

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Universitätsklinik für Schweine  
(Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Andrea Ladinig, Dipl. ECPHM)

# **Nachweis von Antikörpern gegen das Porzine Parvovirus 1 (PPV1) bei Zuchtläufnern verschiedener Altersgruppen**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Birgit Buchebner

Wien, im Oktober 2023

Betreuerin: Dr.med.vet. Christine Unterweger, Dipl. ECPHM

Betreuender Assistent: Dr.med.vet. René Renzhammer, Res. ECPHM

Begutachtung: Dr.med.vet. Angelika Auer

Ich, Birgit Buchebner, erkläre hiermit, dass ich keine anderen als die erwähnten Hilfsmittel und Literaturstellen zur Verfassung der Arbeit miteinbezogen habe. Die entscheidenden Arbeiten habe ich selbst durchgeführt und alle zuarbeitend Tätigen mit ihrem Beitrag zur Arbeit wurden angeführt. Ich habe die zur Beurteilung vorgelegte Diplomarbeit eigenständig verfasst und die Arbeit wurde nicht an anderer Stelle eingereicht oder veröffentlicht.

## **Inhaltsverzeichnis**

1. Einleitung und Fragestellung.....	1
2. Material und Methoden.....	3
2.1 Probengewinnung.....	3
2.2 ELISA.....	4
2.3 Hämagglutination-Inhibitions-Test (HI).....	5
2.4 Statistische Auswertung.....	5
3. Ergebnisse.....	6
3.1 ELISA.....	6
3.2 Hämagglutination-Inhibitions-Test.....	8
4. Diskussion.....	11
5. Literaturverzeichnis.....	14

# **Nachweis von Antikörpern gegen das Porzine Parvovirus 1 (PPV1) bei Zuchtläufern verschiedener Altersgruppen**

**Birgit Buchebner<sup>1</sup>, René Renzhammer<sup>1</sup>, Michaela Koch<sup>1</sup>, Uwe Truyen<sup>2</sup>, Rea Maja Kobialka<sup>2</sup>, Ahmed Abd El Wahed<sup>2</sup>, Andrea Ladinig<sup>1</sup>, Christine Unterweger<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universitätsklinik für Schweine, Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich

<sup>2</sup> Institut für Tierhygiene und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Fakultät für Veterinärmedizin, Universität Leipzig, Sachsen, Deutschland

## **Zusammenfassung**

In den meisten österreichischen ferkelproduzierenden Betrieben werden Jungsauen und Sauen regelmäßig gegen das Porzine Parvovirus 1 (PPV1) geimpft. Trotz der hohen Durchimpfungsrate auf heimischen Betrieben ist nur wenig über die Präsenz von über das Kolostrum übertragenen Antikörpern gegen PPV1 in Aufzuchtferkeln und Zuchtläufern bzw. Masttieren oder auch über die Abbaugeschwindigkeit dieser maternalen Antikörper bekannt. Auf neun Betrieben wurden insgesamt 270 Nachkommen von geimpften Sauen beprobt. Pro Betrieb wurden Serumproben von 30 Schweinen aus drei verschiedenen Altersgruppen entnommen. Die beprobten Tiere waren drei, viereinhalb und sechs Monate alt. Alle Serumproben wurden auf das Vorhandensein von PPV1-Antikörpern (Ak) mittels ELISA und Hämagglutination-Inhibitions-(HI) Test untersucht. Mit beiden Testsystemen konnte mit zunehmendem Alter eine langsame Abnahme von maternalen Ak festgestellt werden. Mittels HI-Test konnte gezeigt werden, dass maternale Ak bis zu einem Alter von mindestens 6 Monaten nachweisbar sind, allerdings waren dieselben Proben im ELISA bereits bei den jüngeren Tieren negativ. Hohe Ak-Titer ( $\geq 1:640$ ) im HI-Test bei 6-Monate alten Tieren lassen bei vier der neun Studienbetrieben eine Infektion mit PPV1 vor der ersten Impfung vermuten. Die Studie zeigt, dass die Nachweisbarkeit von maternalen Antikörpern vom angewandten Testsystem und von den gewählten Cut-offs abhängig ist. Reaktionen auf Feldviren, ersichtlich an der Serokonversion innerhalb der ersten sechs Lebensmonate auf vier Testbetrieben, scheinen betriebsabhängig zu sein und haben zumindest klinisch keinen interferierenden Einfluss auf die Applikation der Totvakzine mit rund 180 Tagen.

## **Abstract**

In most piglet-producing farms in Austria, gilts and sows are regularly vaccinated against porcine parvovirus 1 (PPV1) using commercial vaccines. Despite this high use of vaccination to prevent infection with PPV1, little is known on the presence of maternally derived antibodies or the decline of those antibodies in growing pigs. On nine farms, 270 growing pigs from vaccinated sows were sampled. Serum samples from 30 growing pigs of three different age categories were collected on each farm. The sampled pigs were three, four-and-a-half and six months old. All samples were tested for PPV1 antibodies by ELISA and hemagglutination inhibition (HI) assay. A slow decrease of maternally derived antibodies with increasing age of the pigs could be seen in both applied test methods (ELISA and HI assay). Using the HI assay, it could be demonstrated that maternally derived antibodies could be detected until at least six months of age, whereas the same samples were already negative by ELISA in the younger age group. High antibody titers ( $\geq 1:640$ ) by HI assay in six-months-old growing pigs indicated previous PPV1 infections in four farms. This study shows that the detectability of maternally derived antibodies is dependent on the used testing method and the chosen cut-offs. On four farms there was evidence of reactions to field virus, seen by the seroconversion within the first six months. Those reactions seem to be specific for the individual farm and have no clinical interfering effect for the application of the vaccine around the 180<sup>th</sup> day of life.

