindear i én af to besætninger og en tendens til færre dorsocraniale brysthindear .

Derimod finder Sacristán et al. (2014) endog meget signifikante ($p = 0,000??$) forskelle mellem vaccinerede og uvaccinerede grise på forekomsten af pneumoni og pleuritis på slagtedy. Også antal behandlingsdage (-2,5 dg forskel) og dødeligheden (-2,6 procentpoint forskel) var i en samlet opgørelse fra de to undersøgte besætninger signifikant lavere . Forsøget synes dog at være dimensioneret til påvise forskelle i tilvækst som den primære parameter og dermed er de andre parametre ikke nødvendigvis så sikkert bestemt.

Effekten på dødeligheden ved at vaccinere mod Ap er ofte årsagen til at der vaccineres, og effekten af Porcilis® APP som dækker alle typer, er da også vist i flere challenge forsøg (van den Bosch, 1992, Kobisch and van den Bosch 1992). Der er også i de flere af de tidligere nævnte field trail forsøg fundet signifikante forskelle i dødeligheden opgjort som færre kasserede (-1,7% , Pommier et al 1996, (-10%; (S)) Lium et al, 1998, eller færre total døde (-3,2%,(S), Lopez et al. 1998. eller færre ap-døde (-1,53% (S), Martelli et al. 1996. i vaccinegruppen. I før efter undersøgelserne findes varierende men meget signifikante forskelle i dødeligheden med lave p-værdier (0,01 eller lavere): (-1,6 % færre ap døde, $p < 0.0001$, Valks et al 1996), (-1,6% tot. døde, $p = 0,001$, Ridremont, 2000), (Habrun et al. 2002) og (-8% total? $P < 0,001$, Bosch et al 2012). De fundne forskelle kan dog også skyldes ændrede forhold vedr. smittetryk, årstid, klima, og andet p.g.a. den tidsmæssige forskydning i de grupper der sammenlignes.

Der er dog også i modsætning hertil flere field trail afprøvninger, som ikke har kunnet vise en signifikant effekt på dødeligheden af at vaccinere med Porcilis® APP, både i forsøg med parallelle grupper opgjort som total dødelighed (Nymark and Dahl, 2000, Pommiér et al. 1996, Martelli et al. 1996) , og i før/efter forsøg (Sjölund and Wallgren, 2010).

Det har kun været muligt at finde fire undersøgelser vedr. Porcilis® APP, der inkluderer foderforbruget som effektparameter, og de tre af dem er før/efter-undersøgelser. Således har Valks et al. (1996) fundet en forskel på 0,12 kg foder/kg tilvækst (NS, tendens, $p=0,08$), og Lopez et al. (1998) finder den samme forskel statistisk non-signifikant (ingen p -værdi angivet). Ridremont, B. (2000) derimod finder en forskel på 0,14 kg/kg tilvækst statistisk signifikant ($p=0,02$), mens Bosch i 2012 ikke kunne påvise en statistisk signifikant forskel (0,08 kg/kg $p=0,17$). Resultaterne er alt i alt ikke særligt overbevisende, idet der kun påvises statistisk signifikante forskelle i før/efter-undersøgelserne. Foderforbruget er i forvejen ofte varierende over tid, og derfor bør resultaterne i før/efter-undersøgelser tolkes forsigtigt.

Det kan konkluderes, at der kun findes få rapporterede undersøgelser, der ser på foderudnyttelsen hos Ap-vaccinerede grise sammenlignet med kontroller, og resultaterne derfra er ikke overbevisende. De nævnte undersøgelser vedrører alle vaccinen Porcilis® APP , mens det ikke har været muligt at finde publicerede undersøgelser af Hyobac APP2 vaccinen, der så vidt vides kun forhandles i Danmark. Der mangler således viden om, hvorvidt det kan være økonomisk rentabelt at vaccinere smågrise eller slagtesvin med Ap-vacciner i besætninger, hvor infektionen ikke nødvendigvis forårsager akutte udbrud, men giver en produktionsøkonomisk forringelse.

Formål

Formålet med afprøvningen var at vurdere effekten på produktivitet og sundhed af de 2 godkendte Ap 2-vacciner under de samme forhold i én besætning smittet med Ap 2. De valgte effektparametre var foderudnyttelse, daglig tilvækst, antibiotikaforbrug og dødelighed. Lunge USK indgik også og blev udtaget som stikprøver af afprøvningsgrupperne. Der anvendtes serologi til at kontrollere for smitte med Ap 2.

Hypoteser:

H0:

Der er ingen forskel i foderforbrug mellem Ap-vaccinerede og uvaccinerede grise målt i perioden fra indsættelse i slagtesvinestalden til slagtning.

Der er ingen forskel i dødelighed og antal behandlinger mod luftvejslidelser mellem vaccinegrupper og kontrolgruppe.

Der er ingen forskel i forekomsten (prævalens og udbredelse) af Ap-relaterede lungeforandringer på lunger undersøgt ved USK fra vaccinegrupper og kontrolgruppe.

HA:

Vaccination af slagtesvin mod ondartet lungesyge i besætninger, der har subklinisk og evt klinisk Ap2 hos slagtesvinene i form af bla. forhøjet foderforbrug, og evt samtidig øget dødelighed/kassationer/behandlinger mod lungesyge, vil medføre mindre foderforbrug i vaccinegruppen end hos uvaccinerede kontrol dyr i samme sektion.

Vaccination mod Ap vil medføre lavere dødelighed/kassationer og behandlinger mod lungesyge, i vaccinegruppen sammenlignet med kontrolgruppen.

Vaccination mod Ap vil medføre at færre Ap-relaterede forandringer i lunger fra slagtedyrl undersøgt v.h.a USK i vaccinegruppen sammenlignet med kontrolgruppen.

Materialer og Metoder

Forsøgsdesign:

Delvist blindet randomiseret, interventionsstudie

Primær variabel: Foderudnyttelse (Fes pr kg tilvækst)

Sekundær variable: Daglig tilvækst (g/dag), Dødelighed (%), Antal behandlingsdage pr gruppe, Ap-relaterede lungeforandringer (procent lunger og udbredelse i lungerne) , Øvrige lungeforandringer (procent lunger og udbredelsen i lungerne).

Som udgangspunkt forventedes det, at effekten af vaccinerne var ens. Forsøget var derfor dimensioneret efter, at påvise en forskel mellem vaccinerede grise og uvaccinerede kontrolgrise, mens det ikke var dimensioneret efter at påvise forskelle mellem vaccinerne.

Statistik

Stikprøvestørrelsen:

Forsøget skulle kunne teste en forskel mellem kontrolgruppen og hver af de vaccinerede grupper på mindst 0,1 FE/kg i foderudnyttelsen. Der blev regnet med en spredning på 0,1 FE/kg. Med et sikkerhedsinterval på 95 % og en statistisk styrke (Power) på 80 % resulterede det i en beregnet stikprøvestørrelse på 16 for hver forsøgsgruppe (tosidet test) eller 13 (ensidet test). En stikprøve størrelse på 20 blev valgt til hver vaccinegruppe, da der i så fald ville kunne testes en forskel i foderudnyttelse på ned til 0,09 (tosidet) eller

0,08 (ensidet). Da den statistiske enhed var lig med en dobbeltsti var der 40 grise pr gentagelse for hver vaccinegruppe. Dermed indgik der ca. 800 grise i hver af de to vaccinegrupper og ca 1400-1500 grise i kontrolgruppen der af statistiske årsager skal være mere sikkert bestemt, når der er mere end en forsøgsgruppe pr kontrolgruppe. Andelen af uvaccinerede grise i sektionen kom hermed til at udgøre ca 47% og inkluderede en enkeltsti i hver sektion med uvaccinerede restgrise, som ikke indgik i kontrolgruppen.

