



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Immunokastrering av gris genom vaccination mot gonadotropin-releasing hormone (GnRH)



Bodil Elwing

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:46 Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap Uppsala 2014	
--	--



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Immunokastrering av gris genom vaccination mot gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

Immunocastration in pigs with vaccination against gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

Bodil Elwing

Handledare:

Caroline Fossum, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Magnus Åbrink, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2014

Omslagsbild: Thomas Neyman

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2014:46
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Immunokastrering, gris, GnRH-vaccin, galtluk, kastrering, gonadotropinfrisättande hormon

Key words: Immunocastration, pig, GnRH-vaccine, boar taint, gonadotropin-releasing hormone

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	1
Inledning	2
Material och metoder	3
Litteraturoversikt	3
Vaccination mot GnRH	3
GnRH-vaccinets förmåga att väcka ett immunsvär	3
Betydelsen av antigenets uppbyggnad för specificitet och effektivitet	4
Säkerhet för djuret	5
Effekten av vaccin	5
Betydelse av tidpunkt för vaccination	6
Androstenon- och skatolhalter, vaccinationens påverkan på kött- och fetthalt, samt beteende	6
Kostnader	7
Diskussion	8
Litteraturförteckning	10

SAMMANFATTNING

Immunisering mot gonadotropin-releasing hormone (GnRH) har visat sig vara effektivt mot att hämma galtluktt på griskött och oönskat aggressivt beteende bland hangrisar. I ett samhälle där vi sätter allt högre krav på våra produktionsdjurs välfärd är efterfrågan på metoder som inte innebär smärta eller lidande för djuren stor. Det finns dessutom positiva produktionsrelaterade effekter med immunokastrering gentemot klassisk kirurgisk kastrering, såsom ökad tillväxtpotential. Faktorer som dessa talar för immunokastrering, men samtidigt finns många svårigheter med att vaccinera mot något kroppseget och således bryta kroppens tolerans mot självt. Den här litteraturstudien behandlar svårigheterna med att rikta ett vaccin mot ett endogent hormon, vad som har lett fram till dagens upptäckter och de eventuella problem som kan uppstå i framtiden. Korsreaktivitet med andra GnRH-isoformer vars funktion i kroppen inte är helt kända väcker frågor om eventuella bieffekter som ännu inte är upptäckta. Man har framgångsrikt kunnat rikta antikroppssvaret från vaccinationen mot den GnRH-isoform som reglerar reproduktivitet, och man har även identifierat vilka aminosyror i GnRH-peptiden som spelar störst roll i förmågan att väcka ett antikropsvar mot GnRH. Tidpunkten för vaccinationen har också betydelse då en tidigare vaccinering ger en ännu effektivare reducering av de könshormoner som man vill hämma. Immunisering mot GnRH resulterade i 100% av fallen i tillräckligt reducerade könshormoner samt minskat aggressivt beteende. Dock kvarstår fortfarande frågor om risker för biverkningar och långsiktiga effekter som ännu inte har upptäckts.

SUMMARY

Immunization against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) is effective in reducing boar taint in pork and unwanted aggressive behavior in male pigs. A continuously rising interest in the welfare of our production animals demands for castration methods that doesn't involve pain or suffering. Moreover, there is positive production related effects in immunocastrated pigs compared to surgically castrated, such as increased growth potential. This puts a positive look on immunocastration, but there is also difficulties involved when the target of the vaccine is something that is supposed to be native and therefore needed to break the tolerance against self. This literature review discusses the difficulties in directing a vaccine against an endogenous hormone, the discoveries that has led up to today's knowledge and the potential problems that may occur in the future. Cross-reactivity with other GnRH-isoforms whose functions is not fully understood raises questions about possible yet unknown side-effects. Antibody response has successfully been directed to the preferred isoform of GnRH, and also identified the amino acids in the sequence that are most important for inducing an immune response against GnRH. The timing of the vaccination is also of importance since early immunization results in more efficient inhibition of the testicular hormones that causes boar taint and sexual behavior in male pigs. Immunization against GnRH was a 100 % effective in suppressing boar taint causing compounds under the threshold values and also to reduce the sexual behavior. However, there is still questions to be answered about the potential risk for side effects and long-term effects that are not yet discovered.

INLEDNING

I större delen av världen kastreras griskultingar av hankön för att förhindra uppkomsten av galtluk. Galtluk påminner om urin eller gödsel och kan framträda vid upphettning av kött från en okastrerad, vuxen hangris. Galtluk orsakas främst av androstenon och skatol som ackumulerats i fettväv. Androstenon härrör från testiklarna och skatol produceras av bakterier i grisens grovtarm. Även andra substanser, såsom indol tros bidra till lukten (Brunius et al., 2011a). När hangrisar blir könsmogna börjar hypothalamus producera GnRH som genom olika signalvägar reglerar testiklarnas utveckling och funktion. GnRH tar sig till hypofysen där det binder till receptorer och stimulerar frisättning av luteiniserande hormon (LH) och follikelstimulerande hormon (FSH). Dessa hormoner i sin tur påverkar testiklarnas sekretion av steroider såsom testosteron och androstenon. Skatol produceras i grovtarmen hos alla grisar, men testikelsteroider reducerar leverns förmåga att eliminera skatol, som istället ackumuleras i fettväv hos en okastrerad hangris. (Improvac 2014). Androstenon och skatol har enligt konsumenter negativ effekt på grisköttets kvalitet (Dijksterhuis et al., 2000).

