

IMMUNSVAR HOS SØER OG GYLTE EFTER VACCINATION MED INAKTIVEREDE VACCINER MOD PRRS (PRIME-BOOST)

Mette Kryhmand^a, Hanne Bak^b, Elisabeth Okholm Nielsen^b, Lise Kirstine Kvisgaard^a og Lars Erik Larsen^a

^aInstitut for Veterinær- og Husdyrvidenskab, Københavns Universitet

^b SEGES Innovation P/S, Den rullende Afprøvning

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden

Hovedkonklusion

Efter boostvaccination med inaktiveret PRRS-vaccine i fire besætninger, hvor poltene vaccineres med PRRS MLV-vaccine, blev den gennemsnitlige ELISA titer signifikant øget hos søer i alle besætninger og hos gylte i to besætninger, men der kunne ikke påvises en beskyttende effekt af vaccinationerne, fordi niveauet af neutraliserende antistoffer ikke blev øget.

Sammendrag

Vaccination af gylte og søer ved anvendelse af prime-boost konceptet (vaccination med inaktiveret PRRS-vaccine i dyr, der som polte var vaccineret med PRRS-vaccine baseret på modificeret levende virus) gav en signifikant stigning i det gennemsnitlige niveau af antistoffer målt ved ELISA, men resulterede ikke i et højere niveau af neutraliserende antistoffer. Afprøvningen kunne derfor ikke påvise en beskyttende effekt af prime-boost konceptet.

Formålet med denne afprøvning var at undersøge immunsystemets respons efter vaccination mod Porcint reproduktivt og respiratorisk syndrom virus (PRRSV) ved anvendelse af det såkaldte prime-boost koncept, hvor gylte og søer, der som polte er vaccineret mod PRRSV med en vaccine baseret på modificeret levende virus (MLV) (=prime), efterfølgende vaccineres med en vaccine baseret på inaktiveret virus (INV) (=boost). Afprøvningen blev foretaget i fire sobesætninger, to smittet med PRRS-1 og to smittet med PRRS-2, og der blev anvendt MLV- og INV-vacciner svarende til den type PRRSV, der fandtes i den enkelte besætning. Alle inkluderede gylte og søer var vaccineret to gange med den relevante PRRS MLV-vaccine som polte før indsættelse i besætningerne, og de blev efterfølgende

vaccineret med PRRS INV-vaccine på dag 60-70 i drægtigheden. Undersøgelse af immunsvaret blev foretaget ved at sammenligne antistoffer målt ved ELISA (Idexx), samt neutraliserende antistoffer (NA) målt ved serumneutralisationstest i blodprøver taget umiddelbart før boostvaccination med PRRS INV-vaccine og blodprøver taget på dag 35 efter.

Der blev vaccineret 69 gylte og søer i hver af de fire besætninger. I de to besætninger, der var smittet med PRRS-2, var knap halvdelen (hhv. 44 % og 43 %) af de inkluderede dyr positive for antistoffer mod PRRSV målt ved ELISA ved inklusion, og efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine blev andelen af ELISA-positive dyr øget til hhv. 52 % og 75 %. I de to besætninger, der var smittet med PRRS-1, var næsten alle de inkluderede dyr ELISA-positive for PRRSV ved inklusion (hhv. 97 % og 95 %), fordelt sådan, at alle de inkluderede gylte og 95 % af søerne var positive. Efter boostvaccination blev det totale antal af ELISA-positive dyr øget til hhv. 97 % og 98 %. Den gennemsnitlige ELISA-titer steg signifikant i alle fire besætninger efter boost med PRRS INV-vaccine. Serumneutralisations titer (NA) blev målt hos 21-24 dyr pr. besætning. Mod forventning faldt den gennemsnitlige NA-titer signifikant efter boostvaccination i besætninger med PRRS-2, mens der ikke kunne observeres en signifikant forskel i NA-titer før og efter boostvaccination i besætningerne med PRRS-1. Antallet af dyr med neutraliserende antistoffer (NA) blev ikke øget i nogen af besætningerne efter boostvaccination, og der blev heller ikke fundet tydelig korrelation mellem ELISA- og NA-titer på enkeltdyrsniveau. Derfor kan der ikke konkluderes noget mht. eventuel beskyttende effekt af hverken MLV- eller boostvaccination, selvom boostvaccination med PRRS INV-vaccine resulterede i en signifikant øgning af den gennemsnitlige ELISA-titer.

Baggrund

Porcint reproduktivt og respiratorisk syndrom virus (PRRSV) er udbredt i de fleste griseproducerende regioner i verden og bidrager til store økonomiske tab og nedsat sundhed i berørte besætninger. Derfor forskes der i udvikling af de bedste kontrolstrategier, herunder vaccinationsprogrammer. Størstedelen af PRRSV-vaccinerne er baseret på modificeret levende virus (MLV), men der findes også såkaldt dræbte vacciner, som er baseret på inaktiveret virus (INV), hvor virus ikke kan smitte videre fra vaccinerede grise. Vaccination med MLV medfører et reduceret antal grise, som bliver smittet med PRRSV, mindre alvorlige symptomer hos smittede dyr, samt at dyrene renser sig hurtigere for virus, fordi formering af virus i grisens celler hæmmes. Hele processen fra MLV-vaccination til opnåelse af et fuldt udviklet immunrespons tager mindst tre uger. Ved en ekstra vaccination tre uger efter første vaccination øges effekten af vaccination, og det antages, at en vaccination igen ca. 3 måneder efter de første to vaccinationer vil øge immuniteten yderligere og derved hjælpe smittede grise til at eliminere PRRSV endnu hurtigere og mere effektivt (1).

