

Feltundersøgelse af effekten af Enterisol® Ileitis på tilvækst og dødelighed i besætninger med Lawsonia Infektion.

Skrevet af:

A.K. Frandsen

Bettina Jensen

Summary

The effect of Enterisol® Ileitis on average daily weight gain (ADWG) and mortality in pigs was studied in two herds. In both herds *Lawsonia intracellularis* had been diagnosed by The Danish Institute for Food and Veterinary Research.

Piglets were vaccinated at weaning and were followed to 30 kg in herd no 1 and to slaughter in herd no 2. The data concerning herd no 2 are not yet completed therefore the conclusion is only temporary. The last data are expected in February. A total number of 3628 vaccinated pigs and 2831 non-vaccinated pig are included in the study from herd no 1. The numbers of pigs from herd no 2 are 6622 non-vaccinated and 3521 vaccinated at this point of time. The statistic concerning the last 3000 vaccinated pigs will be calculated when the pigs reaches slaughter weight.

The study showed a positive effect on ADWG I herd no 1 and a drop in mortality rate in herd no 2. In conclusion vaccination at weaning may be too late concerning the time of seroconversion in the two herds.

Introduktion

I forbindelse med lancering af vaccinen Enterisol® Ileitis vet. er opstillet et forsøg, der har til formål at belyse effekten af vaccinen på tilvækst og dødelighed i to besætninger. Begge besætninger har forud for forsøget fået diagnosticeret *Lawsonia intracellularis* på Danmarks Fødevareres Forskning (DFVF).

Grisene er vaccineret ved fravænning og fulgt til henholdsvis 30 kg eller slagtning. Forsøget er ikke afsluttet da opstillingen i den ene besætning også inddrager slagtesvin. Disse forventes slagtet til februar og derfor kan resultaterne fra denne besætning ikke færdig bearbejdes endnu. Der indgår 2831 ikke-vaccinerede og 3628 vaccinerede grise fra besætning 1. Besætning 2 bidrager foreløbig med 6622 ikke-vaccinerede og 3521 vaccinerede grise.

Der fandtes en forbedret tilvækst i besætning 1 på 33 gram/dag. Mortaliteten i besætning 2 er faldende. Det konkluderes at vaccinationstidspunktet sandsynligvis ligger for sent i forhold til serokonverteringen.

Baggrund

Smitte med *Lawsonia Intracellularis* betyder et økonomisk tab for mange besætninger på grund af øget dødelighed og øget foderforbrug samt reduceret tilvækst, der i nogle tilfælde gør alt ud – alt ind produktion meget besværlig. En anden side af problemerne omkring smitte med *Lawsonia intracellularis* er den immunsuppression, der angiveligt følger i kølvandet. Det er derfor svært at afgøre den præcise betydning for produktionen (Guedes & Gerhart, 2003; McIntyre et al., 2003). Årsagen til ileitis/proliferativ enteropathi (PE) hos svin er infektion med den obligate intracellulære bakterie *Lawsonia intracellularis*. Infektionen forårsager diarré, nedsat tilvækst, pludselige dødsfald forringelse af den generelle velfærd og trivsel, og er af stor økonomisk betydning for Svineproduktionen verden over (Lawson & Gebhart, 2000; Stege et al., 2001).

PE og *Lawsonia intracellularis*

Prævalensen af danske besætninger smittet med *Lawsonia intracellularis* er 93,7 % (Stege et al., 2000) og 93-97 % i andre dele af Europa (Keller et al., 2004). Sygdommen findes i alle svineproducerende lande (McOrist & Gebhart, 2006; McOrist et al., 2003). 5-20 % af dyr i vækst i de inficerede besætninger viser kliniske tegn på smitte dvs. ved diarré, reduceret daglig tilvækst og øget dødelighed (Hardge et al., 2004).

Patogenesen er stadigvæk emne for megen diskussion, men flere undersøgelser peger på, at bakterien har affektion for celler med høj mitotisk aktivitet og deler sig i takt med celledelingen (Boutrup, 2005).

Lawsonia intracellularis (en lille s-formet bakterie) inficerer epithelceller, villi og lamina propria i ileum, jejunum, colon og cæcum. Infektionen forårsager proliferation af immature epithelceller i krypterne og på villi. Dette giver hyperplastiske/ adenomatøse forandringer i mucosa. (Boutrup, 2006). Forandringerne ses hovedsageligt lokaliseret til de sidste 50 cm. af tyndtarmene (ileum og jejunum), samt den første 1/3 af colon og cæcum (McOrist et al., 2005). Undersøgelser af Boutrup et al (2005) tyder på, at der allerede 12 timer efter inokulation kan findes bakterier intracellulært. Ved histologisk undersøgelse kan *Lawsonia intracellularis* findes i enterocytter i ileum, cecum og colon, samt i makrofager i lamina propria mellem de intestinale krypter og lymfeknuderne i mesenteriet (McOrist & Gebhart, 2006). Desuden har Jensen et al (2000) ved undersøgelser af grise med svære intestinale læsioner vist bakterien *Lawsonia interacellularis* i tonsillerne. Dette menes dog at være en følge af lokal bakteriel tilstedeværelse/tilbageholdelse og derfor ikke en del af patogenesen (Jensen et al., 2000).

Kliniske symptomer

PE optræder i både en klinisk og en subklinisk form, se figur 1. Den kliniske form opdeles i Porcin Haemorrhagisk Enteropati (PHE) med et meget akut forløb og en mere kronisk tilstand Porcin Intestinal Adenomatøse (PIA) (McOrist & Gebhart, 2006).

Porcin Proliferativ Enteropati (PE) Subklinisk

Klinisk

**Akut
Proliferativ
Hæmorrhagisk
Enteropati (PHE)**

**Kronisk
Porcin Intestinal
Adenomatosis
(PIA)
Nekrotiserende
Enteritis (NE)
Regional Ileitis
(RI)**

Figur 1. Porcin Proliferativ Enteropati (PE) inddeles (patologisk set) i en klinisk/erkendelig og en subklinisk form.