Hangrisar uppvisar även ett aggressivt beteende gentemot varandra när de blir könsmogna. Grisar slaktas vanligtvis vid en ålder av 6 månader och könsmognaden inträder vid 4-5 månaders ålder (LRF 2014). Då blir de sexuellt aktiva och skadar varandra genom att slåss och rida på andra grisar, vilket ger djurväl-färdsproblem (Beck-Friis, 2013). Kastrering av hangrisarna tar bort både beteendeproblem och galtluk på köttet.

Även i Sverige kastreras kultingar nästan uteslutande kirurgiskt, utan föregående bedövning, under sina första levnadsdagar. Det starkaste argumentet mot detta är den smärta som kultingen upplever, då kastrering utan bedövning utan tvekan innebär smärta för grisen (Prunier et al., 2006). Efter 1 januari 2016 ska kirurgisk kastrering av grisar ske under bedövning inom EU (SJV 2014). Detta väcker frågan om hur man i framtiden ska hantera problemet med könsmogna hangrisar. Bland tillgängliga alternativ till kirurgisk kastrering är immunokastrering det mest djurvänliga och hållbara. Man slipper stressmomentet att skära i kultingarna och man behandlar dem först när de är äldre (Beck-Friis, 2013). Immunokastrering kan uppnås genom att framkalla ett immunsvaret mot grisens kroppsegna GnRH, vilket ger en tillräckligt stor hämning av de hormoner som påverkar reproduktionsförmågan så att galtluk elimineras och de beteendeproblem som uppstår när grisarna bli könsmogna uteblir (Einarsson et al., 2011). Endogena hormoner identifieras vanligtvis inte som icke-självt och normalt sett så väcks inget antikroppssvar mot det kroppsegna. För att ett vaccin ska fungera måste det vara tillräckligt uppseendeväckande för immunförsvaret, men samtidigt måste antikropparna fortfarande identifiera hormonet så det får inte vara alltför olik det kroppsegna. Dock är det en kontroversiell fråga då det både är ett djurvänligare alternativ men samtidigt väcker farhågor och misstankar hos grisnäringen då det i Sverige är en ganska ny och obeprövad metod.

Syftet med den här litteraturstudien är att ta upp vad som egentligen menas med immunokastration, svårigheterna med att utforma ett vaccin som har ett kroppsegna hormon som måltavla, samt hur effekterna av vaccineringen ter sig.

MATERIAL OCH METODER

Web of Science, PubMed. Sökord; immunocastration, GnRH, immunization against gonadotropin releasing hormone, piglets, boar, boar taint, physiology of GnRH.

LITTERATURÖVERSIKT

Vaccination mot GnRH

Vaccination mot GnRH ges till hangrisar som ett alternativ till kirurgisk kastrering, för att få en temporär minskning av testikelfunktionen och därmed hämma de ämnen som ger griskött galtluk. Även sexuellt beteende såsom bestigande och aggressivitet minskar. Immunokastration fås genom att vaccinationen framkallar en immunologisk respons mot grisens endogena GnRH (Einarsson et al., 2011). En primer och en boosterdos ges. Efter booster dosen utvecklas immunitet mot GnRH inom en vecka och de galtlukbidragande ämnena minskar efter 4-6 veckor varför det rekommenderas att ge booster dosen 4-6 veckor innan djuren ska slaktas. Det finns dock stöd för att effekten håller i sig i upp till 10 veckor (FASS 2014). Efter den andra injektionen fås ett avbrott i den kedja som leder fram till grisens könsmognad, genom nedsatt GnRH-aktivitet. Follikelstimulerande hormon och luteiniserande hormon frisätts ej och en hämning av testikelfunktionen uppstår (Improvac 2014).

GnRH-vaccinets förmåga att väcka ett immunsvär

Vaccination mot GnRH av grisar som ska ingå i livsmedelsproduktion är godkänt för användning inom EU, det är framtaget för att erbjuda ett ur välfärdssynpunkt bättre alternativ till kirurgisk kastrering (Thun et al., 2001).