MLV-vacciner simulerer naturlig infektion og antages at stimulere det medfødte immunsystem og fremme et effektivt immunrespons på PRRSV, hvilket både resulterer i produktion af antistoffer i blodet og stimulerer de såkaldte T-celler, som gør, at grisen bedre kan reagere på infektion med PRRSV. Anvendelse af MLV-vacciner indebærer nogle sikkerhedsproblemer, fordi der kan opstå mutationer, hvilket kan føre til, at vaccinevirus igen bliver sygdomsfremkaldende, og vaccinerede grise kan udskille vaccinevirus og smitte grise, som ikke har immunitet mod PRRS og dermed fremkalde sygdom i disse grise. Desuden er der en risiko for, at der sker blanding (rekombination) mellem vaccinevirus og det PRRSV, der allerede findes i besætningerne eller mellem forskellige vaccinstammer, hvis samme gris vaccineres/smittes med flere PRRS-stammer af samme type (PRRSV-1 eller PRRSV-2). Horsensstammen i Danmark er et eksempel på en rekombination mellem to PRRSV-1 MLV-vacciner (Unistrain®PRRS, Hipra og Suvaxyn®PRRS, Zoetis) (2). Denne rekombinerede nye stamme er meget smitsom og har forårsaget alvorlige udbrud og sygdom i smittede danske besætninger (3). På trods af disse sikkerhedsproblemer bruges MLV-vacciner stadig som standardvaccination i de fleste PRRSV-

kontrolprogrammer globalt. Baseret på smitteforsøg ser det ud til, at PRRS MLV-vacciner fremkalder en sen, men effektiv beskyttelse mod de PRRSV-stammer, som den aktuelle vaccine er fremstillet ud fra, hvorimod beskyttelsen mod genetisk anderledes stamme kun er partiel. Dette forklarer, hvorfor der kan forekomme PRRSV-udbrud i MLV-vaccinerede besætninger (4).

I modsætning til MLV-vaccinerne, medfører anvendelse af INV-vacciner ikke større sikkerhedsproblemer, fordi viruskomponenten i vaccinerne er inaktiveret og dermed ikke kan ændre sig eller smitte mellem dyr. Der er dog stor bekymring for, om den beskyttende effekt af INV-vacciner er tilstrækkelig, hvilket blandt andet har resulteret i, at kommercielle INV-vacciner mod PRRS siden 2005 ikke har været tilgængelige i USA (4). I et dansk veterinært speciale (5) blev der foretaget en systematisk gennemgang af tilgængelig litteratur vedrørende effekten af INV-vacciner mod PRRS. I alt 16 videnskabelige undersøgelser blev inkluderet og gennemgået, og overordnet kunne der i de 16 undersøgelser påvises et kraftigere immunrespons målt med enzym-linked immunosorbent assay (ELISA) på blodprøver fra INV-vaccinerede grise sammenlignet med uvaccinerede grise, når disse efterfølgende blev udsat for smitte med PRRSV. Derimod kunne der ikke konkluderes noget vedrørende neutraliserende antistoffer eller antal viruspartikler i blodet efter smitte, da de forskellige studier havde modstridende resultater. I flere kontrollerede forsøg blev det påvist, at vaccination med INV-vacciner gav utilstrækkelig produktion af neutraliserende antistoffer og mangel på cellemedieret immunrespons (CMI-respons), når grisene blev INV-vaccineret uden først at have været eksponeret for PRRS-virus, hvilket kan være forklaringen på den ovenfor nævnte dårlige beskyttelse mod PRRSV (4). Det er derfor uklart, om de INV-vaccinerede dyr reelt er beskyttet mod PRRSV, da dette ikke kan afgøres udelukkende ud fra ELISA, fordi ELISA i modsætning til neutralisationstesten påviser alle typer af antistoffer, heriblandt også antistoffer, der ikke er beskyttende (neutraliserende). Konklusionen på litteraturgennemgangen er derfor, at det mest effektive INV-vaccinations-skema sandsynligvis er prime-boost-konceptet, hvor grisene først vaccineres (primes) enten med levende virus eller MLV-vaccine, hvorefter immunresponsen boostes med INV-vaccine.

På grund af sikkerhedsproblemerne ved anvendelse af MLV-vacciner mod PRRS, er det ønskeligt for griseproducenterne at udelade eller reducere brugen af MLV-vacciner, og så vidt muligt erstatte dem med INV-vacciner, forudsat at der med disse kan opnås tilstrækkelig beskyttelse af søerne. Formålet med denne afprøvning var derfor at undersøge immunsystemets respons efter anvendelse af prime-boost konceptet med vaccination med en af to forskellige PRRS INV-vacciner til gylte og søer, som forud for INV-vaccination var primet med en dobbeltvaccination som polte med MLV-vaccine mod PRRS. For flere detaljer omkring afprøvningen og de udførte immunologiske analyser henvises til Mette Kryhlmads speciale (5).

Materialer og metoder

Afprøvningen blev udført i fire besætninger, hvor alle polte var vaccineret to gange med PRRS MLV-vaccine før indsættelse i soholdet, hvorved alle både gylte og søer i besætningerne blev anset som værende primet med levende PRRSV. Den tidsmæssige afstand mellem prime (MLV-vaccination) og boost (INV-vaccine) var afhængig af dyrenes alder, idet gylte og yngre søer var primet for kortere tid siden end ældre søer. For at optimere resultatet, blev der så vidt muligt kun inkluderet gylte og yngre søer i afprøvningen.

