

<원 저>

돼지 파보바이러스, 단독 및 렙토스피라 8가 불활화 백신의 안전성 및 면역원성 평가

김기주¹ · 최종영^{1,2} · 박수진³ · 한태욱^{1,*}

¹강원대학교 수의과대학 및 동물의학종합연구소, ²도담동물병원, ³조에티스 코리아

(접수: 2017년 1월 19일, 수정: 2017년 6월 30일, 게재승인: 2017년 7월 11일)

Evaluation of safety and immunogenicity of a new octavalent inactivated vaccine containing porcine parvovirus, erysipelas, and leptospira

Kiju Kim¹, Jong-Young Choi^{1,2}, Su-Jin Park³, Tae-Wook Hahn^{1,*}

¹College of Veterinary Medicine & Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²Dodam Veterinary Clinic, Seoul 04716, Korea

³Zoetis Korea, Seoul 06234, Korea

(Received: January 19, 2017; Revised: June 30, 2017; Accepted: July 11, 2017)

Abstract: Porcine parvovirus, *Erysipelothrix (E.) rhusiopathiae*, and *Leptospira (L.) interrogans* are considered major etiologic agents of reproductive failure in pigs, causing economic loss in the swine industry. In this study, the safety and immunogenicity of a new octavalent inactivated vaccine were evaluated. The vaccine contained inactivated porcine parvovirus, *E. rhusiopathiae*, and six *L. interrogans* serovars (Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, and Pomona). Safety test results showed no notable side effects or clinical signs after vaccination in mice, guinea pigs, and sows. In addition, we assessed immunogenicity of the vaccine in 25 sows under field conditions. The vaccinated group (n = 20) had a significantly higher antibody level than the non-vaccinated group (n = 5). Moreover, the stillbirth rate decreased in piglets born from vaccinated sows, resulting in an increased fertility rate. The results of this study demonstrate that the new octavalent inactivated vaccine can be applied safely and effectively to improve reproductive performance in sows.

Keywords: erysipelas, leptospirosis, porcine parvovirus, swine, vaccine

서 론

Porcine parvovirus(PPV)는 외피(non-enveloped)가 없고, 단일 가닥(single-stranded)이며, 약 5 kb 크기의 작은 DNA를 가진 바이러스로 돼지에서 번식장애를 일으키는 원인체 중 하나이다 [13, 15]. 1965년 독일에서 처음으로 분리된 이후 현재까지도 유럽과 아시아를 비롯하여 전 세계에 걸쳐 유행하고 있다 [11, 17]. PPV 혈청형 1형이 주로 번식장애와 연관되어 있으며, 대표적인 임상증상으로는 SMEDI syndrome이라 불리는 사산(stillbirth), 태아 미라화(mummification), 배아 사멸(embryonic death) 그리고 불임(infertility)이 있다 [14, 16]. 또한 번식 장애 외에도 피부질환, 설사

그리고 호흡기 장애를 일으키기 때문에 양돈산업에 있어 많은 경제적 손실을 주고 있다 [6].

돼지 단독(swine erysipelas)은 *Erysipelothrix(E.) rhusiopathiae*의 감염으로 발생하는 질병으로, 다양한 혈청형이 존재한다. 이 중 1형과 2형은 돼지에서 병원성이 있다고 알려져 있다 [2]. 1878년 독일의 Koch에 의해 최초로 분리되었으며, 우리나라에서는 1912년 첫 발생이 보고된 이후 1960년대 초까지 유행하였고, 지속적인 예방접종으로 발생이 줄어들었지만 현재까지도 매년 산발적으로 발생하고 있다 [1]. 특히 급성 돼지 단독의 경우 다이아몬드형 피부 병변을 보이며 갑작스러운 폐사, 발열, 경직된 보행, 기면(lethargy), 식욕부진 그리고 유산 등이 발생하므로 상당한 경제적 피해를 주고 있는 질병

*Corresponding author

Tel: +82-33-250-8671, Fax: +82-33-259-5625

E-mail: twahn@kangwon.ac.kr

병 중 하나이다 [5].

