



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Duration av antikroppsskydd mot tetanus hos häst efter grundvaccination med kombinationsvaccin

Kerstin Domeij

Uppsala

2011

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2012:3*

Duration av antikroppsskydd mot tetanus hos häst efter grundvaccination med kombinationsvaccin

Kerstin Domeij

Handledare: Anna Kendall, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2011
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30 hp*

Nyckelord: tetanus, stelkramp, vaccination, kombinationsvaccin, antikroppar, immunitet, immunisering, ISCOM

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2012:3*

Sammanfattning

Kombinationsvaccin mot stelkramp och hästinfluensa är vanligt förekommande på den svenska marknaden. Syftet med denna studie är att utvärdera halten av stelkrampsantikroppar efter grundvaccination med kombinationsvaccinet Equilis® Prequenza Te.

I Sverige rekommenderas efter grundvaccination två eller tre års intervall mellan boosterdoserna beroende på tillverkare. I andra länder finns rekommendationer på boosterdosering varje eller vart annat år. Vaccinationsrekommendationerna är dåligt underbyggda och långa studier med större antal hästar som undersökts med avseende på antikroppshalt saknas.

Studien har genomförts genom provtagning av 26 svenska, tidigare ovaccinerade hästar och ponnyer. Blodprov togs på hästarna före, under och efter grundvaccination med tre doser, för att kunna följa antikroppshalten. Rapporten behandlar studien till och med ett år efter avslutad grundvaccination men studien beräknas fortsätta i ytterligare två år. Då mäts antikroppshalten slutligen tre år efter avslutad grundvaccination.

Ett år efter fullgjord grundvaccination hade alla utom en av de 26 hästarna väl över skyddande antikroppshalter. Den häst som låg under detektionsnivå har inte visat symptom på sjukdom eller annat som kan förklara den låga antikroppshalten i det sista provet.

Summary

In different parts of the world the recommendations for vaccination against tetanus differ. In Sweden it is recommended to give booster doses every two to three years after basic immunization, depending on manufacturer. In other countries there are guidelines for vaccination every one to two years after primary immunization. These guidelines are not supported by scientific data and long studies with more horses included are missing.

The aim of this study is to evaluate the level of tetanus antibodies after primary vaccination with the combination vaccine Equilis® Prequenza Te.

In the study 26 previously unvaccinated Swedish horses and ponies were included. Blood samples were obtained from the horses to monitor tetanus antibody levels before, during and after basic immunization with three doses of vaccine.

The study is to be continued for three years after complete basic immunization, but this report covers the study for one year after complete vaccination. At that time 25 of the 26 horses had tetanus antibody titers over protective levels. The horse with antibody titers under detectable levels did not show any signs of disease during the duration of the study that can explain the low titers in the last sample.

Innehållsförteckning

Inledning	7
Bakgrund	7
Syfte	7
Litteraturöversikt	8
Immunisering genom vaccination	9
Material och metoder	12
Urval av försökshästar	12
Vaccin	13
Försöksupplägg	13
Analys	13
Resultat	14
Diskussion	18
Begränsningar i studien	19
Slutsatser	19
Fortsättningsvis	21
Litteraturlista	23
Tack	25

Inledning

Bakgrund

Denna rapport är slutrapporten för författarens examensarbete inom veterinärprogrammet. Rapporten är baserad på de resultat som framkommit genom en studie av antikroppshalt på 26 hästar efter grundvaccination mot influensa och tetanus med Equilis® Prequenza Te. Studien har pågått under åren 2007 till 2011 och är i skrivande stund ännu ej avslutad, den beräknas pågå även under de kommande två åren. Studien genomförs med ekonomiskt stöd från Intervets forskningsstiftelse.

Syfte

Idag har olika länder olika rekommendationer gällande intervallet mellan tetanusvaccinationerna. Syftet med studien detta examensarbete grundar sig på är att visa durationen av antikroppsskyddet som erhålls efter grundvaccination med större säkerhet än tidigare, och i förlängningen kontrollera om halten antikroppar fortfarande når upp till skyddande nivåer efter tre år. För att få säkrare resultat än tidigare har fler hästar inkluderats i studien och detta kan i förlängningen ge mer vetenskapligt underbyggda vaccinationsrekommendationer än vad som finns idag. Denna rapport behandlar den del av studien som går fram till ett år efter fullgjord grundvaccination.

Litteraturöversikt

Stelkramp eller tetanus orsakas av en grampositiv, strikt anaerob, sporbildande bakterie som heter *Clostridium tetani*. Bakterien utövar sin sjukdomsframkallande effekt genom att producera två toxiner (Hatheway, 1990). Tetanospasmin, som är ett neurotoxin, blockerar inhiberande signalsubstanser vid motorändplattan och ger en spastisk paralis. Det andra toxinet, tetanolysin, verkar lokalt nekrotiserande och möjliggör genom vävnadssönderfallet en snabbare spridning av bakterien och dess toxin. Av de naturliga toxiner man känner till är endast botulinumtoxin mer potent än tetanospasmin (Vetbact, 2011).

Bakterien finns i jord och avföring från både häst och människa. Dess sporer är mycket resistenta och för avdödning krävs autoklavering i 121°C i 15 min (Quinn et al, 2002).