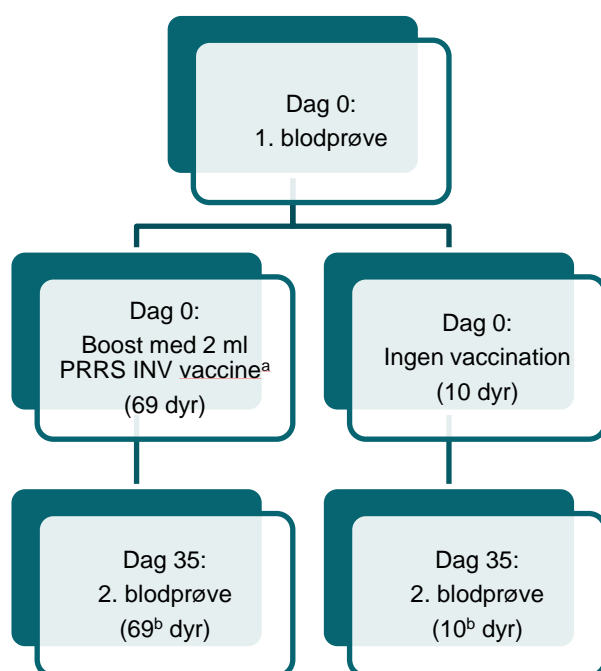
Design

Undersøgelsen var designet som et observationelt kohortestudie i fire danske PRRSV-positive sobesætninger uden kliniske symptomer på infektion med PRRSV. To af besætningerne var smittet med PRRSV-1 og to var smittet med PRRSV-2. Hver besætning havde en karantæneenhed til de indkøbte polte, hvor alle polte fik to doser MLV-vacciner mod PRRSV-1 eller PRRSV-2 svarende til den

type PRRS, besætningen var smittet med, inden de blev flyttet fra karantænen ind i sobesætningen. Fra hver besætning blev 69 søer og gylte inkluderet og udgjorde boostvaccinationsgruppen i undersøgelsen. Fem gylte og fem søer i hver besætning blev desuden inkluderet som uvaccinerede kontrol dyr for at afsløre et eventuelt immunrespons forårsaget af cirkulerende PRRSV i besætningen. INV boostvaccinerede gylte og søer fik hver én dosis på 2 ml INV PRRS-vaccine intramuskulært bag øret. I de to besætninger, der var smittet med og MLV-vaccineret mod PRRSV-1, blev dyrene boostvaccineret med Progressis®Vet (Ceva Santé Animale, Frankrig), og i de to besætninger, som var smittet med og MLV-vaccineret mod PRRSV-2, blev dyrene boostvaccineret med Suivac®PRRS-IN (Dyntech, Tjekkiet) (tabel 1). Boostvaccinationen blev administreret på det tidspunkt, hvor dyrene var 60-70 dage henne i drægtigheden.

Forløb

Hver besætning blev besøgt to gange: dag 0 og dag 35 (figur 1). Ved det første besøg blev løbelister over gylte og søer, der var 60-70 dage henne i drægtigheden, udskrevet på forhånd, og der blev efterfølgende udvalgt 79 dyr til blodprøvetagning. Dyrene blev inkluderet efter alder, så alle gylte blev inkluderet, og derefter fortsattes med 2. lægs søer osv., til der var inkluderet 79 dyr. De fem gylte og fem søer i hver besætning, der udgjorde kontrolgruppen, blev udvalgt ud fra løbelisten, så hver 3. gylt/so blev kategoriseret som kontrol dyr, indtil der var det påkrævede antal.



Figur 1. Forløbet i hver af de fire inkluderede besætninger.

^a Den anvendte INV-vaccine svarede til den type PRRS, som besætningen var smittet med, se også tabel 1.

^b Nogle søer udgik, fordi de ikke var opstaldet sammen med gruppens øvrige gylte og søer dag 35 (se tabel 1).

Prøvetagning

Blodprøver blev indsamlet fra alle inkluderede dyr umiddelbart før boostvaccination med INV-vaccine (dag 0) og igen fem uger efter boostvaccination (dag 35). Blod blev udtaget fra vena jugularis i BD Vacutainer® serumrør (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) til Idexx ELISA og SN-test og transporteret til laboratoriet i flamingokasse med køleelement.

Laboratorieanalyser

Blodprøverne blev undersøgt med to forskellige analyser: ELISA og serumneutralisationstest (SN). ELISA måler alle antistoffer, der er dannet mod PRRSV, mens SN-testen kun måler de antistoffer, der kan forhindre (neutralisere) virusinfektion af cellerne. Resultatet af begge tests udtrykkes som en titer, der angiver mængden af antistoffer i blodprøven, og for hver af de to analyser er der desuden fastlagt en cut-off titer, så blodprøver med en titerværdi over cut-off betegnes som PRRS-positive.

Idexx ELISA

Alle serumprøver indsamlet på dag 0 og 35 blev fortyndet 1:40 og analyseret for PRRSV-specifikke antistoffer ved hjælp af det kommercielle kit, IDEXX PRRS X3 Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, USA), ifølge protokol leveret af producenten. Testresultatet aflæses som S/P ratio, der beregnes som prøve til positiv kontrol (S/P-forholdet) for hver prøve. S/P-forhold $\geq 0,4$ blev tolket som positivt og $< 0,4$ som et negativt resultat (ingen antistoffer mod PRRSV). Jo højere S/P ratio, jo højere niveau af antistoffer var der i prøven, så derfor anvendes betegnelsen "titeren" i denne rapport som et semikvantitativt mål for mængden af antistoffer i prøven. Tvivlsomme resultater blev testet igen for at bekræfte resultatet.