## 1. Einleitung und Fragestellung

Das porcine Parvovirus 1 (PPV1) wird als eines der wichtigsten infektiösen Ursachen für Fruchtbarkeitsprobleme in der Ferkelproduktion angesehen [1, 2]. PPV1 ist ein kleines, unbehülltes, einzelsträngiges DNA-Virus, welches zur Familie der *Parvoviridae* gehört und erstmals 1967 beschrieben wurde [3]. Die Kapsel von PPV1 besteht aus zwei Hauptstrukturproteinen, dem größeren Viralen Protein 1 (VP1) und dem kleineren Viralen Protein 2 (VP2) [4]. Das Porcine Parvovirus 1 kommt weltweit ubiquitär in Schweinebeständen vor [5]. Schweine aller Altersstufen können von einer Infektion mit PPV1 betroffen sein, zur Ausbildung klinischer Symptome kommt es allerdings nur, wenn der Virus auf naive, trächtige (Jung-) Sauen trifft [5-7]. Je nachdem, in welchem Trächtigkeitsstadium das Virus die Plazentarschranke der Sauen überwindet, kommt es zur Ausbildung unterschiedlicher klinischer Symptomatik wie vermehrtem Umrauschen, kleineren Wurfgrößen und zu Würfen mit erhöhtem Anteil an mumifizierten, autolytischen und totgeborenen Ferkeln. Da sich das Virus von einem Embryo/Fötus auf den nächsten langsam ausbreitet, beeinflusst die Lage im Uterus des Muttertieres den Infektionszeitpunkt [8]. Die Föten sterben nicht gleichzeitig ab, sondern befinden sich in unterschiedlichen Entwicklungsstadien, was die typischen Entwicklungsstufen, als Orgelpfeifensyndrom bekannt, erklärt. Außerdem führt das langsame Fortschreiten der Infektion nicht zu einer Luteolyse, weshalb die Ferkel zum errechneten Geburtstermin oder sogar später geboren werden, es kommt zu keinem Trächtigkeitsabbruch. All diese Symptome werden unter dem Symptomkomplex SMEDI (still birth, mummification, embryonic death, infertility) zusammengefasst [5,6,9]. In der Routinediagnostik erfolgt der direkte Nachweis von PPV-DNA aus fötalem Gewebe mittels PCR, während für den indirekten Nachweis bei (Jung-) Sauen und Ebern serologische Verfahren wie ELISA oder Hämagglutination-Inhibitions (HI) –Test zur Verfügung stehen. Während ELISA Kits kommerziell erhältlich sind und in der Routinediagnostik regelmäßig angeboten werden [10-13], wird der HI-Test wegen des aufgrund der Aufrechterhaltung einer Zellkultur aufwendigen Verfahrens hauptsächlich für Forschungszwecke eingesetzt. Während im ELISA keine Unterscheidung zwischen Impfantikörpern (Ak) und PPV-Feldantikörpern möglich ist [9], ist beim HI-Test eine gewisse Interpretation der Ergebnisse möglich, da PPV-Titer über 1:1000 eher für eine Infektion mit Feldvirus sprechen, während niedrigere Titer von 1:20 bis 1:500 eher typisch für eine Impfreaktion sind [14, 15]. Der Nachweis von Ak mittels HI-Test ist bereits eine Woche nach der Infektion mit PPV1 über mindestens 4 Jahre möglich [16]. Um trächtige Sauen vor den Symptomen einer PPV1-Infektion zu schützen, werden Sauen regelmäßig im Abstand von vier bis sechs Monaten geimpft oder während jeder Laktationsperiode [14,

17, 18]. Zurzeit sind in der europäischen Union nur inaktivierte Impfstoffe von fünf verschiedenen Herstellern lizenziert. Parvoruvac<sup>®</sup> enthält ganze, inaktivierte Viren, als Antigen wird der virulente PPV1-Erregerstamm K22 verwendet. Dagegen basieren die inaktivierten Impfstoffe Eryseng<sup>®</sup>Parvo, Suvaxyn<sup>®</sup>Parvo und Porcilis<sup>®</sup>Ery+Parvo auf Antigen des avirulenten NADL-2 Stammes [17, 19, 20]. Außerdem wurde 2020 ein neuartiger Impfstoff vorgestellt, bei dem das virale Protein 2 des PPV1 Stammes 27a als Antigen dient (ReproCyc<sup>®</sup>ParvoFLEX) [21].

Üblicherweise werden Jungsauen im Alter von sechs bis acht Monaten grundimmunisiert. Der relativ späte Impfzeitpunkt hängt mit der Annahme zusammen, dass maternale Antikörper sehr lange persistieren und mit dem Impfvirus interferieren können [22]. Weiters gibt es Hinweise, dass viele Jungsauen schon vor der Grundimmunisierung Kontakt mit PPV1 Viren haben. Es könnte daher auch zwischen maternalen Antikörpern und Antikörpern aus aktiver Immunisierung gegen PPV1 Feldvirus zu Interferenzen kommen [23]. Die Literatur zur Verweildauer und dem Nachweis von maternalen Antikörpern gegen das Porzine Parvovirus 1 ist teilweise sehr alt, bisherige Studien dazu kommen zu unterschiedlichen, teilweise widersprüchlichen Ergebnissen [16, 24, 25]. Während ursprüngliche Studien davon ausgehen, dass maternale Ak gegen PPV durchschnittlich bis zum fünften oder sechsten Lebensmonat nachweisbar sind, zeigte eine neuere Studie von Gava et al., dass maternale Ak bereits im Serum von zwölf Wochen alten Ferkeln nicht mehr nachweisbar waren [16, 24].

Ziel dieser Arbeit war die Überprüfung der Verweildauer von maternalen Antikörpern in Zuchtläufere bzw. Mastschweinen in unterschiedlichen Betrieben, wobei gleichzeitig die mittels ELISA und HI-Test erzielten Ergebnisse miteinander verglichen werden sollten.

## **2. Material und Methoden**

Der Tierversuch wurde von der Ethik- und Tierschutzkommission, der nationalen Behörde gemäß §§ 26ff. des österreichischen Tierversuchsgesetzes 2012 (TVG 2012) genehmigt (BMWF 68.205/0135-WF/V/3b/2015). Die Genehmigungskennzahl lautet GZ 2020-0.693.637.

