

The effects of vaccination with simultaneous use of Porcilis PRRS Vet and Porcilis M. Hyo Vet in pigs



Hovedopgave
Svinefagdyrlægekurset
2003 - 2006

Dyrlæge Kaj Vestergaard
31. januar 2007

Forord

Denne kliniske afprøvning, efter internationale GCPV regler, har haft en meget lang planlægningsfase efterfulgt af en lang afprøvningsfase med et utal besætnings- og slagteribesøg. Det betød, at mange andre end jeg selv tog del i det praktiske arbejde. Jeg skal derfor benytte lejligheden til, at rette en stor tak til nedenstående personer, for deres bidrag til min hovedopgave på fagdyrlægekurset.

Tak til

Veterinærtekniker Anders Marager, DSP (Dansk Svineproduktion)
Veterinærtekniker Søren Justesen, DSP
Veterinærtekniker Jørgen Møller, DSP
Landbrugstekniker Jens Martin Strager, DSP
Vognmand Søren Hansen, DSP

Dyrlæge Birgitta Svensmark, DMA (Danish Meat Association)
Dyrlæge Hanne Kongsted, DMA
Dyrlæge Lars Rasmussen, Fynsvet
Dyrlæge Anette Boklund, DMA
Dyrlæge Marianne Kaiser, DSP

Sekretær Winie Larsen, DSP
Sekretær Carina Hagmann, DMA

Og en speciel tak til

Investigator, dyrlæge Peter Astrup, Intervet AS
for håndteringen af besætning 1

Monitor, dyrlæge Hans Jørgen Riising, Intervet AS
for gode råd og vejledning efter GCPV-regler

Dyrlæge, Ph.D, Dipl. ECVPH Claes Enøe, DMA
for vejledning i datahåndtering og statistiskbearbejdning

Indholdsfortegnelse

Forord og tak	side 2
Indholdsfortegnelse	side 3
Sammendrag	side 4
Introduktion	side 4
• Almindelig lungesygge	
• PRRS	
• Modelstudier	
Formål	side 5
Materiale og metode	side 5
• Testprodukter	
• Blinding	
• Design og størrelsen af undersøgelsen	
• Inklusionskriterier	
• Besætninger	
• Håndtering	
• Registreringer	
• Vurdering af effekt	
Statistisk metode	side 10
Resultater og diskussion	side 11
• Registreringer	
• Daglig tilvækst	
• Lungeforandringer (USK)	
• Sygdomsregistreringer	
• Diskussion	
Konklusion	side 19
Referencer	side 20
Appendiks 1	side 21
Appendiks 2	side 34
Appendiks 3	side 35
Appendiks 4	side 36

Sammendrag

Den kliniske effekt af en kombineret vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet og Porcillis® PRRS.Vet er undersøgt i tre svinebesætninger. Afprøvningen viste ingen sikker effekt på daglig tilvækst. Andelen af grise behandlet mod luftvejslidelser eller dødsfald som følge af lungelidelser viste ingen signifikant forskel mellem vaccinegrupperne i de tre besætninger.

Ved brug af vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet såvel som vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet sås statistisk signifikant reduktion i antal af lunger med forandringer, i forhold til grise der havde fået placebo behandling. Udbredelsen af lungeforandringer som følge af mykoplasmainfektion blev signifikant reduceret og der sås signifikant flere lunger uden forandringer ved brug af både Porcillis® M.Hyo.Vet og Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet i to af besætningerne. Ligeledes kunne der påvises en sikker effekt på forekomsten af ar efter ukompliceret katarrhalsk pneumoni i én besætning for både Porcillis® M.Hyo.Vet og Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet.

Det kan konkluderes, at der ved vaccination med Porcillis® M.Hyo.Vet og ved Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet fremkommer en beskyttende effekt over for almindelig lungesyge. Den beskyttende effekt forbedres ikke ved samtidig vaccination med Porcillis® PRRS i denne undersøgelse.

Introduktion

Langsom vækst og suboptimal foderudnyttelse som følge af sygdom giver store økonomiske problemer i slagtsvineproduktionen – og sygdom i luftvejene, såsom almindelig lungesyge og PRRS, bidrager væsentligt til problemet [1].

Almindelig lungesyge

Almindelig lungesyge hos slagtesvin forårsaget af *Mycoplasma hyopneumoniae* er den mest udbredte form for lungebetændelse i dansk svineproduktion og regnes for at være til stede i de fleste besætninger. At mange besætninger er smittede med almindelig lungesyge skyldes det forhold, at mykoplasmerne relativt let spredes med vinden over flere kilometer. Derudover har sygdommen en lang inkubationstid, hvilket betyder, at smittede grise kan omsættes mellem besætninger inden sygdommen opdages.

Ved nysmitte kan alle aldersgrupper angribes, mens der i kronisk smittede besætninger normalt kun ses sygdom i ung- og slagtesvin. I en smittet besætning har ca. 10 pct. af slagtesvinene symptomer i form af hoste og vejrtrækningsbesvær, når de jages op. Sygdommen er kronisk. Ved slagtning registreres ofte lettere grader af lungebetændelse hos over 50 pct. af grisene som tegn på, at grise huser *Mycoplasma hyopneumoniae* uden symptomer. Dødsfald som følge af en ren mykoplasmainfektion er sjælden.

I de øvre luftveje hæfter mykoplasmen sig til de fine svingtråde (cilier), der beklæder luftvejenes yderste cellelag. Disse svingtråde nedbrydes af mykoplasmaen, og der sker tillige en ændring af grisens immunrespons på fremmed agens. På den måde svækkes luftvejenes forsvar også mod andre smitstoffer, hyppigst *Pasteurella multocida*, der ofte resulterer i en komplicering af almindelig lungesyge. Sygeligheden og dødeligheden øges, grisene får feber, ædelysten nedsættes, og grisene har besvær med vejrtrækningen. Selvom grisene behandles med antibiotika, bliver en del af dem utrivelige.

Den økonomiske betydning af almindelig lungesyge består i nedsat tilvækst og øget foderforbrug. Undersøgelser har vist en sammenhæng mellem andelen af lungevæv, der er angrebet og grisens tilvækst. For hver 10 pct. af lungen der er angrebet, vokser grisen 30-50 g mindre om dagen [2]. Derudover er der omkostninger i forbindelse med evt. dødsfald og øgede udgifter til medicinering.

Tidligere danske afprøvninger med vacciner mod almindelig lungesyge viste, at vaccination i besætninger med lungesygeproblemer kunne halvere forekomsten af grise med lungesyge og øge den daglige tilvækst mellem 10 og 40 g [3],[4],[5],[6].

Porcin reproduktions- og respirationssyndrom

Porcin reproduktions- og respirationssyndrom (PRRS) er en virussygdom af stor økonomisk betydning i de fleste svineproducerende lande verden over, idet introduktion af PRRS-virus (PRRSV) i en PRRS-fri besætning kan medføre betydelige tab.

Det første tilfælde af PRRS i Danmark blev diagnosticeret i marts 1992 og efter introduktion af en levende PRRS-vaccine i 1996, findes der nu to PRRS stammer: PRRS-DK (europæisk) og PRRS-VAC (amerikansk). I sommeren 1999 var ca. 46 pct. af sobesætningerne og 51 pct. af slagtesvinebesætningerne smittede med PRRS. Siden har PRRS spredt sig yderligere i Danmark, men det eksakte antal smittede besætninger kendes ikke.

Der skelnes i diagnostikken mellem den amerikanske og europæiske variant, idet der er observeret en stor antigenforskel mellem de to varianter, og desuden er der til hver af dem knyttet en række undertyper [7].

Luftvejssymptomerne kan optræde i alle aldersgrupper, men beskrives især blandt ung- og slagtesvin. Andre infektioner – som almindelig lungesyge (*Mycoplasma hyopneumoniae*) og ondartet lungesyge (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) – bliver særdeles svære at kontrollere. Også infektioner som hjernebetændelse og ledbetændelse forårsaget af *Streptococcus suis*, diarré samt sodeksem, forværres efter en PRRS infektion blandt ungdyrene. Hos ung- og slagtesvin kan et udbrud af PRRS ligne et akut udbrud af influenza [8].

At PRRSV-inficerede grise tilsyneladende er specielt modtagelige for sekundære infektioner, skyldes formodentlig en påvirkning af immunsystemet i inficerede grise. PRRSV repliceres primært i de alveolære lungemakrofager, og sammenholdt med at alveolære makrofager spiller en vigtig rolle i immunresponsen over for virus og bakterier i lungerne, indikerer dette, at makrofager er centralt placeret i udviklingen af de PRRSV inducerede respiratoriske problemer [9,10,11].

En nedsættelse af immunresponsen, i lighed med det der ses i forbindelse med en mykoplasmainfektion, synes at være medvirkende til at forlænge varigheden af infektionen [12]. Men efter en kortere eller længere periode udvikler grisen immunitet mod PRRS og bekæmper virusinfektionen. Grise der har renset sig for en PRRS-infektion ser ud til at have langvarig immunitet mod smitte fra samme PRRS-stamme, men ikke mod en variant. Smitteoverførslen foregår via næsesekret, gødning, urin og sæd, men spredning via kontaminerede genstande eller via luften kan ikke udelukkes [18].

Modelstudier

I eksperimentelle modeller er det flere gange vist, at *Mycoplasma hyopneumoniae* som frembringer en kronisk lungesyge i grisen, er i stand til at forværre effekten af en virusinduceret lungebetændelse [13]. Grise som kun har en svag eller ligefrem ikke-registrerbar mycoplasma lungesyge kan udvise en kraftig forværring af en PRRSV lungebetændelse i forhold til grise, som kun har PRRSV. Det betyder, at der ikke alene er tale om en additiv effekt, men en markant potensering af en PRRSV induceret lungebetændelse, som tillige er uafhængig af infektionstidspunktet [13].

Et amerikansk modelstudie har vist, at infektion med PRRSV eller vaccination med en svækket PRRS-vaccine efter indgivelse af *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine nedsætter effekten af denne [14]. Et andet amerikansk modelstudie har vist, at effekten af *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine ikke påvirkes af en tidligere smitte med PRRSV eller indgift af svækket PRRS vaccine [10].

Dette kunne tyde på, at tidspunktet for smitte eller indgift af levende svækket PRRS-vaccine er afgørende for effekten af de respektive vacciner og en evt. kombination af disse. Og det forklarer måske den til tider svingende effekt af vaccinerne effektivitet i praksis, da tidspunktet for smitte/sygdom varierer fra besætning til besætning. Dobbeltinfektionerne resulterer oftest i, at infektionerne hver for sig varer længere, det kliniske billede forstærkes og forandringerne i lungevævet bliver mere udtalt.

Det skal dog bemærkes, at de amerikanske modelstudier er baseret på den amerikanske variant af PRRSV, og samme forhold har ikke vist sig at være gældende for den europæiske variant af PRRSV. Om det skyldes forskellen mellem de to stammer eller en variation indenfor den enkelte stamme i relation til modelstudier er endnu uvist.

En modelundersøgelse fra Holland, godskriver en ligelig effekt af en kombineret mykoplasma og PRRS-EU vaccine sammenholdt med *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine alene.

Baggrunden for denne ligelige effekt af de to vacciner, skyldes formentlig det forhold, at den svækkede PRRS-EU-vaccinestamme ikke frembringer en massiv invadering af inflammationsceller i lungevævet og den immunomodulerende effekt mindskes, modsat hvad der sker, når det naturlige PRRSV er involveret [15].

Formål

Formålet med denne kliniske afprøvning er at vurdere en eventuel additiv effekt af en kombineret vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet og Porcillis® PRRS.Vet mod henholdsvis almindelig lungesyge og PRRS hos ung- og slagtesvin.

Materiale og metode

Denne kliniske afprøvning er gennemført efter tilladelse fra Lægemiddelstyrelsen og i henhold til Good Clinical Practice for the Conduct of Clinical Trials for Veterinary Medicinal Products – GCPV, som anført i GCPV-The EU Note for Guidance [16].

Testprodukter

Porcillis M Hyo Vet.

- Suspension af helcelle koncentrat af inaktiveret *Mycoplasma hyopneumoniae* stamme 11. Adjuvansen indeholder 150 mg dl- α -tocopheryl acetate pr. dosis (2ml).
- Vaccinene er en suspension som skal rystes godt forud for anvendelsen.
- Skal opbevares ved 2 – 8 °C og skal opnå stuetemperatur inden anvendelsen.
- Injektionen skal foregå i.m i nakkemuskulaturen – dosis 2ml.