Vanliga symptom vid tetanus är bland annat generell hypertoni i skelettmuskulatur, stel gång, bakåtdragna läppar och öron och framfall av det tredje ögonlocket. Spasmer framkallas lätt av yttre stimuli och djuret tycks hypersensitivt för ljud, ljus och taktila stimuli. Dysfagi, dyspné och oförmåga att stå ses vid långt gången sjukdom och är ett dåligt prognostiskt tecken (van Galen et al, 2008).

Häst, får och människa tycks vara de djurslag som är mest känsliga för organismen (Vetbact, 2011), men många andra djurslag kan drabbas av stelkramp. Den dödliga dosen toxin skiljer sig kraftigt när det gäller olika djurslag, till exempel krävs 240 gånger så hög dos för att framkalla dödlig sjukdom hos katter jämfört med rhesusmakaker (Shumacker et al, 1939). Detta under förutsättning att toxinet administreras perifert i djuret, dvs. intravenöst, -muskulärt eller subkutant. Vad dessa skillnader i mottaglighet vid perifer administrering beror på är inte helt utrett. Det har diskuterats att de djurslag som är mer resistenta har en naturlig förmåga att

antingen förstöra toxinet eller på något annat sätt hindra det från att nå de centrala delarna av nervsystemet. Detta kanske sker genom bindning till olika vävnader där det inte förmår framkalla sjukdom. När toxinet administreras direkt till centrala nervsystemet ses däremot inga skillnader i motståndskraft hos de undersökta djurslagen, samma dos/kg kroppsvikt krävs för att framkalla dödlig sjukdom oavsett om djurslaget räknas som mottagligt eller resistent. Det verkar inte heller som om vaccination ger skydd vid toxinadministration direkt till centrala nervsystemet. Vid infektion är det därför av största vikt att kroppen hinner ta hand om det toxin som produceras innan det når de centrala delarna av nervsystemet (Shumacker et al, 1939).

Unga individer tycks hos häst ha sämre prognos när sjukdom väl utvecklats och i studien av van Galen et al (2008) diskuteras teorier om att yngre individer även är mer benägna att utveckla sjukdom. Detta kan bero på en kombination av infektionskänslighet, hur djuren hålls och andra skötsel- och omvårdnadsfaktorer men är inte helt utrett.

Målsättningen vid tetanusbehandling är att ge patienten understödande behandling, behandla bakterieinfektionen med penicillin, kontrollera muskelspasmerna samt att binda och neutralisera det fria toxinet (Kjellerstedt, 1997).

Immunisering genom vaccination

Vaccination är en aktiv immunisering som utförs för att förhindra sjukdom hos djur och människa. Man kan framkalla säkra antigen genom att avdöda, inaktivera eller försvaga mikroorganismerna så att de inte förmår ge upphov till sjukdom. Man kan även genom olika gentekniker förändra mikroorganismen så att den förlorar sin patogenicitet men ändå fungerar väl som antigen. Dessa kallas bland annat rekombinanta-, subenhets- eller levande attenuerade vaccin. Genom att administrera dessa förändrade antigen till djuret induceras ett immunsvaret som i sin tur även skyddar mot patogener som vanligtvis framkallar sjukdom (Tizard, 2004). I det undersökta vaccinet (Equilis® Prequenza Te) har tetanustoxinet försvagats genom formaldehydbehandling så att det inte framkallar sjukdom.

För att få ett bättre immunologiskt svar innehåller vacciner i stor utsträckning olika adjuvans. Dessa kan påverka immunsvaret genom depåverkan och därigenom förlänga antigenets retning, eller påverka immunförsvaret att på olika vis förstärka det immunologiska svaret. ISCOM är en typ av partikeladjuvans som ökar antigenpresentationen och på det viset ökar immunsvaret. Det består av en lipidbaserad mikropartikel bestående av fosfolipid, kolesterol och saponin tillsammans med antigenet i fråga. Det anses vara ett säkert och effektivt adjuvans där de olika delarna fyller olika funktioner i stimuleringen av immunsvaret (Tizard, 2004).

Vid vaccination mot tetanus framkallas ett immunsvaret som består av flera delar, där antikroppstyperna IgG och IgM troligtvis har störst betydelse. Vid en första immunisering svarar IgM snabbast och med högst titer, medan IgG kommer lite senare och når heller inte upp i så höga halter. Vid förnyad administration av antigenet kommer istället IgG att vida överstiga IgM, både i halt och duration (Tizard, 2004). Antikroppsproduktionen sker i plasmaceller i mjälte, lymfknotor och benmärg och migration sker därefter till blodet. IgG, som normalt har högst koncentration i blod, är en relativt liten molekyl som lätt migrerar till inflammerad vävnad. IgM är i blodet formad till en cirkel av fem eller sex subenheter. Denna stora globulin kan inte migrera ut i vävnaden men verkar effektivt bland annat genom att neutralisera virus och aktivera komplementsystemet (Tizard, 2004). Det finns även en komponent av cellulärt försvar i skyddet mot tetanus. Detta är svårt att påvisa men tros ha stor betydelse hos grundvaccinerade hästar där antikroppshalterna sjunkit till låga nivåer. Enligt en studie är detta skydd så kraftfullt att hästar som blivit ordentligt grundvaccinerade är skyddade livet ut mot tetanus, även när antikropparna har försvunnit (Löhner & Radvila, 1970).