Serumneutralisationstest

Serumneutralisationstesten, hvor der måles neutraliserende antistoffer i serum, antages at give et mere retvisende billede af, om dyrene er beskyttet mod smitte end ELISA, hvor antistofsvaret ikke altid er korreleret til beskyttelse. Tilstedeværelsen af PRRSV-specifikt NA blev målt på en undergruppe i hver besætning bestående af de 25 yngste dyr blandt de boostvaccinerede gylte og søer og de fem gylte blandt kontrollerne, altså samlet 30 dyr pr. besætning. Serum blev testet for NA i en dobbelt fortyndingsserie (1:4 til 1:64 eller 1:8 til 1:128) og inkuberet med virusisolat fra den relevante vaccinstamme af enten PRRSV-1 eller PRRSV-2. Titeren af NA blev udtrykt som fortyndingstrin, så resultatet af testen angives 2, 4, 8, 16 osv., og værdier over 8 regnes som positive. På grund af stor spredning mellem testresultatet i prøverne var det ikke muligt at dække hele fortyndingsrækken i alle kørsler, så nogle kørsler har laveste værdi < 8 , mens andre kørsler er fortyndet ned til fortynding 2. Skift fra negativ til positiv status betegnes som serokonvering, mens en sikker stigning i titer antages at finde sted, når værdien øges med minimum to titer trin (ex. fra 8 til 32).

Statistisk analyse

Dataanalyserne blev udført med Microsoft® Excel Version 2210, mens Graph Pad Prism Version 9.5.0 blev brugt til statistisk analyse. Resultater fra Idexx ELISA og SN-resultaterne blev analyseret med en beskrivende statistisk metode, og resultaterne blev derefter analyseret for Gaussisk fordeling og varianserne sammenlignet mellem besætninger på dag 0 og 35. ELISA-resultater fra gylte og ELISA-resultater fra søer i hver besætning blev analyseret separat og sammenlignet ved enten Mann-Whitney test eller Welch's t-test afhængigt af, om data var non-parametriske eller parametriske. For alle statistiske analyser anses statistisk signifikans opnået ved p-værdier $< 0,05$.

Resultater og diskussion

Der blev inkluderet 79 drægtige gylte og søer i hver af de fire besætninger, hvoraf 69 blev boostvaccineret med PRRS INV-vaccine 60-70 dage efter insemination, mens fem søer og fem gylte var kontroller, og ikke blev vaccineret med INV-vaccine. Ved udtagelse af blodprøve på 35. dagen efter inklusion, var der i alle fire besætninger nogle dyr, som ikke kunne lokaliseres i besætningerne, hvorfor det ikke var muligt at udtage blodprøve nr. 2 (tabel 1). Resultatopgørelsen er baseret på de dyr, hvor der findes blodprøve både før og efter boostvaccination.

Ingen af de 10 kontroldyr i hver besætning ændrede status fra ELISA-negativ til ELISA-positiv i løbet af de 35 dage, der gik mellem 1. og 2. blodprøvetagning. I besætning 3 var der en stigning i den gennemsnitlige ELISA-titer mellem dag 0 og dag 35, dog signifikant mindre end hos de INV-vaccinerede dyr i samme besætning, og der var tre søer, som havde en stigning i NA-titer på mindst 2 titer trin mellem dag 0 og dag 35. I de øvrige tre besætninger var der hverken ændringer i den gennemsnitlige ELISA-titer eller i NA-titer mellem dag 0 og dag 35 hos kontroldyrene. I besætning 1, 2 og 4 kan alle titerstigninger i PRRS INV-vaccinerede dyr derfor tilskrives boost med PRRS INV-vaccine og ikke eksponering for levende virus i besætningen, mens det i besætning 3 ikke kan udelukkes, at en aktiv smittegang med PRRSV kan have bidraget til stigningen i ELISA-titeren.

Table 1. Oversigt over inkluderede besætninger og vaccinationer.

Besætning nr.	Anvendt MLV-vaccine til polte ^a	INV-vaccine i drægtighed ^b (2 ml/so)	# søer boostet med PRRS INV-vaccine	# søer kontrol uden boost med PRRS INV-vaccine	# antal søer uden blodprøve 2 (vacc/kontrol)
Bes. 1	PRRS-2	Suivac®PRRS-IN	69	10	4/0
Bes. 2	PRRS-2	Suivac®PRRS-IN	69	10	12/2
Bes. 3	PRRS-1	Progressis®Vet	69	10	4/0
Bes. 4	PRRS-1	Progressis®Vet	69	10	4/0

^a Besætningens gylte og søer vaccineret 2 x mod PRRS som polte af besætningspersonale før indsættelse i sohold.

^b INV-vaccine mod PRRS blev givet som booster 60-70 dage efter insemination.

^c Nogle søer udgik, fordi de ikke var opstaldet sammen med gruppens øvrige gylte og søer dag 35 (ikke lokaliseret).