Porcin Intestinal Adenomatøse (PIA) betragtes som nævnt, som en kronisk form for PE og ses hovedsageligt hos ungdyr. Proliferativ Hæmorrhagisk enteropati (PHE) ses generelt hos lidt ældre dyr og opdeles i en akut PE med blodig til sort fæces, akutte dødsfald og fritliggende blod i tarmen ved obduktion, og en Nekrotiserende enteritis (NE), som er mere sjælden end PIA og PHE. Ved den kroniske tilstand (PIA) ses forskellige grader af diarre og anoreksi, hvilket resulterer i afmagring og reduceret tilvækst i perioder samt vægtforskel ved slagtning. Mortaliteten er lav. Ved obduktion ses hjernevindingstypiske folder og fortykkelse i tarmmucosa. Ved NE ses også svær fortykkelse af tarmslimhinden med gullig-brun nekrotiske læsioner i tarmlumen. Sygdommen rammer grise fra fravænningsalderen (McOrist & Gebhart, 2006).

Det subkliniske forløb af PE er en nylig beskrevet form for infektion med *Lawsonia intracellularis*. Forløbet er uden kliniske symptomer hos dyrene, men infektionen forbliver i populationen som "carrier" form (McOrist et al., 2003). Der ses ingen eller meget få tilfælde af dyr med diarre. Obduktioner viser i nogle tilfælde, hypertrofi og prolifération af mucosa og kraftigt foldede tarmslimhinder, andre gange er læsionerne minimale og kræver histologisk undersøgelse. De største problemer med denne form for ileitis, er blandt andet den betydelige variation i tilvæksten, der ses blandt dyrene i slagtesvinestalden samt et øget foder- og medicinforbrug (McOrist & Gebhart, 2006).

Epidemiologi og immunologi

Lawsonia intracellularis smitter mellem svin gennem en fæcal-oral rute. Inkubationsfasen er ca. 13 dage og grise kan udskille *Lawsonia Intracellularis* i mindst 10 uger efter smitte, men smitteudskillelsen er intermitterende.

Infektionen kan forekomme hos svin i alle aldre, primært hos grise i vækst. Desuden kan ældre søer og pattegrise med en alder på helt ned til 7 dage inficeres med *Lawsonia intracellularis*.

Ligeledes kan især gylte viderebringe infektionen til deres afkom, som dermed kan overføre smitten til andre grise efter fravæning. På denne måde kan infektionen flyttes fra staldafsnit til staldafsnit, selv i multisitesystemer (Smith, 1996; Smith & McOrist, 1997). Bakterien kan dog også flyttes med gnavere og andre små pattedyr.

Lawsonia intracellularis kan overleve uden for celler i cirka 2 uger ved 5°C. Dette gør afvaskning af transportvogne, ramper, mekanisk udstyr og ikke mindst ud- og indleveringsramper særdeles vigtigt i begrænsningen af smitteoverførelse (Taylor, 1995; Beckler et al., 2004).

En dansk opgørelse over fem større danske svinebesætninger naturligt smittet med *Lawsonia Intracellularis* viser at 75 % af grisene undersøgt ved PCR var smittede og alle besætninger var inficerede (Stege et al., 2000).

Tilstedeværelse af *Lawsonia intracellularis* i besætningen er ikke ensbetydende med klinisk sygdom, det antages at de kliniske symptomer forværres ved samtidig infektion med andre tarmpatogener og at dette kan medføre diarré, utrivlighed og nedsat tilvækst som følge af enteritis (Johansen, 2005).

Andre undersøgelser viser, at tilstedeværelsen af *Lawsonia intracellularis* har en direkte sammenhæng med reduktion i antallet af B- og T-celler og derved hindrer værten i at opbygge et cellulært immunrespons. Desuden hævdes det, at aktiverede makrofager akkumuleres i de inficerede krypter og at infektionen derfor medierer en immunsuppression (Guedes & Gehart, 2003; McIntyre et al., 2003; Smith & Lawson, 2001).

Diagnostik

Diagnosen *Lawsonia intracellularis* stilles ved kliniske tegn sammenholdt med de karakteristiske obduktionsfund og histologiske-, serologiske- og PCR- svar fra laboratoriet. Men der er uoverensstemmelser med hensyn til hvilke metoder der giver det mest pålidelige svar. I en dansk undersøgelse af naturligt smittede dyr, fandtes at udskillelse af bakterier fastlagt ved PCR begynder 2 uger før dyrene serokonverterer målt ved indirect fluorescent antibody test (IFAT) (Stege et al., 2004). Også udenlandske forsøg viser, at der kan ses positive PCR prøver 1-2 uger før en immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) viser positive svar (Guedes et al., 2002b; Guedes and Gebhart, 2003a).

Andre har påvist serokonvertering før der er fundet udskillelse via fæces (PCR) (Knittel et al., 1998; Kroll et al., 2004a).

Ovennævnte er forsøgt forklaret ved, at grisene i det tidlige stadie af infektion ikke er i stand til at oprette et humoralt immunrespons, hvilket vil give et positivt svar på PCR, men negativ serologi. Omvendt vil dyrene med negativ PCR og positiv serologi sandsynligvis have været udsat for smitte tidligere eller også har sensitivitet i PCR'en været for ringe til at opfange *Lawsonia intracellularis*. Dette understreger vigtigheden af at begge typer laboratoriemetoder findes (Guedes, 2004), ligeledes serokonverterer nogle dyr aldrig på trods af påvist udskillelse af *Lawsonia intracellularis* via fæces (Stege et al., 2004).

Vaccinen Enterisol® Ileitis vet.

Traditionelt har infektion med bakterien været mulig at begrænse med hygiejnemæssige tiltag samt medicinering. Dette inkluderer medicinering i kortere eller længere perioder, vask, desinfektion og udtørring af stalde, alt-ind alt-ud-produktionsform og foderændringer. Det er blandt andet vist, at fermenteret vådfoder udskyder tidspunktet for udskillelse af bakterier og at foder med 2,4 % mælkesyre reducerer de patologiske forandringer (Boesen et al, 2004). Lanceringen af den nye vaccine Enterisol® Ileitis vet., som er en levende, svækket og frysetørret vaccine, kan formentlig bidrage med reduktion af ileitis forårsaget af *Lawsonia intracellularis*.

