

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 50, No 4 (1999)



Field evaluation of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in fattening pigs

J. MAVROMATIS (Ι. ΜΑΥΡΟΜΜΑΤΗΣ), S. K. KRITAS (Σ.Κ. ΚΡΗΤΑΣ), C. ALEXOPOULOS (Κ. ΑΛΕΞΟΠΟΥΛΟΣ), A. TSINAS (Α. ΤΣΙΝΑΣ), S. C. KYRIAKIS (Σ.Κ. ΚΥΡΙΑΚΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15723](https://doi.org/10.12681/jhvms.15723)

Copyright © 2018, J MAVROMATIS, SK KRITAS, C ALEXOPOULOS, A TSINAS, SC KYRIAKIS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

MAVROMATIS (Ι. ΜΑΥΡΟΜΜΑΤΗΣ) J., KRITAS (Σ.Κ. ΚΡΗΤΑΣ) S. K., ALEXOPOULOS (Κ. ΑΛΕΞΟΠΟΥΛΟΣ) C., TSINAS (Α. ΤΣΙΝΑΣ) A., & KYRIAKIS (Σ.Κ. ΚΥΡΙΑΚΗΣ) S. C. (2018). Field evaluation of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in fattening pigs. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 50(4), 283–291. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15723>

Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας σε επίπεδο εκτροφής ενός ζωντανού εμβολίου κατά του αναπαραγωγικού και αναπνευστικού συνδρόμου του χοίρου σε αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους

Μαυρομάτης Ι.¹, Κρήτας Σ.Κ.², Αλεξόπουλος Κ.³, Τσίνας Α.¹ και Κυριάκης Σ.Κ.¹

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Στη μελέτη αυτή εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα σε επίπεδο εκτροφής, ενός ζωντανού εμβολίου (Porcilis PRRS, Intervet), που προέρχεται από στέλεχος του ιού του αναπαραγωγικού και αναπνευστικού συνδρόμου του χοίρου (ΑΑΣΧ) που απομονώθηκε στον ευρωπαϊκό χώρο. Συγκεκριμένα διερευνήθηκε η ενεργητική προστασία που παρέχει το εμβόλιο αυτό έναντι της αναπνευστικής μορφής του συνδρόμου σε αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους. Ο πειραματισμός έγινε σε μια εκτροφή προσβλημένη από το ΑΑΣΧ, όπου εμβολιάστηκαν 10.000 χοίροι στην ηλικία των 6 εβδομάδων και στη συνέχεια έγινε σύγκριση μεταξύ εμβολιασμένων και ανεμβολίαστων χοίρων που αφορούσε στην κατάσταση της υγείας τους, στη θνησιμότητα, στις παραγωγικές παραμέτρους (μέση ημερήσια αύξηση βάρους, μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής, δείκτης μετατρεψιμότητας τροφής) και στην πιθανή παρουσία παθολόγων βακτηριών στους πνεύμονες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τόσο η συχνότητα εμφάνισης της νόσου όσο και η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερες στα εμβολιασμένα σε σχέση με τα ανεμβολίαστα ζώα. Επίσης, οι εμβολιασμένοι χοίροι είχαν καλύτερες αποδόσεις από τους ανεμβολίαστους σε ό,τι

αφορά στη μέση ημερήσια αύξηση βάρους ($P < 0.05$) και στο δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής ($P < 0.05$), ενώ η μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής ήταν ίδια και στις δύο ομάδες πειραματοζώων ($P > 0.05$). Από τις μικροβιολογικές εξετάσεις προέκυψε σημαντικά μικρότερη προσβολή των πνευμόνων από δευτερογενείς βακτηριακές λοιμώξεις στα ζώα που εμβολιάστηκαν σε σύγκριση με τα ανεμβολίαστα. Σε ό,τι αφορά τη χυμική ανοσοαπάντηση των εμβολιασμένων ζώων, αυτά έδειξαν γρηγορότερα τάση αύξησης των τίτλων των αντισωμάτων σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Επίσης δεν παρατηρήθηκε κλινικά καμία παρενέργεια από τη χρησιμοποίηση του πειραματικού αυτού εμβολίου. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής δείχνουν ότι η ανοσοποίηση των αναπτυσσόμενων/παχυνόμενων χοίρων με το ζωντανό εμβόλιο Porcilis PRRS παρέχει πολύ καλή προστασία έναντι της αναπνευστικής μορφής του ΑΑΣΧ.

Λέξεις ευρετηρίασης: ΑΑΣΧ, ζωντανό εμβόλιο

ABSTRACT. Mavromatis J.¹, Kritas SK.², Alexopoulos C.³, Tsinas A.¹ and Kyriakis SC.¹ Field evaluation of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in fattening pigs. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society 1999, 50(4):283-291.* In this study, a live vaccine based on an European isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome (Porcilis PRRS, Intervet) virus has been tested in order to determine the protection of fattening pigs against the respiratory form of the syndrome under field conditions. Ten thousand pigs in an infected farm were vaccinated against PRRS virus at the age of 6 weeks and were compared to non-vaccinated pigs with respect to their health status, mortality, performance parameters (average daily gain, average daily feed intake, feed conversion ratio) and the presence of specific pathogens in their lungs. The results have shown that treated pigs became less frequently sick and have demonstrated reduced mortality compared to untreated ones. As compared to non-vaccinated animals, PRRS-vaccinated pigs also performed in a better way with respect to feed conversion ratio ($P < 0.05$) and average daily gain ($P < 0.05$), while feed intake was similar for both groups ($P > 0.05$). Bacteriological examinations of the lungs have revealed increased incidence of respiratory bacterial

¹Κλινική Παθολογίας των Παραγωγικών Ζώων, Τομέας Κλινικών, Τμήμα Κτηνιατρικής, ΑΠΘ, 540 06 Θεσσαλονίκη.

²Κλινική Παθολογίας των Ζώων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ΤΘ 199, 431 00 Καρδίτσα.

³Κλινική Μαιευτικής και Τεχνητής Σπερματέγχυσης, Τομέας Κλινικών, Τμήμα Κτηνιατρικής, ΑΠΘ, 540 06 Θεσσαλονίκη.