Porcillis® M.Hyo.Vet er således en bacterin vaccine bestående af en suspension af inaktiverede *M. hyopneumoniae* celler med alfa-tocophenyl acetat som adjuvans. Udenlandske afprøvninger har vist, at Porcillis M. Hyo.Vet® er effektiv i beskyttelsen af grise mod almindelig lungesyge. Immuniteten indtræder to uger efter anden vaccination og varigheden er mindst 20 uger [17].

Porcillis PRRS Vet.

- Frysetørret, levende svækket PRRS virus stamme.
- Vaccinen opløses enten i Diluvac Forte eller Porcillis M.hyo. Blandingsvaccinerne fremstilles umiddelbart før anvendelsen, ved at overføre 5ml af hvert præparat til tørstoffet i de respektive hætteglas. Efterfølgende tilbageføres blandingen til de respektive præparater. Rystes grundig efter sammenblandingen.
- Tørstoffet skal opbevares ved 2 – 8 °C og skal efter sammenblandingen opnå stuetemperatur inden anvendelsen. Blandingsvaccinerne skal anvendes indenfor en time og overskydende mængde bortskaffes straks herefter.
- Injektionen skal foregå i.m i nakkemuskulaturen – dosis 2ml..

Porcillis® PRRS.Vet er en frysetørret levende svækket vaccine, som inden brug således opløses i adjuvansen eller Porcillis M. Hyo.Vet®. som begge indeholder alfa-tocophenyl acetat. Der ses serologisk respons efter ca. 14 dage og immunitet er påvist ved challenge 28 dage efter vaccination og med en varighed på minimum 14 uger [18].

Diluvac Forte Vet.

- Adjuvans til Porcillis PRRS Vet. indeholder 150 mg dl- α -tocopheryl acetate pr. dosis (2ml).
- Adjuvansen er klar til brug.
- Skal opbevares ved 2 – 8 °C og skal opnå stuetemperatur inden anvendelsen.
- Injektionen skal foregå i.m i nakkemuskulaturen – dosis 2ml.

Frysetørret placebo

- Frysetørret uvirksomt produkt, som har samme visuelle og fysiske fremtoning som Porcillis PRRS Vet.
- Placeboproduktet opløses i enten Diluvac Forte eller Porcillis M Hyo. Blandingsvaccinerne fremstilles umiddelbart før anvendelsen, ved at overføre 5ml af hvert præparat til tørstoffet i de respektive hætteglas. Efterfølgende tilbageføres blandingen til de respektive præparater. Rystes grundig efter sammenblandingen.
- Tørstoffet skal opbevares ved 2 – 8 °C og skal efter sammenblandingen opnå stuetemperatur inden anvendelsen. Blandingsvaccinerne skal anvendes indenfor en time og overskydende mængde bortskaffes straks herefter.
- Injektionen skal foregå i.m i nakkemuskulaturen – dosis 2ml..

Blinding

Porcillis M.Hyo og Diluvac Forte (placebo) fremstår visuelt og fysisk helt ens. Apotekeren på Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole foretager den egentlige mærkning/blinding af produkterne med A eller B, således at de er klar til brug i besætningerne.

Porcillis PRRS og den frysetørrede placebo fremstår visuelt og fysisk helt ens. Apotekeren på Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole foretager den egentlige mærkning/blinding af produkterne med C eller D, således at de er klar til brug i besætningerne.

Blindingskoden opbevares af apotekeren, indtil den statistiske bearbejdning af data er afsluttet og godkendt af de involverede parter.

Design og størrelsen af undersøgelsen

Undersøgelsen udføres som dobbelt blindet ved hjælp af et randomiseret blokdesign i tre integrerede so- og slagtesvinebesætninger med et klinisk erkendt problem med almindelig lungesyge forårsaget af *Mycoplasma hyopneumoniae* og PRRS-EU.

Stikprøvestørrelsen beregnes på baggrund af følgende kriterier:

- Den kliniske afprøvning skal foregå i mindst 3 besætninger, som hver især skal kunne vise effekten af vaccination i forhold til placebo behandling.
- De fire vaccinationsgrupper skal indeholde cirka samme antal grise ved første vaccination

- c. Afprøvningen skal være i stand til at eftervise en øget gennemsnitlig daglig tilvækst på 30 g i hver vaccinegruppe sammenholdt med placebo behandling indenfor den enkelte besætning. Spredning i daglig tilvækst mellem grisene antages at være op til 120 gram.
- d. Afprøvningen skal være i stand til at eftervise en 50 pct. reduktion i forekomsten af grise med lungelæsioner i hvilken som helst af vaccinegrupperne sammenholdt med placebo behandling. Der forudsættes en forekomst af lungelæsioner på 20 pct.
- e. En styrke på 0.8 og en signifikant niveau på 0.05 anvendes.

Antal af grise pr. besætning til brug for den endelige analyse blev på den baggrund beregnet til 1.000, svarende til 250 pr. vaccinationsgruppe.

Inklusionskriterier

Kriterierne for at inkludere besætningerne i afprøvningen er baseret på tidligere undersøgelser, hvor det har vist sig, at i besætninger med problemer som følge af almindelig lungesygdom vil ca. 40 pct. af grisene have antistoffer overfor *Mycoplasma hyopneumoniae* på slagtetidspunktet, og i ca. 40 pct. af lungerne vil der være lungeforandringer som en følge af almindelig lungesygdom [19]. For PRRS var kriteriet, at otte ud af ti blodprøver, udtaget af slagtesvin over 60 kg levende vægt, skulle indeholde antistoffer.

Besætninger

Den kliniske afprøvning blev startet i besætning 1 og 2 i efteråret 2005 og i besætning 3 i foråret 2006.



Figur 1. Danmarkskort med besætningernes placering

Besætning 1: Besætningen var deklareret SPF med myk, Ap12, nysesygdom og PRRS-DK. Den bestod af 350 søer inkl. gylte med en årlig produktion af ca. 10.000 grise. Pattegrisene blev behandlet mod coccidier i den første leveuge og blev fravænnede med en gennemsnitsalder på 26. dag og en vægt på 6,5 – 7,5 kg. Der var otte smågrisestalde med hver fire stier, hvor der ved fravænnelse blev fodret med tørfoder og efterfølgende med vådfoder.

Grisene blev medicineret mod fravænningsdiarré med tarmspecifikke midler. Og ved ca. 12 ugers alderen blev grisene flyttet til en slagtesvinestald. Antistoffer mod *M. hyopneumoniae* blev påvist i fire ud af ti blodprøver, og der var mycoplasma relaterede forandringer i 16 ud af 20 lunger ved USK. Antistoffer mod PRRS-EU blev påvist i ni ud af ti blodprøver.

Besætning 2: Besætningen var deklareret SPF med myk, Ap2 og PRRS-DK. Den bestod af 450 søer inkl. gylte med en årlig produktion på 12.000 slagtesvin fordelt på to besætningsområder. Alt var sektioneret til ugehold. Grisene blev behandlet mod coccidier i den første leveuge og blev fravænnede på dag 28. Ved fravænnelse blev grisene behandlet med zinkoxid og tarmspecifik antibiotika mod fravænningsdiarré.

Der var fem smågrisestalde med hver fire stier, hvor der blev fodret med tørfoder. Når grisene var ni uger gamle blev de flyttet til ungsvinestalden, hvor de opholdt sig i yderligere seks uger, inden de blev fordelt på de to gårde med slagtesvineproduktion. Der blev konstateret hoste blandt ung- og slagtesvin. Besætningens vaccinationsprocedure mod mykoplasma blev suspenderet fra 14 dage før til 14 dage efter afprøvningens gennemførelse. Antistoffer mod *M. hyopneumoniae* blev påvist i fire ud af ti blodprøver, og der var mycoplasma relaterede forandringer i hhv. 13 og 19 ud af 20 lungesæt ved USK fra de to slagtesvinebesætninger. Antistoffer mod PRRS-EU blev påvist i otte ud af ti blodprøver.

Besætning 3: Besætningen var deklareret SPF med myk, Ap2 og PRRS-DK. Den bestod af 600 søer inkl. gylte. Salg af 7 kgs grise til to faste aftagere, hvoraf kun den ene aftager ønskede at deltage i afprøvningen. Det betød, at kun halvdelen af de vaccinerede pattegrise indgik i undersøgelsen. So- og aftagerbesætning indgik som besætning 3 i afprøvningen. Pattegrisene blev behandlet mod coccidier i den første leveuge og blev fravænnede på dag 32 med en vægt på 7,5 kg.

Aftageren havde fire toklimastalde med hver otte stier, hvor der i to uger efter fravæning blev fodret med tørfoder og efterfølgende med vådfoder. Grisene fik tildelt zinkoxid mod fravænningsdiarré ved ankomsten. Når grisene var 14 uger gamle blev de overført til slagtesvinestalden. Antistoffer mod *M. hyopneumoniae* blev påvist i fire ud af ti blodprøver, og der var mycoplasma relaterede forandringer i 13 ud af 20 lunger ved USK. Blodprøver og lunger til USK blev udtaget fra dyr i slagtesvinebesætningen. Antistoffer mod PRRS-EU blev påvist i fem ud af ti blodprøver.

Ingen af de tre besætninger havde sygdomsproblemer med ondartet lungesygge, svineinfluenza og PMWS. Og at der blev ikke observeret kliniske tegn på en aktiv PRRS infektion i besætningerne.

Arbejdsplan og kliniske registreringsformularer til brug i besætningerne forefindes som appendiks 1.

Håndtering

I den enkelte besætning blev de ugegamle grise (4-11 dage gamle) udvalgt tilfældigt til øremærkning med plastøremærke af neutral farve. Øremærket var forsynet med et fortløbende nummer og til hver besætning fandtes en randomiseringstabel, der angav hvilken vaccinationsgruppe grisen skulle allokeres til. Hvorefter grisene blev vaccineret med enten præparat A eller præparat B – jf. tabel 1. Et af disse præparater indeholdt mykoplasmavaccine, mens det andet var et placebo.

Fordeling af grisene på vaccinationsgrupperne skete ligeligt på sti- og staldniveau, således at alle grupper af grise blev udsat for de samme miljøpåvirkninger og det samme foder i sammenfaldende perioder. Forsøgsheden i denne afprøvning var den enkelte gris, idet hver enkelt gris blev allokeret tilfældigt til en af vaccinationsgrupperne og ikke omrokeret efter andre kriterier, der ikke kunne være blevet enhver anden gris til del. Således udgjorde den individuelle gris en enhed.

Anden vaccination blev foretaget ved fravæning, dog minimum tre uger efter første vaccination, og samtidig blev grisene vejlet ind i forsøget og allokeret til en af fire vaccinationsgrupper – jf. tabel 1. Grisene var opstaldet i disse grupper i minimum fire uger efter vaccinationen for at forhindre krydssmittede grupperne imellem – jf. figur 2.

Tabel 1. Randomiseringstabel for 1. og 2. vaccination

Vaccination- og vægtskema							
CHR-nr:							
Sonr.	Dato	Ørenr.	1. Vacc.	2. Vacc.	Dato	Vægt	Dato/Bemærkning/Initialer
		1	A	A+C			
		2	A	A+D			
		3	B	B+D			
		4	B	B+C			
		5	A	A+C			
		6	B	B+D			
		7	A	A+D			
		8	B	B+C			
		9	B	B+D			
		10	A	A+C			
		11	B	B+C			
		12	A	A+D			



Figur 2. Klimastalden i besætning 2

Blandingsvaccinerne til brug for anden vaccination blev fremstillet umiddelbart forud for anvendelsen, ved at overføre 5ml af præparat A eller B til tørstoffet i hhv. C og D. Efterfølgende blev blandingen tilbageført til de respektive A eller B præparater. Blandingsvaccinerne A+C, A+D, B+D, B+C var herefter klar til brug jf. tabel 1.



Figur 3. Præparaterne A,B,C og D brugt til vaccination af grisene i afprøvningen.

Anvendte vaccinesprøjter og eventuel tilbageværende mængde af blandingsvaccinerne blev efter hver vaccinationsrunde kasseret og destrueret, så der ikke var sammenblandede vaccineprodukter i besætningen.

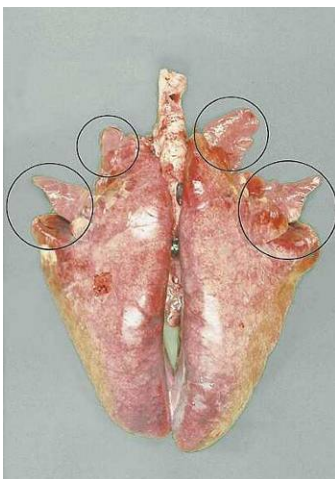
Forud for levering af grisene til slagteri blev de vejjet, og øremærkenummeret for den enkelte gris blev aflæst. Grisene blev herefter skinketatoveret med et entydigt leverandørnummer, der relaterede til farvekoden A+C = rød, A+D = hvid, B+D = gul, B+C = blå. Eksempelvis var leverandørnummer for rød = xxxx1, mens den for hvid var xxxx2, for gul var den xxxx3 og for blå = xxxx4.