Statistiske metoder/modeller

Der anvendtes en normal lineær model til analyse af foderudnyttelse, daglig tilvækst, antibiotikaforbrug samt udbredelsen af Ap-relaterede lungelæsioner og udbredelsen af øvrige lungeforandringer, mens antal lungelæsioner relateret til Ap, antal øvrige lungeforandringer samt dødelighed blev analyseret efter en logistisk regressionsmodel. Hold indgik som tilfældig effekt pr. design og der blev i alle analyser korrigeret for startvægt i perioden. Der skulle ved alle parvise sammenligninger foretages Bonferroni korrektion og korrigeres for 2 parvise sammenligninger dvs. test af alle mod alle.

Variablerne "foderforbrug pr dag", "foderforbrug pr kg. tilvækst", "daglig tilvækst", "produktionsværdi pr. gris pr. dag" og "udbredelsen af Ap i lungerne" blev analyseret for den samlede periode (25-110 Kg).

Beregningerne blev lavet v.h.a. software fra SAS og udført af en af VSP's statistikere.

Besætning

Afprøvningen var designet som et delvist blindet randomiseret interventionsstudie i en slagtesvinebesætning smittet med Ap 2, med følgende krav til besætningen:

- Mulighed for opgørelse af foderforbrug på stiniveau
- Konstant høj forekomst af brysthindear (min. 40 % over seneste 6 mdr)
- Produktionsresultater der indikerede at Ap 2 var et problem i besætningen

Det viste sig uhyre svært at finde en egnet besætning ud fra de valgte inklusionskriterier, enten fordi der allerede var igangsat vaccination eller også var produktionsresultaterne så gode, at det ikke var realistisk at kunne påvise en signifikant forskel mellem kontrol og vaccinegrupper, med den valgte dimensionering. Efter lang tids søgen blev fundet en egnet besætning der opfyldte kravene (se bilag 1 og bilag 2). Der var tale om en integreret besætning med 500 søer og 2800 stipladser til slagtesvin på site I, mens der var 2000 stipladser til smågrise og 800 stipladser til slagtesvin på site II. Der blev solgt ca 3-4 ugehold smågrise ud af 13 ugers produktion. Det var kun en nyere slagtesvinestald fra 2009 på site I der blev anvendt til forsøg. Den bestod af 6 sektioner til hver 300 grise, med Bopil Spotmix fodersystem (udfodring i langkrybber af

tørfoder iblandet vand). Hver slagtesvinesektion i den nye stald bestod af 17 stier (7 dobbeltstier=14 enkeltstier), samt én enkeltsti og 2 mindre sygestier (se tabel 1). For yderligere beskrivelse se bilag 3 vedr. besætningens rutiner.

Tabel 1 over besætningsdata.

Besætning	Site 1	Site 2
Sundhedsstatus	BLÅ SPF +Ap2 + Vac.	samme
Søer	500	0
smågrise	0	2000
slagtesvin	2600	800
Sektioner til slagtesvin	8	3
Brugt til forsøg (uge 15-51)	6	0
Dyr pr sektion	300	–
Dobbeltstier/sektion	7	–
Fodersystem Slagtesvin	Bopil spotmixm.vand (Hjemmeblander)	
Foderblanding slagtesvin	Enhedsblanding	–
Energiindhold	106-107 FEs/100kg	–
Foderkurve ud fra Slut foderstyrke	950 g.dlg tilvækst 2,95 FEs	– –

Vaccinationer iøvrigt, mm	Tidspunkt.
Pattegrise	Stellamune one Ingelvac PRRS (ophørt) d. 10 d. 10 (ophørt fra uge 10*)
smågrise	Ingelvac Circoflex v.Fravænning (indført fra uge 10, dog fra uge 25 flyttet til 2. uge efter fravænning)
Polte	Ingelvac PRRS Hyobac APP2 Ery/parvo Ved flytning til poltestald Ved flytning til poltestald Før løbning

Gylte og søer	Hyobac APP2	før hver faring
	Toxicol	før hver faring
	Ingevac PRRS	d.10 farestald
	Ery/parvo	
Smågrise Beh. i klimastald	Tylan	**5 d.g før flyt (ophørt efter uge 21)

*Afprøvningen startede i kalender uge 16 med indsættelse af 1. hold i sektion1 (alder 11-12 uger)
 **dette blev først oplyst efter forsøgets afslutning.

Gennemførelse

Afprøvningen fandt sted fra april 2014 (opstart uge 16 med vaccination af 1. sektion), og løb hen til december (uge 50 hvor de sidste dyr blev slagtet). Undersøgelsen blev gennemført som en klinisk afprøvning i besætningen, hvor grisene i vaccinegrupperne blev vaccineret 1. gang ved indsættelse i slagtesvinestalden og revaccineret 3-4 uger senere. Kontrolgruppen fik ingen behandling. Der var mulighed for opgørelse af foderforbrug på ventil niveau i de 6 sektioner i slagtesvinestalden, og det var hele dobbeltstien, der var afprøvningsenheden. Der indgik i alt 20 gentagelser af hver vaccine gruppe i afprøvningen. Der var 2 gentagelser (2 dobbeltstier) af hver forsøgsgruppe, samt 3 gentagelser af kontrolgruppen (3 dobbeltstier) i én sektion (ét hold).

Tabel 2 Plan for vaccination, blodprøvning mm. i hvert hold (sektion)

Alder	Indvejning stivis	Vacc.1	Vacc.2 Hyobac App2	Vacc.2 Porcilis App	Blodprøver Uvaccinerede	Tatovering	Levering start	Sektion tømt
	-							
10-12 uger	X	X						
+ 3 uger			X		X			
+ 1 uge				X				
+ 4-5 uger					X	X	X	
+ 4-5 uger								X

Indsættelse i slagtesvinestalden (sektion 1-6) under afprøvningen:

Til højre inden for døren blev placeret de største 20 grise og i faldende størrelse placeredes i de følgende 10 stier (mod uret), grise der forblev ublandede (stivis flytning). Dernæst fulgte 4 stier med sammenblandede grise og i den sidste sti før sygestierne blev de mindste 20 grise placeret. Denne sidste enkeltsti (med de

mindste grise) indgik ikke i opgørelsen men bestod af uvaccinerede restgrise. Dyr der måtte være placeret i sygesti allerede fra indsættelsen af, indgik heller ikke i opgørelsen. I alle afprøvningsstier blev der indsat 20 grise fra starten af. Indvejning og fordeling af grise i stierne blev foretaget i samarbejde mellem besætningens personale og afprøvningsteknikeren. På beholdningsskemaerne noteredes antal grise, der gik i de enkelte stier, samt stivægten ved indsættelse. Der måtte ikke indsættes grise i stierne herefter.

Når/hvis en gris blev udvejet fra stien til eks. sygesti eller buffer udgik den af forsøget. Eventuelle årsager til udvejning før tid kunne være behov for sygestiophold, aflivning eller akut dødsfald. Ved udvejning før tid blev noteret årsag, dato og vægt på beholdningsskemaet. Ved dødsfald noteredes årsagen enten som formodet luftvejslidelse eller "andet". Flytning af grise i øvrigt til andre stier eller sektioner (buffer) måtte kun ske efter aftale med afprøvningsteknikeren.