¹ Clinic of Productive Animal Medicine, Department of Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaloniki, Thessaloniki 540 06, Macedonia, Greece.

² Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessalia, PO Box 199, Karditsa 431 00, Greece.

³ Clinic of Obstetrics and AI, Department of Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaloniki, Thessaloniki 540 06, Macedonia, Greece.

infection in untreated pigs compared to treated ones. Also a tendency for faster antibody response was detected in the vaccinees. Finally, no clinical side effects were observed after the administration of the vaccine. The results of the present study show that immunization with Porcilis PRRS (Intervet) does protect fattening pigs against the respiratory manifestations of PRRS.

Keywords: PRRS, live vaccine

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το αναπαραγωγικό και αναπνευστικό σύνδρομο του χοίρου (ΑΑΣΧ) είναι ένα ιογενές νόσημα που προκαλείται από μέλος της οικογένειας Arteriviridae. Χαρακτηρίζεται από διαταραχές στην αναπαραγωγική δραστηριότητα των ενήλικων χοίρων και από αναπνευστική δυσλειτουργία στους αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους.¹ Το σύνδρομο αυτό αποτελεί σοβαρό πρόβλημα στις περισσότερες χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις, παρ' ότου μπορεί να έχει και ασυμπτωματική εξέλιξη σε εκτροφές με υψηλό επίπεδο υγείας.¹

Όπως ισχύει για τα περισσότερα αερογενούς μετάδοσης νοσήματα, η εκρίζωση του ΑΑΣΧ είναι δύσκολη. Σε ορισμένες μελέτες προτείνεται η χρησιμοποίηση συγκεκριμένων συστημάτων διαχείρισης που στηρίζονται στο σύστημα "all-in, all-out".^{2,3} Ωστόσο, τα συστήματα αυτά δεν έχουν πάντοτε επιτυχία ούτε μπορούν να εφαρμοστούν εύκολα σε όλες τις χοιροτροφικές μονάδες.^{2,3}

Τα αποτελέσματα από τη χρήση εμβολίων για την αντιμετώπιση του ΑΑΣΧ δεν έχουν εκτιμηθεί επαρκώς μέχρι σήμερα. Η χρησιμοποίηση ενός αδρανοποιημένου εμβολίου παρείχε προστασία έναντι της αναπαραγωγικής μορφής της νόσου, αλλά τα αποτελέσματα έναντι της αναπνευστικής μορφής της στους απογόνους των εμβολιασμένων συών δεν ήταν ικανοποιητικά.^{4,5} Σχεδόν ταυτόχρονα παρασκευάστηκε ένα εμβόλιο ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης βασισμένο σε αμερικανικό στέλεχος για χρήση στους αναπτυσσόμενους χοίρους.⁶ Οι αρχικές μελέτες έδειξαν ότι το ζωντανό αυτό εμβόλιο προστάτευε έναντι της αναπνευστικής εκδήλωσης του ΑΑΣΧ, ήταν ασφαλές και δεν μεταδιδόταν σε υγιείς χοίρους.⁶ Θεωρήθηκε, επίσης, αποτελεσματικό για την προστασία όχι μόνο από τα αμερικανικά λοιμογόνα στελέχη αλλά και από το ευρωπαϊκό στέλεχος Lelystad.⁶ Επιπροσθέτως, φάνηκε να βελτιώνει τις παραγωγικές αποδόσεις σε ζώα που είχαν προσβληθεί από το "άγριο" στέλεχος του ιού.⁶ Ωστόσο, όταν το 1996 εισήχθη στην Ευρώπη σε εκτροφές της Δανίας παρουσίασε πολλά προβλήματα, αφού διαπιστώθηκε διασπορά του εμβολιακού ιού ακόμη και σε παρακείμενες οροαρνητικές εκτροφές, στις οποίες δεν εφαρμόστηκε εμβολιασμός και προκαλούσε την εμφάνιση της αναπαραγωγικής μορφής της νόσου, με την ίδια ή και α-

κόμα μεγαλύτερη ένταση σε σύγκριση με το ευρωπαϊκό στέλεχος.^{7,8} Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι εξαιτίας των γενωμικών και αντιγονικών διαφορών που υπάρχουν μεταξύ των αμερικανικών και των ευρωπαϊκών στελεχών,^{9,10,11,12} αφ' ενός η ανοσία που διεγείρεται από το εμβόλιο δεν επαρκεί για να παρεμποδίσει την εξάπλωση άγριων στελεχών του ιού και αφ' ετέρου η ανοσία που διεγείρεται από τα άγρια στελέχη δεν παρεμποδίζει την εξάπλωση του εμβολιακού στελέχους.

Ακόμα πιο πρόσφατα ο Sornsen et al.¹³ έδειξαν ότι σε εκτροφές της Β. Αμερικής, όπου η νόσος ενζωοτεί, ο εμβολιασμός χοιριδίων ηλικίας 2,5 εβδομάδων με το ίδιο εμβόλιο αμερικανικής προέλευσης δεν έχει επίδραση στην ανάπτυξη τους συγκριτικά με ανεμβολίαστους μάρτυρες, ενώ ο εμβολιασμός ιός εξαπλώνεται και στα ανεμβολίαστα ζώα. Αυτές οι παρατηρήσεις πιθανώς δείχνουν ότι η εφαρμογή ενός εμβολίου σε επίπεδο εκτροφής μπορεί να δώσει διαφορετικά αποτελέσματα από αυτά που προέρχονται από ένα περιορισμένο πειραματισμό (controlled study).