At vaccinegrupperne blev ændret fra en bogstavkombination til en farvekode var en rent praktisk foranstaltning i forbindelse med opmærkning af lungesæt på slagteriet og den senere USK (Udvidet SundhedsKontrol) bedømmelse af disse.

På slagteriet blev grisene identificeret ved hjælp den tydelige grøn farvemærkning. De blev opstaldet separat for derved at kunne slagtes i ubrudt rækkefølge. På slagtegangen, efter de havde været igennem maskinelbehandling, blev grisene identificeret via det tatoverede leverandørnummer, og v.h.j.a. det sidste ciffer kunne de indsamlede lunger allokeres i de respektive vaccinegrupper (rød, hvid, gul, blå) – jf. appendiks 2.

Med en fleksibel vognmand var det muligt, at få lungerne indtransporteret samme dag til Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup. Her fik lungerne en ensartet bedømmelse for katarrhalsk bronchopneumoni (kompliceret og ukompliceret), arindtrækninger, akut og kronisk pleuropneumoni samt akut og kronisk pleuritis– alt sammen efter retningslinierne i USK-vejledningen [20]

De katarrhalske lungeforandringer hos slagtesvin vil altid være af kronisk karakter, som dog ved sekundære infektioner kan antage en mere akut form. Derved ændres karakteristiken af lungelæsionen sig fra en ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni til en kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni. Desuden kan lungelæsionen pleuritis undertiden udvikle sig ud for det forandrede lungeafsnit, men ellers ses pleuritis oftest som en følgelidelse til pleuropneumoni forårsaget af *Actinobacillus pleuropneumoniae*. De katarrhalske lungeforandringerne ses i op til 3 måneder efter infektionen og under afhelingen dannes tydelige arindtrækninger som tillige indgår i USK vurderingen af lungesundheden – se lungescoreskema i appendiks 3.



Figur 4. Lungesæt med almindelig lungesyg. Betændelsen ses i de øverste indrammede dele af lungerne

Registreringer

- Vægt ved fravæning og ved afgang til slagteri
- Udvidet Sundhedskontrol (USK). De registrerede fund anvendes til en vurdering af lungesundheden i besætningerne inden for de enkelte vaccinationsgrupper.
- Antibiotikabehandling og dødsfald, i relation til lungelidelser eller anden sygdom (besætningernes sygdomsovervågningsystem - BSO)
- Evt. bivirkninger, som i såfald rapporteres til Lægemiddelstyrelsen.

Vurdering af effekt

Primære effektparameter var øget gennemsnitlig daglig tilvækst hos vaccinerede grise i forhold til placebo-behandlede.

Sekundære parametre som betegnede forskelle mellem vaccinerede og placebo-injicerede grise var:

- Reduktion i forekomsten (prævalens) af grise med katarrhalsk pneumoni ved slagting
- Reduktion i antal injektions antibiotika-behandlinger mod lungelidelse
- Reduktion i dødsfald som følge af lungelidelse

Statistisk metode

I de tre besætninger blev der efter hver vaccinationsrunde indsamlet optegnelser og registreringer. Data blev herefter indtastet i en Access database, hvor der to gange blev læst datakorrektur på indtastningerne inden de blev indlæst til endelig analyse i SAS[®], ver. 9.13.

Prævalens og udbredelse af lungeforandringer

Mulige sammenhænge mellem vaccinationsgruppe og prævalensen af lungeforandringer blev undersøgt vha. logistisk regression (PROC LOGIST, SAS[®], ver. 9.13). Analyserne blev gennemført for hver af følgende afhængige variabler:

- 1) katarrhalsk pneumoni, ukompliceret
- 2) katarrhalsk pneumoni, kompliceret
- 3) ar
- 4) mindst én mycoplasmalignende forandring
- 5) Pleuritis, kronisk
- 6) lunger uden forandringer.

Alle disse variabler var kodet, så de antog værdien 1, hvis forandringen var til stede, og 0 hvis den ikke var. Forklarende variabler i modellerne var i alle tilfælde vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Analyserne blev gennemført særskilt for hver besætning.

Tilvækst

Sammenhængen mellem gennemsnitlig daglig tilvækst og vaccinationsgruppe blev undersøgt vha. en lineær model (PROC MIXED, SAS[®], ver. 9.13). Den afhængige variabel var gennemsnitlig daglig tilvækst beregnet som forskellen i gram mellem vægt ved slagting, død eller flytning til sygesti og fravæningsvægt, divideret med antallet af dage fra fravæning (anden vaccination) til slagting, død eller flytning til sygesti.

Dyr, der blev fjernet fra forsøget før slagting, blev betragtet som censurerede fra forsøget. Analyserne blev gennemført både med og uden censurerede dyr. De forklarende variabler var vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Da det er velkendt, at fravæningsvægt har stor betydning for daglig tilvækst blev fravæningsvægt inkluderet som konfounderkontrol. Analyserne blev gennemført for hver besætning.

BSO-registreringer

Mulige sammenhænge mellem vaccinationsgruppe og antallet af behandlinger blev undersøgt dels vha. logistisk regression (PROC LOGIST, PROC GLIMMIX, SAS[®], ver. 9.13) og dels med en lineær model (PROC MIXED, SAS[®], ver. 9.13).

I den mest simple udgave af den logistiske regressionsmodel estimeredes risikoen for behandling en eller flere gange i grisens liv (kodet som 1) versus ingen behandling (kodet som 0). Den forklarende variabel var vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Analyserne blev gennemført for hver besætning.

I en udvidet logistiske regressionsmodel estimeredes risikoen for behandling en given dag i grisens liv. Den afhængige variabel var proportionen af dage i forsøget, hvor grisen var behandlet. Modellen udtrykte således behandlingsincidensen. Da sandsynligheden for at en gris blev behandlet, ikke er uafhængig af, om der i forvejen var givet en behandling, blev grisens øremærke inkluderet i modellen som en tilfældig effekt for at justerer for dette. Afhængige variabler var behandlinger i alt og behandlinger mod lungelidelser. Den forklarende variabel var vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Analyserne blev gennemført for hver besætning.

I den lineære model var den afhængige variabel procenten af dage i grisens liv, hvor der var givet en behandling. Den forklarende variabel var vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Analyserne blev gennemført for hver besætning.

Mulige sammenhænge mellem vaccinationsgruppe og dødelighed blev undersøgt vha. logistisk regression (PROC LOGIST, SAS®, ver. 9.13). Analyserne blev gennemført for dødelighed i alt og for dødsfald sfa. lungelidelse. Dødelighed var kodet, så de antog værdien 1, hvis grisen var død, og 0 hvis den ikke var. Forklarende variabel i modellerne var vaccinationsgruppe (rød=1, hvid=2, gul=3 og blå=4). Analyserne blev gennemført for hver besætning.

Resultater og diskussion

Efter afslutning af afprøvningen i besætningerne og den statistiske bearbejdning af indsamlet datamateriale blev blindingskoden brudt.

For alle tre besætninger var grise i vaccinationsgrupperne:

- Rød vaccineret med Porcillis® M.Hyo.Vet (**M.hyo**)
- Hvid havde fået Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS (**kombi**)
- Gul vaccineret med Porcillis® PRRS (**PRRS**)
- Blå havde fået placebobehandling (**placebo**)

Placebogruppen blev efterfølgende anvendt som referencegruppe. Og de efterfølgende tabeller benytter den i parentes ovennævnte forkortelse for de fire vaccinegrupper.

Registreringer

Tablet 2. Antal pattegrise vaccineret i alderen 4 – 11 dage gamle (ugegamle grise)

	Besætning 1	Besætning 2	Besætning 3	Samlet
Vaccine	N	N	N	N
M.hyo	605	598	520	1.723
Placebo	602	596	524	1.722
I alt	1.207	1.194	1.044	3.445
mistet	6	2	0	8
total	1.213	1.196	1.044	3.453

N = antal grise

Tablet 3. Antal smågrise vaccineret ved fraværing og vejet ind i afprøvningen samt antal grise mistet mellem første og anden vaccination.

	Besætning 1	Besætning 2	Besætning 3	Samlet
Vaccine	N	N	N	N
M.hyo	283	274	148	705
Kombi	290	279	157	726
PRRS	288	280	153	721
Placebo	285	285	154	724
I alt	1.146	1.118	612	2.876
Mistet	61	76	432	569
Mistet ialt	67	78	432	577
total	1.213	1.196	1.044	3.453

N = antal grise

Af tabel 3 fremgår det, at besætning 3 mistede en stor andel af grisene mellem første og anden vaccination. En følge af, at der var to aftagere til sobesætningen, men kun den ene deltog i afprøvningen, så de grise den anden aftager modtog, udgik af forsøget. Ellers er tallene et udtryk for pattegrise dødeligheden i farestalden og pattegrise med meget lav fravænningsvægt, som ikke indgik i afprøvningen.

Tablet 4. Antal grise vejet ud til slagtning samt antallet af mistede grise siden indvejning i afprøvningen.

	Besætning 1	Besætning 2	Besætning 3	Samlet
Vaccine	N	N	N	N
M.hyo	264	229	135	628
Kombi	261	228	137	626
PRRS	264	230	139	633
Placebo	265	245	140	650
ialt	1.054	932	551	2.537
Mistet	92	186	61	339
Mistet ialt	159	264	493	916

total	1.213	1.196	1.044	3.453
N = antal grise				

Antallet af mistede dyr i afprøvningen fordeler sig jævnt på de fire vaccinationsgrupper i alle tre besætninger. Besætning 2 havde et usædvanligt stort tab af grise mellem ind- og udvejningen, hvilket bl.a. beror på tab af øremærker og større dødelighed end i de to andre besætninger - jf. tabel 19.

Daglig tilvækst

Tabel 5 viser den daglige tilvækst i de fire behandlingsgrupper, fra grisene blev vejet ind i forsøget ved fravæning, og til de blev vejet ud kort før afgang til slagteriet i de tre besætninger.

Ved beregning af gennemsnitlig daglig tilvækst i besætningerne, var der 60 grise, som bl.a. ikke opfyldte kriteriet om minimum 3 uger mellem første og anden vaccination, som er en forudsætning for optimal effekt af vaccinen. De 60 grise fordelte sig på de fire vaccinationsgrupper med hhv. 29pct. i rød, 25pct. i hvid, 22pct. i gul og 24 pct. i blå. Som det fremgår af tabel 5, er disse grise ekskluderet i beregning af daglig tilvækst.

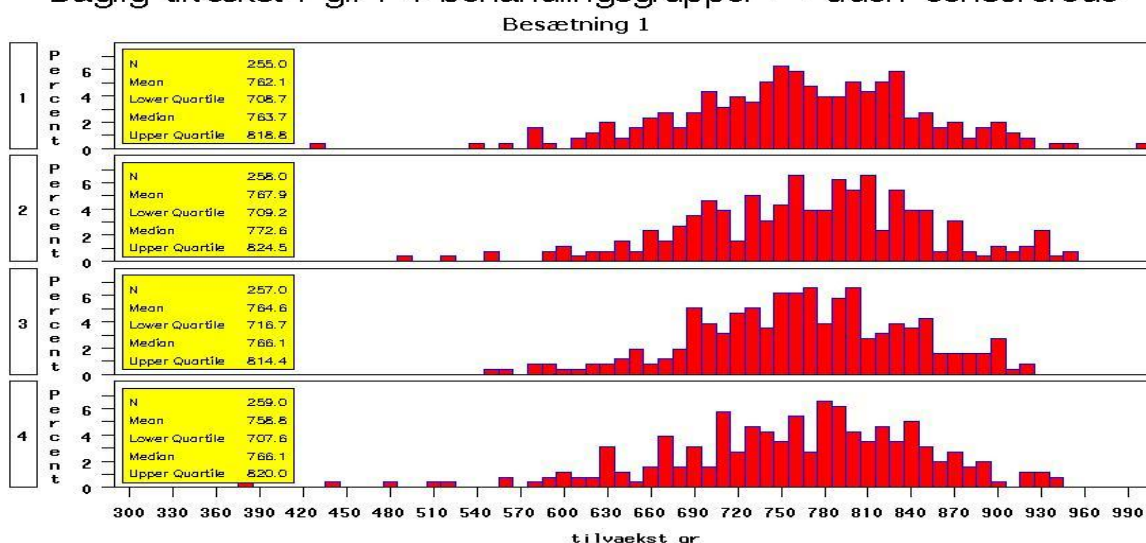
Tabel 5. Gennemsnitlig daglig tilvækst (spredning) i gram, samt mistede og ekskluderede grise

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3		Samlet antal
	Dgl.tilv. (spredning)	N	Dgl.tilv. (spredning)	N	Dgl.tilv. (spredning)	N	
M.hyo	762(81)	255	687(64)	218	724(80)	132	605
Kombi	768(82)	258	673(79)	223	727(82)	137	618
PRRS	765(73)	257	670(81)	228	726(74)	134	619
Placebo	759(89)	259	679(78)	241	714(86)	135	635
Ialt		1.029		910		538	2.477
Mistet		159		264		493	916
Ekskluderet		25		22		13	60
total		1.213		1.196		1.044	3.453
N = antal grise							

I besætning 1 havde grise vaccineret med placebo den dårligst gennemsnitlige daglige tilvækst, men der var ingen statistisk signifikant forskel mellem vaccinegrupperne. Samme forhold viste sig i besætning 3. I besætning 2 var placebogruppen den næst bedste, dog uden at være statistisk sikker forskellig fra de tre andre grupper. Det skal nævnes, at der sås en effekt af grisens startvægt i alle tre besætninger på mellem 10 og 15 gram i gennemsnitlig daglig tilvækst, for hvert kilo grisen var tungere ved fravæning.