돼지 렙토스피라 감염증(leptospirosis)은 *Leptospira interrogans*의 감염 때문에 발생하는 질병으로 인수공통전염병으로 분류되어 있으며, 대표적인 혈청형은 Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Sejroe 그리고 Tarassovi 등이 있다 [12]. 주요 증상은 자돈에서 성장 지연, 식욕저하, 적안(red eyes), 황달 그리고 경련 등이 있으며, 임신모돈에서는 유산, 사산 그리고 허약자돈 분만 등으로 인하여 큰 경제적인 손실을 야기한다 [7, 9].

이처럼 돼지 파보바이러스 감염증, 단독 그리고 렙토스피라 감염증 모두 모돈에서 번식장애를 일으키기 때문에 전 세계적으로 많은 문제가 되고 있음에도 불구하고 여전히 근절되지 않고 있다. 따라서 양돈농가의 생산성 손실을 최소화하고 임신 모돈의 분만율을 높이기 위해서는 우수한 효과와 유효성이 개선된 새로운 백신의 필요성이 요구되고 있다. 그러므로 본 연구에서는 돼지 파보바이러스, 단독 그리고 6개의 렙토스피라 혈청형이 포함된 8가 불활화 백신인 FarrowSure Gold B에 대한 안전성 및 면역원성을 조사하였다.

재료 및 방법

백신

본 연구에서 사용된 백신은 돼지 파보바이러스, 단독 그리고 6개의 렙토스피라 혈청형(Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae 및 Pomona)이 포함된 8가 불활화 백신(FarrowSure Gold B; Zoetis, USA)이다. 이 백신은 위 원인에 의해 임신 모돈에서 발생하는 번식장애를 예방하기 위해 개발된 백신이다. 또한 면역반응을 향상하기 위한 면역증강제로 암피젠(Zoetis)을 함유하고 있다.

안전시험

백신에 대한 안전시험은 국가검정 동물용의약품 검정기준(제2011-04호, 농림축산검역본부, 대한민국)에 고시된 ‘돼지 파보바이러스, 단독, 렙토스피라 불활화 복합백신’ 검정기준(분류번호 1-2-12-05)에 따라 실시하였다. 요약하면, 체중 15~20 g의 마우스 7마리를 복강으로 0.5 mL 접종한 뒤 7일간 생존율을 관찰하였다. 체중 300~350 g의 기니피그 4마리 중 2마리는 각 1마리씩 근육과 피하에 2 mL를 접종하였으며, 나머지 2마리는 복강으로 2 mL를 접종한 뒤 7일간 생존율을 관찰하였다. 체중 8~10 kg(4~6주령)의 건강한 돼지 2마리에 백신의 2두분을 각각 경부(neck) 근육으로 접종하였다. 접종 후 1~2시간 이내 과민반응 여부를 관찰하였으며, 21일 동안 주사부위의 화농, 괴사, 발열 및 호흡기 질환 등의 부작용을 관찰하였다.

야외 임상시험

충청남도에 위치한 모돈 500두 규모의 양돈농가에서 야외 임상시험을 실시하였다. 건강한 초산돈을 선발하여 백신 접종군 20두와 미접종 대조군 5두로 나누어 시험하였으며, 접

종방법은 제조사의 사용법에 따라 우측 경부에 1두분(2 mL)을 접종한 후, 2주 뒤 같은 방법으로 2차 접종을 하였다. 백신 접종에 따른 이상 증상을 조사하기 위해 1차 백신 접종 후 24, 48시간에 직장체온을 측정하였다. 채혈은 백신 접종 후 0, 14, 28 그리고 42일에 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 -20°C에 보관하여 실험에 사용하였다. 또한, 백신 접종에 따른 생산성적을 평가하기 위하여 2012년 7월부터 2013년 3월까지 초산돈 84두 중 FarrowSure Gold B 접종군 47두, 대조군으로 D사의 돼지 파보바이러스와 단독 예방 백신 접종군 37두를 대상으로 분만 및 사산율을 조사하였다.