ELISA-antistoffer

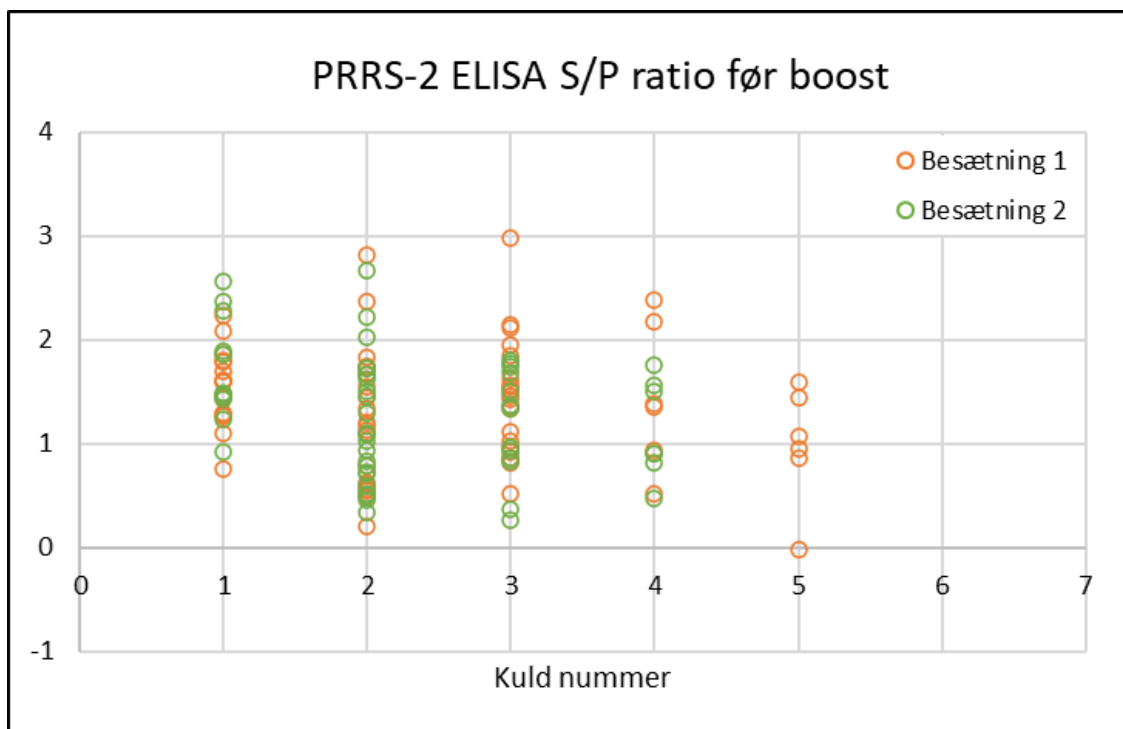
Resultaterne fra ELISA viste overordnet det samme billede for de to besætninger, der var smittet med PRRS-2 (besætning 1 og 2) og for de to besætninger, der var smittet med PRRS-1 (besætning 3 og 4).

ELISA-resultater før boostvaccination

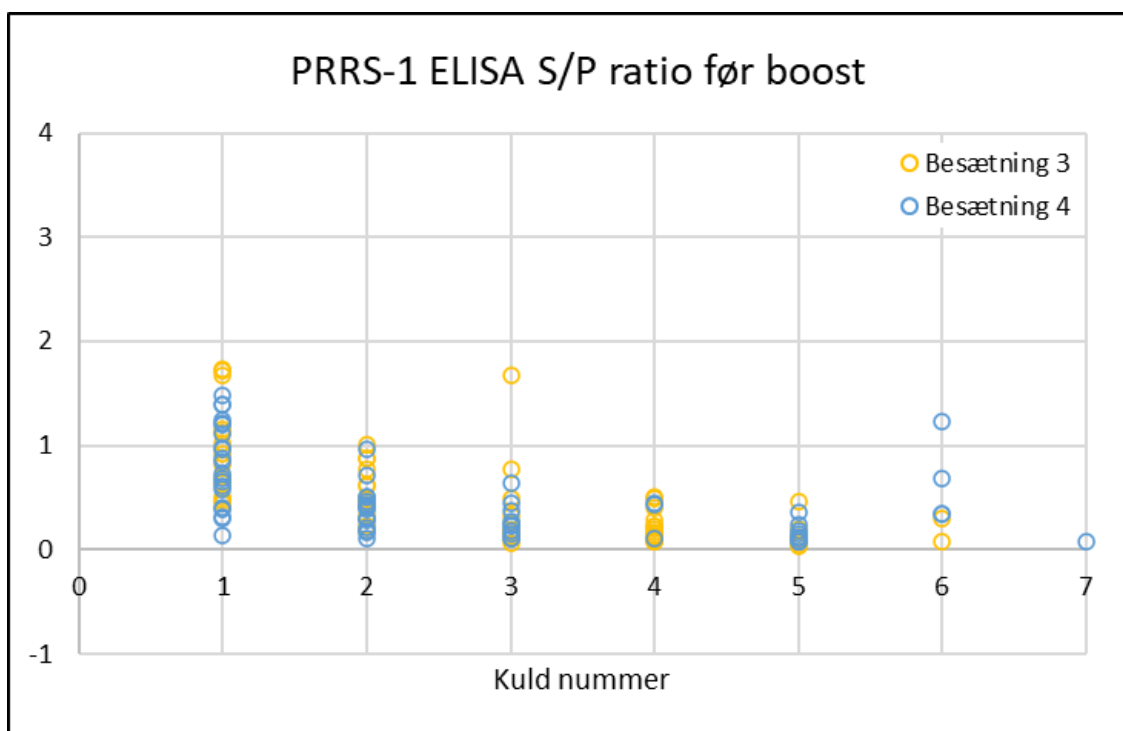
I de to besætninger, der var smittet med PRRS-2, var kun knap halvdelen (43 % i både besætning 1 og 2) af de inkluderede dyr positive for antistoffer mod PRRSV målt ved ELISA (ELISA-positive) ved inklusion, selvom alle dyrene angiveligt var vaccineret to gange med PRRS MLV-vaccine før introduktion i besætningen. Dette var overraskende, idet der tidligere er rapporteret om høj forekomst af ELISA-positive søer efter vaccination med PRRS-2 MLV (ex. (6)). Figur 2 viser, at den gennemsnitlige titer målt ved ELISA var aftagende med søernes alder. Ud af 27 inkluderede gylte var 23 (85 %) ELISA-positive ved inklusion (figur 3), mens det samme kun var tilfældet for 30 ud af de 96 inkluderede søer i besætning 1 og 2 (31 %). De fire negative gylte var alle i besætning 2. Den gennemsnitlige ELISA-titer var signifikant højere hos gylte end hos søer i begge besætninger.