Vaccination:

Da der blev lavet en systematisk placering og sortering efter størrelse ved indsættelse i stalden, blev der også lavet en "randomiseret" rotationsplan (vaccinationsplan, se bilag 4), som kun vaccinationsteknikeren kendte. Denne sikrede at fordeling af forsøgsgrupperne (vaccinegrupper + kontrolgruppe), vekslede ligeligt mellem de forskellige størrelser (stivægt) grise og om det var sammenblandede stier eller ikke, samt den fysiske placering af disse i sektionerne. Afprøvningsenheden i forsøget var udelukkende identificeret vha. sti/ventilnr.

Vaccination af grisene i vaccinegrupperne blev herefter foretaget i henhold til sti/ventilnr. og vaccinationsplanen. Grisene blev vaccineret med enten: To doser på 2 ml af Porcilis® APP Vet. i.m. i nakken (højre side) indgivet med 4 ugers mellemrum eller to doser på 1 ml af Hyobac APP2 Vet. i.m. i nakken (højre side) indgivet med 3 ugers mellemrum, eller ingen behandling (kontrolgruppen). Behandlingskoden var hemmelig for alle andre end vaccinationsteknikeren indtil forsøget var afsluttet og data opgjort. Vaccinerne blev opbevaret hos VSP i Kjellerup 2-8°C. og blev medtaget løbende til besætningen. Eventuelle bivirkninger iagttaget lige efter vaccination og én uge efter, blev noteret og meddelt til projektlederen som herefter indberettede hvis skønnet nødvendigt.

Blodprøvning:

I forbindelse med revaccination med den ene vaccine, 3 uger efter indsættelse, blev der udtaget 10 blodprøver blandt uvaccinerede kontrolgrise til undersøgelse for antistoffer mod Ap 2. I de sidste 6 hold (sidste halvdel) blev disse prøver tillige undersøgt for Apx IV antistoffer. Der blev ligeledes udtaget 10 blodprøver blandt uvaccinerede dyr før slagtning til undersøgelser for antistoffer mod Ap 2.

Behandling med antibiotika:

Evt brug af antibiotika blev noteret af besætningens personale dagligt med oplysning om: Dato, Årsag (luftvejslidelse=1 eller andet=2), ventil nr., antal dyr behandlet i stien, præparat/ ml. Evt. flokbehandling måtte ikke påbegyndes i afprøvningsstier uden accept fra projektlederen, men der viste sig ingen behov herfor under afprøvningsperioden.

Levering:

Når grisene nærmede sig slagtevægt, blev grisene løbende tatoveret med leverandørnummer, samt et undernummer (ventilnr.) Det blev aftalt at grisene kunne leveres over 4-5 uger fra hver sektion så de fleste blev leveret direkte fra stierne. Dagen før levering blev en seddel med oplysninger om leverancen sendt til slagteriet, således at der på forhånd var informeret om antal grise samlet og hvilke undernr og hvor mange med hvert undernr. Grisene fra afprøvningsstierne var endvidere opmærket med 3 striber på tværs af ryggen for at lette slagteriets identifikation af dyrene.

Ved hver levering til slagting blev noteret antal grise der blev sendt af sted fra hver afprøvningssti i beholdningsskemaet. Ved tømning af sektionen blev restgrise med en formodet slagtevægt under 70 kg fra afprøvningsstierne udvejet og ført over til bufferen, med notering af dato, vægt og ventil nr. i beholdningsskemaet. Grise i sygestier og grise i mindstestien måtte gerne flyttes i bufferen direkte, da de ikke indgik i afprøvningen. På slagteriet blev grisene identificeret og indtastet med deres leverandørnummer og undernummer (ventilnummer) hvorved slagtedata senere kunne kædes sammen med forsøgsgrupperne.

Udtagning af lunger til USK:

På 4 udvalgte datoer blev der udtaget lunger til USK. Grisene blev slagtet sidst på dagen (kun én kæde igang) og efter aftale med slagteriet deltog to personer fra VSP for at sikre udtagningen af lungerne. På båndet blev slagtekroppen ud over ventilnr. udstyret med et fortløbende nr på hver lungesæt, som fulgte lungen på laboratoriet. En liste over og lungenr. og tilhørende ventilnr. muliggjorde derefter at USK resultaterne kunne opgøres for hver forsøgsgruppe. Der blev udtaget lunger fra alle dyr i leverancen, og således var det tilfældigt hvor mange dyr der var i hver forsøgsgruppe den pågældende dag. Lungerne blev iset ned og transporteret til Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup, hvor de blev undersøgt den efterfølgende dag.

Data

Besætningsdata og slagtedata

1. Foderudnyttelsen og daglig tilvækst: Grisene blev vejet ved indsættelse i slagtesvinestalden.

Grisenes samlede vægt pr sti blev noteret på beholdningsskemaet. Ved evt udvejning af en gris fra

stien før tid, blev der noteret årsag, dato og vægt på samme skema . Forbruget af foder blev registeret stivis (dobbelstvi) v.h.a. fodercomputeren. Afprøvningsteknikeren fra VSP kom hver uge i besætningen under forsøget og kontrollerede, at arbejdsplanen blev fulgt og at beholdningskemaerne stemte. Der blev ligeledes udført kontrol af udfodringsnøjagtigheden (hver 2. måned). Når en sektion var tømt blev data hentet fra fodercomputeren og tastet ind sammen med øvrigt besætningsdata (beholdningsskemaer, behandlingsskemaer). Slagtedata med bla. oplysninger om slagtevægt og ventilnr (tatovering) blev samtidig udtrukket fra slagteriet og anvendt til stivis opgørelse af foderudnyttelse og daglig tilvækst.

2. Dødelighed: På beholdningsskemaet noteredes eventuelle dødsfald dagligt af besætningens personale, og der blev noteret årsag, dato og vægt.
3. Antibiotikaforbrug noteredes dagligt på behandlingsskemaet af besætningens personale med oplysning om årsag, præparat, stinr., antal dyr behandlet i stien og dato.

USK

Lungerne blev undersøgt efter de normale guidelines for USK (Christensen, G., 1997) og indtastet på laboratoriet i et regneark til den videre opgørelse. Der blev herefter lavet opgørelser over prævalens og udbredelse af de ap-relaterede pneumoniske forandringer som omfattede: dorsocaudal pleuritis og pleuropneumonier (akutte og kroniske). I opgørelsen af øvrige forandringer indgik mycoplasmalignende forandringer (inkl. kompliceret mycoplasmapneumoni), ar-retraktioner, samt akut pleuritis og ventrocranial pleuritis. De sidstnævnte to forandringer kan være Ap-relaterede, men kan også have anden årsag, og indgår derfor ikke i gruppen af ap-relaterede forandringer (Haugegaard, S., 2015).

Serologi

Blodprøverne blev undersøgt på laboratoriet i Kjellerup for tilstedeværelse af antistoffer mod Ap 2 ved hjælp af rutinemæssigt anvendte blok-ELISA metode (Nielsen et al., 1991). Besætningen havde Blå SPF status (+Ap2+myc+ dk) og holdt i afprøvningsperioden denne status med fornyede statusprøver udtaget i oktober 2014. Der blev derfor ikke testet for de andre Ap typer, idet blev overvåget for dem i SPF statusprøverne (Ap 6 og Ap 12) . Undersøgelsen for ApxIV antistoffer blev foretaget på MSD's laboratorium i Holland ved brug af en kommerciel ELISA test (IDEXX).