혈구응집 억제 시험(hemagglutination inhibition, HI)

돼지 파보바이러스에 대한 면역원성을 평가하기 위해 VDPPro 돼지 파보바이러스 혈구응집억제반응시약(catalog No. RS-PPV-31; Median diagnostics, Korea)을 이용하여 제조사의 사용법에 따라 HI를 시행하였다. 요약하면, 항원은 8 hemagglutination unit으로 희석하여 사용하였으며, 시료는 백신 접종 후 0, 14, 28 그리고 42일에 채취한 혈청을 56°C에서 30분 동안 비동화 시킨 후 25% Kaolin 용액을 첨가하여 실온에서 30분간 반응하였다. 6,000 × g에서 5분간 원심분리한 다음 상층액과 기니피그 혈구 20 μL를 혼합한 후 실온에서 1시간 동안 반응하고 6,000 × g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 HI 시험에 사용하였다. HI 시험은 96-well plate(SPL Life Sciences, Korea)에 시료를 최초 8배부터 2진 단계 희석한 후 HI 항원을 25 μL/well씩 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응하였다. 그 다음 0.6% 기니피그 혈구 50 μL/well씩 첨가하고 실온에서 1시간동안 반응한 후 응집이 억제된 최대 희석배수의 역수를 HI 역가로 산출하였다.

성장 억제 시험(growth inhibition test, GIT)

돼지 단독에 대한 면역원성을 평가하기 위해 GIT를 시행하였다. 요약하면, *E. rhusiopathiae*(KVCC-BA0000239; 한국수의유전자원은행, 대한민국) 표준 균주를 Tryptic soy broth(TSB; BD, France)에 접종하여 48시간 동안 배양한 후 Mcfarland scale No. 2에 맞추어 항원으로 사용하였다. 항체는 백신 접종 후 0, 14, 28 그리고 42일에 채취한 혈청을 후 56°C에서 30분간 비동화하여 96-well plate(SPL Life Sciences)에 원액의 시료를 2진 단계희석 하였다. 그 다음 돼지 단독 균액의 항원을 30 μL/well씩 첨가하여 37°C에서 18~24시간 동안 반응한 후 응집된 최대 희석배수를 GIT 역가로 산출하였다.

미세응집 검사(microagglutination test, MAT)

렙토스피라에 대한 면역원성을 확인하기 위해 6개의 혈청형(Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae 그리고 Pomona)을 대상으로 MAT를 시행하였다. 각 혈청형의 렙토스피라를 Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris(EMJH) 배지(Difco, France)에 접종하여 37°C에서 4~7일간 배양한 후 각 Mcfarland scale No. 0.5(1 × 10⁸~2

$\times 10^8$ colony-forming unit [CFU]/mL)에 맞추어 항원으로 사용하였다. 항체는 96-well plate(SPL Life Sciences)에 최초 50배부터 2진 단계 희석한 후 50 μ L/well 씩 항원을 첨가하여 37°C에서 90분 동안 반응시키고 응집이 일어나는 최대 희석배수를 MAT 역가로 산출하였다.

통계분석

본 연구결과에 대한 통계학적 분석은 GraphPad Prism program(ver 5.0; GraphPad Software, USA)을 사용하였다. 각 군 간의 비교는 Student's *t*-test를 이용하였으며, 유의수준 $p < 0.05$ (Mann-Whitney test)인 경우 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

안전성 평가

마우스, 기니피그 그리고 목적 동물인 돼지를 대상으로 FarrowSure Gold B 백신에 대한 안전성을 평가한 결과 모든 동물에서 100%의 생존율을 보였으며, 접종부위의 이상 증상이나 특별한 부작용은 나타나지 않았다(Table 1). 또한 양돈농가를 대상으로 실시한 야외 임상 시험 결과 소수의 돼지에서 경미한 기침 증상을 보인 것을 제외하고, 식욕부진이나 운동실조 등의 특이한 증상은 나타나지 않았다. 그리고 백신 접종 후 직장 체온 또한 정상범위를 유지하였으며, 실험군과 대조군 간의 유의적인 차이는 없었다(Table 2).

