

Rödsjuka i ekologisk slaktgrisproduktion - en jämförelse mellan vaccinerade och inte vaccinerade grisar

Del 2. Serologiska studier

JØRGEN SVENDSEN, PER WALLGREN* OCH ANNE-CHARLOTTE OLSSON

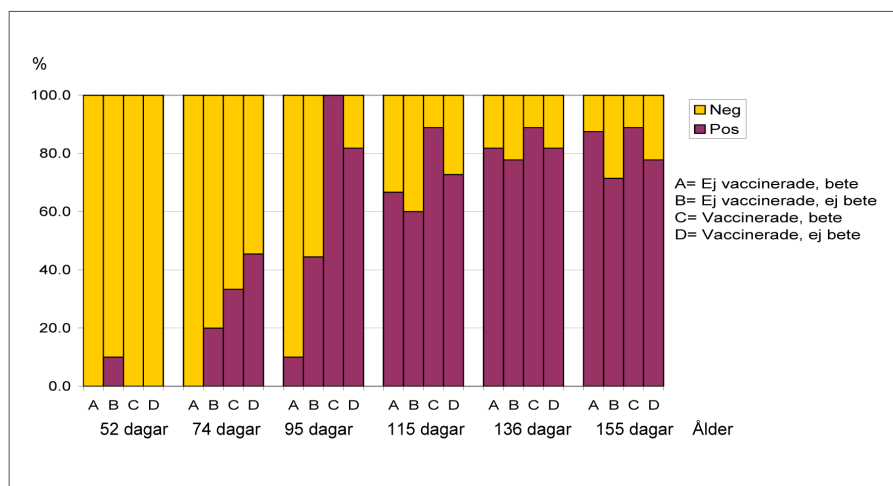
* Enheten för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA, Uppsala

Studierna genomfördes för att få mer information kring serologin vid rödsjuka vid ekologisk slaktgrisproduktion och för att studera behovet och den praktiska effekten av att vaccinera slaktgrisarna mot rödsjuka.

Resultaten visar att exponeringen för rödsjuka bakterier är en realitet i utomhus slaktgrisproduktion och att den kan vara högre än vid inomhus produktion. I den studerade besättningen förekom inga kliniska tecken på rödsjuka. Vid akuta kliniska symptom på sjukdomen och vid ökad incidens av ledinfektioner, som vid utomhus grisproduktion ofta orsakas av rödsjuka bakterier, rekommenderas att slaktgrisar rödsjuka vaccineras. Den använda serologiska metoden är användbar vid besättningsförsök kring rödsjuka. De serologiska resultaten indikerar att en rödsjuka vaccination accelererar grisens antikropsrespons till en naturligt förekommande rödsjuka infektion.

Bakgrund

Sjukdomen rödsjuka hos grisar orsakas av *Erysipelothrix rhusiopathiae* (E.r.), som är en grampositiv bakterie och en möjlig sjukdomsframkallare för ett stort antal djurslag. De immunologiska och serologiska (antigen och antikropsreaktioner) förhållandena vid en rödsjuka infektion och effekterna av en vaccination mot rödsjuka är komplexa och inte ordentligt utredda (Woods, 1999). De flesta kommersiella rödsjuka vacciner är effektiva mot de akuta formerna av rödsjuka, men skyddar endast upp till 6 månader. Det



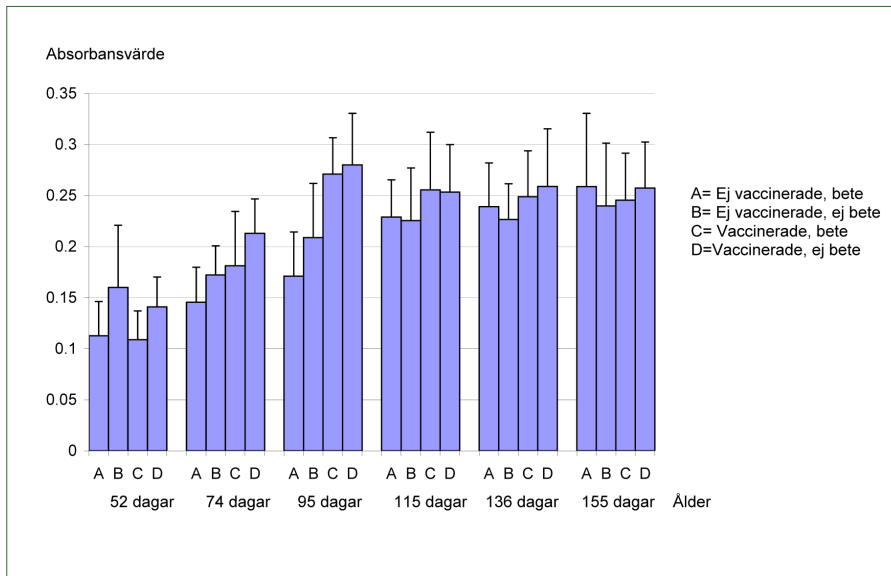
Figur 1. Rödsjuka vaccination i ekologisk slaktgrisproduktion. Andel (%) seropositiva (och seronegativa) grisar. Upprepade provtagningar på samma grisar vid olika åldrar, omgång 3.