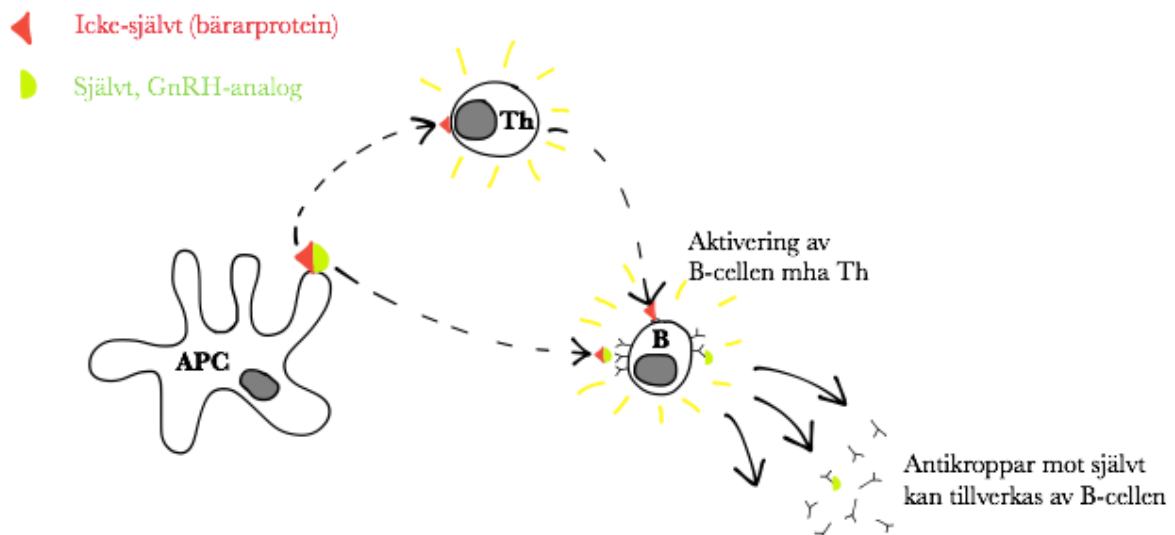
GnRH-vaccin består av en syntetisk GnRH-analog, som är konjugerad (kovalent bunden) till ett bärarprotein och utgör ett så kallat haptent-bärarkonjugat. GnRH-analogen består av en decapeptid, vilket betyder att den är uppbyggd av tio aminosyror. Denna är sedan dimeriserad, vilket bildar en så kallad tandempeptid. Det görs för att för kroppen skilja ut den från vad som är självt och för att öka immunogeniciteten. Den kopplas sedan till ett bärarprotein.

GnRH-analogen ensam är inte immunologiskt aktiv, därför krävs det att den är kopplad till ett större, mer uppseendeväckande protein så det blir mer immunogent. Bärarproteinet består av difteritoxid från *Corynebacterium diphtheriae* (EMA 2014). När analogen är konjugerad med bärarproteinet kan det inte binda in till hypofysens GnRH-receptor, vilket gör att ingen GnRH-hormonell aktivitet kan ske. GnRH-analogen kopplad till bärarproteinet blandas sedan med ett adjuvans; dietylamoetyl (DEAE)-dextran, som är ett vattenbaserat adjuvans. Man väljer vattenbaserade adjuvans framför oljebaserade då olja har visat sig medföra mer negativa bieffekter i form av lokala reaktioner (Dunshea et al., 2001). Adjuvanset och bärarproteinet är det som stimulerar det immunologiska svaret (Improvac 2014). Adjuvanset tillsätts i vaccinet för att förbättra durationen och effektiviteten då det höjer immunförsvarets förmåga att bilda antikroppar. (FASS 2014).

Vaccinet utgör ett antigen bestående av både själv (GnRH-analogen) och icke-själv (bärarproteinet) när det administreras i grisens kropp (Figur 1). Vaccinet tas upp av en dendritisk cell som presenterar antigenet på MHC-II receptorer. Normalt finns inga T-celler som känner igen det som är självt då de selekteras bort i tymus, men det kan däremot finnas korsreaktiva B-celler som vid antigenigenkänning tar upp hela antigenet (haptent och bärare)

och presenterar det på MHC-II. T-celler blir aktiverade genom att de identifierar det som är icke-självt på den antigenpresenterande cellen. Sedan upptäcker de aktiverade T-cellerna det som är icke-självt på MHC-II på B-cellen och aktiverar dem, och på så sätt får de korsreagerande B-cellerna den hjälp de behöver för att kunna producera antikroppar. Eftersom antigenet består av både själv och icke-självt kan man bryta toleransen och få ett antikroppssvar mot det som är självt (Huijbers et al., 2009). När antikropparna binder till GnRH kan hormonet inte binda in till receptorer i hypofysen och således inte ha sin verkan.