Resultater

I afprøvningsperioden blev der ved to vaccinationsrunder iagttaget bivirkninger ved brug af den ene vaccine, straks efter vaccinationen. Bivirkningerne der blev iagttaget var opkastninger, rygkrumning og strithårede grise der klumpede sammen. Efter kort tid forsvandt symptomerne. Ved den ene lejlighed blev grisene filmet som dokumentation. Bivirkningerne blev indberettet til lægemiddelstyrelsen og producenten af vaccinen.

Serologi

Det viste sig hen ad vejen ikke muligt at opfylde kravet om seronegative kontrol grise ved revaccinationstidspunktet, idet mange af holdene havde antistoffer 3 uger efter indsættelse (tabel 3)

Tabel 3 over serologiske undersøgelser for Ap2 antistoffer og ApxIV antistoffer

	3 uger efter indsættelse	3 uger efter indsættelse	4-5 uger før levering
Testmetode	Ap2 (ELISA)	Apx IV (IDEXX)	Ap 2 (ELISA)
prøveantal	10 prøver	10 prøver	10 prøver
Hold 1	01.05.14 10 neg/0 pos	-	05.06.14 2 neg/8 pos
Hold 2	08.05.14 8 neg/2 pos	-	22.06.14 0 neg/10 pos
Hold 3*	15.05.14 1 neg/9 pos	-	22.06.14 3 neg/7 pos
Hold 4	22.05.14 10 neg/0 pos	-	03.07.14 1 neg/9 pos
Hold 5	27.05.14 10 neg/0 pos	-	07.08.14 0 neg/10 pos
Hold 6*	12.06.14 0 neg/10 pos	-	24.07.14 1 neg /9 pos
Runde 2:			
Hold 7*	14.08.14 1neg/ 9 pos	5neg/1sus/4pos	25.09.14 2 neg/8 pos
Hold 8*	24.08.14 2 neg/ 8 pos	6neg/3sus/1pos	10.10.14 0 neg/10 pos
Hold 9*	29.08.14 0 neg/10 pos	7neg/2sus/1pos	10.10.14 0 neg /10 pos
Hold 10*	04.09.14 0 neg/10 pos	1neg/2sus/7pos	22.10.14 0 neg/10 pos
Hold 11*	11.09.14 0 neg/10 pos	4neg/3sus/3pos	22.10.14 0 neg/10 pos
Hold 12*	18.09.14 0 neg/10 pos	5neg/2sus/3pos	10.11.14 0 neg/10 pos

Forventningen var ud fra indledende undersøgelser af besætningen, at blodprøverne taget 3 uger efter indsættelse viste, at der endnu ikke var sket en gennemsmittning af holdene og at hvis alle 10 blodprøvede grise i en sektion havde antistoffer mod Ap2 med lave OD-værdier, skulle holdet kasseres og udgå af forsøget. Hvis OD værdierne derimod vurderedes at være så høje, at de kunne skyldes maternelle

antistoffer, skulle holdet ikke kasseres. OD værdierne er ikke gengivet, men var ret lave (alle under 30 i OD værdi, på nær 4 prøver ud af de ialt 80 prøver i de 8 positive hold).

Det blev besluttet at holdene alligevel fortsatte i afprøvningen, og så ville der senere blive vurderet om de skulle ekskluderes. For at opnå yderligere viden om, hvorvidt der kunne være tale om maternelle antistoffer, blev der efterfølgende undersøgt for ApxIV antistoffer på de sidste 6 hold (sektioner), idet disse alle havde antistoffer mod Ap2 i alle blodprøver udtaget 3 uger efter indsættelse i slagtesvinestalden. Resultaterne viste at der var én eller flere ApxIV positive eller suspekt positive prøver i alle de undersøgte hold, som tegn på, at der havde været forudgående aktiv smittegang hos disse dyr. Godt halvdelen af de undersøgte prøver var dog negative.

Blodprøverne taget forud for levering var som forventet positive for Ap 2 i alle hold.

Produktionsparametre

I alt 3358 grise endte med at indgå i afprøvningen, der omfattede 24 gentagelser (dobbelsti) for hver vaccinegruppe. Opgørelserne viste ingen signifikant forskel i foderforbruget som var den primære effektparameter. Der viste sig heller ingen forskel mellem grupperne på de andre parametre (dgl. tilvækst, % døde, og antibiotikabehandlinger).

Table 4 over produktionsresultater

Gruppe	1 Kontrol	2 Hyobac	3 Porcilis	P-værdi	SEM ¹⁾	RES ²⁾
Antal stier	36	24	24			
Grise ved indsættelse, stk.	1440	959	959			
Grise ved afgang, stk.	1326	881	877			
Vægt ved indsættelse, kg	25,2	24,4	24,4			
Slagtevægt, kg	83,7	84,4	84,0	0,20	0,53	1,40
Kødprocent	60,6	60,8	60,6	0,38	0,14	0,45
Døde, pct.	2,6	3,1	3,4	0,50		
Døde og Udtagne, pct.	7,9	9,4	9,7	0,95		
Total behandlinger	55	29	44			
Heraf luftveje % dage behandlet	0	0	0			
Heraf andet % dage behandlet	0,04	0,03	0,05	0,43		
Foderoptagelse, FEs pr. gris pr. dag	2,45	2,46	2,46	0,75	0,01	0,04
Daglig tilvækst, g	923	928	922	0,65	9,07	23,37
Foderforbrug pr. kg tilvækst	2,66	2,65	2,67	0,72	0,02	0,05

PV-gris	180	185	180	0,25	5,62	13,05
PV-sti	679	696	677	0,40	23,07	55,9
Produktionsværdi ³⁾	100	102,5	99,7			
¹⁾ SEM: Standard Error of Means på lsmmeans-værdierne, der fås fra den statistiske model ²⁾ RES: Residual Standard Error ³⁾ index for produktivitet						

De økonomiske forudsætninger for beregningerne er gengivet i bilag 5. Der blev undersøgt for den mindst sikre forskel i indeks ved anvendelse af slut_kon og den mindst sikre forskel blev estimeret til at være 5,4 indekspoint. Der er således ikke nogen sikker forskel i produktionsværdien mellem de 3 grupper.

På baggrund af blodprøveresultaterne er der gennemført en post hoc analyse, hvor kun de hold, som havde ingen eller få positive blodprøver efter 3 uger i stalden indgik dvs. hold 1,2,4 og 5. Resultatet for de 28 stier blev:

Tabel 5 over Post hoc analyse

Gruppe	1	2	3	P-værdi	SEM ¹⁾	RES ²⁾
<i>Antal stier</i>	12	8	8			
<i>Grise ved indsættelse, stk.</i>	480	319	319			
<i>Foderforbrug pr. kg tilvækst</i>	2,74	2,69	2,72	0,20	0,02	0,06
<i>PV-sti</i>	610	667	624	0,15	24,53	62,6
¹⁾ SEM: Standard Error of Means på lsmmeans-værdierne, der fås fra den statistiske model ²⁾ RES: Residual Standard Error						

Som det ses i ovenstående tabel har gruppe 1 (kontrolgruppen) de dårligste produktionsresultater mens gruppe 2 og 3 er bedre. Det er vigtigt at bemærke, at der ikke er signifikant forskel mellem grupperne, og at der ikke er styrke i afprøvningen, når der kun medtages data fra 28 stier.