Με βάση τα παραπάνω μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι τόσο η προέλευση του εμβολιακού στελέχους όσο και οι συνθήκες εκτροφής καθορίζουν την αποτελεσματικότητα ενός εμβολίου. Με τις σκέψεις αυτές, είναι προφανές ότι ένα εμβόλιο που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης πρέπει να στηρίζεται σε ευρωπαϊκό στέλεχος του ιού. Όσα στελέχη έχουν απομονωθεί στην Ευρώπη έως σήμερα φαίνεται να έχουν σημαντικές ομοιότητες με το στέλεχος αναφοράς του ΑΑΣΧ, το στέλεχος Lelystad.⁹ Γι' αυτό το λόγο στη μελέτη αυτή εξετάζεται η αποτελεσματικότητα ενός ζωντανού εμβολίου που προέρχεται από ένα ευρωπαϊκό στέλεχος του ιού, σε ό,τι αφορά στην παροχή ενεργητικής προστασίας σε αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους έναντι της αναπνευστικής μορφής του ΑΑΣΧ κάτω από συνθήκες εκτροφής.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Εκτροφή και πειραματόζωα

Η μελέτη έγινε σε μια κλειστή χοιροτροφική εκμετάλλευση σε περιοχή με μεγάλη πυκνότητα χοίρων, δυναμικότητας 3.500 συών. Η εκτροφή ήταν προσβλημένη από το ΑΑΣΧ ήδη από το 1993. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η παρουσία της νόσου στην εκτροφή, τέσσερις μήνες πριν από την έναρξη των πειραματισμών λήφθηκαν δείγματα αίματος για ορολογικές εξετάσεις από μερικούς αναπτυσσόμενους χοίρους στην ηλικία των 6, 10 και 14 εβδομάδων.

Ο απογαλακτισμός στη συγκεκριμένη εκτροφή γινόταν στην ηλικία των 3,5 εβδομάδων με τη μορφή εβδομαδιαίων παρτίδων, 1.250 περίπου χοιριδίων η κάθε μία. Στη συνέχεια όλα τα χοιρίδια της κάθε παρτίδας μεταφέρονταν σε ένα μόνο κτίριο, έτσι ώστε σε κάθε κτίριο υπήρχε

μία μόνο παρτίδα χοιριδίων. Εκεί, τα χοιρίδια διαμοιράζονταν σε 60 κελιά των 20 περίπου ζώων το καθένα, όπου και παρέμεναν μέχρι τη σφαγή, δηλαδή μέχρι την ηλικία των 23 εβδομάδων (σωματικό βάρος 95-100 kg).

Όλοι οι παχυνόμενοι χοίροι στην εκτροφή ήταν υβρίδια Dalland Ολλανδίας και διατρέφονταν με 3 σιτηρέσια ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης [1ο στάδιο=απογαλακτισμός έως ηλικία 7 εβδομάδων, 2ο στάδιο=από την ηλικία των 8 έως και των 17 εβδομάδων (ανάπτυξη) και 3ο στάδιο=από την ηλικία των 18 έως και των 23 εβδομάδων (πάχυνση)]. Όλα τα ζώα αναπαραγωγής της εκτροφής εμβολιάζονταν έναντι της νόσου του Aujeszky (NA), της γρίπης (ΓΧ), της παρβοϊώσης, της ατροφικής ρινίτιδας, της εντεροτοξιναιμίας, της κολοβακτηριδίασης και της ερυθράς. Όλοι οι αναπτυσσόμενοι χοίροι εμβολιάζονταν στην ηλικία των 6 και 10 εβδομάδων έναντι της πλευροπνευμονίας (Actinoporc, Intervet) και στην ηλικία των 10 και 14 εβδομάδων έναντι της NA (Nobi-Porcvac-Aujeszky live, Intervet) και της ΓΧ (Griporiffa, Rhone Merieux). Ειδικότερα, το εμβόλιο της πλευροπνευμονίας περιείχε τις ανατοξίνες OMP, Apx I, Apx II και Apx III του *Actinobacillus pleuropneumoniae*, το εμβόλιο της NA περιείχε το ζωντανό στέλεχος Begonia (gE-αρνητικό), ενώ το νεκρό εμβόλιο της ΓΧ περιείχε στελέχη H_1N_1 και H_3N_2 . Τα ίδια εμβολιακά σκευάσματα έναντι της NA και της ΓΧ χρησιμοποιήθηκαν και στα ζώα αναπαραγωγής.

Εμβολιακός ιός

Για τον εμβολιασμό χρησιμοποιήθηκε το εξασθενημένο στέλεχος DV (Porcilis PRRS, Intervet), που προέρχεται από ευρωπαϊκό στέλεχος του ιού του ΑΑΣΧ.

Σε κάθε αναπτυσσόμενο χοίρο χορηγήθηκε ενδομυϊκά στην ηλικία των 6 εβδομάδων μία δόση εμβολίου που περιέχει $10^{3.5}$ TCID₅₀ εμβολιακού ιού διαλυμένα σε 2 ml ανοσοενισχυτικού τοκοφερόλης (Diluvac Forte, Intervet).

Πειραματικός σχεδιασμός

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 16 διαδοχικές παρτίδες απογαλακτισμένων χοίρων (16 παρτίδες x 1.250 χοίροι = 20.000 ζώα). Εκ περιτροπής κάθε παρτίδα συμμετείχε στον πειραματισμό είτε στην ομάδα των μαρτύρων είτε στην ομάδα των εμβολιασμένων κατά του ΑΑΣΧ χοίρων, ώστε τελικά καθεμία πειραματική ομάδα να περιλαμβάνει περίπου 10.000 (8 x 1.250) χοίρους.

Η καταγραφή των παρενεργειών του εμβολίου, της κατάστασης υγείας, των θεραπευτικών αγωγών στα ασθενή ζώα και της θνησιμότητας έγινε στο σύνολο της κάθε ομάδας και ξεχωριστά για κάθε παρτίδα και για κάθε στάδιο ανάπτυξης.

Για την καταγραφή των παραγωγικών παραμέτρων επιλέχθηκαν τυχαία 2 κελιά από κάθε παρτίδα (2 κελιά/παρτίδα x 8 παρτίδες/ομάδα = 16 πειραματικές επαναλή-

ψεις/ομάδα). Οι 40 χοίροι των κελιών αυτών σημάνθηκαν και παρακολούθηθηκαν μέχρι τη σφαγή (40 χοίροι/παρτίδα x 8 παρτίδες = 320 χοίροι ανά πειραματική ομάδα). Συγκεκριμένα, μετρήθηκαν η μέση ημερήσια αύξηση βάρους (ΜΗΑ) ανά χοίρο, ενώ η μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής (ΜΗΚΤ) και ο δείκτης μετατρεψιμότητας τροφής (ΔΜΤ) υπολογίστηκαν ανά κελί. Επίσης, από τους 40 σημασμένους χοίρους κάθε παρτίδας, επιλέχθηκαν αρχικά 2 χοίροι από τους οποίους ακολούθως λήφθηκαν δείγματα αίματος στην ηλικία των 10, 17 και 23 εβδομάδων καθώς και οι πνεύμονές τους μετά τη σφαγή (συνολικά 48 δείγματα αίματος και 16 δείγματα πνευμόνων ανά πειραματική ομάδα).