Svaret efter vaccination är normalfördelat över en population, vilket innebär att de flesta individer får ett tillräckligt immunsvaret, ett fåtal får ett väldigt bra svar och ett fåtal får ett undermåligt immunsvaret och är därför ej skyddade mot patogenen i fråga. Anledningar till ett dåligt svar på vaccination kan vara undernäring och dålig nutritionell status, stor parasitbörda, systemisk sjukdom, hög feber eller andra omgivningsfaktorer. Immunsvaret påverkas också av en rad olika genetiska faktorer hos djuret, och man ser att individer i en population inte svarar likadant på vaccination (Tizard, 2004). De individer som svarar sämre än förväntat på en vac-

inationsserie utan att man hittar förklarande faktorer kallas, beroende på i vilken utsträckning de är oförmögna att svara på vaccinationen, low- eller nonresponders.

Low responders har studerats på ett antal djurslag, och man har genetiskt kunnat koppla det immunologiska svaret till olika förändringar på MHC (major histocompatibility complex) som har antigenpresenterande roll och finns på ytan av de flesta av kroppens celler. Efter selektion för högt och lågt immunsvär i flera generationer har man även sett skillnader i makrofagernas antigenpresentation och omhändertagande av antigen. Detta är mest utrett på möss och kycklingar, men det är troligt att andra domesticerade djurslag har liknande korrelation mellan MHC, andra bakgrundsgener och immunrespons. Man har till exempel i ett område på Nya Zeeland under 14 år avlat för resistens mot fotröta, en sjukdom orsakad av bakterien *Dichelobacter nodosus*. Genom denna selektion har inte bara infektionerna minskat utan även antikroppsresponsen ökat efter vaccination med ett multivalent fotrötevaccin. Detta visar att man genom avel och noggrann fenotypisk selektion kan påverka immunitet och motståndskraft mot vissa sjukdomar (Outteridge, 1993).

Vaccination mot stelkramp anses i de flesta fall ge både bra och långvarig immunitet. Rutinmässig vaccinering av häst mot stelkramp är något som gjorts länge både i Sverige och i många andra länder världen över. Eftersom tetanus inte är en sjukdom som smittar från djur till djur sker vaccination för att skydda den enskilde individen och dess avkomma via passiv immunisering, och inte för skydd på populationsnivå genom att sänka smittrycket.

I Sverige finns rekommendationen att efter grundvaccination med två eller tre doser, beroende på tillverkare, sedan vaccinera med två till tre års intervall. I flertalet andra länder rekommenderas istället vaccination varje eller varannat år efter uppbyggd grundvaccination. Detta är dock dåligt underbyggt och längre studier med större antal hästar där man har tittat på antikropparnas duration saknas. Det undersökta vaccinet (Equilis® Prequenza Te) har i en mindre studie visats ge tillräckligt antikroppsvar två år efter fullgjord grundvaccination med tre doser (Heldens et al, 2010).

Material och metoder

Urval av försökshästar

34 svenska hästar ingick i studien vid start, dessa var vid försökets början ca 6 månader gamla (5-11 månader) och tidigare ovaccinerade mot tetanus. De var undan ston med okänd antikroppsstatus och hade som föl fått i sig okänd mängd råmjölk. Hästarna stod i sitt ordinarie stall under hela försökets gång. Om de under försökets gång skadades och tetanusvaccination bedömdes nödvändigt togs de ur studien. Hästarna fick heller inte ha vaccinerats mot den närbesläktade bakterien *Clostridium botulinum* som orsakar botulism, då det inte kan uteslutas att detta kunde orsaka problem med analysen och ge falskt höga antikroppshalter genom korsreaktion.

8 hästar föll ifrån av olika anledningar under försökets gång. Tre stycken på grund av att de blev vaccinerade med annat vaccin, fick extra boosterdos, eller andra administrativa skäl, och fem stycken på grund av att de avlivats. Ingen av hästarna togs ur studien på grund av dåligt antikroppssvar, tetanusinfektion eller biverkningar av vaccinet.

26 svenska hästar var sedan kvar och deltog i studien. I studien ingick både varmblodiga hästar (21 st) och ponnyer (5 st) av båda könen.

Vaccin

Det i studien använda vaccinet är Equilis® prequenza Te, ett kombinationsvaccin innehållande tetanustoxoid och hämagglutininsubenheter från equint influensavirus. Vaccinet innehåller även ISCOM som adjuvans.

Försöksupplägg

Blodprov togs före första vaccinationstillfället vid vecka 0. Därefter vaccinerades hästarna två gånger med fyra veckors intervall enligt rekommendation från vaccintillverkaren. Två veckor efter den andra vaccinationen, när antikroppshalten beräknades vara som högst baserat på resultat från tidigare studier (Heldens et al, 2010), togs ett nytt blodprov. Ett tredje blodprov togs i snitt 65 veckor efter den andra vaccinationen och en tredje dos vaccin gavs efter det. Därefter togs uppföljande blodprov ca ett år senare.

Blodproven togs i serumrör med vacutainerteknik från hästarnas jugularven, blodet tilläts koagulera och förvarades sedan kylt tills det centrifugerades och serumet skiljdes av. Serumet frystes därefter och förvarades fryst i -20°C fram till det att proverna skickades frysta till det laboratorium som utförde analysen.