### **2.1 Probengewinnung**

Auf neun österreichischen Schweinezuchtbetrieben mit eigener Nachzucht oder Mast wurden im Zeitraum von August 2022 bis Jänner 2023 Serumproben von Zuchtläufern bzw. Mastschweinen entnommen. Auf jeweils drei der neun Betriebe war seit mindestens fünf Jahren konstant derselbe Impfstoff (Impfstoff 1-3) für den Sauenbestand im Einsatz: Porcilis<sup>®</sup>Ery+Parvo (MSD Tiergesundheit Intervet GmbH, Wien, Österreich) in Betrieben 1-3, Parvoruvac<sup>®</sup> (Ceva Sante Animale, Libourne, Frankreich) in Betrieben 4-6 und Eryseng<sup>®</sup> Parvo (Laboratorios Hipra, Girona, Spanien) in Betrieben 7-9. Die Blutentnahme von maximal 8 ml erfolgte jeweils aus der Vena jugularis externa durch Fixierung mittels Oberkieferschlinge. Auf jedem Betrieb wurden 30 Tieren aus drei unterschiedlichen Altersstufen beprobt: zehn Tiere im Alter von drei Monaten (12-14 Wochen), zehn Tiere mit viereinhalb Monaten (18-20 Wochen) und zehn Tiere mit sechs Monaten (22-26 Wochen) (Tab.1). Die Serumröhrchen wurden in einer Zentrifuge bei 2000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten zentrifugiert (Hettich Routina 420R<sup>®</sup>). Jeweils 1,5 ml Serum wurden in Mikroreaktionsgefäßen (Eppendorf<sup>®</sup>) in einem Gefrierschrank bei -20 °C asserviert. Die gewonnenen Serumproben wurden mittels ELISA und HI-Test untersucht, letzteres erfolgte am Institut für Tierhygiene und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin and der Fakultät für Veterinärmedizin der Universität Leipzig.

**Tab. 1:** Übersicht über Betriebe, eingesetzter Impfstoff bei den Muttertieren, Alter der beprobten Tiere in Wochen und Nutzungsart

Betrieb	Impfstoff	Probenanzahl	Altersgruppe 1 Alter in Wochen	Altersgruppe 2 Alter in Wochen	Altersgruppe 3 Alter in Wochen	Zuchtläufer/ Mastschwein
1	Impfstoff 1 Porcilis®Ery+Parvo	30	14	20	26	Mastschwein
2		30	14	20	26	Mastschwein
3		30	12	18	24	Mastschwein
4	Impfstoff 2 Parvoruvac®	30	12	18	24	Mastschwein
5		30	12	20	24	Mastschwein
6		30	14	18	22	Zuchtläufer
7	Impfstoff 3 Eryseng®Parvo	30	14	18	22	Mastschwein
8		30	12	18	24	Zuchtläufer
9		30	12	18	24	Mastschwein

## 2.2 ELISA

Für den indirekten Nachweis von PPV1 Antikörpern wurde ein kommerzieller ELISA Kit (INgezim® PPV 11.PPV.K1, Ingenasa, Madrid, Spanien) verwendet. Dieser ELISA basiert auf der Verwendung von monoklonalen Antikörpern, spezifisch für IgGs des Schweins und des PPV1 spezifischen Antigens VP2. Nach dem Auftau- und Homogenisierungsprozess der Serumproben wurde der ELISA entsprechend des Herstellerprotokolls durchgeführt. Zur vollautomatischen Durchführung wurde der DynexDS2® ELISA-Roboter der Firma Dynex Technologies (Chantilly, USA) verwendet. Auf die beschichtete Mikrotiterplatte wurden je 100 µl der Positiv- und der Negativkontrolle aufgetragen, sowie je 100 µl der verdünnten Probenseren. Die Platte wurde dann bei 37 °C eine Stunde inkubiert. Die Platte wurde gewendet, um überflüssiges Probenmaterial zu entfernen und anschließend der Waschvorgang dreimal durchgeführt. Es wurden 100 µl Konjugat mit monoklonalen Antikörpern in jedes Well hinzugefügt und die Mikrotiterplatte bei 25 °C eine Stunde lang inkubiert. Daraufhin folgten erneut vier Waschgänge. Nach dem Auftragen von 100 µl der Färbelösung in jedem Well wurde die Platte erneut für zehn Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden 100 µl Stopp-Lösung hinzugefügt. Mittels Spektralphotometer wurde dann bei jeder Probe die Optische Dichte (OD) bei 405 nm gemessen. Entsprechend der Herstelleranweisung werden Proben, die einen OD-Wert von 0,3 überschreiten, als positiv angesehen, Proben, die den OD-Schwellenwert von 0,3 nicht erreichen, sind als negativ angesehen.

### **2.3 Hämagglutination-Inhibitions-Test (HI)**

Für die Durchführung dieses Tests wird die Eigenschaft von PPV1, an Erythrozyten binden (agglutinieren) zu können, genutzt. Es können Antikörper getestet werden, die an die für diese Hämagglutination nötigen Epitope des Virus binden und so eine Hämagglutination mit Erythrozyten verhindern. Wenn spezifische Antikörper im Testserum die Hämagglutinations-Epitope der Viren binden, so ist in Folge die Hämagglutination blockiert und es bildet sich ein „Knopf“ am Boden der Mikrotiterplatte (positives Ergebnis, Anwesenheit von Antikörpern im Testserum wird angezeigt). Wenn die Erythrozyten an die Viren binden können, da keine bindenden Antikörper im Testserum vorhanden sind, kommt es zur Hämagglutination und es bildet sich eine gleichmäßige Matte von Erythrozyten am Boden der Mikrotiterplatte (negatives Ergebnis, keine Antikörper im Testserum). Um die Titerhöhe zu bestimmen, wird eine serielle Verdünnung des Serums durchgeführt. Der Titer entspricht der höchsten Verdünnungsstufe, bei der keine ausreichende Antikörpermenge mehr im Serum ist, um eine Hämagglutinationsinhibition zu erreichen [26].

Zur Durchführung des HI-Tests wurden menschliche Erythrozyten verwendet (O, Rhesus-negativ, Genehmigung durch die Ethikkommission: ID: 068/23-ek, Ethikkomitee der medizinischen Fakultät der Universität Leipzig, Deutschland). Zusätzlich werden lebende Zellen und ein vermehrungsfähiges Virus benötigt. Als Zellkultur dienten Nierenepithelzellen von Schweineembryonen (SPEV Zellen), welche von der Bio Bank des Friedrich-Löffler-Instituts (Insel Riems, Deutschland) zur Verfügung gestellt wurden. Als Virus wurde der PPV1-Erregerstamm NADL-2 verwendet.