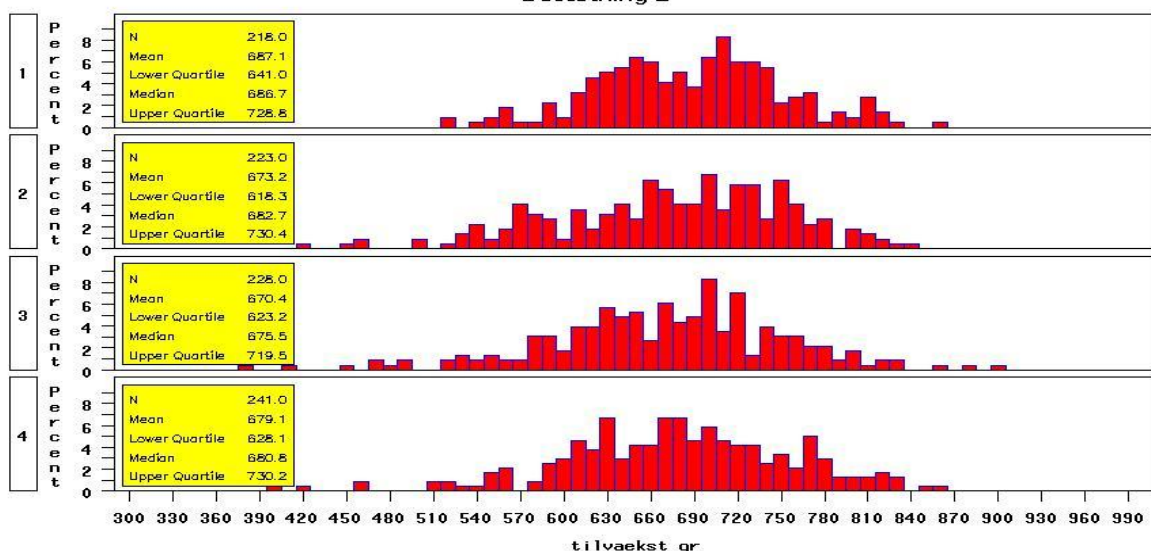
Efterfølgende tre figurer (fig. 5, 6 & 7) viser det statistiske output med den gennemsnitlige daglig tilvækst i gram for de fire vaccinegrupper, hvor de censorede grise ikke indgår. Som det ses er der ikke den store variation i den gennemsnitlige daglige tilvækst i de fire vaccinationsgrupper i alle tre besætninger.

Daglig tilvækst i gr. i 4 behandlingsgrupper — uden censorede



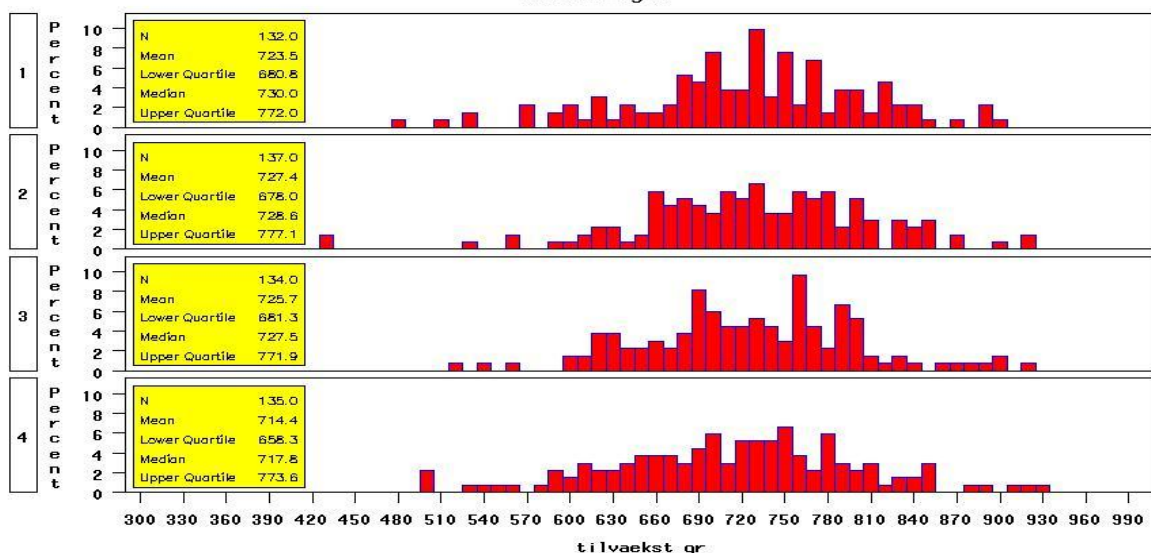
Daglig tilvækst i 4 behandlingsgrupper — uden censorerede

Besætning 2



Daglig tilvækst i 4 behandlingsgrupper — uden censorerede

Besætning 3



Tallene i det gule felt angiver følgende:

- N = antal grise
- Mean = gennemsnitlig daglig tilvækst
- Lower quartile = 25pct. af grisene er på eller under denne værdi
- Median = halvdelen af grisene er enten over eller under denne værdi
- Upper quartile = 25pct. af grisene er på eller over denne værdi

Lungeforandringer (USK)

Lungesættene fra de 60 grise som ikke opfyldte kriterierne for beregning af daglig tilvækst kan ikke trækkes ud af data for USK observationerne mht. lungeforandringer, da bedømmelse af lungerne er sket på gruppeniveau (rød, hvid, gul eller blå) og ikke på det individuelle niveau. Dette forårsager en såkaldt type 2 fejl, som ikke favoriserer vaccineprodukterne i afprøvningen, men kan gøre det sværere at påvise en eventuel positiv effekt af vaccinen.

Tabel 6. Forekomst af mistede lungesæt fra udvejning af grise i besætningen til USK-bedømmelse.

Mistet	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3		Samlet	
	pct.	N	pct.	N	N pct.	N	pct.	N
Lungesæt	6,1	64	5,2	48	1,8	10	5,1	122
N = antal grise								

Hovedparten af de mistede grise i besætning 1 skyldtes en del leverance af grise (i alt 48 stk.), som i femte runde ikke ankom til slagteriet indenfor den aftalte tidsramme. For besætning 2 måtte grisene fra PRRS vaccinegruppe (i alt 23 stk) udgå i 9. runde, som følge af usikkerhed vedr. leverandørnummeret. I besætning 3 blev der i tredje runde klassificeret 7 lungesæt til placebogruppen, som ikke tilhørte placebo vaccinegruppen. Fra alle tre besætninger gik lungesæt tabt i forbindelse med opmærkningen eller på slagteriets efterkontrol. I alt mistede undersøgelsen 5,1 pct. af lungesættene fra de udvejede grise inden USK-bedømmelsen.

Der var i alt 2415 lungesæt til USK bedømmelse:

- Besætning 1: 990
- Besætning 2: 884
- Besætning 3: 541

USK på Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup, er udført efter retningslinierne i USK-Håndbogen [20].

Ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni

I tabel 7 ses forekomsten af lungeforandringer, der relaterer til ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni som følge af infektion med *Mycoplasma hyopneumoniae*. Antallet af grise med lungeforandringer i hver vaccinegruppe er angivet i parentes og sat i forhold til det totale antal grise i hver vaccinegruppe indenfor den enkelte besætning. På den baggrund fremkommer andelen af grise med forandringer – opgivet i procent. I besætning 1 og 2 ses en statistisk sikker effekt af både M.hyo og kombivaccine i relation til en reduktion af lungescoren ved ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni sammenholdt med placebo vaccine. Derimod sås ingen effekt i besætning 3.

Tabel 7. Forekomst af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N
M.hyo	30(76) ^b	256	34(78) ^b	229	36(47)	131
Kombi	31(76) ^b	242	45(98) ^b	216	37(48)	130
PRRS	49(115)	237	60(123)	206	38(51)	133
Placebo	54(138) ^a	255	63(146) ^a	233	34(50)	147
total		990		884		541

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5 pct. niveau.

Som det fremgår af tabel 8a var der i både besætning 1 og 2 en statistisk signifikant effekt i udbredelsen af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni mellem vaccinationsgrupperne. M.hyo samt kombivaccination reducerer begge udbredelsen i forhold til placebo vaccination. I analysen af udbredelsen indgik alle grise, uanset om de havde forandringen eller ej. Langt hovedparten af lungesættene havde ingen registreringer på udbredelse af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni, hvilket bevirker en skæv fordeling af talmaterialet i den statistiske beregning da der indgår mange med registreringen - 0.

Tabel 8a. Udbredelsen (volumenprocent) af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni – alle lungesæt

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.	N	pct.	N	pct.	N
M.hyo	1,6 ^b	256	2,4 ^b	229	2,1	131
Kombi	1,8 ^b	242	4,6 ^b	216	1,8	130
PRRS	3,7 ^a	237	6,2 ^a	206	2,4	133
Placebo	3,7 ^a	255	6,3 ^a	233	2,0	147

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5 pct. niveau.

I tabel 8b ses tallene for de lunger, hvor der blev registreret ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni ved USK-bedømmelsen – altså uden nul registreringerne. Det fremgår af tabellen, at i besætning 1 og 2 så man en sikker reducerende effekt af M.hyo-vaccine i udbredelsen af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni i forhold til placebo gruppen.

Tabel 8b. Udbredelsen (volumenprocent) af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni – kun forandrede lungesæt.

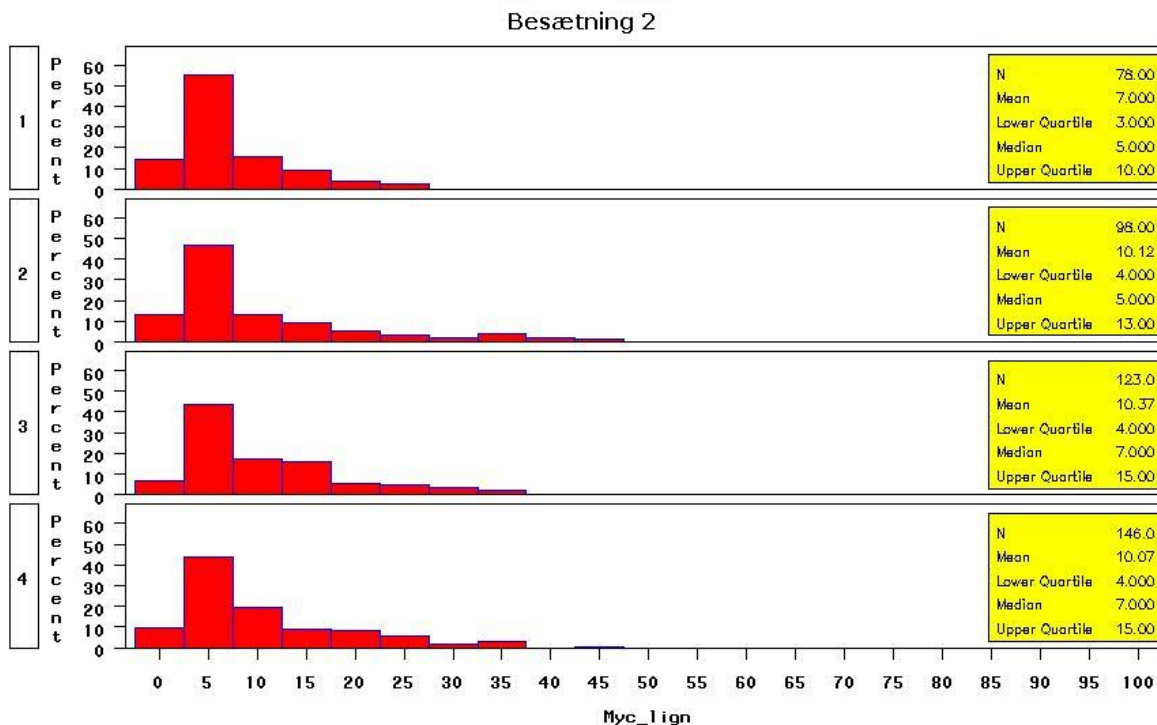
Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.	N	pct.	N	pct.	N
M.hyo	5,3 ^b	76	7,0 ^b	78	5,7	47
Kombi	5,7	76	10,1	98	5,0	48
PRRS	7,7	115	10,6	123	6,4	51
Placebo	6,8 ^a	138	10,1 ^a	146	5,8	50

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5 pct. niveau.