Analys

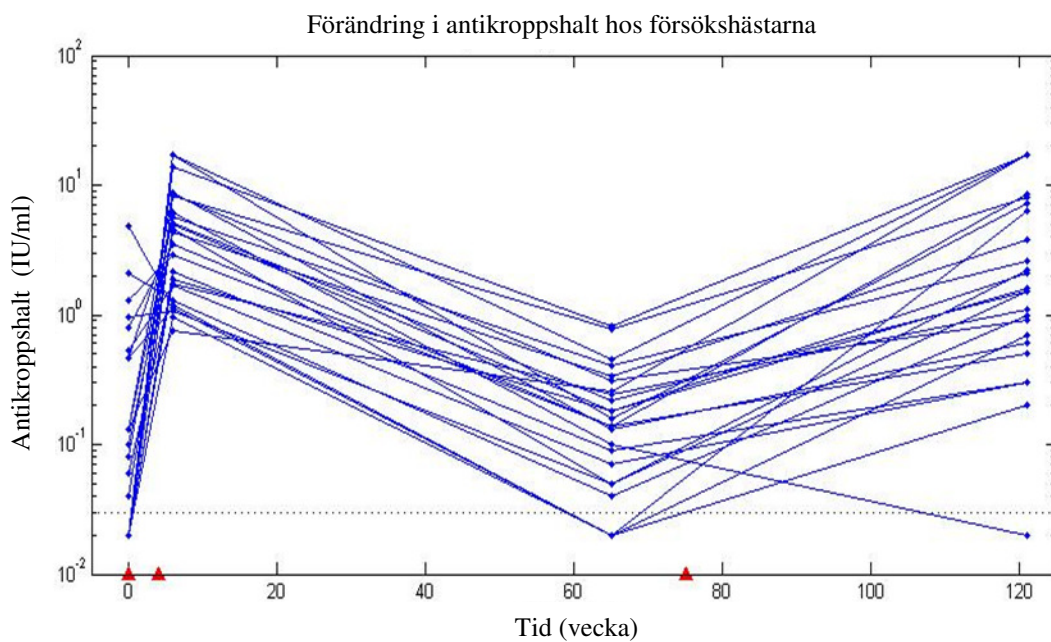
Antikroppshalten i serumproverna analyserades med tetanus toxin binding ELISA, sk ToBI test, lägsta detektionsnivå 0,03 IU/ml.

Enligt Carmen Derks (personligt meddelande, 2011) utfördes analysen genom tillsats av en standarddos tetanustoxoid till spädningsserier av serumproven. Efter inkubering tillsattes provet till en platta med tetanustoxoid-specifika antikroppar, därigenom kunde den fria andelen toxoid bindas och kvantifieras. Märkta tetanus-specifika antikroppar användes i en ELISA för att kunna kalkylera mängden tetanustoxoid-antikroppar i det ursprungliga provet.

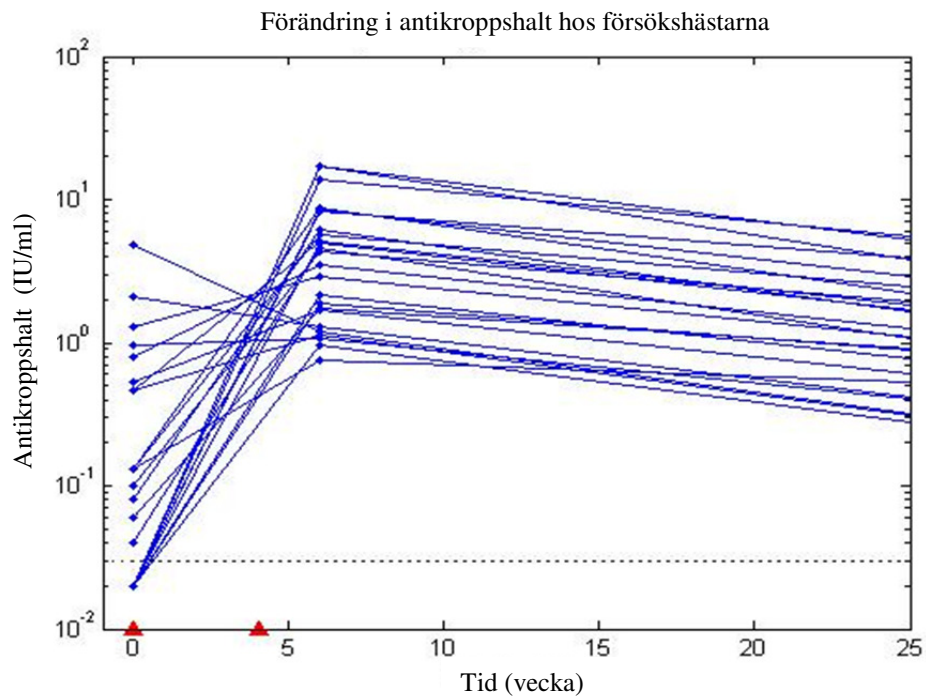
Resultat

Låga, ej mätbara värden är i diagrammen satt till 0,02 IU/ml och värden över 16,05 IU/ml är satt till 17 IU/ml. Hjälpelinjen ligger på 0,03 IU/ml på y-axeln och markerar lägsta detekterbara halter av antikroppar med använd metod. Trianglar på x-axeln markerar vaccinationstillfällena.