### **2.4 Statistische Auswertung**

Die Ergebnisse der ELISAs sowie der HI-Tests wurden in Microsoft Excel<sup>®</sup> übertragen. Weiters wurde das Statistikprogramm SPSS, IBM Österreich Internationale Büromaschinen GmbH (Wien) zur Auswertung der Daten herangezogen. Zur deskriptiven Auswertung und graphischen Darstellung der Daten wurde das Programm GraphPad Prism 9 verwendet.

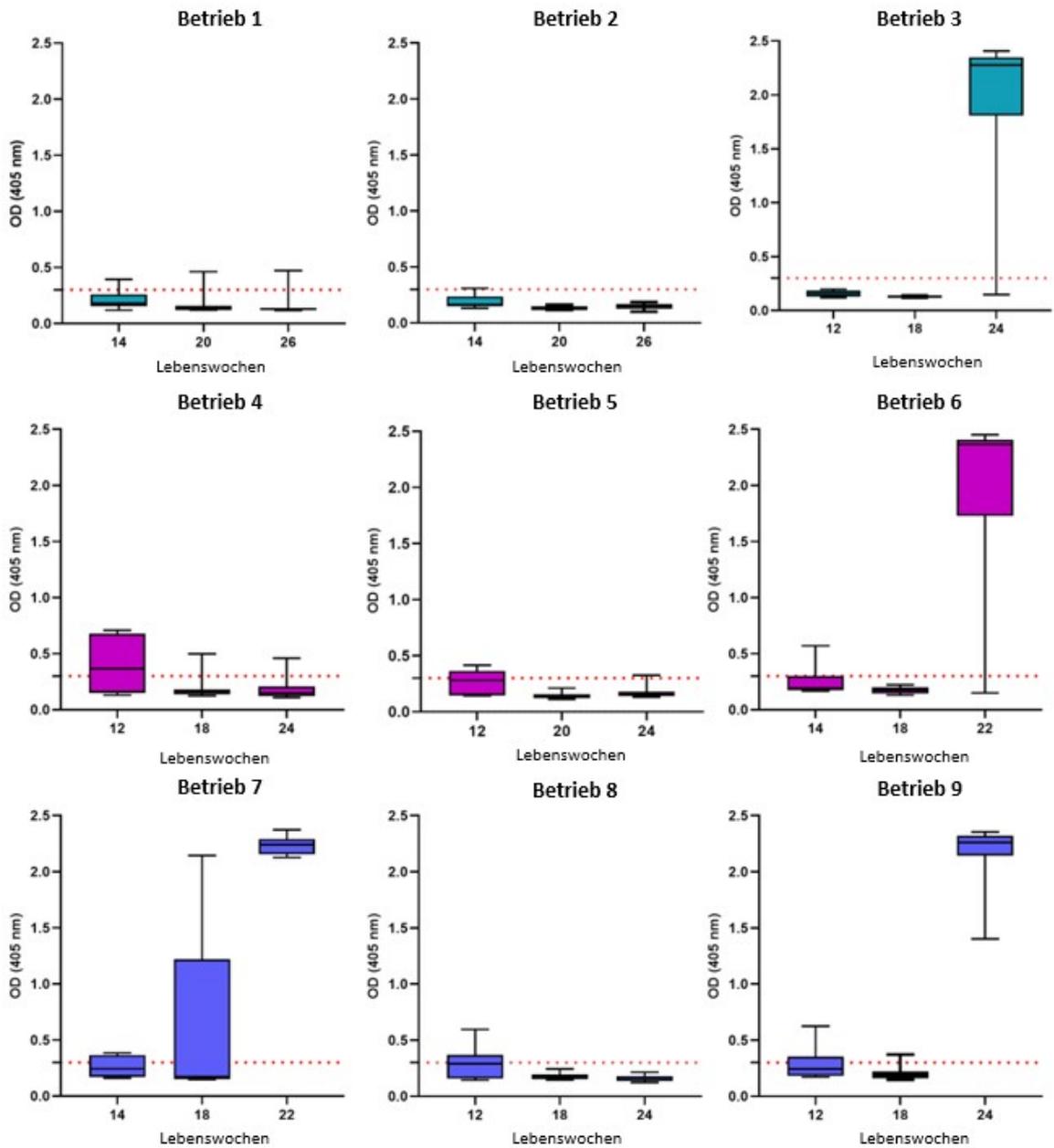
### 3. Ergebnisse

Die Sauen der Studienbetriebe zeigten keinerlei Reproduktionsstörungen wie erhöhte Anzahl an Umrauschern (>10%) Mumien bei den Würfen ( $\geq 0,5$  %) oder eine erhöhte Anzahl an totgeborenen Ferkeln ( $\geq 5$  %) in den letzten drei Jahren [27]. Es gab somit keinen Hinweis auf ein aktives Infektionsgeschehen mit PPV1.

#### 3.1 ELISA

In acht Betrieben gab es einen Abfall der OD-Werte der Tiere der ersten (12-14 Lebenswochen) und der zweiten Altersgruppe (18-20 Lebenswochen), wobei der OD-Schwellenwert von 0,3 in der jüngeren Gruppe kaum und zweiten Gruppe gar nicht überschritten wurde. Die 18-20 Wochen alten Tiere dieser acht Betriebe waren somit mit ELISA serologisch negativ getestet. Bei fünf der acht Betrieben (1, 2, 4, 5 und 8) blieben die OD-Werte auch in der ältesten Gruppe (22-26 Lebenswochen) unter dem Cut-off (Abb. 1). Die OD-Werte der Serumproben auf den Betrieben 3, 6 und 9 stiegen hingegen zwischen 18 und 22 bzw. 24 Lebenswochen deutlich über den Cut-off Wert von 0,3 an, die Tiere waren somit im ELISA positiv. Der Antikörperverschlauf auf Betrieb 7 verlief noch einmal anders, da bereits bei drei Tieren im Alter von nur 18 Wochen hohe OD-Werte gemessen werden konnten und die OD-Werte auch mit 22 Lebenswochen noch stabil hoch blieben (Abb.1). Generell waren die Ergebnisse in den verschiedenen Altersgruppen innerhalb einer Gruppe relativ homogen.