Udviklingen af en vaccine mod sygdomme i fordøjelsessystemet er en stor udfordring. For at være sikker på effekt og beskyttelse mod i dette tilfælde *Lawsonia intracellularis*, skal vaccinen sørge for, at der lokalt i tarmen udskilles mukosal/sekretorisk IgA i en sådan grad at presset fra en naturlig infektion overgås. Smittepresset fra tarmpatogener, der udskilles ved naturlig infektion, kan være meget stort, idet smitten udskilles via fæces fra smittede dyr i store mængder og over lange perioder. Derved er hele nærmiljøet forurenet. Tarmpatogener har ligeledes en god overlevelsessevne i lang tid i besætningsmiljøet (Nistral, 2005). Undersøgelser af Stege et al., 2004 tyder på at et dyr, der en gang har været smittet med *Lawsonia intracellularis* og har udskilt smitte, opbygger et IgA-svar, som gør den immun for reinfektion, og derfor ikke udskiller smitte igen. Det har i hvert fald ikke været muligt at måle via PCR endnu (Stege et al., 2004). Dette tyder på at der opbygges en god og varig immunitet.

Vaccinen er en levende svækket vaccine, hvilket har visse fordele frem for en dræbt vaccine. Ved anvendelse af en levende vaccine replikeres agens i værten og forlænger derved immunresponsen, hvorfor kun én inokulation er nødvendig for at give effektiv beskyttelse. Ved brug af dræbt vaccine aktiveres overvejende det humorale immunsystem. Modsat vil brugen af en levende per oral indgivet vaccine på mange måder minde om en naturlig smitte, da både det humorale, cellemedierede og mukosale immunsvare aktiveres.

Da *Lawsonia intracellularis* er en obligat intracellulær organisme, som inficerer intestinale epitheliale celler, vil serum IgG sandsynligvis ikke yde beskyttelse mod infektion, mens sekretorisk IgA og cellemedieret immunrespons spiller en vigtig rolle i bekæmpelse af infektionen (Guedes & Gebhart, 2003). Ved vaccination med levende vaccine varer beskyttelsen som regel i længere tid og sætter hurtigere ind.

Undersøgelser viser at der efter brug af Enterisol® Ileitis ses både et humoralt og et cellulært immunrespons 4-5 uger efter vaccination, mens der ved naturlig infektion ses respons efter 2 uger, hvor det humorale immunrespons på *Lawsonia intracellularis* ofte er svagt og kun holder kortvarigt (Gebhard, 2005). I begge tilfælde genfindes respons op til 13 uger efter vaccinations-/smittetidspunktet. Alt i alt vil der både ved naturlig smittede og vaccinerede dyr kunne observeres fæcal udskillelse og immunrespons over længere tid (13 uger) (Guedes & Gebhart 2003).

Enterisol® Ileitis vet er en oral vaccine. En oral vaccination er naturligvis mindre smertefuld end f.eks. en intramuskulær vaccination, hvor der også er risiko for iatrogen infektion på injektionsstedet. Ved vaccination via trug er tidsforbruget betydeligt nedsat i forhold til den velkendte intramuskulære vaccinationsmetode (Povay & Carman, 1997), men også i forhold til vaccination via drench er tidsforbruget nedsat.

I forhold til en parenteral vaccination vil en oral vaccination i højere grad stimulere det mukosale immunsvare, hvilket er meget hensigtsmæssigt mht. bekæmpelse af *Lawsonia intracellularis*.

Formål

Formålet med dette studie er at undersøge effekten af vaccination med Enterisol® Ileitis vet. på tilvækst og dødelighed hos grise vaccineret ved fravæning og fulgt enten til 30 kg eller til slagting.

Materiale og metode

Vaccination

Enterisol® Ileitis vet. er en levende, svækket og frysetørret vaccine fabrikeret ud fra et dansk isolat af *Lawsonia intracellularis*. Vaccinen blandes med den udleverede solvens og opløsningen rystes grundigt, hvorefter den perorale vaccination foretages enten med drench eller i trug. Dosering er 2 ml pr. gris uanset vægt og alder og opløst vaccine skal anvendes inden for 4 timer. Det optimale vaccinationstidspunkt er fra firmaets side sat til 6 uger før serokonvertering, som kortlægges ved blodprøver. Vaccinen er godkendt til brug på grise efter fravæning.

Fra producentens side anbefales at man ikke medicinerer dyrene 3 dage før og 3 dage efter vaccinationstidspunktet (7 dage i alt). Da vaccinen indeholder levende bakterier, kan effekten af vaccinen nedsættes eller gå tabt ved kontakt til antibiotika (McOrist et al., 2005).

Udvælgelse og beskrivelse af besætningerne.

Data er indsamlet fra 2 besætninger i Jylland, hvor *Lawsonia intracellularis* er blevet påvist både ved fæcesprøver og blodprøver.

Blodprøverne var i besætning 1 fordelt med 5 blodprøver fra gylte, 5 blodprøver fra søer > 1. læg., 10 blodprøver ved 5., 10., 13. og 18. leveuge i klimastald. I besætning 2 var blodprøverne fordelt med 5 prøver ved 5. leveuge, 10 prøver i 10., 13. og 18. leveuge, samt 5 prøver ved 24. leveuge alle udtaget på site 1, mens der blev udtaget 5 blodprøver ved 13. leveuge og 5 prøver af slagteklare dyr på site 2.

Alle blodprøver blev indsendt til immunofluorescens-antistof-test (IFAT) og Enzyme-Linked Immunosorbent assay (ELISA) på DFVF.

Fæcesprøverne blev udtaget fra to stier med ungdyr, der viste kliniske tegn på PE. Disse dyr var ikke antibiotikabehandlede på grund af forsøget. Fra besætning 1 blev der endvidere indsendt 4 aflivede grise til patologisk undersøgelse på DFVF. 3 af disse dyr kom fra ovennævnte 2 stier.