Og som det fremgår af det statistiske output i figur 8 havde M.hyo vaccinegruppen (1) færre lungesæt med stor udbredelsen af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni i forhold til kombi-vaccinegruppen (2). Det kunne antyde, at kombivaccinen ikke har haft samme beskyttende effekt overfor ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni i besætning 2.

Lungescores, ukompliceret, i 4 behandlingsgrupper uden 0



Kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni

Som det fremgår af tabel 9 og tabel 10 var forekomsten og udbredelsen af kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni meget beskeden i denne undersøgelse. Og der kunne ikke ses nogen forskel mellem vaccinegrupperne.

Tabel 9. Forekomst af kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N
M.hyo	2,3(6)	256	3,1(7)	229	1,5(2)	131
Kombi	1,7(4)	242	0,5(1)	216	1,5(2)	130
PRRS	2,5(6)	237	1,5(4)	206	2,3(3)	133
Placebo	1,6(4)	255	2,6(6)	233	0,7(1)	147

N = antal grise

Tabel 10. Udbredelse (volumenprocent) af kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.	N	pct.	N	pct.	N
M.hyo	7,8	6	8,1	7	4,0	2
Kombi	5,3	4	5,0	1	15,0	2
PRRS	4,3	6	3,5	4	5,7	3
Placebo	2,3	4	8,8	6	5,0	1

N = antal grise

Ar efter katarrhalsk bronchopneumoni

I tabel 11 ses vurdering af lungerne for "ar efter katarrhalsk pneumoni". I alle tre besætninger er der en markant forekomst med størst frekvens i placebogruppen. I besætning 2 er forekomsten af ar efter katarrhalsk bronchopneumoni i placebogruppen signifikant større end for både M.hyo og kombivaccinegruppe. Mens det af tabel 12 fremgår, at der ikke blev registreret nogen forskel i udbredelsen af ar efter katarrhalsk bronchopneumoni mellem de fire vaccinegrupper indenfor besætningerne.

Tabel 11. Forekomst af ar efter katarrhalsk bronchopneumoni

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N
M.hyo	50(127)	256	48(109)b	229	42(55)	131
Kombi	50(120)	242	46(100)b	216	43(56)	130
PRRS	49(117)	237	51(105)	206	50(67)	133
Placebo	55(141)	255	57(132)a	233	67(73)	147

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5pct. niveau.

Tabel 12. Udbredelse (volumenprocent) af ar efter katarrhalsk bronchopneumoni

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.	N	pct.	N	pct.	N
M.hyo	3,6	127	4,2	109	3,4	55
Kombi	3,4	120	4,4	100	3,6	56
PRRS	3,6	117	4,6	105	3,4	67
Placebo	3,6	141	4,2	132	3,4	73

N = antal grise

Mindst én mycoplasmalignende forandring

Ved USK-undersøgelsen på laboratoriet var beregningen i forekomst af "mindst en mykoplasmalignende forandring" en kombination af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni, kompliceret katarrhalsk bronchopneumoni samt ar efter katarrhalsk pneumoni. Det efterlader, som det fremgår af tabel 13, et statistisk sikkert resultat i besætning 1 og 2 for effekt af både M. hyo- og kombivaccine i relation til at reducerer forekomsten af "mindst en mykoplasmalignende forandring" sammenholdt med placebogruppen. Der sås ingen sikker effekt i besætning 3.

Tabel 13. Forekomst af mindst én mycoplasmalignende forandring

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N
M.hyo	63(162)b	256	66(150)b	229	59(77)	131
Kombi	64(155)b	242	71(154)b	216	64(83)	130
PRRS	73(173)	237	77(164)	206	69(92)	133
Placebo	77(196)a	255	80(187)a	233	67(98)	147

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5pct. niveau.

Kronisk pleuritis

Af tabel 14 ses det, at forekomsten af kronisk pleuritis afspejler en tydelig besætningsforskel, hvor forekomsten i besætning 1 var beskeden sammenlignet med besætning 2 og 3. I besætning 2 var M.hyo-vaccinegruppen signifikant lavere i forekomsten af kronisk pleuritis sammenholdt med placebogruppen. Hvorimod forholdene i besætning 3 viste sig at være modsat. M.hyo-vaccinegruppe var altså signifikant højere i forekomsten af kronisk pleuritis sammenlignet med placebogruppen. Ligeledes var kombivaccinegruppen signifikant lavere i forekomst af kronisk pleuritis end placebogruppe i besætning 2. Disse fund i besætning 2 kunne indikere, at vaccination mod *M. hyopneumoniae* yder en vis form for beskyttelse mod kronisk pleuritis.

Tabel 14. Forekomst af kronisk pleuritis - alle lungesæt

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N
M.hyo	7(19)	256	79(180)b	229	88(115)b	131
Kombi	10(23)	242	76(164)b	216	77(100)	130
PRRS	13(31)	237	82(172)	206	81(108)	133
Placebo	11(27)	255	88(206)a	233	74(109)a	147

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5pct. niveau.

Lunger uden forandringer

Tabel 15 viser, at både M.hyo- og kombivaccine havde et signifikant større antal lunger i besætning 1 og 2 uden forandringer sammenholdt med placebogruppen. I besætning 3 så man ingen forskel mellem vaccinegrupperne.

Tabel 15. Forekomst af lunger uden forandringer

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N	pct. (antal)	N

M.hyo	33(85)b	256	9(21)b	229	5(6)	131
Kombi	32(78)b	242	7(16)b	216	4(5)	130
PRRS	24(56)	237	5(10)	206	5(6)	133
Placebo	21(54)a	255	2(4)a	233	5(8)	147

N = antal grise

Forskelligt bogstav mellem behandlingsgrupper indenfor besætningen angiver et sikkert signifikant resultat på 5pct. niveau.

Sygdomsregistreringer (BSO)

I alt blev der registreret 2.215 hændelser i besætningernes sygdomsovervågningsystem (BSO) fordelt på 718 grise.

I besætning 1 og 3 var den hyppigste registrerede behandling rettet mod diarré (hhv. 59pct. og 81pct. af alle behandlinger), mens den hyppigste behandling i besætning 2 var rettet mod ledbetændelse og dernæst luftvejslidelser med en forekomst på hhv. 32pct. og 22pct..

Behandlede grise

I tabel 16, angivet i parentes, ses antallet af grise behandlet i hver vaccinegruppe og sat i forhold til det totale antal grise indenfor hver vaccinegruppe i den enkelte besætning. På den baggrund fremkommer andelen af grise, der blev behandlet – opgivet i procent. Der viste sig ikke nogen statistisk signifikant forskel i antallet af behandlede grise mellem de fire vaccinegrupper indenfor de enkelte besætninger. Ligeledes var der heller ikke forskel på procenten eller behandlingsincidensen i de fire vaccinationsgrupper.

Tabel 16. Forekomst af behandlede grise, fordelt efter vaccinationsgruppe.

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.(antal)	N	pct.(antal)	N	pct.(antal)	N
M.hyo	28(74)	264	22(50)	229	30(41)	135
Kombi	27(71)	261	22(50)	228	38(52)	137
PRRS	35(93)	264	20(45)	230	50(69)	139
Placebo	32(86)	265	21(52)	245	39(55)	140
total		1.054		932		551

N = antal grise

Udvalgte sygdomsregistreringer

Behandlinger og dødsfald i relation til luftvejslidelser forekom næsten kun i besætning 2. Diagnosen blev i flere tilfælde verificeret, ved obduktion af de døde grise, på Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup.

I tabel 17 og 18 er hyppigheden af behandlinger opgivet som et resultat af antal behandlinger – angivet i parentes – sat i forhold til antallet af grise i den pågældende vaccinegruppe. Og som det ses af tabellerne kunne der ikke påvises en sikker forskel i hyppigheden af behandlinger for alle lidelser eller mod lungelidelser i nogen af besætningerne. Der var heller ikke forskel på procenten eller incidensen af behandlinger i de fire vaccinationsgrupper.

Tabel 17. Hyppighed af behandlinger for alle lidelser, fordelt efter vaccinationsgruppe.

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	frekvens(antal beh.)	N	frekvens(antal beh.)	N	frekvens(antal beh.)	N
M.hyo	0,375(98)	264	0,472(108)	229	1,264(158)	135
Kombi	0,351(91)	261	0,513(117)	228	1,240(165)	137
PRRS	0,476(127)	264	0,409(94)	230	1,710(229)	139
Placebo	0,432(115)	265	0,437(107)	245	1,679(225)	140

N = antal grise

Tabel 18. Hyppighed af behandlinger mod lungelidelser, fordelt efter vaccinationsgruppe.

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	frekvens(antal beh.)	N	frekvens(antal beh.)	N	frekvens(antal beh.)	N
M.hyo	0,008(2)	264	0,157(36)	229	0,081(11)	135
Kombi	0,008(2)	261	0,096(22)	228	0,007(1)	137
PRRS	0,011(3)	264	0,160(37)	230	0,007(1)	139
Placebo	0,004(1)	265	0,159(39)	245	0,050(7)	140

N = antal grise

Døde grise

Andelen af grise registreret som døde i perioden fra ind- til udvejning fremgår af tabel 19. Der var ingen sikker forskel mellem vaccinegrupperne i forekomst af døde. Tabel 20 viser dødsfald relateret til lungelidelser og forekomsten i besætning 1 og 3 var så beskeden, at data ikke kunne analyseres. I besætning 2 sås ingen signifikant forskel mellem grupperne.

Tabel 19. Antal døde i alt, fordelt efter vaccinationsgruppe

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	pct.(Antal døde)	N	pct.(Antal døde)	N	pct.(Antal døde)	N
M.hyo	3,1(8)	264	8,3(19)	229	5,2(7)	135
Kombi	1,5(4)	261	7,0(16)	228	6,6(9)	137
PRRS	4,5(12)	264	6,1(14)	230	7,9(11)	139
Placebo	3,4(9)	265	4,1(10)	245	7,1(10)	140
total	3,1(33)	1.054	6,3(59)	932	6,7(37)	551

N = antal grise

Tabel 20. Antal døde som følge af lungelidelse, fordelt efter vaccinationsgruppe

Vaccine	Besætning 1		Besætning 2		Besætning 3	
	Antal døde	N	pct.(Antal døde)	N	Antal døde	N
M.hyo	0	264	2,0(5)	229	1	135
Kombi	0	261	1,2(3)	228	0	137
PRRS	0	264	0,4(1)	230	0	139
Placebo	1	265	2,3(6)	245	1	140

N = antal grise

Diskussion

Denne kliniske afprøvning er gennemført som en blindet undersøgelse med kliniske og patologiske anatomiske observationer. Undersøgelsen er gennemført i almindelige produktionsbesætninger. De daglige besætningsrutiner er fastholdt i afprøvningsperioden, for ikke at ændre sygdomsprofilen i den enkelte besætning under forløbet.

Det har været muligt, at følge de enkelte grise via deres individuelle øremærke og på den baggrund udføre sygdomsregistrering og beregning af daglig tilvækst på enkelt dyrs niveau i de tre besætninger.

Efter slagtingen af grisene var det ikke muligt at følge de enkelte grise, men kun hvilken vaccinationsgruppe de tilhørte. Et mindre antal lungesæt gik tabt ved passagen fra stalden til laboratoriet for USK-bedømmelse, hvilket betød antallet der indgik i beregningerne var lidt mindre end det antal grise der indgik i beregningerne af tilvækst og sygelighed.

Inden blindingskoden blev brudt var de enkelte vaccinegrupper sammenlignet indbyrdes mht. effekt på primære og sekundære måleparametre, idet bedste eller værste vaccinegruppe blev indsat i beregningerne som reference i hver beregning. Der synes dog ikke i undersøgelsen, at være baggrund for en vurdering af, om M.hyo var bedre end kombi eller PRRS, men alene om der kunne eftervises en effekt af de tre vaccinegrupper med indhold af aktive stoffer i forhold til placebo-vaccinegruppen. På den baggrund blev placebogruppen, uden ændring af beregningsgrundlaget, valgt som reference i alle beregningerne efter brydning af blindingskoden. Derved blev der grundlag for en mere ensartet vurdering af effekten på de primære og sekundære måleparametre i alle tre besætninger.