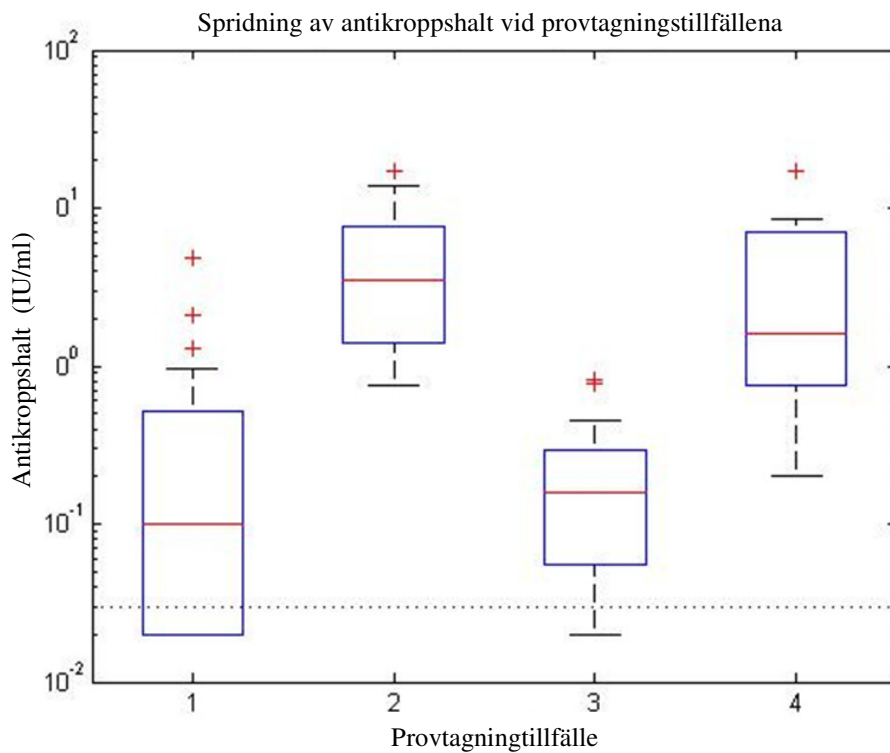
Vid 0-provet, innan vaccinations-programmet sattes igång, hade tio av 26 hästar, 38 %, antikroppshalter som låg under mätbara nivåer. Motsvarande siffra för de andra provtagningstillfällena var 0/26, 3/26 respektive 1/26 hästar.



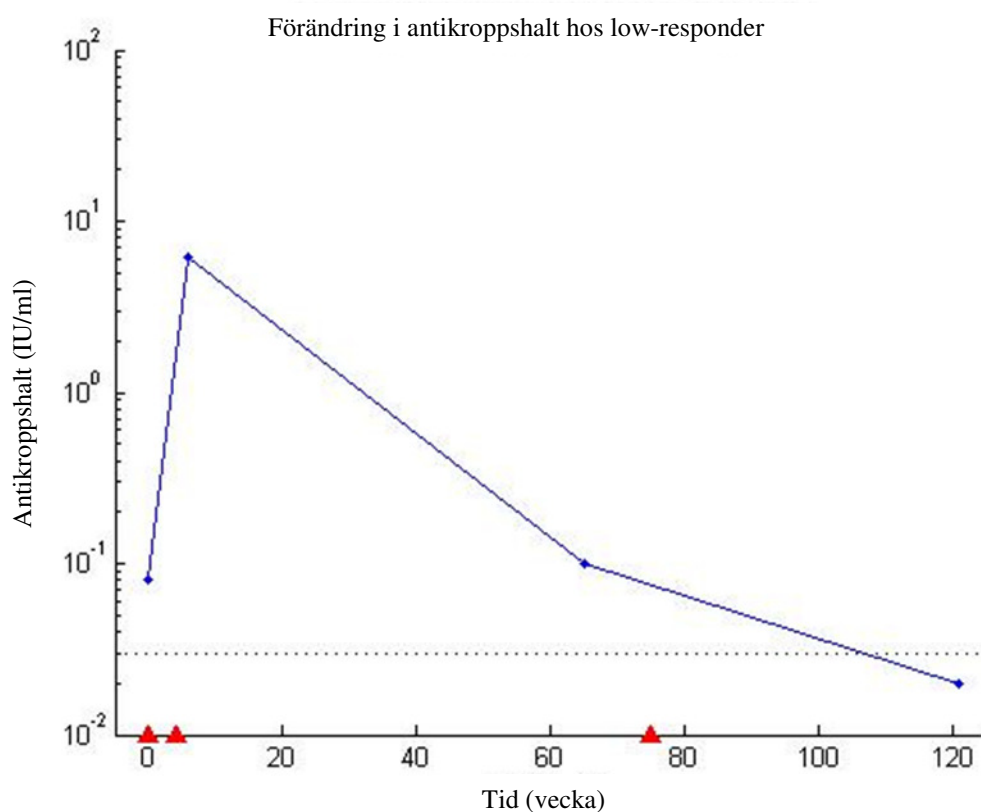
Figur 1. Sammanställning av individuella antikroppsresultat hos 26 hästar efter provtagning vecka 0, 6, 65 och 121. Vaccination skedde vecka 0, 4 och 75.