Laboratorieundersøgelserne viste, at besætning 1 var positiv på alle 10 fæcesprøver for *Lawsonia intracellularis* (PCR). Ved BU fandtes alle 10 positive for *E. coli*. På De indsendte aflivede grise gav Laboratoriet følgende svar: en gris havde nekrotisk enteritis og en anden gris havde fortykkelser af slimhinden i både tyk- og tyndtarm. De sidste 2 døde grise havde ingen tydelige forandringer i tarmene. Alle 4 grise var dog kadavarøse, hvilket måske kan have sløret undersøgelserne noget. De 50 blodprøver viste at alle dyrene på 5 og 10 uger var negative for *Lawsonia*. Ved 13 uger var 4 ud af 10 positive (2 af dem med meget høje titre). Ved 18 uger var alle 10 positive. Søerne og gyltene havde alle positive titre – 1 gylt og 1 sø havde dog positive titre under cut off værdien. I besætning 2 var dyrene i 5. leveuge negative, mens halvdelen af dyrene i 10. leveuge var positive, alle andre blodprøver var positive. 3 fæcesprøver ud af 4 var positive for *Lawsonia intracellularis*.

Tilvækst og dødelighed følges i besætningerne før forsøgets opstart i 9 ugehold, herefter følges de samme parametre i 9 vaccinerede ugehold.

Alle 18 ugehold vejes ved ind- og afgang af smågrisestalden og slagteriafregningen benyttes til bestemmelse af afgangsvægt ved levering til slagteriet (kun i besætning 2).

Undersøgelsen er en sammenligning mellem før og efter vaccination af tilvækst og dødelighed samt spredningen på disse. Da Boehringer-Ingelheim skal bruge resultaterne i større sammenhæng var det for dem vigtigt, at der indgik 9 ugehold før og efter vaccination, idet de benytter Statistical Process Control (SPC) i deres analyse. Denne metode anvendes i industrien til påvisning af

variation i produktion, af enten processen eller produktet. Den statistiske indgangsvinkel er baseret på den totale variations sammenhæng med produktionsprocessen. For at få statistiske korrekte resultater med SPC-analysen, skal der bruges minimum 6 ugehold før og efter vaccination (Thacker, 2005). De 9 ugehold er valgt ud fra deisen om evt. fejl, sygdom eller andet som kan betyde, at et ugehold må kasseres.

Vores resultater er bearbejdet i Microsoft Excel-regneark se databehandling.

Besætning 1 opdeles på 2 sites. Site 1 (sobesætning) består af ca. 800 søer. Efter 4-5 uger i farestalden, køres fravænningsgrisene over på site 2, hvor hvert ugehold fylder en sektion. Et ugehold består af ca. 400 grise. Grisene sælges ved 30 kg. Site 2 er en fuldsektioneret klimastald med 2-klimastier. Den indeholder 8 sektioner. Besætningen har en strikt alt ind – alt ud produktion, hvor sektionerne rengøres, desinficeres og udtørres mellem hvert hold. Denne nye sektionerede stald står i forbindelse med en ældre stald, hvor der dels er nogle bufferstier og dels er mulighed for opfedning af grise, der ikke er solgt.

Der fodres med 3-faset tørfoder. Der tilsættes 2000 ppm. Zinkoxid de første 14 dage efter fravæning.

I besætning nr.1 er vaccination foretaget ved fravæning via drench. Alle grise fra et ugehold indgår som et samlet batch og grisene følges til salg ved ca. 30 kg. Der indgår mellem 320 og 438 grise i hver batch. Dyrene indsættes i et dobbeltfrats system.

I besætning nr. 2 vaccineres grisene via langtrug 10 dage efter de er ankommen til besætningen. Denne metode er valgt, da der er problemer med lungesygge og fravænningsdiarré kort tid efter indsættelse og antibiotikabehandling er derfor nødvendig. Et ugehold er et batch, der indgår mellem 740-750 grise i hver batch. Grisene i besætning nr. 2 følges til slagting. Dyrene deles 6 uger efter indsættelse, her flyttes halvdelen til et andet staldanlæg (dobbeltfrats). Gennemsnitvægten for hele holdet noteres. Den resterende halvdel forbliver i de stier, hvor de blev indsat ved fravæning, frem til slagtetidspunktet. Der køres ligeledes en strikt alt ind – alt ud produktion, med udleveringsstalden som bufferstald og rengøring mellem hvert hold.

Databehandling.

Efter ind- og udvejning af holdene er tilvæksten udregnet for hvert ugehold. Værdierne opdeles i tilvækst for ugehold før vaccination og tilvækst for ugehold efter vaccination. Der beregnes gennemsnit for hver gruppe. Herefter udregnes der standardafvigelse for hver gruppe. Til undersøgelse af forskellen på tilvækst af vaccinerede og ikke vaccinerede svin anvendes Students T-testen. Desuden anvendes F-test, for at undersøge om der er forskel på spredningen på vaccinerede og ikke vaccinerede grupper. Der er brugt en en-sidig analyse, da det antages, at vaccination giver bedre end eller samme tilvækst som ingen vaccination.

For at belyse hvorvidt dødeligheden er ændret fra de ikke-vaccinerede batch til de vaccinerede hold i besætning 2 er der lavet en 2x2 tabel og en χ^2 -test på hver af de enkelte gårde i besætningen.

Til de statistiske udregninger er brugt Microsoft Office Excel 2003®.

Resultater

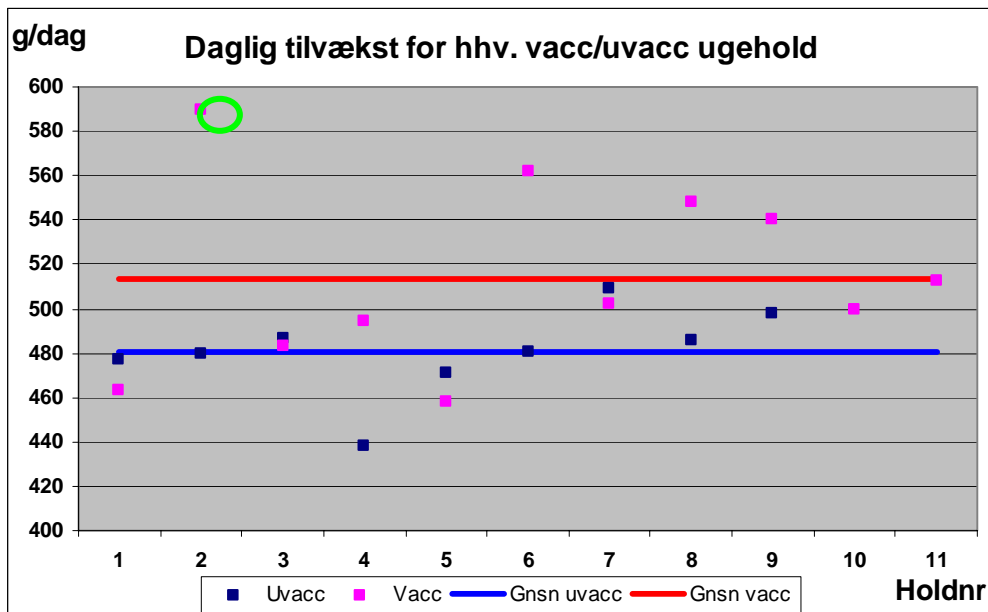
I besætning 1 er den gennemsnitlige daglige tilvækst øget med 33 gram efter vaccination. Før vaccination var den daglige tilvækst 481 gram og efter vaccination 514 gram.