Afprøvningen viste ingen sikker effekt på gennemsnitlig daglig tilvækst som følge af vaccination med hhv. M.hyo, kombi, PRRS i forhold til placebo-vaccine. Men det skal bemærkes at i denne afprøvning dækker daglig tilvækst over perioden fra grisens 4. - 5. leveuge frem til slagting. Ved en sammenligning af daglig tilvækst i denne undersøgelse med resultatet fra andre undersøgelser er det vigtigt at være opmærksom på, hvilken periode den daglige tilvækst dækker i de pågældende afprøvninger. Ofte er effekten på daglig tilvækst målt for perioden 30 kg til slagting. Effekten på daglig tilvækst vil derfor synes større i afprøvninger, hvor observationsperioden er fra 30 kg til slagting end i denne afprøvning.

Afprøvningen blev påbegyndt i tre besætninger. Men i besætning 3 blev grisene leveret til to aftagere, hvoraf den ene forlod undersøgelsen umiddelbart efter opstart. Således indgik kun halvdelen af den mængde grise, som den ifølge beregningerne skulle til, for at vise en statistisk sikker forskel. Dette bevirker således, at besætning 3 i flere tilfælde ved vurderingen af lungeforandringer (ar og mindst en mykoplasmaalignende) og behandlinger i alt, kun viser en tendens for effekt af vaccinegrupperne i forhold til placebo.

I undersøgelsesperioden sås stor forskel i forekomsten af klinisk sygdom i de tre besætninger. I besætning 1 og 3 var der primært problemer med diarré i forbindelse med fravæning, mens man i besætning 2 så en udbredt sygelighed som følge af led- og luftvejslidelser. Denne besætningsforskel afspejles tydeligt i BSO registreringerne, og det er bl.a. en af grundene til, at der ikke kan analyseres på de primære og sekundære effekt parametre på tværs af besætningerne.

I besætning 2 blev der desuden to gange observeret bivirkninger (opkast og pusten) i forbindelse med vaccination givet ved fravæning. Bivirkningerne sås i alle fire vaccinegrupper og menes at være et udslag af subklinisk sygdom hos pattegrisene i et bestemt staldafsnit med dårlige klimaforhold. Det var ikke muligt, at inkludere bivirkningerne i analyserne, da der ikke blev registreret på individniveau jf. appendiks 4. I de to andre besætninger blev der ikke registreret bivirkninger i forbindelse med vaccinationerne.

Om disse lidt atypiske forhold i besætning 2 er medvirkende årsag til, at kombivaccine gruppen ikke viser effekt på udbredelsen af ukompliceret katarrhalsk bronchopneumoni på de forandrede lunger i lighed med M.hyo vaccinegruppen er usikkert. Det eneste der adskilte de to vacciner var en tilsætning af PRRS vaccine virus.

Afprøvningen viser, at effekten af vaccinerne i højgrad er besætningsafhængig og meget relateret til om tidspunktet for indgift er sammenfaldende med sygdommens optrædende i besætningen. Vaccinationsprogrammer bør derfor tilpasses den enkelte besætning og tage højde for, hvornår smitten sker, og hvornår sygdommen begynder at optræde. Dette vurderes ud fra jævnlige serologiske profiler fra forskellige aldersgrupper af grise.

Konklusion

Afprøvningen viste ingen sikker effekt på daglig tilvækst. Andelen af grise behandlet mod luftvejslidelser eller dødsfald som følge af lungelidelser viste ingen signifikant forskel mellem vaccinegrupperne i de tre besætninger.

Ved brug af vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet såvel som vaccine med Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet sås en tydelig reduktion i antal af lunger med forandringer sammenholdt med grise der havde fået placebo-behandling. På udbredelsen af lungeforandringer som følge af mycoplasmainfektion viste der sig også en sikker effekt af både Porcillis® M.Hyo.Vet og Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet i besætning 1 og 2. Udbredelsen på de forandrede lunger blev statistisk sikkert reduceret af M.hyo vaccinegruppen i besætning 1 og 2. Ligeledes var andelen af lunger uden forandringer signifikant størst i M.hyo og kombi vaccinegrupperne i besætning 1 og 2 sammenholdt med placebo.

Det kan konkluderes, at ved vaccination med Porcillis® M.Hyo.Vet og ved Porcillis® M.Hyo.Vet + Porcillis® PRRS.Vet fremkommer en beskyttende effekt over for almindelig lungesyge i forhold til grise der har modtaget placebobehandling. Den beskyttende effekt blev i denne undersøgelse ikke forbedret ved samtidig vaccination med Porcillis® PRRS. Dette kan måske forklares med, at der ikke var kliniske tegn på en aktiv PRRS infektion i besætningerne.

Referencer

- [1] **Roberts, N.E., Almond, G.W. (2003):** Infection of growing swine with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* – Effects on growth, serum metabolites, and insulin-like growth factor-I. *Can.Vet.J.*, 2003 January; 44(1): 31-37.
- [2] **Larsen, L.P. and Bækbo, P. (2005).** Sundhed og sygdom hos svin. Landbrugsforlaget: 158-163.
- [3] **Andersen, L. V. & Christensen, G. (1993).** Forebyggelse af almindelig lungesyge. 1. Effekt på produktionsparametre i 5 besætninger. *Dansk Veterinærtidsskrift.* 4: 129-132.
- [4] **Andersen, L. V., Christensen, G. & Møller, K. (1994).** Vaccination mod mycoplasma-relateret lungebetændelse hos svin. Sammenligning af tre forskellige vaccinations-strategier og 2 vacciner (Suvaxyn M. hyo. Vet og Stellamune Vet). Notat nr. 9449, Landsudvalget for Svin.
- [5] **Pihl, K. & Bækbo, P. (1996).** Vaccination mod mycoplasmalungesyge hos svin. *Veterinærinformation* nr. 6. 3-5.
- [6] **Nymark, K. & Dahl, J. (2002).** Vaccination med hyoresp@vet mod almindelig lungesyge hos slagtesvin Meddelelse nr. 568, Landsudvalget for Svin.
- [7] **Bøtner, A., Toft, P., (1999):** Porcin reproduktions- og respirations sygdom (PRRS) – en oversigt artikel med fokus på den danske situation og erfaringer med anvendelse af levende vaccine. *Dansk Veterinær Tidsskrift* 1999, årg. 82(5): 175-181
- [8] **Collins, J.E., Benfield, D.A., Christianson, W.T., Harris, L., Hennings, J.C., Shaw, D.P., Goyal, S.M., Mccullough, S., Morrison, R.B., Joo, H.S., Gorcyca, D. & Chladek, D. (1992).** Isolation of Swine Infertility and Respiratory Syndrome Virus (Isolate ATCC VR-2332) in North-America and Experimental Reproduction of the Disease in Gnotobiotic Pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4, 117-126.
- [9] **Thacker, E., Thanawongnuwech, R.: Porcine Respiratory Disease Complex. Thai J. Vet. Med. 2002, Vol. 32 Supplement.**
- [10] **Boettcher, T.B., et al. (2002):** Vaccine efficacy and immune response to *Mycoplasma hyopneumoniae* challenge in pigs vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J. Swine Health and Prod.* 2002, Vol. 10, number 6, p. 259-264.
- [11] **Silin, D.S., et al. (2001):** *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination influence on porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* coinfection. *Acta Vet. Brno* 2001,70:413-420
- [12] **Thanawongnuwech, R., et al. (2004):** Increased Production of Proinflammatory Cytokines following Infection with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Clin. And Diagn Lab. Immunol.* Sept. 2004, p 901-908.
- [13] **Thacker, E. et al. (1999):** *Mycoplasma hyopneumoniae* Potentiation of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus-Induced Pneumonia. *J. Clin. Micro* 1999,37:620-627
- [14] **Thacker, E. et al. (2000):** Effect of vaccination on the potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-induced pneumonia by *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vaccine* 18 (2000) 1244-1254.
- [15] **Eggen, A., et al. (2006):** Efficacy of simultaneous administration of a modified live PRRS (EU strain) and a new inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine. In *Proc. 19th Int. Pig Vet. Soc. Congr., Copenhagen, DK., 2006, P.04-38.*
- [16] FEDESA. Good Clinical Practice for the Conduct of Clinical Trials for Veterinary Medicinal Products – GCPV The EU Note for guidance, FEDESA, Rue Defacqz 1, box 8, B-1050 Brussels, Belgium.
- [17] **Bouwkamp, F.T et al. (2004):** A field efficacy trial of Porcilis M Hyo in fattening pigs in the Netherlands. *Proc. 18th IPVS Congress, Hamburg, Germany, 2004, Vol. 1 p 188.*
- [18] Veterinærmedicinsk produktkatalog 2006.
- [19] **Christensen, G. and Mousing, J. (1992):** Respiratory system. In: *Diseases of Swine.* 1992. 7th edition, edited by Leman, A.D., Straw, B. E., Mengeling, W. L., D’Allaire, S. and Taylor, D. J. Iowa State University Press. p 138-162.
- [20] **Christensen, G. 1990.** USK håndbog (udvidet slagtedyrsdiagnostik USK), LU/Danske Slagterier, Veterinærafdelingen.

Appendiks 1

PRIMÆRPRODUKTION - Forsøg og Udvikling DEN RULLENDE AFPRØVNING Afdelingen for Veterinær Forskning & Udvikling

Arbejdsplan for

**Effekten af vaccination med kombineret Porcilis PRRS Vet. og Porcilis M. Hyo. Vet.
hos ung- og slagtesvin**

På baggrund af protokol Exp. no. DS 00010 / DK 0104
godkendt i Lægemiddelstyrelsen d. 23. november 2004.

BESÆTNINGSEJER / CHR. NR.: Hestehavegård

Staldpersonale på CHR: XXXXX

Staldpersonale på CHR: XXXXX

Staldpersonale på CHR: XXXXX

STALDENS BELIGGENHED: Hestehavegård,
Stalden m. slagtesvin CHR: XXXXX Søbygård,
Stalden m. slagtesvin CHR: XXXXX Bromgården,

AFPRØVNINGSNR.: XXXXX

PROJEKTNR.: 313010640

START: 12. oktober 2005

AFSLUTNING: 15. juni 2006

ASS. INVESTIGATOR: Veterinærtekniker Anders Marager (AM), tlf.
Veterinærtekniker Jørgen Møller (JM) tlf.
Dyrlæge Lars Rasmussen (LR), tlf.

ANSVARLIG INVESTIGATOR: Dyrlæge Kaj Vestergaard (KV), tlf.

BESÆTNINGSRÅDGIVER Dyrlæge Lars Rasmussen (LR), tlf.

Øvrige kontaktpersoner

Investigator

Monitor

Laborator

Statistiker

Dyrlæge Peter Astrup (PA), Intervet, tlf.
Dyrlæge Hans Jørgen Riising (HJR), Intervet, tlf.
Dyrlæge Birgitta Svensmark (BS), Kjellerup, tlf.
Henrik Wachmann (HW), Axelborg, tlf.

BAGGRUND

Almindelig lungesyge hos slagtesvin forårsaget af mycoplasmer er den mest udbredte form for lungebetændelse i dansk svineproduktion og regnes for at være til stede i alle konventionelle besætninger. I en smittet besætning har ca. 10 % af slagtesvinene symptomer i form af hoste og evt. vejrtrækningsbesvær, når de jages op. Dødsfald er sjældne. Sygdommen er kronisk og ved slagtning registreres ofte lettere grader af lungebetændelse hos over 50 % af grisene som tegn på, at mange grise huser *M. hyopneumoniae* uden symptomer. Mycoplasmainfektion i lungerne baner ofte vejen for bakterieinfektioner, hyppigst *Pasteurella multocida*, resulterende i kompliceret almindelig lungesyge. Resultatet er en øget sygelighed og dødelighed. Den økonomiske betydning af almindelig lungesyge er primært nedsat tilvækst og øget foderforbrug. Undersøgelser har vist en sammenhæng mellem andelen af lungevæv, der er angrebet og grisens tilvækst. For hver 10 % af lungerne der er angrebet, vokser grisen 30-50 g mindre om dagen. Derudover er der omkostninger i forbindelse med evt. dødsfald og øgede udgifter til medicinering.