I de to besætninger, der var smittet med PRRS-1, var billedet anderledes, idet næsten alle de inkluderede dyr var positive for antistoffer mod PRRSV målt ved ELISA (ELISA-positive) ved inklusion. Dette var hhv. 97 % og 95 % i besætning 3 og 4, af alle de inkluderede gylte (100 %) og 92 ud af 97 søer (95 %) var positive for antistoffer mod PRRS-1 ved inklusion. I figur 3 ses, at ELISA-titeren før boost ikke på samme måde falder med søernes alder, som det kunne ses for besætning 1 og 2. I besætning 4 var den gennemsnitlige titer dog stadig signifikant højere hos gylte end hos søer (1,68 mod 1,17).

Resultaterne for søer med forskellige kulnumre i de fire besætninger kan i nogen grad være påvirket af, at aldersfordelingen blandt de inkluderede dyr ikke var den samme i alle fire besætninger.



Figur 2. ELISA-titer i forhold til kulddnummer før boost med PRRS-2 INV-vaccine i besætning 1 og 2.



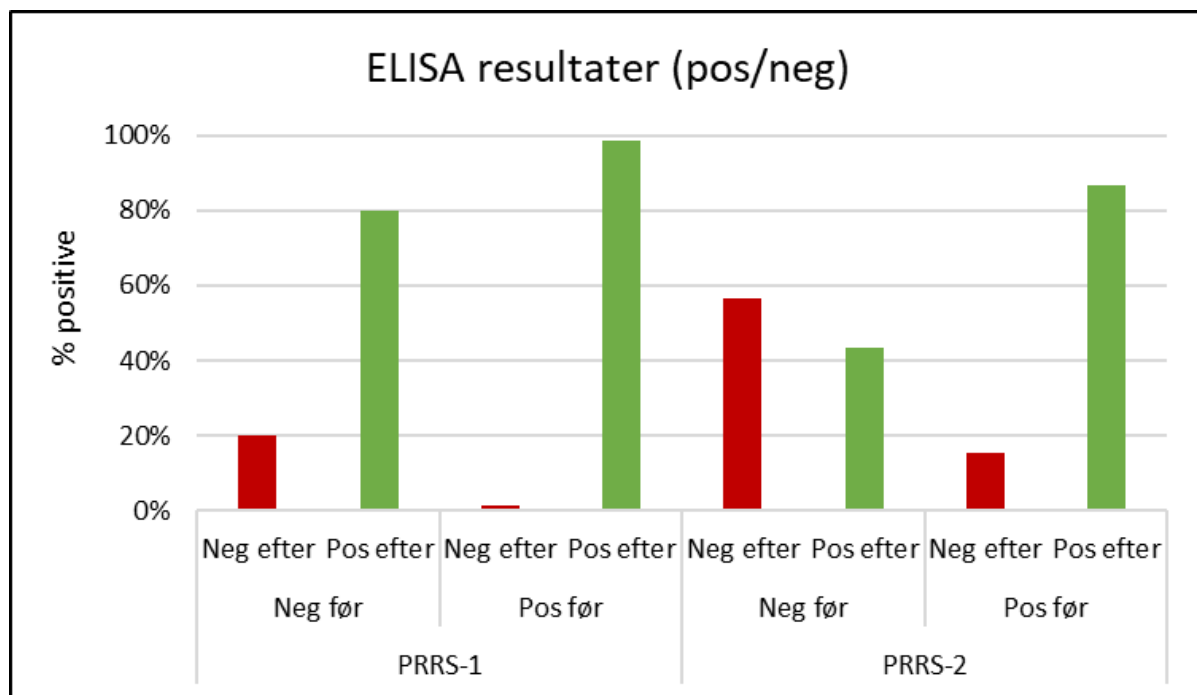
Figur 3. ELISA-titer i forhold til kulddnummer før boost med PRRS-1 INV-vaccine i besætning 3 og 4.

ELISA-resultater efter boostvaccination (antal ELISA-positive)

Efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine var andelen af ELISA-positive dyr i besætning 1 og 2 (PRRS-2) øget til hhv. 52 % og 75 % (fig. 4). I besætning 1 skiftede 10 søer fra ELISA-negativ til ELISA-positiv efter INV-vaccination, men samtidig skiftede seks dyr (fem gylte og en so) fra ELISA-positiv til ELISA-negativ. Langt de fleste dyr, der skiftede ELISA-”status”, havde en ELISA-titer relativt tæt på cut-off (+/- 0,1). Konklusionen for besætning 1 er derfor, at der reelt set ikke kunne observeres effekt på

antal ELISA-positive dyr efter PRRS INV-vaccination. I besætning 2 skiftede 19 dyr (en gylt og 18 søer) fra ELISA-negativ til ELISA-positiv efter INV-vaccination, og to dyr (en gylt og en so) skiftede fra ELISA-positiv til ELISA-negativ. Således kunne der i besætning 2 observeres en effekt af PRRS INV-vaccination på antallet af ELISA-positive dyr.

I besætning 3 og 4 (PRRS-1) blev andelen af ELISA-positive dyr øget til hhv. 97 % og 98 %. I besætning 3 serokonverterede én so efter INV-vaccination, og i besætning 4 serokonverterede tre søer fra ELISA-negativ til ELISA-positiv. Én so i hver af disse to besætninger gik fra at være ELISA-positiv til ELISA-negativ. Heller ikke i disse to besætninger kunne der altså observeres en reel effekt på antallet af ELISA-positive dyr efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine, men dette kan skyldes, at antallet af ELISA-positive var højt allerede før boostvaccination.