Afgangsvægten er gennemsnitligt øget med 1,4 kg. Dyrene sælges efter 42 dage i klimastalden. Før var afgangsvægten gennemsnitligt på 31,4 kg, mens de vaccinerede dyr havde en afgangsvægt på 32,8 kg.

Dødeligheden var meget lav i besætningen før vaccination (0,73 %) og efter vaccination (0,63 %), hvorfor der ikke er regnet statistik på dødelighed i besætningen.

Tilv_før	Tilv_etter	Gnsn før	Gnsn efter
477	463	481	514
480	590	481	514
486	483	481	514
438	494	481	514
471	458	481	514
481	562	481	514
509	502	481	514
486	548	481	514
498	540	481	514
	500	481	514
	512	481	514

	Gnsn	SD	F-test	T-test
Før		481	19,65	0,044
Efter		514	41,58	0,017



Figur 2. Diagram over daglig tilvækst for vaccinerede ugehold og ikke-vaccinerede ugehold.

Da F-testen viser en stor forskel mellem standardafvigelserne, bliver T-testen korrigeret for dette. Af T-testen fremgår det, at der er signifikant forskel på gennemsnitstilvæksten før vaccination og gennemsnitstilvæksten efter vaccination. På figur 2 er en mulig outlier markeret. Den er taget med beregningen af gennemsnittet, bl.a. fordi, det ikke har været muligt at påvise fejl, der skulle have ført til opståen af en outlier.

Delresultaterne fra besætning 2 ses i opstillingerne herunder. På Alstrupgård, hvor grisene alle figurere fra indsættelse til ca. 20 kg og halvdelen til slagtning, ses der ingen signifikant forskel på tilvæksten mellem de vaccinerede og ikke-vaccinerede hold. Det samme er tilfældet på Erslevgård hvor ca. 400 grise fra hvert hold flyttes til ved ca.20 kg. Der er ikke lavet grafer for besætning 2 idet de ikke giver noget klart overblik.

Alstrupgård, alle grisesættes ind ved frav, 400 grise flyttes til Erslevgård ved 19-20kg, resten bliver til slagtning.							
	# pigs	weight in	weight out	mort. %	ADG	FE/kg	
09-02-2005	735	9,1		2,9	631	2,5	
09-03-2005	730	8,6		4	594	2,4	
06-04-2005	660	8,4	50,6	1,2	564	2,4	
05-05-2006	931	8,8	55,1	3	617	2,5	
01-06-2005	716	6,5	54,8	1,3	597	2,5	
30-06-2005	735	8,8		2,7	599	2,5	
27-07-2005	735	8,1		5,7	572	2,5	
20-09-2005	640	8,6		1,4	587	2,4	
20-10-2005	740	8,3		1,5	606	2,4	
18-11-2005	735	9,8	58,5	1,5	641	2,5	
14-dec	738	9,7	55,3	2,2	590	2,5	
11-01-2006	660	9,5	50,6	2,2	572	2,4	
08-02-2006	652	8,5	53,6	3,6	572	2,6	
11-03-2006	736	8,9	57,4	2,2	650	2,5	

Gnsn uvacc	596,33
Gnsn vacc	605,00
f-test	0,14 (ej signif. forskel på spredning)
t-test	0,29 (ej signif. forskel på gnsn)

ERSLEVGÅRD400 grise fra ca. 20 kg til slagtning					
	# pigs	weight in	mort%	ADG	FE/kg
14-04-2005	397	21	1,3	894	2,4
12-05-2005	400	21,9	1,5	890	2,5
07-06-2005	400	20,6	2	862	2,5
06-07-2005	400	20,2	3,2	848	2,6
02-08-2005	400	19,1	1,2	847	2,6
01-09-2005	399	18,8	3,2	856	2,6
27-09-2005	398	19,2	2,5	843	2,6
27-10-2005	382	21	1,6	847	2,6
22-11-2005	400	19,2	3,5	832	2,6
20-12-2005	400	22,3	1,2	844	2,6
17-01-2006	400	19,8	3,2	845	2,6
14-02-2006	400	18,3	1,5	864	2,6
14-03-2006	360	17,4	1,9	841	2,6
11-04,2006	400	20,9	1,2	862	2,6

Gnsn uvac	857,6667
Gnsn vacc	851,2
f-test	0,215284 (ej signif. Forskel på spredning)
t-test	0,270078 (ej signif. Forskel på gnsn)

T-testene på besætning 2 viser at der ingen signifikant forskel er på gennemsnitlig daglig tilvækst de to grupper imellem på begge ejendomme, derfor er det ikke strengt nødvendigt at udføre en F-test der undersøger om der er signifikant forskel på spredningen, hvilket heller ikke er tilfældet. P-værdierne fra χ^2 -testen er henholdsvis på større end 0,1 for Alstrupgård og mellem 0,1 og 0,05 for Erslevgård, hvilket betyder at der ikke er forskel på dødeligheden blandt de vaccinerede dyr sammenlignet med de ikke-vaccinerede dyr på Alstrupgård, mens der på Erslevgård er tendens til lavere dødelighed blandt de vaccinerede grise.