har framförts tvetsamheter om dessa vacciner skyddar mot de kroniska formerna orsakade av E.r., som t ex ledinfektioner hos slaktgrisar (Woods, 1999). Sannolikt beror detta till stor del på att djuren inte alltid bildar antikroppar i samband med vaccination (Wallgren et al., 2000). Enligt (Kugelberg et al., 2001) finns dock tydliga belägg för att vaccinationer kan förebygga utvecklingen av ledinfektioner orsakade av rödsjuka infektioner. Ovaccinerade djur med höga antikropsnivåer registrerades ha ledinflammation vid slakt, medan vaccinerade djur med höga antikropsnivåer inte hade ledinfektioner (Kugelberg et al., 2001).

Uppenbarligen stimulerar vaccinerna, som i de flesta fall består av avdödade

rödsjuka bakterier, primärt det cellulära immunsvaret. En hypotes är att djurens immunförsvar reagerar såsom vid en boostervaccinering ("påfyllande" vaccinering) då de exponeras för en så stor dos avdödade rödsjuka bakterier att de hade riskerat att utveckla ledinfektion om dessa hade varit levande. I samband med detta bildas även antikroppar som går att mäta. En annan hypotes är att vaccinationen accelererar grisens antikropsrespons till en naturligt förekommande rödsjuka infektion.

Som del av ett försök med ekologiska inhysningsformer till slaktgrisar (Olsson et al., 2007) vaccinerades hälften av grisarna i 2 försöksomgångar, där grisarna hade tillgång till bete, mot rödsjuka. I en



3 veckor senare. Fem ml blodprov per gris togs från truncus bijugularis med vacucontainer med 1.5 mg EDTA och 1000 KIU Trasytol. Grisarna fixerades med nosbrens. Blodproven nedkyldes omedelbart på is varefter de centrifugerades vid 3000 G i 15 min vid + 4°C. Plasman pipetterades ifrån, fördelades på 3 provrör och förvarades vid -18°C fram till analys. Antikroppar mot E.r. bestämdes med en indirekt ELISA (Wallgren et al., 2000). Gränsvärdet för seropositiv reaktion var $A_{450} > 0,2$ för serum spätt 1/100.

Resultat

De serologiska resultaten från omgång 3 visas i figur 1. Det framgår att andelen grisar som bedömdes vara seropositiva (medelabsorbans över 0,2) ökade med grisarnas ålder. Vid den första vaccinationen vid 52 dagar var en gris seropositiv avseende antikroppar mot E.r. Dessa antikroppar antas ha varit överförda från modern under diandet (maternella) och alltså inte nödvändigtvis ett uttryck för aktiv immunisering mot E.r. Vid andra vaccinationen 3 veckor senare (74 dagar, figur 1) var ca en tredjedel av de vaccinerade grisarna seropositiva medan enbart 10% av de icke vaccinerade grisarna hade tillräckligt höga E.r antikropps nivåer för att bli bedömda som seropositiva. Tre veckor efter andra vaccinationen, - vid en ålder av 95 dagar - då alla grisar hade varit inhysta i Ekostallet i 3 veckor - var 90% av de vaccinerade och 35% av de icke vaccinerade grisarna seropositiva. Fler och fler av de icke-vaccinerade grisarna blev med åldern seropositiva, vid 115 dagars ålder (6 veckor efter insättning i stallet) var mer än 60% av de icke-vaccinerade seropositiva och mer än 80% av de vaccinerade. Vid 136 dagar var 80-90% av alla grisar (vaccinerade och ej vaccinerade) seropositiva och förblev på denna nivå under resterande del av uppväxten. Det fanns inga skillnader mellan djur med tillgång till bete och djur utan. Allmänt visar resultaten att grisarna har exponerats för E.r. och har bildat antikroppar emot dessa.