Unterschiede in der Höhe der OD-Werte in Abhängigkeit vom eingesetzten Impfstoff bei den Muttertieren waren nur marginal ersichtlich: 12-14 Wochen alte Nachkommen von mit Impfstoff 2 (Parvoruvac<sup>®</sup>) und Impfstoff 3 (Eryseng<sup>®</sup>Parvo) geimpften Müttern waren großteils noch Ak-positiv, während gleichaltrige Nachkommen von mit Impfstoff 1 (Porcilis<sup>®</sup> Ery Parvo) geimpften Müttern fast ausnahmslos im ELISA negativ waren.

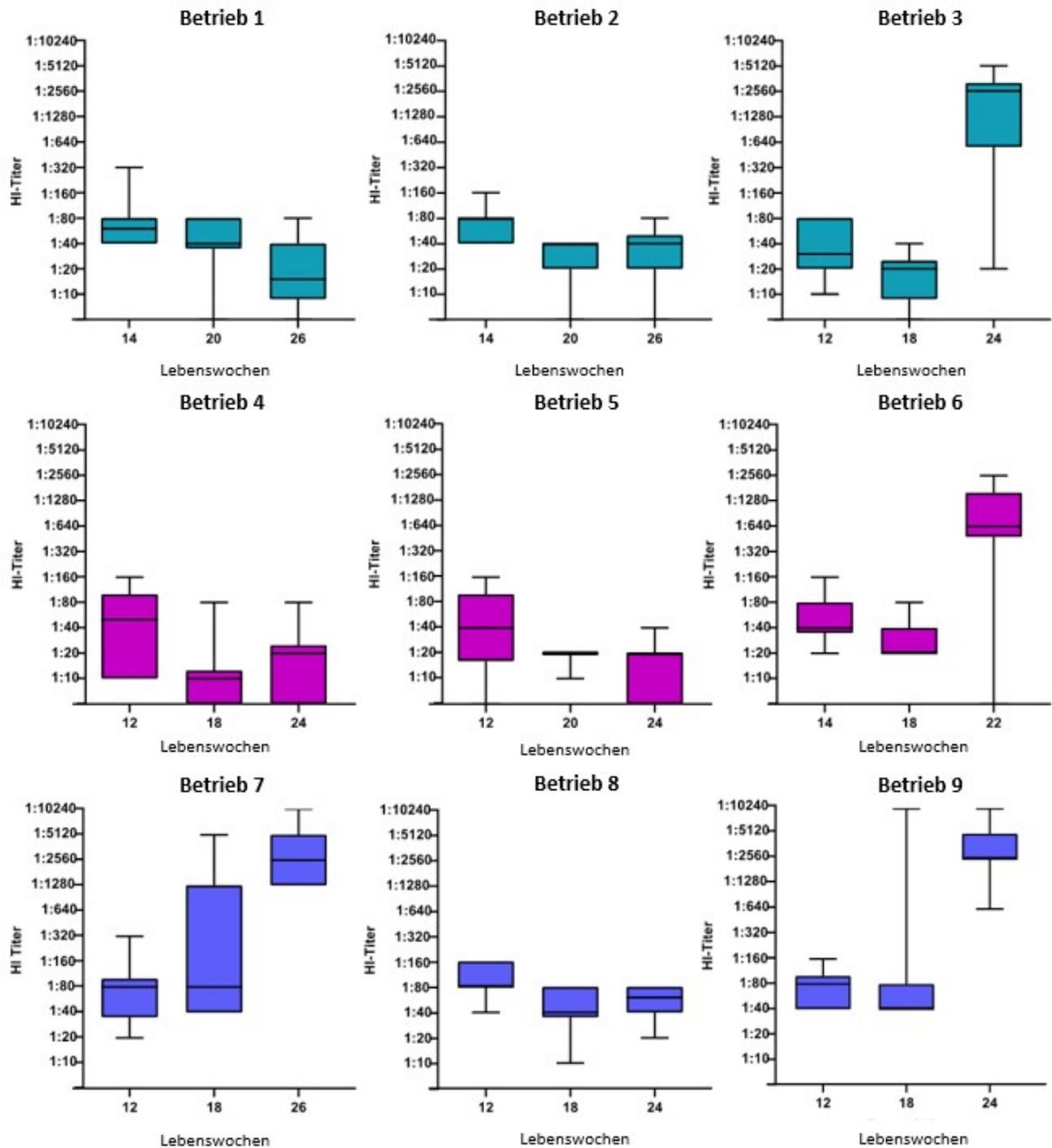


**Abb. 1:** OD-Werte (bei 405nm) der 270 Serumproben inklusive Darstellung der Min-max-Werte und des Medians, unterteilt in Betrieb, Alter in Lebenswochen und Impfstoff, der bei den Muttertieren verwendet wurde (Reihe 1: Impfstoff 1, Reihe 2: Impfstoff 2, Reihe 3: Impfstoff 3). Die rotgestrichelte Linie stellt den Cut-off (0,3) dar, Ergebnisse darunter gelten als negativ, Ergebnisse darüber als positiv.

### 3.2 Hämagglutination-Inhibitions-Test

Mittels HI Test konnten im Serum bei 250 von 270 (93 %) der beprobten Tiere Antikörpertiter gegen PPV1 nachgewiesen werden. Antikörpertiter von unter 1:10 sprechen dafür, dass das Tier noch keinen Kontakt zu PPV1 hatte, während Titer von  $\geq 1:640$  als hohe Titer angesehen werden und für eine vorausgegangene Infektion mit PPV1 sprechen [14]. Auf alle Betriebe bezogen, konnten in der jüngsten Altersgruppe (12 - 14 Wochen) nur in einer Probe keine Antikörper nachgewiesen werden (1 von 90 negativ; 98,9 % positiv auf PPV1 Antikörper). Die Titer fielen tendenziell bis in die 18. - 20. Lebenswoche ab bzw. blieben gleich. In fünf Betrieben (1, 2, 4, 5 und 8) fielen die Titer bis zur 24. bzw. 26. Lebenswoche weiter ab oder bleiben gleich (Abb. 2). Die Titermittelwerte lagen dabei bei den ältesten Tieren immer noch bei 1:20 bis 1:40, wobei die Werte von 1:10 bishin zu 1:320 reichten. Bei drei Betrieben (3, 6 und 9) stiegen die Titer zwischen 18 und 22 bzw 24 Lebenswochen auf bis zu Titer von  $\geq 1: 10240$  (Mittelwert zwischen 1: 1280 und 1: 2560). Diese Titerhöhen sind stark hinweisend auf eine Antikörperreaktion nach Feldviruskontakt. Im Betrieb 7 stiegen die Titer von Anfang an kontinuierlich an, ebenfalls in Titerhöhen, die auf eine PPV1-Feldinfektion hinweisen.