PRRS (Porcint Reproduktivt og Respiratorisk Syndrom) er tillige almindelig udbredt i slagtesvine besætninger, og luftvejssymptomerne kan optræde i alle aldersgrupper, men beskrives især blandt ungsvin/slagtesvin. Mange beskriver, at andre infektioner - så som mycoplasma lungesyge og ondartet lungesyge - bliver særdeles svære/umulige at kontrollere når en besætning smittes med PRRS. Da den ene sygdom sandsynligvis potenseres af den anden ville der med fordel kunne anvendes en kombineret vaccine med en positiv effekt på forekomsten af lungelidelser i mange besætninger.

FORMÅL

Formålet med denne kliniske afprøvning er, at vurdere effekten af en kombineret vaccine med Porcilis M. Hyo. Vet. og Porcilis PRRS Vet., mod henholdsvis almindelig lungesyge og PRRS hos ung- og slagtesvin.

BESÆTNINGSBESKRIVELSE

450 søer/gylte + ungsvin med slagtesvin på hhv. Søbygård med 1600 stipladser og Bromgården med 1100 stipladser. Alt er sektioneret til ugehold. Ugeproduktionen er på ca. 200. Søerne vaccineres med Combinord, Toxicol og Parvo, mens gyltene vaccineres med Progressis og Parvoruvax. Pattegrisene vaccineres to gange med Mycobac (1ml). Ved fravæning behandles grisene typisk med Piggydox pga. diarre. Staldindretning, herunder ventilation og gødningshåndtering, samt vandings og fodringsteknik beskrives på CRF 1. Disse forhold må ikke ændres under den kliniske afprøvning.

GENNEMFØRELSE

I besætningen bliver grise, der kan indgå i den kliniske afprøvning, udvalgt tilfældigt til øremærkning med plastøremærke af neutral farve. Øremærkerne er forsynet med fortløbende numre. Til besætningen findes en randomiseringstabel, der for hvert nummer angiver hvilken vaccinationsgruppe grisen skal være i. Den næste gris bliver behandlet på samme vis og så fremdeles indtil besætningens ugeproduktion af grise er fordelt til den kliniske afprøvning. Følgende uge gentages proceduren og der fortsættes indtil 1200 dyr er vaccineret.

Første vaccination foretages på ugeg gamle grise, der efter øremærkning vaccineres i henhold til randomiseringstabellen og den enkelte gris indgår således i gruppe A eller B. Vaccinen til de to grupper er ens af udseenden, men en af dem indeholder aktiv vaccine.

Eksempel:

- A = Porcilis M. Hyo. Vet.
- B = Placebo

Anden vaccination foretages ved fravæning, hvor grisene vejes ind i forsøget. Nummeret på øremærket aflæses for den enkelte gris, vægten noteres og ved hjælp af randomiseringstabellen tildeles grisen en vaccination og indgår derefter i en af de fire vaccinationsgrupper. Selve vaccinationen udføres i klimastalden.

Blandingsvaccinerne til brug for anden vaccination fremstilles umiddelbart forud for anvendelsen, ved at overføre 5ml af præparat A eller B til tørstoffet i hhv. C og D. Efterfølgende tilbageføres blandingen til de respektive A eller B præparater. Blandingsvaccinerne A+C, A+D, B+D, B+C er herefter klar til brug.

Eksempel uden kendskab til indhold:

Gruppe A grisene behandles med A+C eller A+D

- A+C = M.hyo + Placebo
- A+D = M.hyo + Porcilis PRRS

Gruppe B grisene behandles med B+C eller B+D

- B+C = Placebo + Placebo
- B+D = Placebo + Porcilis PRRS

Skematisk fremstilling af 1. & 2. vaccination

Farestalden	Klimastalden
Gruppe A: M. Hyo.Vet	A+C = M.hyo + placebo
	A+D = M.hyo + PRRS
Gruppe B: Placebo	B+D = Placebo + PRRS
	B+C = Placebo+ placebo

Blinding af den kliniske afprøvning betyder, at det ikke på forhånd er kendt, hvilke midler der er i hhv. produkt A og B samt C og D. Derfor skal de fire grupper i klimastalden opretholdes i minimum 4 uger efter vaccination, således at der ikke opstår krydssmitte.

I forbindelse med levering til slagteri bliver grisene vejet anden gang og den enkelte gris` øremærke-nummer aflæses. Desuden bliver grisene individuelt identificerbare ved særlig tatovering med henblik på den senere USK af lungerne.

Skematiseret tidsforløb i besætningen:

Forsøgs dag	Aktivitet	Ansvarlig	CRF formular
1	Øremærkning Gruppe placering (A eller B) 1. vaccination	Investigator /ass. investigator	CRF 2
22	Klimasti gruppevis (A+C, A+D, B+C, B+D) Indvejning 2. vaccination	Investigator /ass. investigator	CRF 2
22 - slagtning	BSO registreringer	Besætningens perso- nale	CRF 3
Inden slagtning	Udvejning & tatovering	Investigator /ass. investigator	CRF 5

REGISTRERINGER

I forrummet skal ophænges besøgsliste, hvor alle som ikke har deres normale gang i besætningen, noterer om deres besøg – CRF 9.

Alle behandlinger, observationer og registreringer der foretages påføres de respektive skemaer straks handlingen er foretaget. Ved ethvert tvivlstilfælde om diagnose, behandling eller handling for grise, som er i den kliniske afprøvning, skal investigator kontaktes. Personen (investigator / ass. investigator), der forestår dataindsamlingen, underskriver den udfyldte formular.

Ved behandling af grise registreres for den individuelle gris: dato, grisens ørenummer og årsag til be-handling. Registreringen foretages på CRF 3.

Grise, der dør inden slagtning, registreres ligeledes på CRF 3. Grisens øremærkenummer noteres sam-men med grisens anslåede vægt og dato for dødsfaldet. Dødsårsagen angives med entydig kode.

Dør grise uden forudgående kliniske tegn på almindelig lungesygge eller anden specifik sygdom foretager en dyrlæge obduktion med henblik på at angiv en dødsårsag – CRF 4. Døde grise opbevares på køl med henblik på senere obduktion inden for 72 timer.

20 % af de døde grise sendes til udvidet obduktion på laboratoriet i Kjellerup.

Ugunstige hændelser og mistænkte ugunstige hændelser skal noteres på CRF 7 og den ansvarlige in-vestigator skal straks underrettes. Optegnelserne skal omfatte tid og dato, behandlingsgruppe, antallet af berørte dyr, kliniske tegn, forholdsregler taget og givet behandling.

ANSVARSFORDELING

Hvad skal gøres	Hvornår	Ansvarlig
Hold 1: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	12. okt. 2005	AM & KV (LR)
BSO på øremærkede grise der er med i forsøget	Hele perioden	SK, BR samt AL
Indsamle og evt. indsende døde grise til obduktion	Hele perioden	SK, BR samt AL
Obduktion af grise i besætningen	Hele perioden	KV & LR
Hold 2: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	19. okt.	AM & KV (LR)
Hold 3: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	26. okt.	AM & KV (LR)
Hold 4: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	2. nov.	AM & KV (LR)
Hold 1: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind		AM & KV (LR)
Hold 5: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	9. nov.	AM & KV (LR)
Hold 2: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind		AM & KV (LR)
Hold 6: 200 uge gamle grise øremærkes og behandles 1. gang	16. nov.	AM & KV (LR)
Hold 3: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind		AM & KV (LR)
Hold 4: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind	23. nov.	AM & KV (LR)
Hold 5: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind	30. nov.	AM & KV (LR)
Hold 6: 200 fravænningsgrise behandles 2. gang og vejes ind	7 dec.	AM & KV (LR)
Grisene vejes ud af forsøget og tatoveres efter øremærket til identifikation på slagteriet og senere USK	Januar – april 2006	AM & KV samt AL & AH

Ansvarlig investigator skal:

- Arbejde i henhold til forsøgsprotokol.
- Indhente informeret samtykke fra besætningsejer og skriftligt informere på forhånd.
- Sørge for al relevant information til personale involveret i afprøvningen eller dele heraf.
- Rådgive besætningsejeren og dennes personale i forbindelse med afprøvningen.
- Sikre at testpræparaterne opbevares korrekt og håndteres forskriftsmæssigt.
- Anvende testpræparaterne i henhold til protokollen.
- Føre liste over indlevering, forbrug og beholdning af testpræparater samt redegøre for afvigelser.
- Optegne data i overensstemmelse med protokollen og underskrive udfyldte dataformularer.
- Foretage vaccination med testpræparaterne og påse korrekt udført øremærkning og vejninger.
- Sikre at besætningspersonale registrerer dødsfald og behandlinger korrekt.
- Sikre at besætningspersonale optegner registreringer korrekt på dataformularer samt initialer.
- Sikre sig at have den fornødne tid til deltagelse i afprøvningen og råde over nødvendigt udstyr.
- Være ansvarlig overfor de dyr, der måtte være i hans varetægt i forbindelse med afprøvningen.

Besætningsejeren tilsendes en kontrakt til underskrift samt et informeret samtykke inden forsøgsstart.

RESULTATOPGØRELSE

Den primære effektparameter er daglig tilvækst.

Som sekundære parametre for effekt sættes:

Reduktion i lungescore for katarrhalsk pneumoni ved slagtning (USK).

Reduktion i antal antibiotika-behandlinger mod lungesyge.

Reduktion i dødsfald som følge af lungelidelse, hvoraf hver femte gris obduceres på Laboratoriet for Svinesygdomme i Kjellerup.

Produktionsresultater

Gruppe	A + C	A + D	B + C	B + D
Producerede svin, stk.				
Vægt ved indsættelse, kg				
Vægt ved slagting, kg				
Daglig tilvækst, g				
Døde, pct.				
Reduktion i lungescore - USK				
Kødprocent				
Kasserede, pct.				
Total behandlingsfrekvens (beh/gris)				
- Heraf luftvejslidelse				
- Heraf mave-tarm lidelse				
- Heraf hudlidelse				
- Heraf benproblem				
- Heraf halebid/øresutten				
- Heraf CNS symptomer (hjernebet.)				
- Heraf andet				

KOMPENSATION

I forbindelse med afprøvningens gennemførelse ydes kompensation i henhold til kontrakten pkt. 7.1.

BILAG

CRF 1: Besætningsbeskrivelse – ikke vedlagt.

CRF 2: Vaccination og indvejning

CRF 3: BSO

CRF 4: Obduktion

CRF 5: Udvejning og tatovering

CRF 6: Beholdning af testprodukter

CRF 7: Alvorlige hændelser/alvorlige bivirkninger

CRF 8: Ejers samtykke

CRF 9: Besøgsliste

CRF2:

Vaccination- og vægtskema (P313010-640)

CHR-nr: 98621

Investigator: Kaj Vestergaard

Sonr.	Dato	Ørenr.	1. Vacc.	2. Vacc.	Dato	Vægt	Dato – Bemærkning - Initialer
		1	A	A+C			
		2	A	A+D			
		3	B	B+D			
		4	B	B+C			
		5	A	A+C			
		6	B	B+D			
		7	A	A+D			
		8	B	B+C			
		9	B	B+D			
		10	A	A+C			
		11	B	B+C			
		12	A	A+D			
		13	A	A+C			
		14	B	B+D			
		15	B	B+C			
		16	A	A+D			
		17	A	A+C			
		18	B	B+D			
		19	A	A+C			
		20	B	B+C			
		21	A	A+D			
		22	B	B+D			
		23	B	B+C			
		24	A	A+D			
		25	B	B+D			
		26	A	A+C			
		27	A	A+C			
		28	A	A+D			
		29	B	B+C			
		30	B	B+C			
		31	A	A+D			
		32	B	B+D			
		33	A	A+C			
		34	B	B+D			
		35	B	B+D			
		36	B	B+C			
		37	A	A+D			
		38	A	A+D			
		39	A	A+C			
		40	B	B+C			

Investigator:
Monitor:

Investigator:
Monitor:

Exp. no. DS 00010 / DK 0104

Obduktions formular

CHR.nr.