För att närmare studera mängden av E.r. antikroppar i blodproven visas medelabsorbansvärden på vilka figur 1 ba-

Figur 2. Rödsjukevaccination i ekologisk slaktgrisproduktion. Medelabsorbansvärden ($M \pm SD$) för vaccinerade och icke vaccinerade djur vid olika åldrar, omgång 3.

tidigare publikation (Del 1) rapporteras om de kliniska studierna och de registrerade produktionsresultaten. I denna publikation (Del 2) rapporteras om de serologiska studierna på rödsjukevaccinerade och inte vaccinerade kullsyskon i den aktuella besättningen.

Material och metoder

Försöket genomfördes under 2 sommaromgångar, omgång 3 och 5 med totalt 256 slaktgrisar under ekologiska uppfödningformer och inhysning i Ekostallet (Olsson et al., 2007). Grisarna gick i boxar om 16 grisar per box. I alla boxar hade grisarna tillgång till utomhus betongplatta (EU-regler), och i hälften av boxarna hade de dessutom tillgång till bete (svenska KRAV-regler).

Rödsjukevaccination och serologi.

Det vaccinerades 128 grisar varav 64 hade tillgång till enbart betongplatta utomhus medan 64 dessutom hade tillgång till bete. Övriga 128 kullsyskon var icke-vaccinerade. Grisarna vaccinerades första gången med ett avdödat rödsjukevaccin (Erysorb vet®) vid medelåldern 52 dagar och andra gången 3 veckor senare (medelålder 74 dagar). Insättning i Ekostallet skedde 4

dagar senare (medelålder 78 dagar). I de försökskullar från försöksbesättningen som var ämnade för eko-försöket vaccinerades hälften av kullsyskonen. Urval av vilka djur som vaccinerades gjordes så att könsfördelning och viktsspridning var densamma i gruppen vaccinerade som i gruppen ovaccinerade. Vid insättningen i Eko-stallet fördelades grisarna efter vikt och kön på så sätt att det fanns grisar från alla kullar i alla boxar och så att det i varje box var lika många vaccinerade och ovaccinerade grisar.

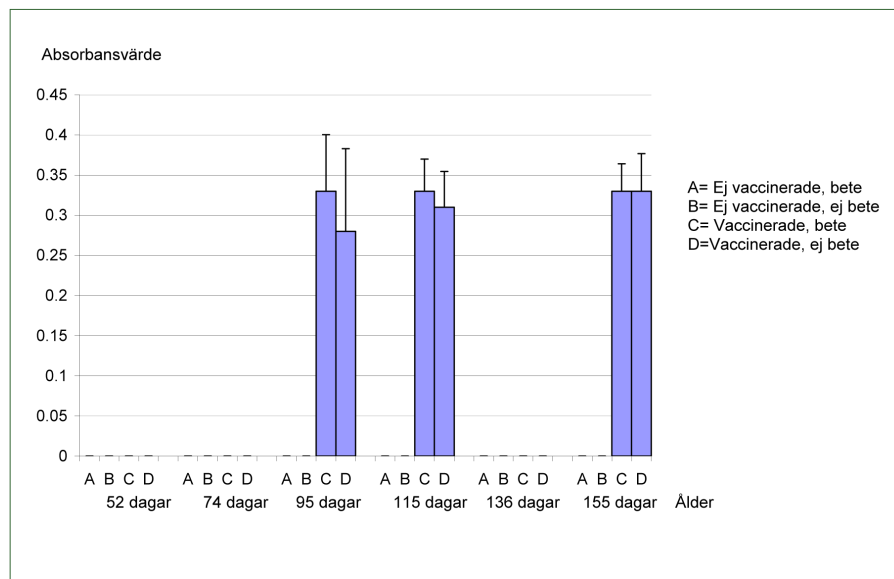
Den serologiska effekten av vaccination utvärderades genom att studera antikropps-nivån mot rödsjuke bakterier i blodprov. Under omgång 3 togs det upprepade blodprov (totalt 6 gånger med 3 veckors intervall) från 5 grisar per box (totalt 40 grisar och 240 blodprov, hälften från vaccinerade grisar, hälften från icke-vaccinerade grisar). Första provtagnings-tillfället var omedelbart före den första rödsjukevaccinationen. Under omgång 5 togs det upprepade blodprov från 40 vaccinerade grisar 3 gånger (totalt 120 blodprov). Första provtagningsstillfället var 3 veckor efter andra rödsjukevaccinationen, andra provtagningen var 3 veckor senare och tredje provtagningen var ytterligare