Unterschiede in den Titerhöhen in Abhängigkeit vom eingesetzten Impfstoff bei den Muttertieren waren gering. 12-14 Wochen alte Nachkommen von mit Impfstoff 1 (Porcilis<sup>®</sup> Ery Parvo) und Impfstoff 2 (Parvoruvac<sup>®</sup>) geimpften Müttern hatten durchschnittliche Antikörpertiter von 1:40, während gleichaltrige Nachkommen von mit Impfstoff 3 (Eryseng<sup>®</sup>Parvo) geimpften Müttern geringgradig höhere Titer von durchschnittlich 1:80 hatten.



**Abb. 2:** HI-Titer der 270 Serumproben inklusive Darstellung der Min-Max-Werte und des Medians, unterteilt in Betrieb, Alter in Lebenswochen und Impfstoff, der bei den Muttertieren verwendet wurde (Reihe 1: Impfstoff 1, Reihe 2: Impfstoff 2, Reihe 3: Impfstoff 3).

### **Unterschiede zwischen HI-Test und ELISA Ergebnissen**

Der Verlauf der ELISA Ergebnisse der Betriebe 1, 2, 4, 5 und 8 gleicht jenen der HI-Test Ergebnisse: Maternale Antikörper waren mit 12-14 Wochen entweder vorhanden (HI-Test) oder knapp unter dem Cut-off (ELISA) und fielen dann mit fortgeschrittenem Alter kontinuierlich ab. Auch die Ergebnisse der Betriebe 3, 6 und 9 sind vergleichbar. Antikörpertiter bzw. OD Werte sanken ab und stiegen dann zwischen 18 und 22 bzw 24 Wochen wieder an. Aufgrund der Titerhöhen (HI-Test) kann von einer Feldinfektion ausgegangen werden, die OD-Werte stiegen jedoch ebenfalls stark. Die Vergleichbarkeit gilt auch für Betrieb 7, wo die Feldinfektion bereits zwischen 12./14. Lebenswoche und 18. Lebenswoche stattfand.

#### 4. Diskussion

In der Routinepraxis wird eine PPV1-Abklärung aus zwei verschiedenen Aspekten heraus durchgeführt: Zum einen, wenn die klinische Symptomatik auf eine Infektion hindeutet – dann wird in der Regel ein direkter Erregernachweis mittels PCR aus fötalem Gewebe durchgeführt; zum anderen zur Überwachung in Form eines Herdenscreenings wie beispielsweise von zugekauften Jungsauen in Quarantäne oder Eber in einer Eberstation oder ganze Sauenherden. Letzteres wird auf Basis von serologischen Untersuchungen durchgeführt. Dafür stehen in den meisten Ländern diverse ELISA Systeme zur Verfügung, deren Ergebnisse zu einer Ja-Nein-Aussage führen. Maternale Antikörper können nicht von Impfantikörpern sowie selbstgebildeten Antikörpern unterschieden werden, was eine Interpretation schwierig macht. Über die Nachweislänge von maternalen Antikörpern ist wenig Literatur vorhanden, auch, ob es Unterschiede in der Nachweislänge abhängig vom verabreichten Impfstoff bei den Muttertieren gibt, ist nicht bekannt.

Ziel der Studie war es somit, den Verlauf der maternalen Antikörper bei Mast- oder Nachzuchtschweinen zwischen 12 und 26 Lebenswochen mittels ELISA und HI-Test zu ermitteln, sowie die Ergebnisse miteinander zu vergleichen.

Schlussendlich zeigen die Ergebnisse dieser Studie deutlich die Probleme, die bei der Interpretation von serologischen Testergebnissen auftreten: Während nur 14 % der beprobten Tiere im ELISA positiv getestet wurden, waren es im HI Test 93 % der Tiere. Eine mögliche Erklärung dafür ist eine höhere Sensitivität des HI-Tests im Vergleich mit dem verwendeten ELISA. Allerdings muss bedacht werden, dass es beim ELISA im Gegensatz zum HI-Test einen vorgegebenen Cut-off gibt. Während ein ELISA OD-Wert von unter 0,3 als negativ definiert wird, ist ein HI-Titer von 1:10 positiv, da keine Grenzen gezogen werden. Weiters erschwerend kommt beim Methodenvergleich hinzu, dass verschiedene Antigene verwendet werden. Während beim ELISA IgG gegen VP2 gemessen wird, wird im verwendeten inhouse HI-Test das Feldisolat NADL-2 verwendet. HI-Ergebnisse sind prinzipiell abhängig von den verwendeten Antigenen und es wäre optimal, einen in der Umgebung zirkulierenden Stamm als Antigen zu verwenden. Da keine oder kaum Informationen über aktuell zirkulierenden PPV1 Erregerstämme in Europa verfügbar sind, ist es möglich, dass sich die zur Messung verwendeten Antigene von den Feld-Antigenen unterscheiden.

Wie bereits in einer brasilianischen Studie gezeigt werden konnte, waren auch bei der in Österreich durchgeführten Studie der Großteil der beprobten Tiere (86 %) seronegativ im ELISA [24]. Dagegen

konnten mittels HI-Test in 93 % der Proben Antikörper gegen PPV1 nachgewiesen werden, was eine längere Verweildauer von maternalen Antikörpern vermuten lässt. So ist das Ergebnis einer Studie über die Verweildauer von maternalen Ak abhängig vom angewandten serologischen Testverfahren und vom gewählten Cut-off. Zum Beispiel wurde in bisherigen Studien, in denen ein früherer Abfall der maternalen Antikörper festgestellt wurde, ein Cut-off von 1:320 im HI-Test gewählt, oder es wurde nur ein ELISA verwendet, um maternale Antikörper nachzuweisen [24, 25]. Deswegen sind Aussagen über die Verweildauer von maternalen Antikörpern immer kritisch zu hinterfragen und die gesetzten Studienparameter zu beachten.