Figur 1. Hur toleransen mot självt bryts. (Modifierad från Huijbers et al., 2009)



Betydelsen av antigenets uppbyggnad för specificitet och effektivitet

I däggdjur har flera olika isoformer av GnRH identifierats, som antas bidra mer eller mindre till reproduktiviteten. Funktionen av dessa isoformer av GnRH är dock inte välkänd och det är inte säkert att de har betydelse för reproduktionsförmågan (Turkstra et al., 2005). Höga koncentrationer av GnRH-isoformer har hos människa hittats i benmärg, njurar och prostata (White et al., 1998). Vetskapen om att det finns flera isoformer av GnRH väcker frågan om vilka av dessa som påverkas av immunisering med GnRH-vaccination. Genom eventuell korsreaktivitet till andra GnRH-isoformer kan biverkningar uppstå som man inte förväntat sig. GnRH-I är den isoform som stimulerar syntes och utsläpp av LH och FSH, och den isoform som är målpeptiden för ett GnRH-vaccin. Man har visat att de går att utforma ett GnRH-vaccin som är specifikt för GnRH-I, genom att GnRH-antigenet designas på ett sådant sätt att de antikroppar som produceras endast har affinitet för GnRH-I, utan att korsreagera med andra isoformer. Detta fås genom substitution av aminosyran glycin mot D-lysin (k) på position sex i aminosyresekvensen (tabell 1). Olika utbyten av olika aminosyror gav varierande resultat beträffande hur specifikt antiserum som erhöles. En dimeriserad G6k-GnRH-tandempeptid, som är en typ av GnRH-analog, gav antiserum som var specifikt mot GnRH-I, som inte korsreagerade med andra isoformer men samtidigt gav ett tillräckligt immunsvaret för att immunokastrera hangrisar (Turkstra et al., 2005).

Tabell 1. Aminosyresekvenser för olika GnRH-peptider

^b: amide

Peptid	Aminosyresekvens
GnRH (GnRH-I) däggdjur	pEHWSYGLRPG ^b
GnRH-tandem	pEHWSYGLRPGQHWSYGLRPGC ^b
G6k-GnRH-tandem	pEHWSYkLRPGQHWSYkLRPGC ^b

De olika aminosyrorna i antigenet spelar även en viktig roll för hur effektivt vaccinet är. I en studie har man bytt ut olika sekvenser av aminosyror mot alanin för att undersöka de laddade aminosyrornas funktion och antigenicitet i vaccination med GnRH-vaccin. Alanin har en strukturell men oladdad funktion då dess storlek påminner om de aminosyror man substituerar. Genom utbyte av de olika aminosyresekvenserna fick man fram tio olika vaccin varav fem av dessa resulterade i 100 % effektivt immunokastrerade djur. Man kom fram till att i G6k-tandempeptiden kan fyra av nio aminosyror bytas ut mot alanin, som är en aminosyra med en enklare uppbyggnad, utan att de kastrerande effekterna uteblir. Alla grisar vars blodprov påvisade höga nivåer av antikroppar mot GnRH blev kastrerade, oavsett vilket vaccin som använts. Detta indikerar att man kan designa GnRH-peptiden på ett annat sätt och ändå få de önskade effekterna (Turkstra et al., 2001).

Säkerhet för djuret

Balansen mellan att få en tillräcklig effekt av adjuvanset utan att ge en för kraftig reaktion är viktig. De biverkningar som främst har iakttagits vid GnRH-vaccination är vävnadsskador och lokala reaktioner, dessa får inte vara så kraftfulla att de ger bestående men eller orsakar problem för grisen. I ett försök där man immunokastrerade grisar (Dunshea et al., 2001) fick en av 400 grisar en allvarligare lokal reaktion i form av en abscess, som dock hade försvunnit vid tiden för slakt. En annan studie (Turkstra et al. 2011) undersökte den farmakologiska effektiviteten och säkerheten för djuret vid immunologisk kastrering med GnRH-vaccin. De fann ingen kliniskt relevant toxicitet, och de vaccinationstypiska biverkningarna såsom lokala reaktioner och feber som uppstod ansågs falla under normala biverkningar för ett vaccin. I sällsynta fall har allvarligare biverkningar i form av anafylaktiska reaktioner uppstått, vilket i några fall har haft dödlig utgång (FASS 2014).

Effekten av vaccin

Alla grisar som blivit behandlade två gånger med GnRH-vaccin visade upp ett immunsvär mot GnRF, och i 100% av fallen reducerades skatol- och androstenonkoncentrationerna under tröskelvärdena för uppkomst av galtlukter (Dunshea et al., 2001).

GnRH-vaccination ökade även tillväxten och födointaget, dock ökade även grisarnas ryggsfett. Immunokastrerade och intakta hanar hade effektivare foderomvandling än kirurgiskt kastrerade hanar. (Bonneau et al., 1994) Skador som härrör från slagsmål mellan grisarna var även kraftigt reducerade vid slaktillfället (Dunshea et al., 2001).