Figur 2. Förstoring av Figur 1 vecka 0 till 25.



Figur 3. Boxplot av fördelning av antikroppsresultat vid varje provtagningstillfälle hos 25 av hästarna i studien, low-responder ej inräknad



Figur 4. Antikropssvar hos en low-responderhäst i studien.

Antikroppshalten hos hästarna i försöket förändrades över tid, vilket illustreras i figur 1. En tydligare illustration av antikroppshalten tidigt i försöket ses även i figur 2. Dessa grafer visar hur hästarna svarade med antikroppsbyggning på vaccinationerna vid de olika tillfällena. Ett år efter fullgjord grundvaccination hade alla hästar, utom den low-responder som ingick i försöket, väl över skyddande halter antikroppar.

Fördelningen av resultaten vid de olika provtagningstillfällena ses i en boxplot i figur 3, low-responder individen är inte inräknad. 50 % av mätvärdena ryms inuti boxen med medianvärdet markerat med en linje i boxen. Övre och undre kvartilen är markerade och utanför dessa är extremvärden markerade med plustecken. I figuren kan utläsas att mätvärdena vid provtagningstillfälle 2,3 och 4 höll ihop relativt väl och andelen extremvärden var lågt.

I figur 4 ses antikroppsvaret hos den low-responder som ingår i studien. Halten antikroppar var vid 0-provet 0,08 IU/ml, vilket var strax under medianvärdet för resten av hästarna, vilket låg på 0,1 IU/ml. Efter två vaccindoser sågs ett stegrat antikroppssvar på 6,19 IU/ml, median för alla provtagna hästar var 3,54 IU/ml. Efter detta sjönk halterna till 0,10 IU/ml. Vid den provtagningen låg medianvärdet på 0,18 IU/ml, och vid sista provtagningen hade halterna sjunkit än mer, ner till under mätbara nivåer.

Diskussion

Det kan tyckas anmärkningsvärt att en så pass utbredd, otäck och omtalad sjukdom som stelkramp inte är mera undersökt i fråga om känslighet och immunologiskt svar. Kanske beror kunskapsluckorna på att det tidigt utvecklades ett relativt välfungerande vaccin mot sjukdomen, och man då ansåg det mer prioriterat att gå vidare med studier om sjukdomar man inte hade någon godtagbar lösning på.

I Sverige anger både tillverkarna av Equilis® Prequenza Te, som har undersökts i den här studien, och Equip® FT vet, som båda är kombinationsvaccin mot hästinfluensa och tetanus, att vaccination vid behov kan ske från 3-4 månaders ålder. För Equip® FT vet. anges att det är, för fullgott stelkrampsskydd, tillräckligt med två doser i grundvaccineringen och att hästarna sedan är skyddade i tre år. För vaccinet som testas i denna studie (Equilis® Prequenza Te) rekommenderas att vaccination påbörjas vid 6 månaders ålder, samt att efter de första två doserna, vilka ska ske med fyra veckors intervall, skall en ytterligare boosterdos ges efter 17 månader. Detta för att få fullt skydd mot tetanus. Skyddet är sedan fullgott i två år innan nästa dos måste ges (Läkemedelsindustriföreningen, 2010, Heldens et al, 2010).

Även de Nordamerikanska vaccinations-rekommendationerna låter gälla att alla hästar ska vaccineras mot tetanus, detta sker då med två doser med 3-6 veckors mellanrum och från det att fölet är 3-4 månader (Wilson et al, 1995). Det är dock visat att om föl vaccineras när de är för unga och fortfarande har höga halter maternala antikroppar kvar, och de själva har ett omoget immunförsvar, kommer de inte att svara lika bra på vaccinationen. Dessa föl behöver även fler boosterdosser för att komma upp i skyddande antikroppshalter (Wilson et al, 2001). I studien av Wilson (2001) rekommenderas att föl undan ston med fullgott stelkrampsskydd inte vaccineras innan de har blivit 6 månader, samt att det i deras grundvaccination

bör ingå tre doser. För ovaccinerade åringar och äldre hästar räcker det dock med två doser i grundvaccinationen för fullgott skydd (Wilson et al, 2001).

Begränsningar i studien

Skyddande halter stelkrampsantikroppar är i infektionsförsök visat till 0,02 IU/ml (Radvila & Löhrer, 1965), och det vore önskvärt att kunna mäta antikroppshalten åtminstone ner till de nivåer där de inte visats ge skydd mot sjukdom. Den valda metoden har dock bara detektionsförmåga ner till 0,03 IU/ml och i studien får de hästar som faller under detektionsnivå räknas som potentiellt oskyddade.

Likväl vore det önskvärt att kunna studera fler hästar för att få ett mer statistiskt säkert resultat. Hästarna stod under försökets gång i sina respektive ordinarie stall och sköttes som vanligt. För att försöket skulle vara genomförbart var det av högsta vikt att de hästar som ingick i försöket i största möjliga mån kunde följas under hela försökets längd och att hästarna stod kvar i samma geografiska område under hela försöket så att provtagningen kunde ske så smidigt och ekonomiskt som möjligt. På grund av dessa ekonomiska och logistiska skäl fanns tyvärr inte möjligheten att ta med fler hästar i studien.