serar sig i figur 2. Det framgår att värdena allmänt är låga och att de ökar måttligt med åldern. Inom samma behandlingsgrupp finns en viss spridning av absorptionsvärden från gris till gris vilket i figuren markeras med standardavvikelsens storlek. Mellan behandlingsgrupper är spridningen (standardavvikelsen) någorlunda densamma. Det finns alltså inga tydliga indikationer på att enstaka grisar skulle ha utsatts för en aktiv E.r. infektion, vilket också bekräftas av de negativa kliniska fynden. Som framgår av figuren hade djuren vid 115 dagars ålder i princip samma medelabsorptionsvärden oavsett om de var vaccinerade eller inte vaccinerade. Vid 115 dagars ålder har grisarna i detta försök varit i Ekostallet, och haft tillgång till betongplatta utomhus respektive bete, i ca 6 veckor. Åter fanns inga markanta skillnader mellan djur med tillgång till bete och utan.

I omgång 5 följdes 40 av de vaccinerade grisarna serologiskt med upprepade blodprov vid åldern 95, 115 och 155 dagar, alltså togs det första blodprovet 3 veckor efter andra rödsjukevaccinationen. Alla vaccinerade grisar utom en var seropositiva vid 95 dagars ålder, och alla var seropositiva vid de följande 2 provtagningarna (medelabsorptionsvärden över 0,2). De faktiska medelabsorptionsvärdena visas i figur 3. Det framgår att absorptionsvärdena vid samma ålderskategori av grisar allmänt låg lite högre än för omgång 3. Som framgår av figuren finns en viss spridning av värdena inom samma vaccinationsgrupp vilket också observerades för omgång 3. Utveckling och tendenser är i övrigt desamma som för omgång 3. Detta motsvaras också av att inga kliniska fynd av rödsjuka observerades.

Diskussion

Den använda ELISA-metoden för att mäta antikroppar mot E.r. har utvecklats och utvärderats i tidigare studier (Wallgren et al., 2000). Det konkluderades att den serologiska metoden var "applicierbar för att på besättningsnivå avgöra om problem med rödsjuka föreligger eller inte". I närvarande studie var alla serologiska resultat låga (låga absorptionsvärden) vilket



Figur 3. Rödsjukevaccination i ekologisk slaktgrisproduktion. Medelabsorptionsvärden ($M \pm SD$) för vaccinerade djur vid olika åldrar, omgång 5.

också motsvaras av att det inte observerades tecken på rödsjuka bland djuren vare sig under uppväxten eller vid slakt. Å andra sidan har i ursprungsbesättningen under åren diagnostiserats kliniska fall av rödsjuka hos dräktiga gyltor, speciellt i augusti och september månad (Svensden, ej publicerat) och alla suggor och gyltor i besättningen vaccinerades en gång årligen mot rödsjuka. Vid värderingen av de serologiska resultaten och det valda gränsvärdet för positiv reaktion (absorptionsvärdet $>0,2$) bör betänkas att E.r. är naturligt förekommande i miljön och många friska grisar härbärgerar E.r. (Woods, 1999). De flesta grisar kan alltså förväntas ha exponerats för E.r. och därmed också förväntas ha låga nivåer av antikroppar mot E.r. (Wallgren et al., 2000).

Vaccination mot rödsjuka används utbrett inom sugghållningen och är en del av den rutinemässiga sjukdomsmanagement. I studier av immunologisk respons på olika vacciner konkluderades (Eamens et al., 2006) att de bästa vaccinerna utlöste en hög cellulär immunologisk respons och en hög antikropsrespons. Andra studier (Yamazaki et al., 1999) har visat att cirkulerande antikroppar mot vissa rödsjukeantigen (P64) hade en sig-

nifikant skyddande effekt på grisar som blev experimentellt utsatta för rödsjuka. Dessa antikroppar producerades effektivt av levande vaccin.

I våra studier användes ett vanligt förekommande, kommersiellt, avdödat rödsjukevaccin. Denna typ av rödsjukevaccin utlöser inte ett antikrops svar som kan registreras med den använda ELISA-tekniken (Wallgren et al., 2000). Resultaten indikerar däremot att vaccinationen accelererar grisens antikropsrespons till en naturligt förekommande E.r. infektion och vår tolkning är att det är denna antikropsrespons som ELISA-tekniken registrerar.