Τα δείγματα αίματος χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των τίτλων των αντισωμάτων κατά των ιών του ΑΑΣΧ, της NA και της ΓΧ με τις δοκιμές του ανοσοφθορισμού, της οροεξουδετέρωσης και της αναστολής της αιμοσυγκόλλησης (στελέχη New Jersey- H_1N_1 και Port Chalmers- H_3N_2), αντίστοιχα. Επιπροσθέτως, για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά της gE γλυκοπρωτεΐνης του ιού της NA χρησιμοποιήθηκε εμπορικό kit (IDEXX).

Τα δείγματα πνευμόνων υποβλήθηκαν σε βακτηριολογικές εξετάσεις (καλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ και σε MacConkey άγαρ) για την ταυτοποίηση *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, *Staphylococcus spp.* και *Proteus spp.*

Τέλος, έγιναν κλινικές παρατηρήσεις για διάστημα 6 μηνών μετά τη λήξη του πειραματισμού σχετικές με την πιθανότητα διασποράς του εμβολίου στον ευαίσθητο αναπαραγωγικό πληθυσμό της εκτροφής.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη μέθοδο της ανάλυσης της διακύμανσης, χρησιμοποιώντας τα General Linear Models (GLM) του συστήματος SAS (Version 6.12 for Windows, 1996; Site No:84912001/SAS Institute Inc. Cary, NY 27513, USA) που είναι εγκατεστημένο στην Κλινική Παθολογίας των Παραγωγικών Ζώων του ΑΠΘ.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρενέργειες

Δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες γενικευμένου ή εντοπισμένου χαρακτήρα μετά από τη χορήγηση του εμβολίου σε οποιοδήποτε ζώο. Ακόμη δεν παρατηρήθηκε κάποια έξαρση κλινικών συμπτωμάτων στον αναπαραγωγικό πληθυσμό της εκτροφής για διάστημα 6 μηνών μετά τη λήξη του πειραματισμού.

Κατάσταση υγείας και θνησιμότητα

Στους χοίρους πέντε (5) παρτίδων μαρτύρων κατά το

Πίνακας 1. Θνησιμότητα χοίρων κατά τα διάφορα στάδια ανάπτυξης/πάχυνσης στις δύο πειραματικές ομάδες

Στάδιο ανάπτυξης-πάχυνσης (εβδομάδες)	Θνησιμότητα χοίρων	
	Αριθμός νεκρών χοίρων / Συνολικός αριθμός χοίρων (%)	
	Μάρτυρες	ΑΑΣΧ-εμβολιασμένοι
1 ^ο (3,5 - 7)	236 / 9962 (2,37%)	246 / 9940 (2,47%)
2 ^ο (8 - 17)	348 / 9726 (3,58%)	87 / 9694 (0,88%)
3 ^ο (18 - 23)	163 / 9378 (1,74%)	9 / 9607 (0,09%)
Σύνολο (3,5-23)	747 / 9962 (7,5%) ^b	342 / 9940 (3,44%) ^a

^{a,b} Τα ποσοστά στην ίδια σειρά με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0.05)

στάδιο της ανάπτυξης και τριών (3) παρτίδων κατά το στάδιο της πάχυνσης -συνολικά οκτώ (8) παρτίδων- παρατηρήθηκαν έντονα αναπνευστικά συμπτώματα, όπως βήχας και δύσπνοια. Στις περιπτώσεις αυτές χορηγήθηκε για 7 ημέρες με την τροφή συνδυασμός sulfadimidine με oxytetracycline ή sulfadimidine με trimethoprim. Αναπνευστικά συμπτώματα παρατηρήθηκαν και σε δύο (2) μόνο παρτίδες εμβολιασμένων ζώων έναντι του ΑΑΣΧ, κατά το στάδιο της πάχυνσης. Στη μια από τις περιπτώσεις αυτές τα συμπτώματα ήταν ελαφρά και υποχώρησαν σε δύο ημέρες χωρίς θεραπεία, ενώ στην άλλη περίπτωση τα συμπτώματα ήταν έντονα και χορηγήθηκε για 7 ημέρες με την τροφή συνδυασμός sulfadimidine με oxytetracycline.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 1, η θνησιμότητα τόσο συνολικά όσο και κατά τις επιμέρους περιόδους ανάπτυξης και πάχυνσης ήταν μεγαλύτερη στα ανεμβολίαστα ζώα σε σχέση με τα ΑΑΣΧ-εμβολιασμένα (P<0.05). Στους μάρτυρες παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα εκδήλωσης αναπνευστικών συμπτωμάτων, διάρροιας και στρεπτοκοκκικής μηνιγγίτιδας, ενώ στα εμβολιασμένα ζώα παρατηρούνταν σε μικρότερο βαθμό αναπνευστικά προβλήματα και τα ίδια περίπου ποσοστά διάρροιας και μηνιγγίτιδας.