Lungelæsioner

Antallet af opmærkede lungesæt på slagteriet var 480. Heraf blev de 445 genfundet og undersøgt med sikker identifikation og obduktionsresultater afleveret fra laboratoriet. Af disse indgik 441 lungeresultater i den statistiske opgørelse. I alle 3 grupper ses en forekomst af Ap-relaterede forandringer i mere end halvdelen (57,4- 65%) af lungerne og med en udbredelse på omkring 20 % (20,6-22,1) i lungerne (tabel 6) . Øvrige forandringer ses i godt 40 % af lungerne i alle grupper og med en udbredelse på ca 10 % (8,8-12,1). Heller ikke for disse forandringer ses der forskel mellem grupperne.

Tabel 6 over lunge forandringer

Gruppe	1	2	3	P-værdi	SEM ¹⁾	RES ²⁾
<i>Antal lunger</i>	176	122	143			

Lunger med Ap-forandringer	57,4	63,1	65,0	0,35		
Udbredelsen af Ap-lungeforandringer	21,1	22,1	20,6	0,77	1,5	13,2
Lunger med øvrige forandringer	43,8	40,1	41,3	0,86		
Udbredelsen af øvrige lungeforandringer	8,8	12,1	11,2	0,14	1,28	9,0
¹⁾ SEM: Standard Error of Means på lsmmeans-værdierne, der fås fra den statistiske model ²⁾ RES: Residual Standard Error						

Diskussion

Vaccination mod en given sygdom, skal for at kunne være effektiv, som minimum udføres tilstrækkelig tidligt til, at beskyttelse kan opnås før sygdommen/smitten rammer dyrene. For de fleste vacciner vil det i praksis være senest 2-3 uger før forventet smitte. Studier har dog vist at beskyttende immunitet mod Ap godt kan udvikles, også selv om der allerede er tilstedeværelse af antistoffer enten som passivt overførte eller efter aktiv infektion (Krejci et al. 2005). Ap smittedynamikken i en besætning kan formodentlig ændres over tid, men det må forventes at et mindre antal pattegrise er smittet eller bærer bakterien i tonsillerne, allerede ved fravæning (Vigre et al., 2002, Tobias et al., 2014) og at det er de grise der smitter resten af flokken enten i løbet af klimastaldsperioden eller efter overflytning til slagtesvinestalden. Denne hurtige gennemsmitning af flokken sker oftest subklinisk og formentlig uden udvikling af større patologiske processer i dyret (Tobias et al. 2013). Kliniske udbrud menes på baggrund heraf sandsynligvis at opstå som følge af en trigger hvor en del af de allerede subklinisk inficerede dyr simultant udvikler pleuropneumoni og symptomer. (Klinkenberg et al. 2014). Hurtig spredning af bakterien fra dyr til dyr på dette tidspunkt som årsag til sygdommens udbredelse blandt dyrene, synes derimod ikke at være tilfældet (Tobias et al., 2013).

Set i lyset af disse nyere undersøgelser af smittedynamikken, kan man diskutere om subklinisk serokonvertering forud for vaccinationen har betydning for vaccins evne til at beskytte mod klinisk sygdom og nedsat produktivitet. Vaccination mod Ap kan ikke hindre koloniseringen af tonsillerne (Velthuis et al. 2003), så den ønskede effekt vil derfor primært være at hindre de mulige følger af infektionen.

Blodprøver udtaget forud for forsøgets opstart, viste ikke tegn på begyndende serokonvertering for Ap 2 hos dyr testet 1-2 uger efter indsættelse i slagtesvinestalden. Det blev derfor vurderet at der ville være tid nok til at nå at vaccinere 2 gange efter ankomst, inden holdene blev gennemsmittet. For grisene i 2. runde blev der fra ejers side foretaget en ændring i medicineringen forud for flytning til slagtesvinestalden, idet man ophørte den vanlige behandling for lawsonia med tylosin 7 dage i drikkevandet fra 56 dg – 63 dg gamle grise i klimastalden. Dette forhold kan muligvis have ændret smittedynamikken for Ap 2 i 2. runde, og medført at gennemsmitningen skete tidligere blandt disse hold. Om medicinering med tylosin evt kan have undertrykt

Ap-bakterierne i tonsillerne af bærerne og dermed have udskudt gennemsmittning og serokonverteringstidspunktet i 1. runde kan der dog kun gisnes om.

Der blev foretaget analyse for ApxIV antistoffer i de sidste 6 hold, hvor blodprøverne udtaget 3 uger efter ankomst viste antistoffer for Ap 2. Denne test bruges til at påvise aktiv infektion i dyrene, idet der evt kunne være tale om maternelle antistoffer om årsag til at grisene var seropositive for Ap2. I alder var grisene på tidspunktet for blodprøvningen henved 14-15 uger, og på dette tidspunkt burde maternelle antistoffer være væk. Dog var søerne i denne besætning vaccineret i drægtigheden med Hyobac APP 2 og derfor kunne der evt tænkes være en forlænget forekomst af maternelle antistoffer for Ap 2. Fra studier af maternel immunitet efter vaccination med Porcilis® APP har man tidligere fundet forlænget forekomst af maternelle antistoffer, som evt kunne blokere for vaccinerespons op i op til 10 ugers alderen (Bak, H et al. 1998). Der findes så vidt vides ingen undersøgelser vedr. dette for Hyobac APP 2 vaccinen.

Apx IV antistoffer efter aktiv infektion hos soen kan formodentlig også overføres til afkommet, så påvisning heraf er ikke endegyldig bevis for en aktiv infektion hos grisen selv, men er dog nok det mest sandsynlige. Resultaterne viste at der var Apx IV antistoffer i en del af prøverne. Dog var der færre ApxIV positive prøver end Ap 2 positive prøver i alle 6 hold, hvilket enten kan skyldes at nogle af de Ap 2 test-positive grise faktisk ikke havde gennemgået aktiv infektion, men kun havde maternelt overførte antistoffer. Eller også var det snarere udtryk for at Apx IV antistofferne evt først dannes senere under infektionen end de antistoffer der påvises i Ap 2 testen. I den anvendte ELISA test kan Ap2-antistoffer påvises allerede 8 dage efterinfektionstidspunktet (Rød SPF mappe,intern, 2012), mens det for ApxIV testen angives, at der går ca 3 uger fra infektionstidspunkt til påvisning af antistofferne i testen (Dreyfus et al. 2004). At der er begyndende seropositive ApxIV grise 3 uger efter indsættelsen er ikke overraskende, og må formodes at være et resultat af en aktiv smittegang og serokonvertering, der er udløses af sammenblanding og flytning til slagtesvinestalden.