Testiklarnas storlek och bulbourethrala körtelns längd reducerades hos de GnRH-vaccinerade grisarna. Vid slakt var vikten på testiklarna och bulbourethrala körteln ungefär 50% mindre hos de vaccinerade grisarna jämfört med de ovaccinerade, intakta hanarna, vilket kan vara en bra indikation på att vaccinationen haft den effekt på grisen som man förväntat

sig (Dunshea et al., 2001). Två veckor efter den andra injektionen hade de vaccinerade grisarna lika låga nivåer av testosteron som grisar som genomgått kirurgisk kastration. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) var högre hos de vaccinerade grisarna jämfört med de grisar som var kirurgiskt kastrerade, vilket kan förklara deras högre anaboliska potential. IGF-1 är starkt relaterat till tillväxt, då det stimulerar celltillväxt och inhiberar celledöd. Beteendeproblem såsom ridande på andra grisar minskade även i frekvens (Brunius et al., 2011a).

Betydelse av tidpunkt för vaccination

I olika försök har man försökt utröna betydelsen för tidpunkten för vaccination, rådande rekommendation är att ge första dosen till okastrerade hangrisar äldre än 8 veckor, och sedan vänta med att ge den andra dosen till 4-5 veckor före slakt. Om en vaccinerad individ kommer slaktas senare än 10 veckor efter att den har fått sin andra dos av vaccinet så ska grisen få en extra injektion av vaccinet 4-5 veckor innan den ska slaktas (FASS 2014). I ett försök (Brunius et al., 2011a) jämfördes skillnaderna mellan kirurgiskt kastrerade hangrisar, tidigt vaccinerade och grisar vaccinerade enligt standardschemat. Den tidiga gruppen administrerades med vaccin vid 10 och 14 veckors ålder, jämfört med standardgruppen som vaccinerades vid en ålder av 16 och 20 veckor. Blodprov från olika tillfällen, prov från fettväv, samt hela testiklarna och bulbourethral körteln undersöktes efter slakt.

Koncentrationer av antikroppar mot GnRH steg kraftigt efter den andra injektionen, för att sedan långsamt sjunka, vilket gav den tidiga gruppen lägre halter antikroppar mot GnRH vid slakttillfället. Dock hade de grisar som fått vaccinet tidigt mindre testiklar och bulbourethral körtlar än de grisar som blivit vaccinerade enligt standardschemat. Oavsett tidpunkten för vaccination hade ingen av grisarna androstenon-, skatol- eller indolnivåer över tröskelvärdena när man undersökte fettväven efter slakt, även testosteron i plasma var mycket låga hos såväl tidiga som standard som kirurgiskt kastrerade (Einarsson et al., 2011).

Effekten av de minskade koncentrationerna av testosteron var ännu mera uttalad hos de tidigt vaccinerade grisarna. Testiklarna histologiska bild var mycket förändrad i jämförelse med intakta hanar, med stor påverkan på spermatogenesisen och Leydigcellerna (Kubale et al., 2012). Sambandet mellan ofunktionella celler i testiklarna och låga nivåer av testosteron i plasma även långt efter det andra vaccinationstillfället visar på de ihållande effekterna av vaccination (Einarsson et al., 2011). Vaccinationens påstådda reversibilitet kan ifrågasättas, då effekterna inte har avtagit trots att vaccinationen har skett mycket tidigare än rekommenderat. Effekterna av immunokastreringen har visat sig hålla i sig i upp till 22 veckor efter den andra vaccinationen (Zamaratskaia et al., 2008).

Man kan ännu inte förutspå de långsiktiga effekterna vilket kan tala emot tidig vaccination. Fördelarna med tidig vaccination är att man får ett mer flexibelt vaccinationsupplägg, samt att de mer uttalade effekterna på reproduktionsorganens storlek talar för tidig vaccination (Brunius et al., 2013).

Androstenon och skatolhalter, vaccinationens påverkan på kött- och fetthalt, samt beteende

Det finns en stark negativ korrelation ($P < 0,001$) mellan testosteron och födointag (Weiler et al., 1996). Minskningen av testosteron förklarar det ökade foderintaget som följer immuniseringen. Även det minskade sexuella beteendet och aggressiviteten kan bidra till ökat foderintag då grisarna kan ägna mer tid till att äta. Minskad stress bland grisarna de sista veckorna innan slakt bidrar också till den ökade tillväxten (Dunshea et al., 2001).

Immunokastrerade grisar visar mycket mindre aggressivt och bestigande beteende än intakta hanar. Dock är tidpunkten för den andra injektionen avgörande eftersom inga av de positiva effekterna visar sig förrän grisarna har fått två injektioner (Rydhmer et al., 2010). Även andra beteenderelaterade fördelar har upptäckts när man jämfört immunokastrerade grisar med kirurgiskt kastrerade. De immunologiskt kastrerade grisarna var mera accepterande och nyfikna på personer som kom in i deras bur, de vokaliserade mindre och det skedde färre dödsfall bland de immunokastrerade än de kirurgiskt kastrerade (Guay et al., 2013). På Lövsta Kött slakteri utanför Uppsala har >500 grisar som är immunologiskt kastrerade slaktats sedan början på 2013. Inga problem i hanteringen i samband med slakt har iakttagits när man jämför de immunokastrerade med de kirurgiskt kastrerade grisarna (Beck-Friis, 2013).