Παραγωγικές παράμετροι

Όπως φαίνεται στον πίνακα 2, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στο μέσο σωματικό βάρος των χοιριδίων μεταξύ των δύο (2) ομάδων κατά τον απογαλακτισμό, δηλαδή κατά την έναρξη του πειραματισμού. Ωστόσο, κατά την έναρξη του σταδίου της ανάπτυξης, τα ΑΑΣΧ-εμβολιασμένα ζώα ήταν κατά 1,44 kg βαρύτερα από τους μάρτυρες και στη συνέχεια η διαφορά αυτή αυξήθηκε ακόμη περισσότερο (P<0.05). Έτσι, οι εμβολιασμένοι χοίροι ήταν κατά 3,67 kg και 6,12 kg βαρύτεροι από τους μάρτυρες κατά την έναρξη του σταδίου της πάχυνσης και κατά τη σφαγή, αντίστοιχα (P<0.05). Επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερη ΜΗΑ βάρους (P<0,05) και σημαντικά μι-

Πίνακας 2. Μέσο σωματικό βάρος (± SD) των χοίρων στις δύο πειραματικές ομάδες σε διάφορες ηλικίες

Ηλικία (Εβδομάδες)	Μέσο σωματικό βάρος (kg)	
	Μάρτυρες	ΑΑΣΧ-εμβολιασμένοι
3,5	8,08 ^a ± 0.91	8,13 ^a ± 0.96
7	25,25 ^a ± 2.48	26,69 ^b ± 2.70
17	51,79 ^a ± 4.44	55,46 ^b ± 4.60
23	92,38 ^a ± 6.32	98,50 ^b ± 6.92

^{a,b} Οι μέσοι όροι στην ίδια σειρά με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0.05)

κρότερος ΔΜΤ (P<0,05) στα ζώα που εμβολιάστηκαν σε σύγκριση με τους μάρτυρες σε όλα τα στάδια ανάπτυξης αλλά και στη συνολική περίοδο πειραματισμού (πίνακας 3). Αντίθετα, η ΜΗΚΤ δεν φαίνεται να επηρεάστηκε από τον εμβολιασμό (P>0.05).

Ορολογικές εξετάσεις

Στα δείγματα που λήφθηκαν από τους μη εμβολιασμένους αναπτυσσόμενους χοίρους κατά την προπειραματική περίοδο ανιχνεύθηκαν ειδικά αντισώματα κατά του ΑΑΣΧ στο 22%, στο 31% και στο 100% των χοίρων στην ηλικία των 6, 10 και 14 εβδομάδων αντίστοιχα (πίνακας 4).

Κατά την πειραματική περίοδο, το 69% των εμβολιασμένων χοίρων ανέπτυξαν αντισώματα κατά του ΑΑΣΧ στην ηλικία των 10 εβδομάδων, ενώ στην ηλικία των 14 και των 23 εβδομάδων όλοι οι χοίροι ήταν οροθετικοί. Οι μέσοι τίτλοι αντισωμάτων στις αντίστοιχες ηλικίες ήταν 4,4, 6,3 και 6,4 log₂. Η ορολογική εικόνα των μαρτύρων ήταν διαφορετική αφού στην ηλικία των 10, 14 και 23 εβδομάδων βρέθηκαν αντισώματα στο 56%, 81% και 100% των χοίρων αντίστοιχα. Οι μέσοι τίτλοι αντισωμάτων στις αντίστοιχες ηλικίες ήταν 3,1, 5,3 και 7,1 log₂.

Πίνακας 5

Τίτλοι αντισωμάτων έναντι του ιού της νόσου του Αujeszky στους χοίρους των δύο πειραματικών ομάδων σε διάφορα στάδια ανάπτυξης-πάχυνσης

Τίτλοι αντισωμάτων (log ₂) κατά του ιού της νόσου του Αujeszky*							
Χοίροι μη εμβολιασμένοι κατά του ΑΑΣΧ				Χοίροι εμβολιασμένοι κατά του ΑΑΣΧ			
Αριθ. χοίρου	10**	14	23	Αριθ. χοίρου	10	14	23
2a	7	5	7	1a	3	3	10
2b	3	3	5	1b	4	5	9
4a	2	5	7	3a	3	<1	11
4b	7	5	8	3b	2	1	8
6a	3	8	10	5a	5	9	8
6b	2	12	11	5b	3	8	9
8a	3	4	7	7a	5	5	8
8b	3	9	9	7b	3	6	8
10a	2	4	10	9a	6	6	8
10b	5	6	8	9b	5	4	10
12a	3	4	7	11a	3	12	6
12b	3	4	7	11b	5	6	8
14a	5	7	9	13a	5	9	9
14b	6	5	11	13b	7	8	9
16a	2	8	8	15a	4	10	6
16b	5	3	8	15b	2	7	9
	3,8/100%†	5,8/100%	8,3/100%		4,1/100%	6,2/94%	9,1/100%

* Οι εμβολιασμοί κατά του ιού της νόσου του Αujeszky έγινε στην ηλικία των 10 και 14 εβδομάδων

** Ηλικία κατά την αιμοληψία (σε εβδομάδες) † Μέσος όρος συνόλου /% οροθετικοί χοίροι

μαρτύρων και των εμβολιασμένων αντίστοιχα), ενώ στο τέλος της περιόδου πάχυνσης τα ποσοστά αυτά ήταν μεγαλύτερα (69% και 75% αντίστοιχα). Ο τίτλος αντισωμάτων ήταν αρχικά χαμηλός (0,8 και 1,7 log₂ για τους μάρτυρες και τα εμβολιασμένα ζώα αντίστοιχα), ενώ στο τέλος της πάχυνσης αυξήθηκε (3,9 και 4,4 log₂ αντίστοιχα) (πίνακας 6).

Εξέταση των πνευμόνων

Κατά τη μακροσκοπική εξέταση των πνευμόνων βρέθηκαν αλλοιώσεις πνευμονίας στους 2 από τους 16 πνεύμονες των ΑΑΣΧ-εμβολιασμένων ζώων και στους 4 από τους 16 πνεύμονες των μαρτύρων. Από τα μισά περίπου δείγματα πνευμόνων των μαρτύρων απομονώθηκαν τα βακτήρια *P. multocida*, *S. suis*, *Staphylococcus spp.* και *Proteus spp.* σε αντίθεση με τους πνεύμονες των ΑΑΣΧ-εμβολιασμένων ζώων, από τους οποίους μόνο περιστασιακά απομονώθηκαν οι παθογόνοι αυτοί μικροοργανισμοί (πίνακας 7). Η συχνότητα, όμως εμφάνισης του *A. pleuropneumoniae* στους μάρτυρες και τα ΑΑΣΧ-εμβολιασμένα ζώα ήταν παρόμοια και παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για τη μελέτη αυτή, επιλέχθηκε μια μεγάλη εκτροφή