Erslev:

$0,1 > p > 0,05 \Rightarrow$ der er ikke signifikant forskel. Der ses dog en tendens til en reduktion i dødelig i de hold der er vaccinerede. I forhold til de hold der ikke er vaccinerede.

Alstrup:

$p > 0,1 \Rightarrow$ ikke signifikant forskel på dødeligheden i de to grupper.

Der har ikke været væsentlige ændringer i management og fodersammensætning i de to besætninger i forsøgsperioden. Efter opstart af vaccination, opstod en mindre opblusning af meningitis i besætning 1, hvilket har ført til et lidt højere medicinforbrug i gruppen af vaccinerede dyr kontra ikke-vaccinerede dyr. Forskellen i medicinforbrug de to grupper imellem har dog været minimal.

I besætning 2 har der været store problemer med *Actinobacillus Pleropnemonia* type 2 hos nogle hold i forsøgsperioden. Besætningen har også gennemgået en reinfektion med *Mycoplasma hyopneumonia* under forsøget. Af disse årsager har medicinforbruget været meget svingende.

Diskussion

Den generelle kliniske opfattelse af porcin proliferativ enteropati (PE) er illustreret i figur 1 og opdeler sygdommen i en subklinisk og en klinisk fremtoning, hvor den kliniske del igen opdeles i en akut og en kronisk form. Det har vist sig at det mikroskopiske billede af problemet er anderledes end først antaget. Man må derfor forvente at patologerne fremover vil forsøge at inddele de forskellige forløb af sygdommen anderledes. Idet der forud for en Proliferativ hæmorrhagisk enteropati (akut tarmløbning) er sket skader på tarmmucosaen som tager tid at udvikle, derfor henviser den akutte betegnelse til det kliniske billede og ikke til infektionens udvikling. Det er klarlagt at *Lawsonia intracellularis* spredes hurtigere i vævet og at skaderne på mucosa er af stærkere karakter end før beskrevet (Boutrup et al., 2005). Desuden kan tarmmucosaen hele fuldstændigt op uden at efterlade nogen tegn på PE eller uspecifik enteritis selv ved dyr der har udskilt bakterier 2-6 uger før slagting (Boutrup, 2006).

Måden at vaccinere på er et omstridt emne. Der er ingen tvivl om at metoden med drenchvaccination giver størst sikkerhed for at alle dyr er vaccinerede, men arbejdsgangen er tung, og håndteringen af dyrene indebærer en risiko for skader på grisenes for- og bagben. Vaccination via trug er ligetil for alle, men kræver at grisene er vænnet til at optage væske fra trug og at der lukkes for andet vandingsystem i vaccinationsperioden (4 timer). Metoden er usikker idet der ingen garanti er for at alle dyr har fået rette dosis.

Med hensyn til selve vaccinen og håndteringen af denne er der både fordele og ulemper. Når der arbejdes med en frysetørret levende vaccine, skal den holdes på køl, bruges indenfor en time efter tilsætning af solvens og ikke have kontakt med antibiotika for at sikre levedygtighed og evnen til at replikere i værten (Povey & Carman, 1997). Boehringer-Ingelheim anbefaler, at den opblandede vaccine anvendes inden 4 timer, det har ud fra forskellige afprøvninger, udført af firmaet, vist sig at vaccinen er levedygtig i den angivne tid og det anbefales at dyrene holdes antibiotikafrie i 7 døgn omkring vaccinationstidspunktet (3 døgn før og 3 døgn efter).

Replikationen betyder at kun en enkelt inokulation er nødvendig idet processen forlænger immunresponset. En oral vaccination vil stimulere det mukosale immunsvær, hvilket er nødvendigt ved bekæmpelse af *Lawsonia intracellularis*. En oral vaccination er mindre smertefuld for dyret frem for intramuskulær applikation. En oral applikation er tidkrævende, hvad enten det bliver gjort via trug eller drench. Oral indgift af vaccinen kan også foregå via vandstrengen, men kemikalier, der bruges til at desinficere, kan inaktivere levende vaccine (Povey & Carman, 1997).

Antistoffer indikerer smitte med bakterien, men kan ikke nødvendigvis korreleres til kliniske symptomer eller sygdom (Jacobson et al., 2004). Ved bekæmpelse eller kontrollering af *Lawsonia*infektion har det cellemedierede immunrespons vist sig at spille en signifikant rolle. Både virulente isolater og avirulente vacciner (Enterisol® Ileitis vet.) inducerer et signifikant cellemedieret immunrespons. Det cellemedierede immunrespons topper typisk 42-49 dage efter smitte, hvilket der skal tages hensyn til i vaccinationsprogrammerne, da det anbefales at det cellemedierede immunrespons topper, når dyrene udsættes for smitte (Roof et al., 2004). Det anbefales derfor at vaccinere 6 uger før serokonvertering, men da der går 2 uger fra smitte til

serokonvertering, burde vaccinationstidspunktet være 8-9 uger før serokonvertering. I begge besætninger har det vist sig at grisene serokonverterer så tidligt at vaccination ved fravæning i virkeligheden er for sent. I besætning 1 sker serokonverteringen mellem 10. og 13. leveuge, det kan desværre ikke fastlægges nærmere, idet der ikke er udtager blodprøver af dyr, der er 11 og 12 uger gamle. Det tidlige serokonverteringstidspunkt kan betyde at det optimale vaccinationstidspunkt ligger ved 1. til 4. leveuge.

I besætning 2 sker serokonvertering fra 8. til 10. leveuge, men usikkerheden er større idet flere af dyrene har været fravænet i op mod to uger ved indsættelse i besætningen og derfor ikke har haft samme immunologiske status som de nyfravænnede. Under alle omstændigheder er vaccination efter indsættelse i en sådan besætning for sent. Usikkerhed omkring grisenes fravænningsalder og opholdssted samt behandling inden ankomst til besætningen, kan have stor indflydelse på den udeblivende forbedring af tilvæksten og dermed manglende effekt af vaccinen senere i forløbet. For at sikre en bedre datering af serokonverteringstidspunktet bør man udtage flere blodprøver i de enkelte aldersgrupper, og inddelingen af aldersgrupperne kan være mere præcis, således at der udtages blodprøver af grisene med en uges mellemrum fra 5. til 13. leveuge. Vaccinen er imidlertid ikke godkendt til brug i farestalden.