Man har undersökt korrelationen mellan testikelsteroider och enzymer hos kirurgiskt och immunologiskt kastrerade grisar för att utvärdera graden av skatolmetabolism. Cytokrom P450 är en familj av enzymer som är inblandade i metabolismen av endogena och exogena ämnen, främst i levern. Fas-I enzymerna CYP2E1 och CYP2A är de enzymer som främst är involverade i processen att metabolisera skatol, vilket i en intakt hangris till största delen ackumuleras i fettväv. En av mekanismerna som reglerar skatolnivåerna är effekten testikelsteroider har på ovan nämnda enzymer. Högre nivåer av enzymerna har återfunnits hos såväl kirurgiskt- som immunologiskt kastrerade hangrisar jämfört med okastrerade individer. Höga nivåer av testikelsteroider i intakta hangrisar resulterar i låga nivåer av aktiva enzymer som eliminerar skatol, alltså har kastrerade grisar högre kapacitet att metabolisera skatol jämfört med intakta hanar. De totala uppmätta nivåerna av CYP450 var likvärdiga mellan kirurgiskt- och immunologiskt kastrerade, men kirurgiskt kastrerade hanar visade lägre nivåer av CYP2A och E1 än immunokastrerade. Enzymet CYP2E1 var signifikant högre men CYP2A bara numeriskt högre (Zamaratskaia et al., 2009). Uttryck av CYP450 mRNA var mycket högre hos de kastrerade grisarna jämfört med de intakta hanarna och således är genuttrycket för CYP450 större hos kastrerade grisar jämfört med intakta individer (Brunius et al., 2011b).

Kostnader

De ökade kostnaderna som uppstår när man vaccinerar istället för att kastrera kompenseras av att grisen får bättre foderutnyttjande och bättre klassning av slaktkroppen. Den totala kostnaden för immunokastrering uppgår till 26-30 kr/gris, inräknat de två doser som krävs samt en säkerhetsinjektor som används vid administrering av vaccinet. Avräkningspriset per slaktkropp blir högre och foderkostnaden per djur blir lägre. Fram till 2017 betalar staten även ut bidrag motsvarande alla kostnader för vaccineringen.

DISKUSSION

Inom en snar framtid kommer det finnas en stor efterfrågan på alternativ till kirurgisk kastrering utan bedövning. Såväl regelverk som konsumenter ställer krav på en högre lägstanivå för våra produktionsdjurs levnadsstandard. De flesta konsumenter inom EU föredrar immunokastrering över kirurgisk kastrering med smärtlindring, efter att ha blivit informerade om båda metoder (Vanhonacker et al., 2011).

Effektiviteten och tillförlitligheten av GnRH-vaccin har i alla studier visat sig bra. Immunisering har resulterat i oidentifierbara mängder av testosteron i serum hos hangrisar, och androstenon- och skatolhalter under tröskelvärdena. Mindre testiklar och bulbourethral körtel på de vaccinerade grisarna är en bra indikation på att vaccinationen har varit effektiv (Dunsha et al., 2001). Även beteendeproblemen som kan uppstå bland könsmogna hangrisar avtog. Den ökade anabola potentialen hos immunokastrerade grisar visar att det även finns produktionsrelaterade fördelar med vaccineringen (Brunius et al., 2011a). De biverkningar som har upptäckts har varit vaccinationsrelaterade, såsom lokala reaktioner och feber, vilket anses acceptabelt för ett vaccin (Turkstra et al., 2011). Dock har upptäckter som korsreaktivitet till andra GnRH-isoformer (Turkstra et al., 2005) och eventuella betydelser av individuella aminosyror (Turkstra et al., 2001) väckt frågor om att GnRH-vaccination kan ha andra effekter än reproduktionshämmande. Att man har hittat höga koncentrationer av GnRH i benmärg, njurar och prostata (White et al., 1998) ökar ytterligare osäkerheten kring hur GnRH-vaccination påverkar kroppen som helhet. Ett vaccin som administreras till produktionsdjur som ingår i livsmedelskedjan måste ha en hög tillförlitlighet och dess effekter just nu och i framtiden måste med säkerhet kunna verifieras. Effekterna av vaccineringen ska vara reversibla, men effekterna har inte visat sig avta trots att man har låtit längre tid än rekommenderat passera mellan den andra vaccinationen och slakt (Zamaratskaia et al., 2008). Långsiktiga effekter och vilken roll GnRH-immunisering spelar för andra organ i grisen är fortfarande inte helt klarlagt (Brunius et al., 2011a). Dock kan de ihållande effekterna av vaccinet vara fördelaktigt då det innebär att överstående grisar (grisar som inte hämta till slakt i utsatt tid) inte riskerar att återgå till att könsmogna och börja lukta. Det finns även andra fördelar med de ihållande effekterna då man skulle kunna ge den andra dosen tidigare än de rekommenderade 4-6 veckorna innan slakt vilket ger ett mer flexibelt vaccinationsupplägg (Brunius et al., 2011a) som därmed är mer användbart i praktisk svinproduktion. Då effekterna av kastrationen är märkbara först efter andra injektionen skulle möjligheten att vaccinera grisarna tidigare även innebära fördelar i hanteringen av grisarna, eftersom många grisar redan har hunnit bli könsmogna vid tiden för den andra injektionen, och de är vid tidpunkten jämförelsevis tunga och svårhanterliga.