σε μια περιοχή με μεγάλη πυκνότητα χοίρων, έτσι ώστε να επιτευχθεί ένα πρακτικό "μοντέλο" για τις περιοχές με μεγάλο αριθμό χοίρων. Εκτός αυτού, οι κοινές παράμετροι (γενετικό δυναμικό, διαχείριση, διατροφή, σταβλισμός, θεραπευτικά και εμβολιαστικά προγράμματα) που παρέχονται σε μια τέτοια εκτροφή μειώνουν την παραλλακτικότητα κατά την εκτέλεση του πειραματισμού τόσο μεταξύ των ομάδων όσο και μεταξύ των παρτίδων. Τα ζώα και των δύο πειραματικών ομάδων, πέραν του υπό έλεγχο εμβολίου, υποβλήθηκαν και σε άλλους τρεις εμβολιασμούς για τη ΝΑ, τη ΓΧ και την πνευμονοπνευμονία, έτσι ώστε να διασφαλιστεί ο πειραματισμός σε όλη τη διάρκειά του από πιθανή αλλοίωση των αποτελεσμάτων λόγω προσβολής ή αναζωπύρωσης από τα αντίστοιχα νοσήματα. Πράγματι, τόσο η ορολογική εικόνα σε ό,τι αφορά τους ιούς της νόσου του Αujeszky και της γρίπης (πίνακες 5 και 6) όσο και η συχνότητα απομόνωσης του *A. pleuropneumoniae* από τους πνεύμονες των εξετασθέντων ζώων (πίνακας 7) ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο πειραματικών ομάδων, κάτι που δείχνει ότι οι παρατηρούμενες διαφορές οφείλονταν στο εμβόλιο που δοκιμάστηκε. Επίσης, τα ορολογικά αποτελέσματα της προπειραματικής περιόδου και το γεγονός ότι όλοι οι μάρτυρες είχαν αντισώματα κατά του ΑΑΣΧ στην ηλικία σφαγής φανερώνει ότι υπήρχε ενεργό

Πίνακας 6

Τίτλοι αντισωμάτων έναντι του ιού της γρίπης σε χοίρους των δύο πειραματικών ομάδων σε διάφορα στάδια ανάπτυξης-πάχυνσης

Τίτλοι αντισωμάτων με αναστολή της αιμοσυγκόλλησης (log2) κατά του ιού της γρίπης*													
Χοίροι μη εμβολιασμένοι κατά του ΑΑΣΧ							Χοίροι εμβολιασμένοι κατά του ΑΑΣΧ						
Αριθ. χοίρ.	Port Chalmers (H ₃ N ₂)			New Jersey (H ₁ N ₁)			Αριθ. χοίρ.	Port Chalmers (H ₃ N ₂)			New Jersey (H ₁ N ₁)		
	10**	14	23	10	14	23		10	14	23	10	14	23
2a	8	10	5	<3	4	6	1a	8	8	7	6	9	7
2b	5	9	6	<3	5	6	1b	8	9	6	<3	6	9
4a	7	8	6	<3	<3	5	3a	4	<3	5	<3	5	7
4b	7	5	6	4	4	6	3b	4	<3	5	<3	5	6
6a	4	5	6	<3	<3	<3	5a	6	5	<3	5	<3	6
6b	5	4	6	<3	<3	5	5b	6	6	5	5	<3	4
8a	5	6	8	<3	<3	6	7a	5	6	5	<3	5	5
8b	5	6	8	<3	8	7	7b	<3	5	<3	<3	6	7
10a	4	5	7	<3	<3	4	9a	4	4	5	<3	<3	4
10b	6	5	6	<3	<3	5	9b	4	4	4	<3	<3	4
12a	4	7	<3	<3	6	<3	11a	<3	<3	6	<3	<3	5
12b	4	7	6	<3	6	<3	11b	5	<3	5	<3	<3	6
14a	<3	7	6	<3	7	7	13a	4	7	6	<3	7	<3
14b	6	7	5	5	7	5	13b	<3	8	6	<3	4	<3
16a	4	6	5	4	10	<3	15a	6	6	5	5	4	<3
16b	7	<3	<3	<3	<3	<3	15b	6	6	5	6	4	<3
	5,1 /94%	6,1 /94%	5,4 /88%	0,8 /19%	3,6 /56%	3,9 /69%		4,4 /81%	4,6 /75%	4,7 /88%	1,7 /31%	3,4 /63%	4,4 /75%

* Οι εμβολιασμοί κατά του ιού της γρίπης έγιναν στην ηλικία των 10 και 14 εβδομάδων

** Ηλικία κατά την αιμοληψία (σε εβδομάδες)

† Μέσος όρος συνόλου /% οροθετικοί χοίροι

γός λοίμωξη με "άγριο" ιό στην εκτροφή, ο οποίος και κυκλοφορούσε μεταξύ των αναπτυσσόμενων/παχυνόμενων χοίρων. Αυτό το εύρημα ενισχύει την επιλογή της εκτροφής αυτής ως κατάλληλης για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του συγκεκριμένου εμβολίου.

Η εφαρμογή του εμβολίου έδειξε να παρέχει προστασία έναντι του λοιμογόνου ιού, όπως αυτό φαίνεται από τη σημαντική μείωση της συχνότητας εμφάνισης ασθενών ζώων και της χαμηλής θνησιμότητας ανάμεσα στα ΑΑΣΧ-εμβολιασμένα ζώα μετά την εφαρμογή του εμβολιασμού, κατά το στάδιο της ανάπτυξης και της πάχυνσης (P<0,05). Και οι δύο αυτές παράμετροι συνεπάγονται μικρότερες οικονομικές επιβαρύνσεις για την επιχείρηση από θανάτους και από χρήση φαρμάκων. Πέρα από την ανοσολογική απάντηση στους χοίρους και των δύο ομάδων λόγω της παρουσίας του "άγριου" ιού, οι ορολογικές εξετάσεις έδειξαν και ένα σχετικό πλεονέκτημα των εμβολιασμένων ζώων σε σύγκριση με τα μη εμβολιασμένα σε ό,τι αφορά τα ποσοστά οροθετικών ζώων και τον τίτλο των αντισωμάτων τους. Είναι όμως ευρύτερα γνωστό ότι πέρα από τη χυμική ανοσία, η χορήγηση ενός εμβολιακού ζωντανού ιού πυροδοτεί και την εμφάνιση της κυτταρικής ανοσίας, η οποία -αν και δύσκολο να μετρηθεί- θεωρείται υπεύθυνη

σε μεγάλο βαθμό για την προστασία του οργανισμού από ιούς.¹ Στη μελέτη αυτή, και οι δύο αυτοί τύποι ανοσίας είναι πιθανώς υπεύθυνοι για την άμεση προστατευτική δράση του εμβολίου έναντι του κυκλοφορούντος "άγριου" ιού.