De icke-vaccinerade grisarna vistades i samma boxar och samma miljö och var dessutom kullsyskonen till de vaccinerade djuren. De hade i början lägre antikropsnivåer jämfört med de vaccinerade. Antalet seropositiva djur ökade med åldern och 6 veckor (115 dagars ålder) efter inflyttning i Ekostallet hade alla djur (vaccinerade och icke-vaccinerade) samma nivå av cirkulerande rödsjukeantikroppar, som alltså i båda fallen var låga. I praktiken var den enda skillnaden i antikropsnivå att den utvecklades tidigare och ökade snabbare hos de vaccinerade än hos de icke-

vaccinerade djuren. De låga antikropps-nivåerna (låga absorptionsvärden) hos såväl vaccinerade som ovaccinerade djur indikerar att smittrycket med E.r. varit lågt.

I de ovan presenterade studierna har i omgång 3 genomförts en regelrätt jämförelse mellan serologiska resultat för rödsjuevaccinerade och icke vaccinerade kullsyskon. De registrerade absorptionsvärdena ökade med grisens ålder och stannade i denna besättning vid ett maxvärde på ca 0,25 då djuren nått 4 månaders ålder. Absorptionsvärdet måste alltså värderas i relation till djurens ålder vilket också är naturligt när värdet, som här, speglar en allmän exponering till E.r. och inte en infektion med klinisk sjukdom. I tidigare studier av ca 5 månader gamla grisar med kliniska tecken på rödsjuka (Wallgren et al., 2000) i en konventionell slaktgrisbesättning har registrerats medelabsorptionsvärden på 0,65. I samma besättning hos ca 5 månader gamla grisar i avdelningar utan rödsjuka var medelabsorptionsvärdet 0,14. I vår studie hade vi inte några kliniska utbrott av rödsjuka och vi känner därför inte antikropps-nivån (absorptionsvärdet) hos grisar med rödsjuka. Vi vet emellertid att rödsjuka förekommer i besättningen och den använda metoden tycks vara bra på att registrera vad som finns av rödsjueantikroppar. Metoden bör därför också kunna användas vid en besättningsutredning kring rödsjuka förutsatt att hänsyn tas till djurens ålder vid bedömningen av resultaten.

Som nämnts låg medelabsorptionsvärdet för omgång 3 på ca 0,25 från det att djuren var 4 månader. För omgång 5 var medelabsorptionsvärdet lite över 0,3 för grisar vid motsvarande ålder. I ovan refererade konventionella besättning (Wallgren et al., 2000) var medelabsorptionsvärdet 0,14 hos friska grisar ca 5 månader gamla. Dessa resultat kan spegla att grisar under ekologiska produktionsformer allmänt exponeras mer för E.r. än vid konventionell produktion.

Referenser

- Eamens, G.J., Chin, J.C., Turner, B. & Barchia, I. 2006. *Evaluation of Erysipelothrix rhusiopathiae vaccines in pigs by intradermal challenge and immune responses*. Vet Microbiol, 116 (1-3), 138-148.
- Kugelberg, C., Johansson, G., Sjögren, U., Bornstein, S. & Wallgren, P. 2001. *Hälsoläget hos utomhusgrisar. I. Infektionssjukdomar och externa parasiter*. Svensk VetTidn, 53, 197-204.
- Olsson, A.-C., Jeppson, K.-H., Botermans, J., Andersson, M., von Wachenfelt, H., Svensson, G. & Svendsen, J. 2007. *Ekologisk slaktgrisproduktion. Del 2 – Produktion, djurhälsa, välfärd, funktion och miljö*. Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för jordbrukets biosystem och teknologi, Rapport 147, Alnarp.
- Wallgren, P., Mattsson, S., Stenström, I.-M., Kugelberg, C. & Sjögren, U. 2000. *Påvisande av serumantikroppar mot Erysipelothrix rhusiopathiae som diagnostisk metod hos gris*. Svensk VetTidn, 52, 69-76.
- Woods, R.L. 1999. Erysipelas. In Straw, B.E., D'Alliere, S., Mengelin, W. & Taylor, D.J. eds. *Diseases of swine, 8th edn.*, Iowa State University Press, 1999, 419-430.
- Yamazaki, Y., Sato, H., Sakakura, H., Shigetani, K., Saito, H. & Maehara, N. 1999. *Protective activity of the purified protein antigen of Erysipelothrix rhusiopathiae in pigs*. Zentralbl Veterinarmed B, 46, 47-55.

Medel till projektet från JV (proj. Nr.:25-10197/06), och från FORMAS och SLU (forskningsprogrammet EKOPIG).