Den högre uppmätta nivån av CYP450 mRNA hos de kastrerade grisarna jämfört med de intakta indikerar att kastrering kan uppreglera genuttrycket av enzymer (Brunius 2011b). Även Zamaratskaia et al. (2009) fann att det inte huvudsakligen är de lägre halterna av testikelhormon som påverkar de ökade nivåerna av enzymer. Dock kunde man se en skillnad mellan immunokastrerade och kirurgiskt kastrerade grisar gällande nivåer av CYP2A/2E1, då man hos immunokastrerade djur uppmätte högre nivåer av CYP2E1 och 2A. Om immunologisk kastrering lämnar det minsta lilla spår av testikelhormoner kommer det troligtvis påverka enzymaktiviteten en aning i jämförelse med kirurgiskt kastrerade hangrisar, då deras uteblivna hormonpåverkan från testiklarna är definitiv. CYP-aktiviteten är en viktig aspekt att ha i åtanke gällande metabolism och elimination av andra ämnen, såväl läkemedel som endogena ämnen i grisen.

Kirurgisk kastrering med bedövning, uppfödning av intakta hangrisar och vaccination är det som diskuteras mest som möjliga alternativ till kirurgisk kastrering som den utförs idag. Kastrering med bedövning kräver flera hanteringstillfällen då man administrerar bedövning och smärtlindring vilket innebär stress för kultingarna och det är även mer tidskrävande (Beck-Friis 2013). Uppfödning av intakta hangrisar är ännu inte helt realistiskt då galtlukta kan upplevas som mycket obehagligt av konsumenter och således måste man i det närmaste kunna garantera att galtlukta inte uppstår. Vaccination minimerar både stressen som uppkommer vid hantering och garanterar kött fritt från galtlukta (Dunshea et al., 2001). Dessutom finns andra produktionsrelaterade fördelar att vinna då foderutnyttjandet visat sig vara bättre hos en immunokastrerad gris jämfört med kirurgiskt kastrerade (Brunius et al., 2011a). Kostnaderna för immunokastrering kan heller inte ses som ett hinder då de kompenseras av ovan nämnda faktorer (Beck-Friis, 2013).

I framtiden kan tekniker som destinationsuppfödning av grisar som till exempel inte når hormonell könsmodning eller möjlighet att könssortera sperma så att man kan välja att bara föda upp hongrisar bli tillgängliga. Av de alternativ som idag finns på marknaden är immunokastrering att föredra då det både är tillförlitligt och säkert och samtidigt motsvarar våra höga krav på djurvälstånd. Den tveksamhet som fortfarande finns inom slakterinäringen gällande immunokastrering är ett problem som försvårar implementeringen av vaccinet. Mer omfattande konsumentundersökningar, information om hur vaccinet interagerar med kroppen och praktiska exempel på producenter som använder sig av immunokastrering kan släta ut frågetecken och skapa en större övertygelse och öppenhet gentemot immunokastrering. Fler studier om vaccinets långsiktiga effekter kan även behövas för att säkerställa att det inte påverkar grisen på något annat sätt än vad man förväntar sig. Kirurgisk kastrering utan bedövning är inte alls förenligt med våra krav på djurvälstånd och dessutom med ett kommande lagkrav kan möjligheten att välja immunokastrering bli avgörande för om vi överhuvudtaget ska kunna ha någon grisproduktion i Sverige.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Beck-Friis J. (2013) Många myter kring immunokastration. *Svensk Veterinärtidning*, nr. 7, ss. 30-33.
- Bonneau M., Dufour R., Chouvet C., Roulet C., Meadus W., Squires E J. (1994) The effects of immunization against lutenizing-hormone-releasing hormone of performance, *Animal Science*, vol 72, nr. 1, ss. 14-20.
- Brunius C., Zamaratskaia G., Andersson K., Chen G., Norrby M., Madej A., Lundström K. (2011a) Early immunocastration of male pigs with Improvac - effect on boar taint, hormones and reproductive organs. *Vaccine*, vol 29, ss. 9514-9520.
- Brunius C. Early immunocastration of male pigs. Effects on physiology, performance and behaviour. (2011b) Doctoral Thesis
- Dijksterhuis G B., Engel B., Walstra P., Furnols M F I., Agerhem H., Fischer K., Oliver M A., Claudi-Magnussen C., Siret F., Beague M P. Homer D B., Bonneau M. (2000) An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: II. Sensory evaluation by trained panels in seven European countries. *Meat Science*, vol. 54, nr. 3, ss. 261-269.
- Dunsha, F R., Colantoni C., Howard K., McCauley I., Jackson P., Long K A., Lopaticki S., Nugent E A., Simons J A., Walker J., Hennessy D P. (2001). Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *Journal of Animal Science*, vol. 79, ss. 2524-2535.
- Einarsson S., Brunius C., Wallgren M., Lundström K., Andersson K., Zamaratskaia G., Rodriguez-Martinez H. (2011) Effects of early vaccination with Improvac® on the development and function of reproductive organs of male pigs. *Animal Reproduction Science*, vol. 127, ss. 50-55.
- Guay K., Salgado G., Thompson B., Backus B., Sapkota A., Chaya W., McGlone J J. (2013) Behaviour and handling of physically and immunologically castrated market pigs on farm and going to market. *Journal of Animal Science*, vol. 91, ss. 5410-5417.
- Huijbers E J M., Ringvall M., Femel J., Kalamajski S., Lukinius A., Åbrink M., Hellman L., Olsson A K. (2010). Vaccination against the extra domain-B of fibronectin as a novel tumor therapy. *The FASEB Journal*, vol. 24, ss. 4535-4544.
- Kubale V., Batorek N., Skrlep M., Prunier A., Bonneau M., Fazarinc G., Candek-Potokar M. (2012) Steroid hormones, boar taint compounds, and reproductive organs in pigs according to the delay between immunocastration and slaughter. *Theriogenology*, vol. 73, ss. 69-80.
- Prunier A., Bonneau M., von Borell E H., Cinotti S., Gunn M., Fredriksen B., Giersing M., Morton D B., Tuytens F A M., Velarde A. (2006) A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Animal Welfare*, vol 15, ss. 277-289
- Rydmer L., Lundström K., Andersson K. (2010) Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal* 4:6, ss. 965-972