Αρκετοί συγγραφείς έχουν πειραματιστεί με μικτές μολύνσεις του ιού του ΑΑΣΧ με άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κλινική εκδήλωση που προκαλείται από το συνδυασμό των δύο παραγόντων είναι πολύ πιο έντονη σε σύγκριση με αυτή που προκαλείται από τον καθένα παράγοντα ξεχωριστά.^{14,15,16,17} Αυτό φαίνεται εύλογο αν ληφθεί υπόψη ότι ο ιός του ΑΑΣΧ προσβάλλει τα μακροφάγα κύτταρα του πνεύμονα και επιδρά αρνητικά στην τοπική ανοσία, βοηθώντας με αυτό τον τρόπο τις δευτερογενείς μολύνσεις. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι, εκτός από την άμεση προστασία από τον "άγριο" ιό, το υπό εξέταση εμβόλιο παρέχει και έμμεση προστασία, προφανώς επηρεάζοντας τοπικά την αμυντική ικανότητα του αναπνευστικού συστήματος να αντιμετωπίζει αποτελεσματικά παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Staphylococcus spp.* και *Proteus spp.* (πίνακας 7). Μία ακόμη παρατήρηση στη μελέτη αυτή ήταν η παρουσία σχετικά υψηλών τίτλων αντι-

Πίνακας 7

Απομόνωση διαφόρων βακτηρίων από πνεύμονες χοίρων των δύο πειραματικών ομάδων κατά την ηλικία σφαγής

Είδος μικροοργανισμού	Απομόνωση βακτηρίων από τους πνεύμονες Αριθμός θετικών χοίρων / Αριθμός εξετασθέντων χοίρων	
	Μάρτυρες	ΑΔΣΧ-εμβολιασμένοι
<i>P. multocida</i>	7/16	1/16
<i>A. pleuropneumoniae</i>	2/16	0/16
<i>Streptococcus suis</i>	10/16	1/16
<i>Staphylococcus spp</i>	7/16	0/16
<i>Proteus spp</i>	5/16	0/16

σωμάτων κατά του οροτύπου H₃N₂ της ΓΧ στην ηλικία των 10 εβδομάδων, οι οποίοι, όμως, είναι δύσκολο να προέρχονται από μητρική ανοσία. Τα αντισώματα αυτά, προφανώς, προέρχονται από προσβολή με τον οροτύπο αυτό πριν από την ηλικία των 10 εβδομάδων, κάτι που έχει βρεθεί και από άλλες παρόμοιες πειραματικές μελέτες.¹⁸

Ο αλάνθαστος όμως δείκτης εκτίμησης της προστατευτικής δράσης ενός εμβολίου και που σε τελική ανάλυση έχει και τη μεγαλύτερη σημασία για την εκμετάλλευση εξακολουθεί να παραμένει η παραγωγικότητα του ζώου. Στη μελέτη αυτή, οι παραγωγικές παράμετροι στους εμβολιασμένους χοίρους ήταν σημαντικά βελτιωμένες σε σύγκριση με τους μάρτυρες ($P < 0.05$), κάτι που υποδηλώνει την καλύτερη κατάσταση της υγείας τους. Ειδικότερα, στην ηλικία σφαγής (23 εβδομάδες) το βάρος των εμβολιασμένων χοίρων ήταν κατά 6,6% υψηλότερο σε σχέση με τους ανεμβολίαστους, ενώ σε όλη τη διάρκεια του πειραματισμού (ηλικία 3,5-23 εβδομάδες) η ΜΗΑ βάρους αυξήθηκε κατά 7,1% και ο ΔΜΤ μειώθηκε κατά 8,6% ($P < 0.05$). Οι παραπάνω μεταβολές μπορούν να θεωρηθούν ιδιαίτερα σημαντικές αν ληφθεί υπόψη ότι η βελτίωση της παραγωγικότητας που επιτυγχάνεται με τη συνεχή χρήση αυξητικών παραγόντων από τον απογαλακτισμό μέχρι τη σφαγή των χοίρων δεν αναμένεται να ξεπερνά το 5%.¹⁹

Σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη, ο Sorsen et al. δεν βρήκαν επίδραση του αντίστοιχου αμερικανικού ζωντανού εμβολίου στην ανάπτυξη χοίρων σε εκτροφές της Β. Αμερικής όπου ενζωοτεί η νόσος.¹³ Είναι πιθανό, η αντιγονική και επομένως η ανοσοποιητική δράση εκείνου του εμβολιακού στελέχους να είναι μικρότερη από αυτή του στελέχους της παρούσας μελέτης. Ωστόσο, δεν μπορεί να γίνει απόλυτη σύγκριση μεταξύ των δύο πειραματισμών. Το αμερικανικό εμβόλιο δοκιμάστηκε σε ζώα μικρότερης ηλικίας (5 ημερών και 17 ημερών) που έχουν μικρότερη ικανότητα ανοσολογικής απάντησης και τα ζώα εκείνα παρατηρήθηκαν μόνο μέχρι την ηλικία των 7 εβδομάδων. Μια άλλη βασική διαφορά ήταν ότι στη μελέτη του Sorsen et al. τα εμβολιασμένα ζώα στεγάζονταν στον ίδιο χώρο

με τα ανεμβολίαστα και δεδομένου ότι υπήρχε διασπορά του εμβολιακού στελέχους, γινόταν ταυτόχρονη ανοσοποίηση και των "ανεμβολίαστων" ζώων με αποτέλεσμα την εξομοίωση των πειραματικών ομάδων με εκείνη των μαρτύρων.¹³ Στην παρούσα μελέτη δεν έγινε εργαστηριακός έλεγχος της διασποράς του εμβολιακού στελέχους, όμως η στέγαση των ομάδων σε διαφορετικά κτίρια επέτρεψε να διαφανεί η προστατευτική δράση του εμβολίου. Μια ακόμα ένδειξη για την έλλειψη διασποράς του εμβολιακού στελέχους θα μπορούσε να αποτελέσει και η απουσία αναπαραγωγικών διαταραχών στις ανεμβολίαστες σύες της εκτροφής για διάστημα ενός εξαμήνου μετά το τέλος των πειραματισμών.