In der vorliegenden Studie konnte mittels HI-Test ein langsamer Abfall der maternalen Antikörper von den dreimonatigen zu den sechs Monate alten Tieren beobachtet werden, außer, es gab eine Serokonversion aufgrund eines Kontaktes mit Feldvirus. Tatsächlich waren aber auch bei den Tieren im sechsten Lebensmonat immer noch geringe Titerstufen von 1:40 oder 1:80 im HI-Test messbar. Mittels ELISA war ein Nachweis von Antikörpern nach 12-14 Wochen nicht mehr möglich. Vannier et al. konnten sogar im Alter von fünf Wochen einen Abfall der maternalen Antikörper im HI-Test zeigen [25]. Das verwendete Testsystem muss daher unbedingt immer genannt werden, um Aussagen wie diese richtig interpretieren zu können.

Trotz des frühen Abfalls maternaler Antikörper im HI-Test infizierten sich die Tiere aus der Studie von Vannier et al. nicht vor der 22. Lebenswoche [25]. Dasselbe konnte teilweise auch auf den Studienbetrieben beobachtet werden, beispielsweise wurde in den Betrieben 3 und 6 bei den 18-20 Wochen alten Tieren noch niedrige Ak Titer (1:10 – 1:80) mittels HI Test gemessen, während die nächst-ältere Gruppe bereits hohe Titer zeigte, hinweisgeben auf eine Feldinfektion zwischen den Altersgruppen. Dass keine Symptome aufgetreten sind, liegt vor allem daran, dass nicht-trächtige Tiere klinisch nicht betroffen sind. Zelluläre Abwehrmechanismen, über die wenig bekannt ist, dürften jedoch auch eine Rolle spielen.

Im Betrieb 7 sprechen hohe Antikörpertiter bei drei 18 Wochen alten Mastschweinen für eine Infektion mit PPV1, während die restlichen Tiere dieser Altersgruppe auf dem Betrieb noch nachweisliche niedere Antikörpertiter von 1:40 bis 1:80 hatten. Das kann bedeuten, dass sich die Tiere im Beisein maternaler Antikörper mit PPV1 infiziert haben.

In dieser Studie sieht man deutlich, dass der Antikörperverlauf zum einen abhängig ist vom Betrieb, zum anderen auch zwischen den Tieren des gleichen Betriebes Unterschiede bestehen. Dies können individuelle Unterschiede zwischen den beprobten Tieren sein, der eingesetzte Impfstoff bei den Muttertieren könnte jedoch auch Einfluss auf die Verweildauer der maternalen Antikörper in den Nachkommen haben. Es konnten Titerunterschiede auf Herdenbasis abhängig vom eingesetzten Impfstoff bei den Muttersauen gezeigt werden, allerdings gibt es dazu keine aktuellen Studien, die dies beweisen könnten. Nachdem es in fünf von neun Betrieben zu keinem Titeranstieg zu keinem Zeitpunkt kam, kann man davon ausgehen, dass es auch Betriebe gibt, in denen kein PPV1 in der Jungsaufzucht oder Mast zirkuliert.

Für diese Studie wurde jedem Schwein nur eine Serumprobe entnommen, was eine der größten Einschränkungen für diese Studie darstellt. Mit einer seriellen Beprobung hätte eine bessere Aussagekraft über die Verweildauer der maternalen Antikörper erreicht werden können bzw. hätten auch Anzeichen einer Viruszirkulation auf den Betrieben besser eingeschätzt werden können. In der Praxis ist es jedoch üblich, für Routinekontrollen nur eine Probe zu entnehmen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es Indizien gibt, dass maternale Antikörper in niedrigen Spiegeln bis hin zu einem Alter von sechs Monaten in den Tieren nachweisbar sind. Serologische Testergebnisse sind schwierig zu interpretieren und sollten vermieden werden sollten, wenn alternativ ein direkter Nachweis von PPV-DNA durchgeführt werden kann. Wenn Aussagen zur Verweildauer von maternalen Antikörpern in Mast- oder Zuchtläufem getroffen werden, muss auf das verwendete Testverfahren geachtet und Augenmerk auf die gewählten Rahmenbedingungen gelegt werden.

### **Beiträge der Autorinnen und Autoren**

Die Erstellung des Konzeptes erfolgte durch C.U., R.R. und A.L. Die Probengewinnung erfolgte durch R.R. und B.B. Die ELISAs wurden unter der Anleitung von M.K. von B.B. durchgeführt. Die HI-Tests wurden von U.T., A.W. und R.K. durchgeführt. Die Daten wurden von R.R. und B.B. analysiert. Das Grundmanuskript wurde von B.B. angefertigt. C.U. und R.R. halfen bei der Finalisierung des Manuskriptes.

## 5. Literaturverzeichnis

1. Mengeling, W. L.; Lager, K. M.; Vorwald, A. C. (2000): The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. In: *Animal reproduction science* 60-61, S. 199–210. DOI: 10.1016/s0378-4320(00)00135-4.
2. Parke, C. R.; Burgess, G. W. (1993): An economic assessment of porcine parvovirus vaccination. In: *Australian veterinary journal* 70 (5), S. 177–180. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1993.tb06124.x.
3. Cartwright, S. F.; Lucas, M.; Huck, R. A. (1969): A small haemagglutinating porcine DNA virus. I. Isolation and properties. In: *Journal of comparative pathology* 79 (3), S. 371–377. DOI: 10.1016/0021-9975(69)90053-x.
4. Simpson, Alan A.; Hébert, Benoît; Sullivan, Gail M.; Parrish, Colin R.; Zádori, Zoltán; Tijssen, Peter; Rossmann, Michael G. (2002): The structure of porcine parvovirus: comparison with related viruses. In: *Journal of molecular biology* 315 (5), S. 1189–1198. DOI: 10.1006/jmbi.2001.5319.
5. Mengeling, W. L.; Cutlip, R. C. (1976): Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. In: *American journal of veterinary research* 37 (12), S. 1393–1400.
6. Mengeling, W. L.; Paul, P. S. (1981): Reproductive performance of gilts exposed to porcine parvovirus at 56 or 70 days of gestation. In: *American journal of veterinary research* 42 (12), S. 2074–2076.
7. Lenghaus, C.; Forman, A. J.; Hale, C. J. (1978): Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. In: *Australian veterinary journal* 54 (9), S. 418–422. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1978.tb05565.x.
8. Zeeuw, E. J. L.; Leinecker, N.; Herwig, V.; Selbitz, H-J; Truyen, U. (2007): Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. In: *The Journal of general virology* 88 (Pt 2), S. 420–427. DOI: 10.1099/vir.0.82302-0.
9. Streck, André Felipe; Truyen, Uwe (2020): Porcine Parvovirus. In: *Current issues in molecular biology* 37, S. 33–46. DOI: 10.21775/cimb.037.033.
10. Mengeling, W. L. (1972): Porcine parvovirus: properties and prevalence of a strain isolated in the United States. In: *American journal of veterinary research* 33 (11), S. 2239–2248.