- Thun R., Gajewski Z., Janett F. (2006) Castration in male pigs: techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol 57, ss. 189-194.
- Turkstra J A., Oonk H B., Schaaper W M M., Meloen R H. (2001) The role of the individual amino acids of a GnRH-tandem-dimer peptide used as an antigen for immunocastration of male piglets determined with systematic alanine replacements. *Vaccine*, vol. 20, ss. 406-412.
- Turkstra J A., Schaaper W M M., Oonk H B., Meloen R H. (2005) GnRH tandem peptides for inducing an immunogenic response to GnRH-1 without cross-reactivity to other GnRH isoforms. *Vaccine*, vol 23, ss. 4915-4920.
- Turkstra J A., van der Staay F J., Stockhofe-Zurwieden N., Woelders H., Meloen R H., Schuurman T. (2011) Pharmacological and toxicological assessment of a potential GnRH vaccine in young-adult male pigs. *Vaccine*, vol. 29, ss. 3791-3801.
- Vanhonacker F., Verbeke W. (2011) Consumer response to the possible use of a vaccine method to control boar taint v. physical piglet castration with anaesthesia: a quantitative study in four European countries. *Animal*, vol. 5, nr. 7, ss. 1107-1118.
- Weiler U., Claus R., Dehnhard M., Hofacker S. (1996) Influence of the photoperiod and a light reverse program on metabolically active hormones and food intake in domestic pigs compared with a wild boar. *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 76, nr. 4, ss. 531-539.
- White R B., Eisen J A., Kasten T L., Fernald R D., (1998) Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proceedings of the National Academy of Science*, vol. 95, ss. 305-309.
- Zamaratskaia G., Rydhmer L., Andersson H K., Chen G., Lowagie S., Andersson K., Lundström K. (2008) Long-term effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on hormonal profile and behaviour of male pigs. *Animal Reproduction Science*, vol 108, nr 1-2, ss. 37-48.
- Zamaratskaia G., Zlabek V., Chen G., Madej A. (2009) Modulation of porcine cytochrome P450 enzyme activities by surgical castration and immunocastration. *Animal*, vol 3:8, ss. 1124-1132.
- FASS (2014-03-30) *Improvac* ®.
<http://www.fass.se/LIF/product?0&userType=1&nplId=20070918000076>
- Improvac (2014-03-30) *Improvac* ® is the first commercial vaccine against boar taint.
<http://www.improvac.co.nz/sites/improvac/en-NZ/Pages/productoverview.aspx>
- Jordbruksverket (SJV) (2014-03-30) *Lagstiftningen som berör griskastrering*.
<http://www.jordbruksverket.se/download/18.23f3563314184096e0d7c46/1382946899717/Lagstiftning+griskastrering+bilaga+rapport+2013.pdf>
- Lantbrukarnas riksförbund (LRF) (2014-03-30) *Frågor och svar om griskastrering*.
<http://www.lrf.se/Garden/Djur/Gris/QA-Griskastrering/>
- European Medicine Agency (EMA) (2014-03-30) *EPAR summary for the public, Improvac*.

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/veterinary/000136/WC500064055.pdf