Ο πειραματισμός αυτός αποδεικνύει για μια φορά ακόμα την ανάγκη του ελέγχου στην πράξη όλων των νέων ανοσολογικών προϊόντων και μάλιστα σε μεγάλο αριθμό παραγωγικών ζώων και όχι σε "μικρά" εργαστηριακού τύπου πειράματα όπως αυτό μέχρι σήμερα έχει επικρατήσει.

Γνωστοποίηση σχετικά με τη διεξαγωγή του πειραματισμού

Η μελέτη αυτή έγινε μετά από άδεια πειραματισμού του ΕΟΦ (Κ-18/6.3.97, Αρ. Πρωτ. 1785/Δ4/32) και έγκριση της Διεύθυνσης Κτηνιατρικής Ευβοίας (215040/22.11.96) για διεξαγωγή πειράματος σε ζώα. Η χρηματοδότηση έγινε από την Intervet International μέσω της Επιτροπής Ερευνών του ΑΠΘ (Κωδικός έργου 4707. Επιστημονικά υπεύθυνος: Καθηγητής Σπ. Κ. Κυριάκης).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Meredith MJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). Pig Disease Information Centre, University of Cambridge. Publisher: Boehringer Ingelheim, 1995
2. Dee SA, Morrison RB, Joo HS. Eradicating porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus using two-site production and nursery depopulation. Swine Health and Production, 1993, 1: 20-23
3. Dee SA, Joo HS, Polson DD, Park BK, Pijoan C, Molitor TW, Collins JE, King V. Evaluation of the effects of nursery depopulation on the persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and the productivity of 34 farms. Vet Rec, 1997, 140:247-248
4. Kritas SK, Mavromatis J, Kostoglou P, Varoudis L, Kyriakis SC. Field experience with the use of a new vaccine on natural occurring outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). Abstracts of the Second International Symposium on Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), Copenhagen, Denmark, 1995, pp 35
5. Plana Duran J, Bastons M, Urniza A, Vayreda M, Vila X, Mane H. Efficacy of an inactivated vaccine for prevention of reproductive failure induced by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Vet Microbiol, 1997, 55:361-370
6. Gorceyca D, Schlesinger K, Chladek D, Behan W. RespPRRS: a new tool for the prevention and control of PRRS in pigs. Proceedings of 26th annual meeting of American Association of Swine Practitioners, Omaha, Nebraska, March 4-7, 1995,

- pp.1-22
7. Botner A, Strandbygaard B, Sorensen KJ, Have P, Madsen KG, Madsen ES, Alexandersen S. Appearance of acute PRRS-like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine. *Vet Rec*, 1997, 141: 497-499
 8. Plomgaard J. PRRS situation takes a turn in Denmark. *International Pigletter*, 1997, 17:37-38
 9. Wensvoort G, de Kluyver EP, Luijtze EA, Besten A., den Harris L, Collins JE, Christianson WT, Chladek D. Antigenic comparison of Lelystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus. *J Vet Diagn Invest*, 1992, 4:134-138.
 10. Murakami Y, Kato A, Tsuda T, Morozumi T, Miura Y, Sugimura T. Isolation and serological characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses from pigs with reproductive and respiratory disorders in Japan. *J Vet Med Sci*, 1994, 56: 891-894
 11. Magar R, Larochelle R, Dea S, Gagnon CA, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benfield DA. Antigenic comparison of Canadian and US isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein. *Can J Vet Res*, 1995, 59: 232-234
 12. Dea S, Gagnon CA, Mardassi H, Milane G. Antigenic variability among North American and European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus as defined by monoclonal antibodies to the matrix protein. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34:1488-1493
 13. Sornsen SA, Zimmerman JJ, Polson DD, Roof MB. Effect of PRRS vaccination on average daily gain: A comparison of intranasal and intranasal-intramuscular administration. *Swine Health and Production*, 1998, 6: 13-19
 14. Van Reeth K, Koyen A, Pensaert M. Clinical effects of dual infections with porcine epidemic abortion and respiratory syndrome virus, porcine coronavirus and swine influenza virus. *Proceedings 13th IPVS. Thailand*, 1994, pp. 51
 15. Carvalho LF, Segales J, Pijoan C. Effect of PRRS on subsequent *Pasteurella multocida* challenge in pigs. Abstracts of the Second International Symposium on Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), Copenhagen, Denmark, 1995, pp. 20
 16. Pol J, Van Leengoed L, Stockhofe N, Wensvoort G. Dual infections of PRRS/influenza or PRRS/APP in the respiratory tract. Abstracts of the Second International Symposium on Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), Copenhagen, Denmark, 1995, pp. 22
 17. Solano G, Segales J, Pijoan C. Interaction between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) and *Haemophilus parasuis*. Abstracts of the Second International Symposium on Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), Copenhagen, Denmark, 1995, pp. 21
 18. Papatsas IC, Kyriakis SC, Papadopoulos O, Sarris KJ, Lekkas S. Intradermal vaccination against pseudorabies virus and swine influenza in growing/finishing pigs. *Swine Health and Production*, 1996, 4: 279-285
 19. Buttery P. Growth promotion in animals - an overview. In: *Livestock productivity enhancers: An economic assessment*. CAB Int., UK, 1993: 7-23