Figur 4. Andel gylte og søer med positiv ELISA-titer før og efter boost med PRRS INV-vaccine. Vist i forhold til dyrenes ELISA-status før boostvaccination. Resultaterne vises samlet for de to besætninger med PRRS-1 og med PRRS-2.

ELISA-resultater efter boostvaccination (titer målt som S/P ratio)

Samlet set steg den gennemsnitlige ELISA-titer signifikant i alle fire besætninger efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine. I de to besætninger, hvor poltene var vaccineret med PRRS-2 MLV, steg den gennemsnitlige ELISA-titer med hhv. 69 % (besætning 1) og 31 % (besætning 2). Opgørelse for hhv. gylte og søer viste, at det kun var hos søerne, der kunne måles en stigning i ELISA-titer efter boost med PRRS INV-vaccine (tabel 2). Den højeste stigning i ELISA-titer efter boostvaccination blev observeret i besætningerne med PRRS-1, hvor den gennemsnitlige ELISA-titer steg med hhv. 132 % (besætning 3) og 93 % (besætning 4). I disse to besætninger var der en signifikant stigning i ELISA-titer efter boostvaccination hos både gylte og søer; stigningen var i besætning 3 højest hos søerne, mens den i besætning 4 var på samme niveau hos gylte og søer.

Tabel 2. ELISA-titer hos gylte og søer før og efter boost med PRRS INV-vaccine.

PRRSV type	Besætning	Gennemsnitlig titer ratio før og efter INV-vaccination (boost)					
		Gylte			Søer		
		Antal dyr	Før	Efter	Antal dyr	Før	Efter
PRRS-2	1	13	1,00 ^a	0,69 ^a	52	0,32 ^a	0,55 ^b
	2	14	0,64 ^a	0,65 ^a	41	0,34 ^a	0,73 ^b
PRRS-1	3	13	1,33 ^a	2,65 ^b	53	1,33 ^a	3,17 ^b
	4	20	1,68 ^a	3,10 ^b	44	1,17 ^a	2,33 ^b
	Alle	60	1,21 ^a	1,9 ^b	190	0,80 ^a	1,73 ^b

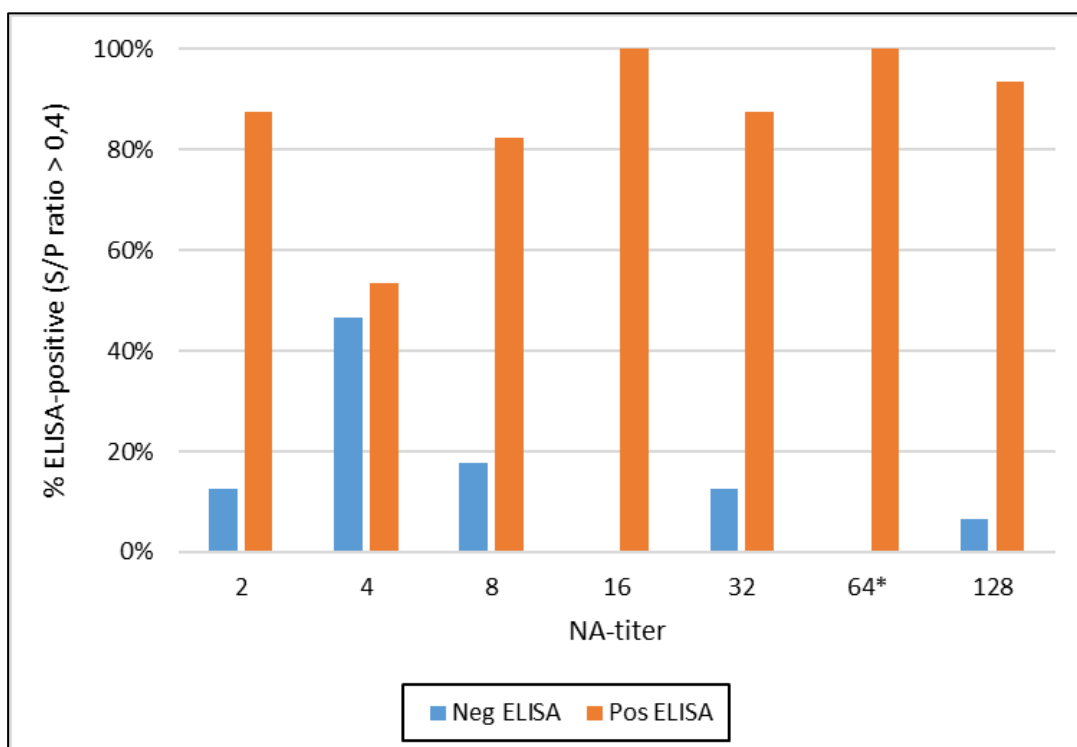
Forskellig notifikation ^{a,b} i samme række indenfor aldersgruppe: Den gennemsnitlige ELISA-titer er signifikant forskellig ($p < 0,05$) før og efter boost.

Serumneutralisationstest

Serumneutralisations titer (NA-titre) blev målt hos 24 dyr pr. besætning bortset fra besætning 2, hvor der kun var resultat fra 21 dyr, idet der var enkelte dyr, hvor det ikke var muligt at få en blodprøve både før og efter boost med PRRS INV-vaccine. Mod forventning faldt den gennemsnitlige NA-titer signifikant efter boost-vaccination i besætning 1 og 2 (PRRS-2), og der kunne ikke observeres en signifikant forskel i NA-titer før og efter boost-vaccination i besætning 3 og 4 (PRRS-1) (data ikke vist).