Slutsatser

Ett år efter fullgjord grundvaccination hade alla hästar, utom den low-responder som ingick i försöket, skyddande halter antikroppar. Den relativt stora andelen föl i studien som vid 0-provet hade antikroppshalter under mätbara nivåer, 38 %, indikerar dock att det kan finnas oskyddade fölunger i hästpopulationen. Man har sett att föl som börjar vaccineras vid sex månaders ålder svarar sämre, och att de som börjar vaccineras vid tre månaders ålder svarar ännu sämre, jämfört med att inleda vaccinationen vid ett års ålder. Detta sammantaget med att unga individer har sämre prognos vid utvecklad sjukdom, gör att det är viktigt att inte glömma tetanus som diagnos vid till exempel föl som är oförmögna att resa sig på grund av stelhet eller har navelinfektion. Detta är speciellt viktigt när det gäller föl o unghästar som inte fått i sig tillräcklig mängd råmjölk eller hunnit utveckla en fullgod immunitet (van Galen et al, 2008; Wilson et al, 2001).

Antikroppshalten hos vaccinerade hästar är exponentiellt avtagande och planar ut innan halten sjunker under skyddande nivåer (Heldens et al 2010). Detta medför

att hästarna under en relativt lång period under tiden då antikroppshalten fortfarande avtar, kommer att uppehålla sig i intervallet mellan 0,03 och 0,02 IU/ml. Dessa hästar kommer inte att kunna fångas upp med den i den här studien använda metoden och kommer att i analysen framstå som seronegativa. Det är dock troligt att hästar som svarar normalt på vaccination även är skyddade strax innan den tredje och sista dosen i grundvaccineringen, även om en del av hästarna har sjunkit under mätbara antikroppshalter. Däremot finns det anledning att ifrågasätta huruvida hästarna utan den tredje dosen i grundvaccineringen kommer att ha ett fullgott skydd mot tetanus efter två eller tre år, eftersom ca 12 % (3/26) av dem låg under detekterbara nivåer (0,03 IU/ml) innan den tredje och sista dosen i grundvaccinationen.

Av de 5 hästar (20 % av försöksgruppen) som svarade med lägst antikroppshalt vid den första provtagningen efter vaccination återfanns 3st bland de 20 % sämsta vid provtagningen vid vecka 65. Även vid den sista provtagningen återfanns 2st av dessa i de nedersta 20 %. Detta kan vara uttryck för individens olika förmåga att svara på vaccination, men större studier behövs för att säkerställa detta och minimera slumpens inverkan på ett så litet försöksmaterial.

En häst visade sig vid sista provtagningen inte svarat adekvat på vaccinationen trots att den liksom de andra hästarna fått rekommenderade doser vaccin vid givna tillfällen. Hästen hade vid första vaccinationen inte så höga halter av maternala antikroppar att det misstänks kunna påverka graden av antikroppssvar hos fölet, var vid god nutritionell status och utan symptom på sjukdom. Kanske är denna häst en av de som inte får ett bra immunsvaret trots adekvata vaccinationsrutiner, en så kallad low-responder. Då hästen svarade bra på de första vaccindoserna kan man inte dra slutsatsen att den är en genetisk low-responder, då den borde haft ett generellt sämre antikroppssvar genom hela studien. Möjligheten finns att yttre omständigheter har påverkat, såsom att vaccinet frusit eller förvarats för varmt, att reagensen i analysen inte fungerat som de ska eller liknande. Ägaren har tills vidare valt att inte ta ur hästen ur studien och det ska bli intressant att se om och hur antikroppshalten förändras över tid.

Hur stort problemet är med low-responder i de olika vaccinationsprogrammen beror till stor del på hur spridningsrisk, morbiditet och mortaliteten för den specifika sjukdomen ser ut. Trots att stelkramp bara drabbar den enskilda hästen, är det en sjukdom att ta på allvar då den innebär stort lidande och en stor risk för djuret.

Man bör i hästpraktiken vara medveten om att en fullständig grundvaccination inte nödvändigtvis måste betyda att hästen i fråga ej kan drabbas av tetanus.

Det har visats att föl till vaccinerade ston inte svarar serologiskt på influensavaccin om de vaccineras vid tre månaders ålder, vilket är praxis i delar av Nordamerika. Det tas även upp att vissa av dessa föl som vaccinerats i närvaro av höga halter maternala antikroppar utvecklar en typ av tolerans och inte ger tillräckliga halter av antikroppar även när de fått 5-6 doser vaccin vid upp till ett års ålder (Wilson et al, 2001). Detta har ännu inte studerats för tetanus, men är intressant ur många aspekter, och vidare forskning kanske kan underlätta förståelsen för individskillnader i immunsvaret efter vaccination.

Det är svårt att ge generella rekommendationer för en hel fölpopulation med avseende på hur tidigt vaccinationsprogrammen bör starta. Baserat på presenterade data från denna och tidigare studier (Wilson et al, 2001) bör inte vaccination ske mycket senare än vid 6 månaders ålder, men heller inte så tidigt som tre månader, under förutsättning att fölet fått i sig råmjölk av god kvalitet.