Investigator:

Gris ørenummer

Dødsdato:

Obduktionsbeskrivelse:

Dato:

Signatur:

Vægtskema v. slagting (P313010-640)

CHR-nr: 98621

Leverandørnr:

Investigator: Kaj Vestergaard

Dato	Ørenr.	Vægt	Tatoveringsidentifikation	Initialer
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			
	11			
	12			
	13			
	14			
	15			
	16			
	17			
	18			
	19			
	20			
	21			
	22			
	23			
	24			
	25			
	26			
	27			
	28			
	29			
	30			
	31			
	32			
	33			
	34			
	35			
	36			
	37			
	38			
	39			
	40			

Investigator:

Monitor:

Exp. no. DS 00010 / DK 0104



Skema til indberetning af formodet bivirkning af veterinært lægemiddel

(Journaludskrift med relevante oplysninger kan vedlægges)

Indsenders: Navn: Adresse: Postnummer og by:			Udfyldes af Lægemiddelstyrelsen: Journal nr Modtaget Kausalitet Centralt reg.	
Indberetter er: Dyrlæge <input type="checkbox"/> Ejer <input type="checkbox"/> Andet <input type="checkbox"/>				
Dyrejers: Navn: Dyrets opholdssted: Postnummer og by:			Er medicinalfirmaet blevet informeret ja <input type="checkbox"/> nej <input type="checkbox"/>	
Dyreart / Race			Ønskes navn og adresse oplyst til medicinalfirmaet ja <input type="checkbox"/> nej <input type="checkbox"/>	
Køn		Alder	Vægt	
Lægemidlet Handelsnavn* Indholdsstof Styrke* Firma Batchnummer* Dosering Mængde indgivet* Adm. sted Adm. måde (* Vigtige oplysninger)				
Andre lægemidler anvendt samtidigt				
Årsag til behandling/Diagnose				
Bivirkningsreaktion incl. følger (Brug evt. bagsiden)				
Tidligere behandling med samme lægemiddel? Reaktion?				
Efterfølgende behandling evt. laboratorieundersøgelse/ obduktion (medsend gerne kopi)				
			Dato	
			Underskrift	

Udprintet udfyldt formular underskrives og sendes til:
Lægemiddelstyrelsen, Lægemiddelkontrol, Axel Heides Gade 1, 2300 København S

Formålet med denne kliniske afprøvning er, at vurdere en eventuel additiv effekt af en kombineret vaccine med Porcilis M Hyo Vet og Porcilis PRRS Vet., mod henholdsvis almindelig lungesyge og PRRS hos ung- og slagtesvin.

1200 grise indgår i forsøget og vaccineres efter randomiseringstabel. Hensigten med randomiseringen er at fordele de 4 forsøgsgrupper ligeligt på sti- og staldniveau, således at alle grupper af grise bliver udsat for de samme miljøpåvirkninger og det samme foder i sammenfaldende perioder. Forsøgsheden i denne afprøvning er den enkelte gris, idet hver enkelt gris bliver allokeret tilfældigt til en af forsøgsgrupperne og ikke omrokeret efter andre kriterier, der ikke kunne være blevet enhver anden gris til del. Således udgør den individuelle gris en enhed.

Skematiseret tidsforløb i besætningen:

Forsøgs dag	Aktivitet	Ansvarlig
1	Øremærkning Gruppe placering (A eller B) 1. vaccination	Investigator /ass. investigator
22	Klimasti gruppevis (A+C, A+D, B+C, B+D) Indvejning & 2. vaccination	Investigator /ass. investigator
22 - slagtning	BSO registreringer	Besætningens personale
Inden slagtning	Udvejning og tatovering	Investigator /ass. investigator

I forrummet skal ophænges besøgsliste hvor alle, som ikke har deres normale gang i besætningen, noterer om deres besøg. Dyrlæge Hans Jørgen Riising, Intervet Danmark A/S er monitor på forsøget og skal have adgang til besætningen efter forudgående aftale.

Besætningens normale personale foretager dagligt registreringer af sygdom, som normalt for besætningen, samt registrerer relevante behandlinger på medfølgende skemaer. Desuden bistås investigatorene efter nærmere aftale. Det vil være assisterende investigatorene som foretager alle behandlinger og registreringer i medfør af udleveret protokol og arbejdsplan, bortset fra de daglige kliniske registreringer og behandlinger. Investigator vil føre tilsyn med optegnelser og foretage kliniske bedømmelser. Desuden vil besætningsdyrlæge kunne assistere ved undersøgelsen og foretage kliniske bedømmelser samt foretage eventuelle obduktioner.

Besætningsejeren er indforstået med at registrere behandlinger i overensstemmelse med udleveret protokol og arbejdsplan. Og accepterer at grise ikke vaccineres i hht. besætningens normal procedure, fra to uger før til to uger efter undersøgelsen.

Sponsor afholder de i budgettet anførte udgifter i forbindelse med afprøvningen, herunder løn til besætningens normale personale, hvad angår de ekstra opgaver som undersøgelsen vil påføre. Eventuelle tab som følge af forsøget vil, som angivet i kontrakten, ligeledes blive godtgjort af sponsor.

Underskrift besætningsejer
Hestehavegård den / -

Underskrift sponsor
Landsudvalget for Svin den / -

Arbejdsprocedurer i forbindelse med udtagning af lungesæt fra fire vaccinegrupper

Et samarbejdsprojekt mellem Intervet Danmark og Landsudvalget for Svin,
Danske Slagterier

Ansvarlig
Dyrlæge Kaj Vestergaard tlf. 33732672 / 24631683

Følgende beskrivelse skal opfattes som vejledende.

Fast slagtedag: Torsdag

Varighed: 12 uger

Antal forsøgsdyr pr. slagtedag: Første gang 5, derefter stigende over et par uger til 140.

Slagtestart, nummerering:

Slagtesvinene ledsages til slagteriet af en USK-følgeseddel, hvori de relevante oplysninger findes. Dyrene er øremærket og skal anbringes nogenlunde samlet i stalden ved ankomst. Slagtning påbegyndes efter nærmere aftale med slagtemesteren. Alle forsøgsgrisene slagtes såvidt muligt i ubrudt rækkefølge. Grisene er skinketatoveret i hht. vaccinegruppen.

Registrering på kontrolplatform:

På kontrolplatformen aflæser forsøgsdyrlægen skinketatoveringen og overfører dette til plukset ved hjælp af et juletræ og en farvet manillaseddel.

Opsamling af lungesæt:

I pluksrummet pakker slagterimedarbejder, efter anvisning af forsøgsdyrlægen, de mærkede lungesæt i plastiksække og derefter i emballage egnet til transport. Mellem plastiksækkene anbringes lidt is, som sikrer den nødvendige nedkøling forud for transporten til Laboratoriet i Kjellerup.

Omfang af teknisk assistance:

I pluksrummet er der behov for hjælp til nedpakning af lungesæt.

Samarbejde med efterkontrol: Før slagtning af forsøgsgrise aftales det med dyrlægen i efterkontrollen, at forsøgsdyrlægen får overladt kasseret sygeligt materiale til undersøgelse og registrering.

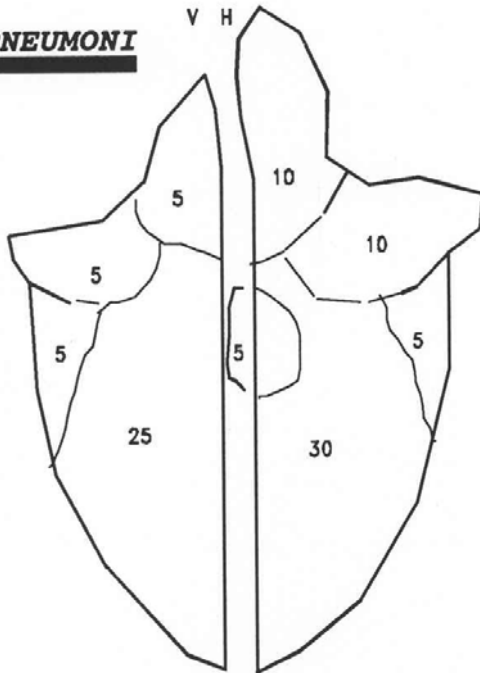
Registrering og overførsel af slagtedata:

Det vil være hensigtsmæssigt for DANSKE SLAGTERIER, at få en elektronisk kopi af slagtedata før afrejse fra slagteriet.

Kompensation: Slagteriet kompenseres for den arbejdskraft der stilles til rådighed i forbindelse med projektet og det ekstra arbejde det måtte medføre.

Dyr-ID :

PNEUMONI



KATARRH. PNEUMONI

mycopl.lign. A

kompliceret B

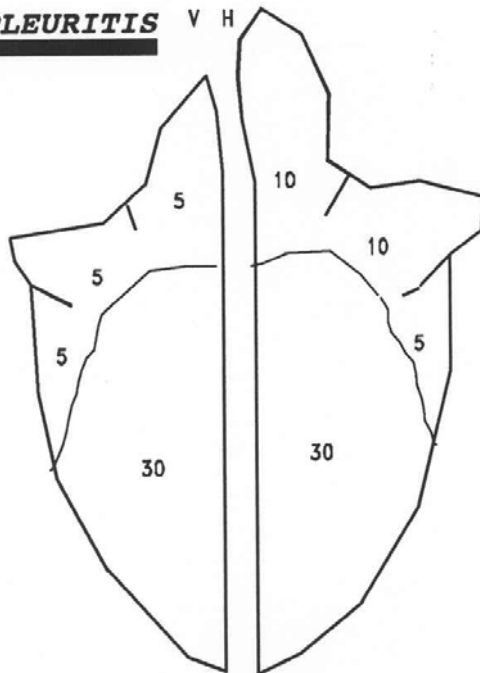
arretraktion C

PLEUROPNEUMONI

akut D

kronisk E

PLEURITIS



KRONISK PLEURITIS

ventro-cran. G

dorso-caud. F

Pericarditis H

Leverpletter L

Perihepatit. P

Bem. :

Udbredelse af pneumonisk forandring: vol.% af total lungevolumen

Udbredelse af pleuritis: areal% af ydre lungeoverflade

Grad af leverpletter: 1-4 pletter = 1; 5-15 pletter = 2; over 15 pletter = 3

Ar efter katarrhalsk pneumoni, pericarditis og perihepatitis: Tilstedeværelse = 1

Registreringsskema P1

Appendiks 4

Bivirkninger konstateret i forbindelse med klinisk afprøvning af veterinært lægemiddel.

Journal nr. XXXX

Effekten af vaccination med kombineret Porcilis PRRS Vet. og Porcilis M. Hyo. Vet. hos ung- og slagtesvin

D. 2. november 2005

Kl. 12.30 blandes vaccineprodukterne til anden vaccination. 5 ml. solvens suges op og tilsættes hætteglasset med vaccinetørstof og rystes. Vaccineopløsningen suges op og føres tilbage til flasken med solvens og rystes. Der skrives med kuglepen på flaskerne, så det tydeligt fremgår hvad der er blandet. Der anvendes separate sprøjter og kanyler både til opblanding og vaccinationen. Efterfølgende kasseres de anvendte sprøjter og kanyler.

Kl. 13.00 Grisene i de enkelte stier A+C, A+D, B+C og B+D – ca. 50 pr. sti vaccineres. I hver sti findes der 11-12 grise som ikke er sat i forsøg og de modtager ingen vaccination.

Der startes med stien A+D, grise presses op i hjørnet med en stor plade og en enkelt gris løftes op, mærkes, vaccineres og slippes løs i stien. Proceduren fortsætter indtil alle grise i stien har modtaget en vaccination. Efter 5 min. får enkelte af grisene det dårligt og der ses opkast og pusten. Grisene virker en smule appatiske og smider sig fladt på side. 10-15% har opkast og ca. halvdelen puster voldsomt. Vaccineproceduren fortsætter i de andre stier og samme mønster gentager sig i alle fire stier. De uvaccinerede grise i alle fire stier er upåvirkede.

På de fire grupper er der vaccineret 177 grise med en gennemsnitsvægt på 6,5 kg.

Efter endt vaccination får grisen ro i 20 min, hvorefter de tilses sammen med fodermesteren som konstaterer at grisene klumper mere end normalt, de puster meget mere og andelen der kaster op er ca. 15 %. Temperaturen i staldafsnittet tjekkes og er de normale 26-27 grader. Ved at gå ind i stien kan grisene drives op, men enkelte er stadig appatiske. Det aftales at grisene opses om et par timer og i tilfælde af en forværring kontaktes Kaj Vestergaard, som forlader besætningen kl. 14.30

Efter en time ringer ejeren og fortæller, at grisene ligger sløvt hen og en enkelt gris i gruppe A+D er død. Besætningsdyrlægen tilkaldes og laver en regelret klinisk undersøgelse af grisene i de enkelte grupper. Der tages temperatur på 5 grise som alle ligger med let feber (38,5 – 39,9). Der observeres ingen forskel på grisenes udtryk grupperne i mellem og i alle grupper ses opkast og pusten og grisene klumper en smule. De uvaccinerede grise er upåvirket i alle fire grupper. Obduktion af grisen fra gruppe A+D viser diffus blødning i hjertemuskulatursom og diffus blødning i nyre cortex – obs pro: forgiftning.

3. november 05:

Telefonisk kontakt til fodermesteren, som fortæller at grisene opfører sig normalt og spiser. Enkelte har lys afføring, men ikke diarre. Det vurderes, at grisene kan sættes i foder og behandling med zink efter normal procedure.