Udvælgelsen af besætningerne er fortaget ud fra registreret smitte med *Lawsonia intracellularis* (laboratoriesvar), samt problemer der kan relateres til denne smitte evt. højt foderforbrug, lav tilvækst, diarré, stort forbrug af medicin til bekæmpelse af diarré og/eller høj dødelighed. Besætningerne skulle ligeledes have optegnelser over på ind- og udgangsvægt på dyrene samt en opgørelse over dødeligheden i besætningen. De skulle også være villig til at stille arbejdskraft til rådighed ved vaccinering.

Ved brug af Enterisol ®Ileitis forventes det fra BI's side at den daglige tilvækst forbedres med op mod 30 gram, at vægtvariationen fra indsættelse til slagtning minimeres, samt reducere af intestinale læsioner forårsaget af *Lawsonia intracellularis* infektion.

I denne opgave har vi valgt at se på dødelighed og tilvækst i besætningerne, andre parametre så som foderforbrug, medicinforbrug, økonomi og vægtspredning er undladt. Foder- og medicinforbrug ville efter vores mening kræve et helt andet set up. 9 ugehold før vaccination og 9 ugehold efter vaccination er ikke adskilt nok til at en reel vurdering, f.eks vil der være meget få uger, hvor stalden vil bestå udelukkende af vaccinerede dyr. Ved at vælge i alt 18 hold er det ikke muligt at tage højde for års variationer i forhold til andre sygdomsforløb, foderskifte, ædelyst mm. En e-kontrol vil ikke give et godt billede af, hvad der sker før og efter vaccination fordi den kigger på alle dyr i stalden, men havde det været muligt at følge de enkelte hold mht. til foderforbrug, trivsel og sundhed vil der være mulighed for at evaluere på flere parametre, dertil kommer at det aldrig ville være muligt at sammenligne de to besætninger, idet management og miljø, foderskift og valg af foderblandinger vil spille for store roller. Dyrene er vaccineret ind i det system besætningen har haft og derfor vil nogle af de 9 ikke vaccinerede hold befinde sig i staldsystemet sammen med de vaccinerede hold. Økonomien i en slagtesvinebesætning hænger i høj grad sammen med foderforbruget og da dette ikke indgår i udregningerne vil det heller ikke være muligt at sige noget præcist om, hvad en vaccination kan betyde økonomisk for besætningen.

Da forsøget i besætning 2 endnu ikke er tilendebragt, i og med at de sidste vaccinerede dyr ikke er slagtede endnu, kan der ikke laves en fuldstændig evaluering, men ud fra de foreløbige resultater, er der tydeligvis ikke den store gevinst ved at vaccinere. Den eneste parameter der har flyttet sig i den rigtige retning er dødeligheden, som er faldende. Der kan være flere grunde til de manglende resultater; som før nævnt har grisene ikke haft samme alder og fravænningsstatus ved vaccination,

og det kan betyde at nogle serokonverterer før andre og derfor ikke har samme effekt af vaccinen. Der har været store problemer med *Actinobacillus Pleropneumonia 2* hos nogle hold i forsøgsperioden. Besætningen har også gennemgået en reinfektion med *Mycoplasma hyopneumonia* under forsøget. Af disse årsager har medicinforbruget været meget svingende og ud fra de grafer det er tilgængelige i Vetstat og i besætningens egne medicin opgørelser, er der ingen tydelig forskel på medicinforbruget hos de vaccinerede kontra ikke-vaccinerede hold. En anden fejlkilde kan være vaccination via trug, trods en 10 dages tilvænnning til vanding i trug, kan det ikke udelukkes at flere grise pr. hold har fået for lille dosis eller slet ingen vaccine. Tilvæksten er generelt faldende gennem hele forsøgsperioden i besætningen, men på staldniveau er der en klar fornemmelse af bedre sundhed og tilvækst på site 2. De manglende resultater underbygger forhåbentlig denne fornemmelse. Der er dog en svag mulighed for at der er tale om kompensatorisk vækst, idet tilvæksten hos lawsonia- inficerede dyr, går ned i perioden umiddelbart før og efter udskillelse af bakterier, men efterfølgende ses en kompensatorisk forøgelse af tilvæksten (Stege et al, 2004).

Konklusion

Resultatet af undersøgelsen har vist en forbedret tilvækst på 33 gram pr. dag pr. dyr i besætning 1 og en tendens til fald i dødeligheden i besætning 2. Forsøget har endnu ikke givet et konklusivt resultat på tilvæksten fra 20 kg til slagting i besætning 2.

Ud fra ovenstående kan det konkluderes at det optimale vaccinationsstidspunkt ligger i perioden før fravænnning, derfor bør der laves undersøgelser, der omhandler vaccination af pøttegrise. I undersøgelser, der skal kunne belyse de økonomiske forhold i forbindelse med vaccination mod Lawsonia-infektion, er det nødvendigt med registreringer på hver batch, der nøje at følge dødelighed og tilvækst, men også foder- og medicinforbrug.

Tak

Vi vil gerne takke:

Boehringer Ingelheim for projektet,

Anne-Grete Hassing, BI, for faglig og praktisk hjælp.

Helle Stege for kyndig hjælp med statistikken

Torsten Boutrup for at vi måtte kigge forbi og høre det sidste nye om forskningen af patogenesen og patologiske forandringer pga. Lawsonia

Signe Hvidt-Nielsen for at læse korrektur og give kritiske, men konstruktive kommentarer.

Litteraturliste

Bekler, D.C.; Karpur, V. and Gebhart, C.J.; (2004). Molecular epidemiologic typing af Lawsonia intracellularis: Conference for Research Workers in Animal Diseases, gastroenteric Diseases sektion, Abstract 106, 124.

Boehringer Ingelheim; (2005). New vaccine prevents disease related financial losses for farmers; First vaccine for the control of porcine Ileitis now available across Europe. Press Release. Ingelheim, Germany, 13. Oktober 2005.

Boesen, H.T.; Jensen, T.K.; Schmidt, A.S.; Jensen, B.B.; Jensen, S.M.; Møller, K.; (2004). The influence of diet on Lawsonia intracellularis colonization in pigs upon experimental challenge. Veterinary Microbiology 103; 35-45.