De föl som fötts undan ston som vaccinerats i sista trimestern och som fått i sig tillräcklig mängd råmjölk kan troligtvis gagnas av att inte vaccineras före 5-6 månaders ålder för att få ett så bra immunsvaret som möjligt. De föl vars mödrar har okänd vaccinationsstatus eller de som ej fått i sig råmjölk av tillräcklig mängd eller kvalitet bör istället vaccineras vid 3-4 mån ålder för att inte gå oskyddade längre än nödvändigt. Om dessa föl, som man starkt misstänker har undermåligt skydd mot tetanus, drabbas av sårskada eller liknande så att anaerob infektion lätt kan uppstå, är det inte fel att överväga om en dos tetanusserum skall ges i samband med första vaccinationsdosen (Läkemedelsindustriföreningen, 2010).

Fortsättningsvis

Denna studie kommer att fortgå i ytterligare två år, vilket i praktiken innebär tre år efter avslutad grundvaccination, och det ska bli ytterst intressant att se om den information som kommer ut av den sista delen av försöket kommer att förändra några av vaccinationsrutinerna i Sverige, eller om det kommer att slå fast det man idag tror sig veta.

Då längre studier över antikropparnas duration efter vaccination saknas vore det ur många aspekter spännande att se vad som händer även i ett längre perspektiv, om hästarna inte ges rekommenderade boosterdosor efter grundvaccination. Eftersom både häst och människa räknas till de mest känsliga för stelkrampsinfektion (Quinn et al, 2002), kan det vara intressant att jämföra även det immunologiska svaret. På humansidan är det känt att efter fullgjord grundvaccination fås ett skydd som varar minst 20 år (Socialstyrelsen, 2009). Eftersom även hästar svarar bra på tetanusvaccination skulle vidare studier, där de respektive djurslagens immunsvår jämförs i aspekter som uppbyggande och duration av antikroppssvar, vara intressanta att genomföra. Kanske är det så att även hästarnas immunitet varar betydligt längre än vad man hittills trott och kunnat bevisa, och om så inte är fallet vore det spännande att veta vad i de specifika immunförsvaren som gör den stora skillnaden.

Litteraturlista

- Van Galen, G., Delguste, C., Sandersen, C., Verwilghen, D., Grulke, S. & Amory, H. (2008) Tetanus in the equine species: a retrospective study of 31 cases. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 133 (12) 512-517
- Hatheway, C. L. (1990) Toxigenic Clostridia, *Clinical microbiology Reviews*, 3 (1) 75-77.
- Heldens, J. G. M., Pouwels, H. G. W., Derks, C. G. G., Van de Zande, S. M. A. & Hoeijmakers, M. J. H. (2010) Duration of immunity induced by an equine influenza and tetanus combination vaccine formulation adjuvanted with ISCOM-Matrix. *Vaccine*, 28 6989-6996
- Kjellerstedt C. (1995) Tetanus hos hund- litteraturstudie och fallbeskrivning. *Svensk veterinärtidning*, 49 (7) 321-326
- Läkemedelsindustriföreningen, (2010), *FASSvet, 2011*. ISBN 9789185929061
- Löhner, J. & Radvila, P. (1970) Aktive Tetanusprophylaxe beim Pferd und Immunitätsdauer. *Schweizer Archive für Tierheilkunde*, 112 (3) 307-314
- Outteridge, P.M. (1993) High and low responsiveness to vaccines in farm animals. *Immunology and Cell Biology*. 71, 355-366
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. & Leonard, F. C. (2002) *Veterinary microbiology and microbial disease*. ISBN 0632055251 s84-88
- Radvila, P. & Löhner, J. (1965) Passive und active Tetanusimmunität und ihr Verlauf. *Schweizer Archive für Tierheilkunde*, 107 (3) 123-157
- Shumacker, H. B., Lamont, A. & Firor, W. M. (1939) The reaction of "tetanus-sensitive" and "tetanus-resistant" animals to the injection of tetanal toxin into the spinal cord. *The journal of immunology*, 37, 425-433.

Socialstyrelsen (2009) Rekommendationer för profylax till vuxna mot difteri och stelkramp artnr 2009-130-5

Tizard, I. R. (2004) *Veterinary immunology, an introduction*. 7th edition, ISBN 9780721601366 s249-271, 145-154

Vetbakt, 2011 <http://www.vetbact.org/vetbact/?artid=32&vbsearchstring=tetani>
2011-11-06

Wilson, W. D., Kanara, E. W., Spensley, M. S., Powell, D. G., Files, W. S. & Steckel, R. R. (1995) Guidelines for vaccination of horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207 (4) 426-431

Wilson, W. D., Mihalyi, J. E., Hussey, S. & Lunn, D. P. (2001) Passive transfer of maternal immunoglobulin isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination. *Equine veterinary journal*, 33 (7) 644-650

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till Agneta Gustafsson och Intervets forskningsstiftelse för ekonomiskt stöd till studien och för allt stöd och goda råd. Många tack till djurägare och hästskötare som glatt ställer sina hästar till förfogande och tack till min handledare Anna Kendall som ställer upp och kommer med glada tillrop när man som mest behöver det.