I den gennemførte afprøvning, blev ikke observeret kliniske tegn på ondartet lungesygdom i slagtesvineperioden, hverken af personale eller VSP's medarbejdere, og der blev i forsøgssektionerne ikke foretaget behandlinger for lungelidelser i hele afprøvningsperioden. Sammenholdt med forekomsten af lungeforandringer ved USK, er det overraskende at der ikke er registreret kliniske tilfælde, idet alle tre grupper har høj forekomst (57-65%) af ap-lignende forandringer og med en udbredelse på omkring 20 % af lungen. Den store forekomst og udbredelse af Ap lignende forandringer ved slagting kunne tyde på, at der er en ret sen subklinisk forekomst af ondartet lungesygdom med Ap 2 i besætningen. Dette står i modsætning til den tidlige serokonvertering der blev påvist ved blodprøverne, og som antages at være resultat af en aktiv

smittegang. Denne smittegang vil formodentlig udvikle mildere patologiske processer i en del af dyrene, men ikke nødvendigvis klinisk sygdom. Noget tyder på at der så kommer en 2. bølge af subkliniske tilfælde senere i slagtesvineperioden, blandt dyr der ikke blev gennemsmittet tidligere, eller ikke har opnået tilstrækkelig immunitet.

Både blandt de vaccinerede og uvaccinerede dyr sås en ret høj forekomst af Ap –forandringer ved slagtning. Dette kan undre, idet man ville formode at vaccinerede dyr ville have en lavere forekomst af Ap-relaterede lungeforandringer, selv om dyrene var smittede inden vaccinationen, idet vaccinen formodentlig vil virke som en booster af den naturligt erhvervede immunitet og dermed begrænse de sene forandringer. Vaccinernes evne til at beskytte mod lungeforandringerne s.f.a Ap 2-infektion synes derfor i denne afprøvning begrænset for begge vacciners vedkommende. Kort varighed af beskyttelsen er tidligere beskrevet som en problematik for Porcilis App (Sjölund et Walgreen, 2008, jirawattanapong et al., 2008), og kan være en del af forklaringen. For Hyobac App2 angives derimod iflg. producenten en beskyttelse i op mod 20 uger .

Tilsyneladende fravær af kliniske tegn på Ap-lungesyge igennem hele afprøvningsperioden kan diskuteres på baggrund af, at der ikke er foretaget en eneste behandling mod lungelidelse i perioden. Hvorvidt der evt er overset tilfælde kan overvejes med henvisning til de udbredte USK forandringer , men den manglende klinik kan dog sandsynligvis også i nogen grad tilskrives vaccinerne. Dog kan man diskutere om det er problematisk, at der heller ikke ses kliniske tegn i kontrolgruppen. Det er en velkendt problematik at forsøgsopstillingen med parallelle grupper i samme sektion er et tveægget sværd, når det gælder afprøvning af vacciner mod luftvejssygdomme, idet grupperne evt. kan påvirke hinanden og dermed mindske sandsynligheden for at der ses en forskel i effekt mellem vaccinerede og uvaccinerede dyr. Vaccination af ca halvdelen af dyrene i hver sektion har været foretaget i denne afprøvning og dette kan have medført at den uvaccinerede halvdel har fået vis beskyttelse s.f.a lavere smittetryk i sektionerne. Ligeledes kan den vaccinerede halvdel have været påvirket af den uvaccinerede del med mindsket virkning af vaccinerne til følge, i forhold til hvis alle i sektionen var vaccineret . Der er ikke nogen grund til at spekulere i forskelle i effektivitet mellem de to vacciner dels fordi ingen af grupperne udviser signifikante forskelle og dels tillader dimensioneringen ikke at denne sammenligning kan laves.

Konklusion

Der blev i denne undersøgelse ikke påvist nogen forskel i foderudnyttelsen hos Ap-vaccinerede og uvaccinerede grise. Dette var ens for begge de to vacciner der indgik i afprøvningen. De andre undersøgte parametre (dgl. tilvækst, dødelighed, behandlingsdage samt lungeforandringer ap-relaterede og øvrige),

viste heller ingen forskelle mellem grupperne. Det skal dog bemærkes at besætningen opnåede markant bedre produktionsresultater i alle 3 grupper gennem hele afprøvningen, set i forhold til udvælgelses grundlaget fra e-kontrollen fra før afprøvningen startede. Desværre viste blodprøver at kun 4 ud af 12 hold var negative for Ap2 antistoffer 3 uger (målt på uvaccinerede dyr) efter indsættelsen i slagtesvinestalden.

Dermed holdt forudsætningen for at vurdere effekten af vaccinerne i forhold til kontrolgruppen ikke, idet grisene i de fleste hold viste sig at være serokonverteret for Ap 2 allerede i starten af slagtesvineperioden og altså inden at vaccinerne således i teorien kunne nå at være fuldt virksomme. Man kan derfor ikke afvise at der kunne have været opnået en forskel mellem vaccine og kontrol gruppe såfremt grisene var blevet smittet senere i slagtesvineperioden, sådan som det også ses i mange besætninger. Supplerende undersøgelser for ApXIV antistoffer indikerede, at ihvertfald en del af grisene havde haft en aktiv infektion 3 uger efter indsættelse. I denne afprøvning lod det sig af praktiske årsager ikke gøre at vaccinere grisene inden flytning til slagtesvinestalde. Mulig blokering af vaccins effekt p.ga.. maternelle antistoffer kan dog tale imod tidlig vaccination (fra 6 uger). Ligeledes kan tidlig vaccination medføre at vaccinerne ikke beskytter helt til slagting. Vaccination i smågriseperioden vil dog være at foretrække i de tilfælde hvor der enten ses problemer med kliniske udbrud i klimastaldsperioden eller lige efter flytning.

Perspektivering

Nyere (CSK, ikke publicerede) undersøgelser viser at smitte med Ap 2 har en negativ effekt på tilvæksten og foderforbrug ihvertfald i smågriseperioden, hvorfor det fortsat er absolut relevant at undersøge om tilgængelige vacciner kan reducere denne effekt. Der bør derfor laves yderligere undersøgelser hvor vaccinationstidspunktet er fremrykket til smågriseperioden med mulighed for at undersøge produktionsøkonomiske parametre i denne periode også.

Der er dog også brug for at få klarlagt om det betyder noget for Ap 2 vacciners effektivitet, at dyrene allerede er smittet og evt serokonverteret på vaccinationstidspunktet. Hvis der i forbindelse med gennemsmitningen og serokonverteringen ikke sker nogen væsentlige patologiske forandringer og klinik i dyret, men at disse skader først opstår i forbindelse med udbrud senere i slagtesvineperioden, kan vaccination mod Ap2 også være et relevant tiltag ved indsættelse af eks. indkøbte 30 kg grise i slagtesvinestalden.

Effekten af at vaccinere slagtesvin med de to undersøgte vacciner i forhold til kontrolgruppen blev ikke vist i denne undersøgelse. Det kan dog godt tænkes, at man under et større smittepres kunne have set en effekt primært i form af nedsat dødelighed og antibiotikaforbrug. Et andet setup, med hele sektioner af vaccinerede

eller uvaccinerede dyr parallelt i tid, kunne muligvis øge muligheden for at se en effekt af vaccinerne i forhold til kontrolgruppen, men samtidig ville det give risiko for at andre sektionsvise faktorer pludselig har betydning for resultatet.

Referencer :

Bak, H., G. Paul, A.W. Jensen and J.V.D. Oever (1998) App vaccination; influence of vaccination on titres in sows and pigs. In Proceedings IPVS 1998, 272.

Bosch, M., R. Menjon, J.M. Bollo, M. Jiménez (2012). Efficacy and profitability of Porcilis® App vaccination in the control of acute App outbreaks. In Proceedings IPVS 2012, p 615.