Totalt var der ti dyr, hvor NA steg mindst to logtrin efter boostvaccination, fordelt med to i besætning 2 (en gylt og en sø), fem i besætning 3 (tre gylte og to søer) og tre i besætning 4 (alle gylte). Samme NA-titer før og efter boost eller i få tilfælde en stigning på kun ét logtrin blev fundet hos 44 dyr, mens et fald i NA-titer sås hos 39 dyr, fordelt med 16 i besætning 1 (11 gylte og fem søer), otte i besætning 2 (seks gylte og to søer), seks i besætning 3 (tre gylte og tre søer) og ni i besætning 4 (syv gylte og to søer).

Der var ikke nogen tydelig sammenhæng mellem niveauet af ELISA-antistoffer og NA-titrene, ex. var der 23 dyr, som havde meget lave NA-titre før boost (titer 4 eller derunder), men 13 af disse var ELISA-positive. Blandt dyr med høj NA-titer før boost var der bedre sammenhæng til ELISA-resultaterne, idet 14 ud af 15 dyr, som havde en NA-titer på mindst 64, også var ELISA-positive (fig. 5). Gylte og søer var altså i mange tilfælde ELISA-positive, uden at de havde neutraliserende antistoffer, så den beskyttende effekt af vaccination bør ikke evalueres udelukkende ved ELISA.



Figur 5. Sammenhæng mellem neutraliserende antistoffer (NA) og andel ELISA-positive ELISA. Grafen viser resultatet for alle blodprøver både før og efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine.

Vaccination af PRRS MLV-vaccinerede gylte og søer med PRRS INV-vaccine resulterede i en signifikant øgning af antistoffer målt i ELISA i fire besætninger, men der kunne ikke observeres en stigning i beskyttende neutraliserende antistoffer målt ved serumneutralisationstest.

Konklusion

Den gennemsnitlige ELISA-titer blev signifikant øget i PRRS MLV-vaccinerede søer i fire besætninger efter boostvaccination med PRRS INV-vaccine. Samme resultat blev opnået hos gyltene i de to besætninger, hvor der blev vaccineret mod PRRS-1, mens der i to besætninger vaccineret mod PRRS-2 ikke blev opnået en signifikant øgning af den gennemsnitlige ELISA-titer hos gyltene. Antallet af ELISA-positive dyr (ELISA-titer over cut-off) ændredes ikke signifikant efter boostvaccination, men i de to besætninger, der blev vaccineret mod PRRS-1, kan det manglende resultat skyldes, at langt de fleste af dyrene allerede var ELISA-positive før boostvaccination.

Antallet af dyr med neutraliserende antistoffer blev ikke øget efter boostvaccination i nogen af besætningerne, og der blev heller ikke fundet tydelig korrelation mellem antistoffer målt ved ELISA og niveauet af neutraliserende antistoffer på enkeltdyrsniveau. Denne afprøvning kunne derfor ikke påvise en beskyttende effekt af hverken MLV- eller boostvaccination, fordi en stigning i ELISA-titer ikke i sig selv er tegn på beskyttelse mod PRRSV.

Referencer

- [1] Murtaugh MP. PRRS VIRUS - HOST INTERACTION [Internet]. Department of Veterinary & Biomedical Sciences, University of Minnesota, St. Paul, USA; 2007. *Tilgængelig via:* https://www.amvec.com/memories/memorias/2007/2007_007.pdf
- [2] Kvisgaard LK, Kristensen CS, Ryt-Hansen P, Pedersen K, Stadejek T, Trebbien R, et al. A recombination between two Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV - 1) vaccine strains has caused severe outbreaks in Danish pigs. *Transboundary & Emerging Diseases*. 2020 Sep;67(5):1786–96.
- [3] Kristensen CS, Christiansen MG, Pedersen K, Larsen LE. Production losses five months after outbreak with a recombinant of two PRRSV vaccine strains in 13 Danish sow herds. *Porc Health Manag*. 2020 Dec;6(1):26.
- [4] Nan Y, Wu C, Gu G, Sun W, Zhang YJ, Zhou EM. Improved Vaccine against PRRSV: Current Progress and Future Perspective. *Front Microbiol* [Internet]. 2017 [cited 2022 Aug 31];0. *Tilgængelig via:* <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01635/full>
- [5] Kryhlmand M. Impact on immunity and protection after administration of inactivated vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Master Thesis.
- [6] Kristensen CS, Pawlowski M, Thoning H, Haugegaard S, Carlsen S, Lauritsen KT, Hjulsager CK, Larsen LE. Udvikling af antistoffer efter vaccination mod og podning med PRRSV. *Meddelelse 1067*. *Tilgængelig via:* https://svineproduktion.dk/publikationer/kilder/lu_medd/2016/1067
- [7] Pedersen K, Kristensen CS, Kvisgaard LK, Larsen LE. Impacts of Quarterly Sow Mass Vaccination with a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Type 1 (PRRSV1) Modified Live Vaccine in Two Herds. *Vaccines*. 2021 Sep 23;9(10):1057.

Deltagere

Teknikere SEGES Innovation: Hanne Nissen & Erik Jeppesen

Laboranter Københavns Universitet: Hue Thi Thanh, Nina Dam Grønnegaard, Jonathan Rahlff

Rogersen, Victoria Kyhl Johansen og Mathias Romar

Statistikere SEGES Innovation: Mai Britt Friis Nielsen

Øvrig information

Afprøvning nr. 1826

NAV nr.: 1452

Journalnummer fra Lægemiddelstyrelsen: 2022061182

//JAHP//