Boutrup, T.S., Boesen, H.T., Agerholm, J.S., Jensen, T.K.; (2005). Tidlige tarmlæsioner ved *Lawsonia intracellularis* infection hos grise. DVHS nov. 2005.

Boutrup, T.S., Personlig samtale med Torsten S. Boutrup på KVL, 17. maj 2006.

Gebhart, C.J.; (2005). Diagnostics and immunity of ileitis. Enteric Diseases Special III. Pig Progress. 9-11.

Guedes, R.M.C.; (2004). Update on epidemiology and diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Journal Swine Health and Production 12; 134-138.

Guedes, R.M.C.; Gebhart, C.J.; (2003). Onset and duration of fecal shedding. Cellmediated and humoral immune responses in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. Veterinary microbiology 91; 135-145.

Guedes, R.M.C.; Gebhart, C.J.; Winkelman, N.L.; Mackie-Nuss, R.A.C.; Marsteller, T.A.; Deen, J.; (2002). Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Canadian Journal of Veterinary Research 66; 99-107.

Hardge, T.; Nickoll, E.; Grunert, H.; Elbers, K.; Langbein, U.; Keller, C.; Bleier, T.; Pohlenz, J.; Ohlinger, V.F.; Schroeder, B.; (2004). Prevention of porcine proliferative enteropathy (PPE) by vaccination – efficacy and economics in european farms. Pig Journal 54; 17-34.

Jacobson, M.; Aspan, A.; Heldtander Königsson, M.; Hård af Segerstad, C.; Wallgren, P.; Fellström, C.; Jensen-Waern, M.; Gunnarson, A.; (2004). Routine diagnostics of *Lawsonia intracellularis* performed by PCR, serological and post mortem examination, with special emphasis on sample preparation methods for PCR. Veterinary Microbiology 102; 189-201.

Johansen, M.; Jørgensen, L.; Bækbo, P.; Wachmann, H.; Møller, K.; (2005). Melfoders effekt på *Lawsonia*, diarré og produktivitet. Landsudvalget for Svin, Danske Slagterier. Meddelelse nr. 685.

Jensen, T.K.; Møller, K.; Lindecrona, R.; Jorsal, S.E.; (2000). Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. Research in Veterinary Science 68; 23-26.

Jensen, T.K.; Vigre, H.; Sørensen, V.; Møller, K.; (2005). Naturally acquired *Lawsonia intracellularis* infection in pigs studied from weaning to slaughter by indirect immunofluorescence antibody test and polymerase chain reaction on faeces. Research in veterinary Science 79; 93-98.

Knittel, J.P.; Jordan, D.M.; Schwartz K.J.; Janke, B.H.; Roof, M.B; McOrist, S.; Harris, D.L.; (1998). Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serologic methods for detection of *Lawsonia intracellularis*-exposed pigs. American Journal of Veterinary Research 59; 722-726.

- Kroll, J.J; Roof, M.B.; Hoffman, J.; Dickson, J.S.; Hank Harris, D.L.; (2005).** Proliferative enteropathy: a global enteric disease of pigs caused by *Lawsonia intracellularis*. *Animal Health Research Reviews* 6(2); 173-197.
- Kroll, J.J; Roof, M.B.; McOrist, S.(2004a).** Evaluation of protective immunity in pigs following oral administration of an avirulent live vaccine of *Lawsonia intracellularis*. *American Journal of Veterinary Research* 65; 599-565.
- Lawson, G.H.K.; Gebhart, C.J.; (2000).** Proliferative enteropathy. *Journal of Comparative Pathology* 122; 77-100.
- McIntyre, N.; Smith, D.G.E.; Shaw, D.J.; Thomson, J.R.; Rhind, S.M.; (2003).** Immunopathogenesis of experimentally induced proliferative enteropathy in pigs. *Veterinary Pathology* 40; 421-432.
- McOrist, S.; Gebhart, C.J.; (2006).** Proliferative enteropathies. *Diseases of Swine*, 9. edition. Blackwell publishing. P.727 – 737.
- McOrist, S.; Barcellos, D.; Wilson, R.; (2003).** Global patterns of porcine proliferative enteropathy. *The Pig Journal* 51; 26-35.
- McOrist, S.; Hardge, T.; Gebhart, C.J.; Ohlinger, V.; Pohlenz, J.; Keller, C.; Voets, H.; Walter, D.; (2005).** Porcine Proliferative Enteropathy. Technical manual 2.0. Boehringer-Ingelheim.
- Nistal, P.R.; (2005).** Enteric disease vaccines. *Enteric Diseases Special III. Pig Progress.* 26-27.
- Povey, R.C. & Carman P.S.; (1997)** Technical Basis of vaccination. *Veterinary Vaccinology.* Elsevier Science B.V. p. 522 - 531, 546 -551.
- Roof, M.; Kroll, J.; Gebhart, C.J.; (2004).** Ileitis: what we know about immunity!? 2004 Allen D. Leman Swine Conference. 45-50.
- Smith, D.G.E.; Lawson, G.H.K.; (2001).** *Lawsonia intracellularis*: getting inside the pathogenesis of proliferative enteropathy. *Veterinary Microbiology* 82; 331-345.
- Smith, S.H.; McOrist, S.; (1987).** Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Research in Veterinary Science* 62; 6-10.
- Stege, H.; Jensen, T.K.; Møller, K.; Bækbo, P.; Jorsal, S.E.; (2000).** Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Preventive Veterinary Medicine* 46; 279-292.
- Stege, H.; Jensen, T.K.; Møller, K.; Bækbo, P.; Jorsal, S.E.; (2001).** Risk factors for intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Preventive Veterinary Medicine* 50; 153-164.
- Stege, H.; Jensen, T.K.; Møller, K.; Vestergaard, K.; Bækbo, P.; Jorsal, S.E.; (2004).** Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. *Veterinary Microbiology* 104; 197-206.

Taylor, D.J.; (1995). Pig Diseases, 6. edition. P. 154 – 157.

Thacker, B.J.: (2005). Understanding process capability in statistical process control. Journal Swine Health Production 13(1); 53-55.