Busch, M.E, K. Barfod and V. Sørensen (2006) Sammenhængen mellem smitte med luftvejssygdomme og tilvækst hos slagtesvin. VSP, meddelelse nr. 761.

Christensen, G.(1997). Udvidet sundhedskontrol. USK Afdelingen for veterinær- og levnedsmiddelforhold, Landsudvalget for Svin, Danske Slagterier, 1997.

Del Pozo Sacristán, R., A. Michiels, M. Martens, F. Haesebrouck, D. Maes (2014). Efficacy of vaccination against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in two Belgian farrow-to-finish pig herds with a history of chronic pleurisy. Veterinary Record, March 22, 2014.

Dreyfus, A., a. Schaller, S. Nivollet, R.P.A.M. Segers, M. Kobisch, L. Mieli, V. Soerensen, D Hüssy, R. Miserez, W. Zimmermann, F. Inderbitzin, J. Frey. (2004) Use of recombinant ApxIV in serodiagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections, development and prevalidation of the ApxIV ELISA. Veterinary Microbiology, 99, 227-238.

Gottschalk, M. and D.J.Taylor (2006) *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Straw B.E, Zimmerman J.J., D`Allaire S, Taylor, D. J, eds. Diseases of Swine. Iowa State University, Ames, 563-576.

Haugegaard, Svend, (2015) Laboratorium for svinesygdomme, Kjellerup.

Jirawattanapong, P., N. Stockhofe-Zurwieden, L. van Leengoed, G. Binnendijk, H. J. Wisselink, R. Raymakers, T. Cruijssen, C. van der Peet-Schwering, A. van Nes, M. Nielen. (2008). Efficacy of a subunit vaccine against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in an endemically infected swine herd. Journal of Swine Health and Production, vol.16 4, 193-199.

Lium, B., E. Brun, O. Fjetland and A. Lund (1998) A field study of the efficacy of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccine in the control of pleuropneumonia caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 6. In Proceedings IPVS 1998, 256.

Lopéz, J.V, J. Font, M. Prat and C. Cantín (1998) Technical and economic effect of Porcilis App: A field trial. In proceedings IPVS 1998, 264.

Martelli, P., P.F. Guadagnini, E. Foccoli and G. Ballarini (1996) Efficacy of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccine in the control of pleuropneumonia: A field trial. In Proceedings IPVS 1996, 214.

Nielsen, R., T. Plambeck, N.T. Foged (1991) Blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 . J. Clin. Microbiol. 1991, 29(4):794-797

- Nymark, K. and J. Dahl (2000) Vaccination med Porcilis App mod ondartet lungesyge hos slagtesvin. Meddelelse nr. 468, Landsudvalget for Svin.
- Pommier, P., B. Ridremont, S. Wessel-Robert, and A. Keïta (1996). Field study into efficacy of a new *actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccine. In Proceedings IPVS 1996 p. 206.
- Ridremont, B.(2000) Extension field study into efficacy of porcilis App on french farms. In Proceedings IPVS 1992, p. 511
- Rosales, F., V. Quintero, A. Aguilera, M. Martens, K. Mancera (2008). Strategic vaccination against chronic pleuropneumonia associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* leading to improved growth rate. In Proceedings IPVS 2008, 221.
- Scaller, A., R. Kuhn, P. Kuhnert, J. Nicolet, T. J. Anderson, J. I. MacInnes, R.P.A.M. Segers and J. Frey (1999). Characterization of *apx IVA*, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Microbiology (1999), 145, 2105-2116.
- Sjölund, M. and P. Wallgren (2008) A three-fold vaccinationsstrategy aiming to control actinobacillosis in a fattening herd. In Proceedings IPVS 2008, 225.
- Sjölund, M. and P. Wallgren (2010). Field experience with two different vaccination strategies aiming to control infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in a fattening pig herd. Acta Veterinaria Scandinavica 2010 52;23
- Tobias, T.J., A. Bouma, A.J.J.M. Daemen, J. A. Wagenaar, A. Stegeman, D. Klinkenberg (2013). Association between transmission rate and disease severity for *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. Veterinary Research 2013 44:2.
- Tobias, T.J., D. Klinkenberg, A. Bouma, J. van den Broek, A.J.J.M. Daemen, J.a. Wagenaar, J.A. Stegeman (2014) A cohort study on *Actinobacillus pleuropneumoniae* colonisation in suckling pigs. Preventive Veterinary Medicine 114 (2014), 223-230.
- Valks, M.M.H., T. Nell and J.F. van den Bosch (1996). A clinical field trial in finishing pigs to evaluate the efficacy of a new APP subunit vaccine. In Proceedings IPVS 1996, p.208.
- Van den Bosch, J.F, I.M.C.A Jongenelen, A.N.B. Pubben, F.G.A. van Vugt, and R.P.A.M. Segers (1992) Protection induced by a trivalent *A. pleuropneumoniae* subunit vaccine. In Proceedings IPVS 1992, p.194.
- Velthuis, A.G., M.C. De Jong, E.M. Kamp, N. Stockhofe, J.H. Verheijden (2003) Design and analysis of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* transmission experiment. Preventive Veterinary Medicine (2003) 60, 53-68
- Vigre H., O. Angen, K. Barfod, D. Thanning Lavritsen, V. Sørensen (2002) Transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs under field-like conditions: Emphasis on tonsillar colonisation an passively acquired colostral antibodies. Veterinary Microbiology 89, (151-159).

Bilag

Bilag 1

Inklusionskriterier:

Inklusions kriterier	Faktiske forhold
Holdstørrelse min 250 slagtesvin pr hold	Ja
Min 6 dobbelt stier pr sektion med mulighed for opgørelse af foderforbrug pr. dobbeltsti	7 dobbeltstier brugbare pr sektion.
Sammensætning (køn)	blanding
Slagtesvinene er serologisk positive for Ap2 kort før slagtning (min. 15 af 20 blodprøver er positive)	Ja , 19 af 20 er positive (19/19)
Smittegang med Ap2 sker i slagtesvineperioden (blodprøver er overvejende negative kort efter indsættelse)	Ja, blodprøver negative for Ap 2 både 1 og 2 uger efter indsættelse (10 prøver fra hver grp)
Negativ for andre ap-typer kort før slagtning. Dog kan 1-2 reagenter ud af 20 accepteres. (ap 6 og ap 12.)	BLÅ SPF status + ap2 + myc + vac.
Høj andel af bemærkninger om brysthindear (min 40% gn. 6 mdr.)	Se ekontrol, ligger i underkanten dog men accepteret da der er kvartaler med over 40 %
USK på 20-30 lunger viser ap -relaterede lungeforandringer i min 50 % af grisene	2877: (ialt 17 lunger) 71 % kronisk caudodorsal pleuritis 12 % kroniske pleuropneumonier 6 % akutte pleuropneumonier 2878: (ialt 20 lunger) 85 % kronisk caudodorsal pleuritis 35 % kroniske pleuropneumonier
Guidelines for dyrevelfærd opfyldes Tjekliste –bilag 6b udfyldes	OK, har opsat ekstra R/B holdere i de pågældende sektioner så der er 2 pr sti.
Gældende lovgivning vedr. foder og medicinanvendelse overholdes.	Ja
Medicinering i slagtesvineperioden.	Nej kun enkeltdyrsbeh. Smågrise får en uge på Tylan før flytning (lawsonia dosis)
Ejer er indstillet på at følge arbejdsplanen og yde den nødvendige hjælp, samt sikre at grisene kan følges fra indsættelse til slagtning i hele forsøgsperioden.	Ja

Bilag 2

Tablet over produktionsdata
Sektionsvis E-kontrol 12 mdr bagud
for hver sektion forud for
afprøvningsopstart.