11. Hohdatsu, T.; Baba, K.; Ide, S.; Tsuchimoto, M.; Nagano, H.; Yamagami, T. et al. (1988): Detection of antibodies against porcine parvovirus in swine sera by enzyme-linked immunosorbent assay. In: *Veterinary microbiology* 17 (1), S. 11–19. DOI: 10.1016/0378-1135(88)90075-2.
12. Westenbrink, F.; Veldhuis, M. A.; Brinkhof, J. M. (1989): An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to porcine parvovirus. In: *Journal of Virological Methods* 23 (2), S. 169–178. DOI: 10.1016/0166-0934(89)90130-4.
13. Morimoto, T.; Fujisaki, Y.; Ito, Y.; Tanaka, Y. (1972): Biological and physicochemical properties of porcine parvovirus recovered from stillborn piglets. In: *National Institute of Animal Health quarterly* 12 (3), S. 137–144.
14. Truyen, Uwe; Streck, André Felipe (2019): Parvoviruses. In: Jeffrey J. Zimmerman, Locke A. Karriker, Alejandro Ramirez, Kent J. Schwartz, Gregory W. Stevenson und Zhang Jianqiang (Hg.): *Diseases of swine*, Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, S. 611–621.
15. Jóźwik, A.; Manteufel, J.; Selbitz, H-J; Truyen, U. (2009): Vaccination against porcine parvovirus protects against disease, but does not prevent infection and virus shedding after challenge infection with a heterologous virus strain. In: *The Journal of general virology* 90 (Pt 10), S. 2437–2441. DOI: 10.1099/vir.0.012054-0.
16. Johnson, R. H.; Donaldson-Wood, C.; Allender, U. (1976): Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. In: *Australian veterinary journal* 52 (2), S. 80–84. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1976.tb13862.x.
17. Sánchez-Matamoros, Almudena; Camprodon, Agustí; Maldonado, Jaime; Pedrazuela, Rafael; Miranda, Joel (2019): Safety and long-lasting immunity of the combined administration of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus 1 and an inactivated vaccine against porcine parvovirus and *Erysipelothrix rhusiopathiae* in breeding pigs. In: *Porcine health management* 5, S. 11. DOI: 10.1186/s40813-019-0118-9.
18. Kuiper VA (1985): Epizootologie und Erfahrungen mit der Impfprophylaxe des parvovirusbedingten Smedisyndroms. In: *Der Praktische Tierarzt* 5, S. 422.
19. Kiss, István; Kovács, Edit; Zádori, Zoltán; Mészáros, István; Cságola, Attila; Bajnóczi, Pál et al. (2020): Vaccine Protection Against Experimental Challenge Infection with a PPV-27a Genotype Virus in Pregnant Gilts. In: *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)* 11, S. 17–24. DOI: 10.2147/VMRR.S236912.

20. Van den Born, Erwin; van den Elzen, Paul P. M.; van Kilsdonk, Emma; Hoeijmakers, Mathieu J. H.; Segers, Ruud P. A. M. (2020): An octavalent vaccine provides pregnant gilts protection against a highly virulent porcine parvovirus strain. In: *BMC veterinary research* 16 (1), S. 55. DOI: 10.1186/s12917-020-2272-3.
21. Garcia-Morante, Beatriz; Noguera, Marta; Klocke, Sonja; Sommer, Kathrin; Kaiser, Troy; Haist, Verena et al. (2019): A novel subunit vaccine based on the viral protein 2 of porcine parvovirus: safety profile in bred pigs at different stages of the reproduction cycle and in offspring. In: *Heliyon* 5 (11), e02593. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02593.
22. Anderson A, Herring M, Mehling S, VanderPoel S, Nerem J (2020): Analysis of Porcine Parvovirus Maternal Antibody Decay in Replacement Gilts by HI and ELISA assays. In: *Proceedings of 51st Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians, Atlanta, USA, March 7–10; Poster 07*, S. 226–227.
23. Noguera, Marta; Vela, Antonio; Kraft, Christian; Chevalier, Mathieu; Goutebroze, Sylvain; Paz, Xavier de et al. (2021): Effects of three commercial vaccines against porcine parvovirus 1 in pregnant gilts. In: *Vaccine* 39 (29), S. 3997–4005. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.05.042.
24. Gava, Danielle; Souza, Carine Kunzler; Mores, Tiago José; Argenti, Laura Espíndola; Streck, André Felipe; Canal, Cláudio Wageck et al. (2017): Dynamics of vanishing of maternally derived antibodies of Ungulate protoparvovirus 1 suggests an optimal age for gilts vaccination. In: *Tropical animal health and production* 49 (5), S. 1085–1088. DOI: 10.1007/s11250-017-1301-0.
25. Vannier, P.; Tillon, J. P.; Cariolet, R.; Madec, F. (1984): A seroepizootiological study of Parvovirus in pig herds. In: *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of veterinary medicine. Series B* 31 (1), S. 36–45. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1984.tb01278.x.
26. Christopher-Hennings J; Erickson GA; Hesse RA; Nelson EA; Rossow S; Scaria J; Slavic D. (2019): Diagnostic Tests, Test Performance, and Considerations for Interpretation. In: Jeffrey J. Zimmerman, Locke A. Karriker, Alejandro Ramirez, Kent J. Schwartz, Gregory W. Stevenson und Zhang Jianqiang (Hg.): *Diseases of swine*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, S. 75–97.
27. Pozzi, Paolo; Loris, Alborali (2012): Reproductive Diseases in Sows (*Sus scrofa domestica*): A Review. In: *Israel Journal of Veterinary Medicine* 67, S. 24–33.