Sektion	Daglig tilvækst	Foderforbrug	Dødelighed%	Brysthindear %	Kød%
1 (50)	866	2,89	4,3	35,8	61
2 (51)	872	2,94	3,5	38,1	61,3
3 (52)	895	2,91	3,2	39	61,5
4 (53)	864	3,01	5,6	34,7	61,2
5 (54)	829	2,94	3,5	38,1	61,3
6 (55)	806	2,75	6,1	35,3	61,4

Bilag 3

Besætning - strategier

Sektionerne blev tømt og rengjort før indsættelse af nye dyr. Under afprøvningen blev der indsat 20 grise i stierne, og de mindste 20 grise blev samlet i en sti som ikke indgik i afprøvningen.

De uger hvor der evt. manglede grise i ugeholdet for at fylde en slagtesvinesektion, blev der plukket fra det næste ugehold i klimastalden. Grise fra ugeholdet før kunne også indgå (rest fra et solgt ugehold).

Behandlingsstrategi:

Grisene blev behandlet i 5 dage forud for indsættelse mod Lawsoniadiarre med Tylan. Det var dog kun i 1. runde (halvdelen af forsøget) at det fandt sted. Der blev efterfølgende kun enkeltdyrsbehandlet ved tegn på luftvejslidelse eller andet (f.eks. halebid eller lawsonia) med denagard eller noropen prolongatum (begge 1 ml/15 kg) i 1-3 dage i slagtesvineperioden. (se originale lister fra JOH!)

Fodringsstrategi:

Under afprøvningen anvendtes enhedsblandinger i hele perioden. Blandingerne var optimeret på basis af korn, sojaskrå/rapskager, vegetabiliske fedtkilder og landmix-mineralblanding fra Vitfoss.

Der blev startet op uden reduktion og forventet normal vækst efter 7 dage og med kurve til en forventet tilvækst på 950 g/dag. Der blev ikke foretaget "overfodring" op til 60 kg. Slutfoderstyrken var 2,95 FE's.

Energiindholdet i foderet blev antaget at være på 106,5 FEsv pr. 100 kg færdig foder.

Leveringstrategi:

Levering blev påbegyndt efter ca. 9 uger og strakte sig over ca. 4-5 uger. Besætningen var producent af Englandsgrise. Under afprøvningen blev der leveret grise ned til 70 kg slagtevægt direkte fra afprøvningsstierne i sektionerne for at mindske antallet af grise der skulle vejes ud til bufferen under afprøvningen. Besætningen blev kompenseret herfor ligesom, der blev ydet kompensation for øget foderudgift til enhedsblandingen.

Vaccinationsstrategi :

Pattegrisene blev vaccineret med Stellamune (ONE) ved 10 dages alderen.

I bufferen blev eget tillæg vaccineret med Ingelvac PRRS og Hyobac APP 2.

Alle søer og gylte blev revaccineret med Hyobac APP 2 før hver faring samt med Ingelvac PRRS 10 dage efter faring. Vaccination af pattegrise (10 dg gl) mod PRRS ophørte i uge 10 (2014), således at de første 8 gentagelser (4 sektioner) bestod af PRRS vaccinerede grise, mens resten var uvaccinerede. Vaccination mod PCV 2 med Circovac påbegyndtes i uge 10 (ved fravæning samt forudgående 3 ugehold fravænnet, således at alle på nær den allerførste sektion (2 gentagelser) var PCV2 vaccinerede. Fra og med uge 25 blev vaccinationstidspunktet flyttet til 2. uge efter fravæning. Grise i den sektion der lå op ad bufferen (slagtesvin) blev også vaccineret med Hyobac app2 (fra uge 14).

I Besætningen var sideløbende med i demoprojektet "minus 30 Foderenheder", med opstart i uge 9 (2014).

Ændringerne i vaccinationsstrategierne var en del af handlingsplanen i det projekt, udarbejdet af den lokale svinerådgivning og dyrlæge.

Bilag 4

Staldskitse og rotationsplan for forsøgsgrupperne:

Gr. 3	Ventil 67	Gr. 2	Ventil 68	Gr. 1	Ventil 69	Gr.3	Ventil 70	Sektion 6
Gr. 1	Ventil 66	Gr. 1	Ventil 65	Gr. 2	Ventil 64	Små Ventil 63	Sygesti Ventil 61 Ventil 62	
Gr. 1	Ventil 57	Gr. 3	Ventil 58	Gr.2	Ventil 59	Gr. 1	Ventil 60	

--	--	--	--	--	--	--	--

Sektion 5

Gr. 1	Ventil 56	Gr. 2	Ventil 55	Gr. 3	Ventil 54	Små Ventil 53	Sygesti Ventil 51 Ventil 52
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------------------	-----------------------------------

Gr. 1	Ventil 47	Gr. 1	Ventil 48	Gr. 3	Ventil 49	Gr. 2	Ventil 50
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------

Sektion 4

Gr. 2	Ventil 46	Gr. 3	Ventil 45	Gr. 1	Ventil 44	Små Ventil 43	Sygesti Ventil 41 Ventil 42
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------------------	-----------------------------------

Gr. 2	Ventil 37	Gr. 1	Ventil 38	Gr. 1	Ventil 39	Gr.3	Ventil 40
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------	-----------

Sektion 3

Gr. 3	Ventil 36	Gr. 1	Ventil 35	Gr. 2	Ventil 34	Små Ventil 33	Sygesti Ventil 31 Ventil 32
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------------------	-----------------------------------

Gr. 3	Ventil 27	Gr. 2	Ventil 28	Gr. 1	Ventil 29	Gr. 1	Ventil 30
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------

Sektion 2

Gr. 1	Ventil 26	Gr. 2	Ventil 25	Gr. 3	Ventil 24	Små Ventil 23	Sygesti Ventil 21 Ventil 22
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------------------	-----------------------------------

Gr. 1	Ventil 17	Gr. 3	Ventil 18	Gr. 2	Ventil 19	Gr. 1	Ventil 20
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------

Sektion 1

Gr. 2	Ventil 16	Gr. 3	Ventil 15	Gr. 1	Ventil 14	Små Ventil 13	Sygesti Ventil 11 Ventil 12
-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------	------------------	-----------------------------------

Udleveringsrum

Forrum mv.

Bilag 5

Tabel over økonomiske forudsætninger

Smågrise	Notering	Regulering
7 kg smågrise:	218 kr./stk.	+/- 10,78 kr./kg (7-9 kg)
		+/- 7,36 (9-12 kg)
		+/- 5,99 (12-25 kg)
30 kg smågrise:	370 kr./stk.	- 6,15 kr./kg (25-30 kg)
		+ 6,24 kr./kg (30-40kg)
Slagtesvin		
inkl. efterbetaling:	10,88 kr./kg*	Notering 10,41 kr./kg -0,34 kr./kg fradrag slagteriet +0,81kr./kg efterbetaling
5 års foderpriser (januar 2009 til september 2014)		
Fravænningsfoder (7-10 kg)	3,60 kr./FEsv	
Smågrisefoder (10-30 kg)	1,98 kr./FEsv	
Slagtesvinefoder	1,64 kr./FEsv	