돼지 파보바이러스에 대한 항체가 조사

백신 접종에 따른 돼지 파보바이러스에 대한 항체가를 조사하기 위해 HI 시험을 시행한 결과 백신 접종 전에는 대조군과 유사한 수준의 항체가를 나타냈지만, 백신 접종 2주 후부터 백신 접종군의 항체가가 증가하였다(Fig. 1). 1차 백신

Table 1. The results of safety test after vaccination

Animals	Route	Dose	Survival rate (%)
Mouse	IP	0.5 mL	7/7 (100)
Guinea pig	IP	2 mL	2/2 (100)
	SC	2 mL	2/2 (100)
Pig	IM	4 mL	2/2 (100)

IP, intraperitoneal injection; SC, subcutaneous injection; IM, intramuscular injection.

Table 2. Average of rectal temperature after vaccination in pigs

Groups	Rectal temperature	
	24 h	48 h
Vaccinates (n = 20)	38.7 \pm 0.9	38.6 \pm 0.5
Controls (n = 5)	39.6 \pm 0.4	39.3 \pm 0.4

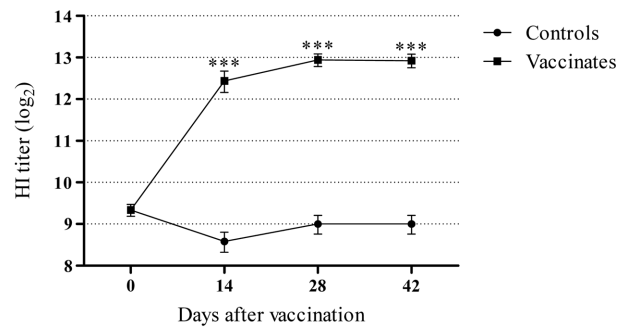


Fig. 1. Haemagglutination inhibition (HI) titers (log₂) against porcine parvovirus. *** $p < 0.001$ vs. the unvaccinated (control) group.

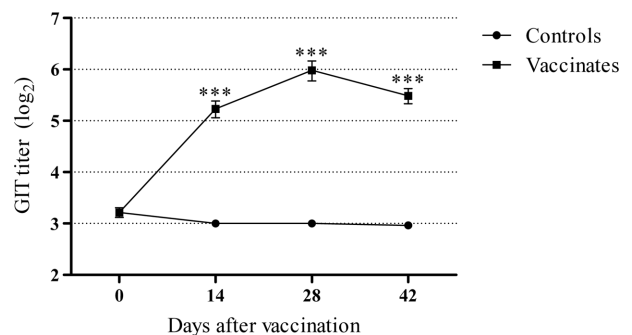


Fig. 2. Growth inhibition test (GIT) titers (log₂) against *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *** $p < 0.001$ vs. the unvaccinated (control) group.

접종 2주 후 백신 접종군의 HI 항체가는 대조군을 기준으로 14.5배, 2차 백신 접종 2주 후에는 15.4배 높았으며, 2차 백신 접종 4주 후에도 15.2배 높은 수준의 HI 항체가를 유지하였다. 특히, 백신 접종 후 전 구간에서 대조군과의 유의적인 차이를 보이며 매우 높은 수준의 HI 항체가를 나타냈다 (** $p < 0.001$).

돼지 단독에 대한 항체가 조사

백신 접종에 따른 돼지 단독에 대한 항체가를 조사하기 위해 GIT 시험을 시행한 결과 백신 접종 전에는 모든 군이 낮은 수준의 항체가를 나타냈다(Fig. 2). 하지만 1차 백신 접종 2주 후 백신 접종군의 GIT 항체가는 대조군을 기준으로 4.7배, 2차 백신 접종 2주 후에는 7.9배 높았으며, 2차 백신 접종 4주 후에도 5.7배 높은 수준의 GIT 항체가를 보이며 유의적인 차이를 나타냈다(** $p < 0.001$).

돼지 렙토스피라에 대한 항체가 조사

백신 접종에 따른 돼지 렙토스피라에 대한 항체가를 조사하기 위해 렙토스피라 6개의 혈청형(Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae 그리고 Pomona)에 대한 MAT 검사를 시행한 결과 백신 접종 전에는 모든 군에서 낮은 수준의 항체가를 나타냈지만, 백신 접종 2주 후부터 대부분의 접종 구간에서 백신 접종군의 MAT 항체가가

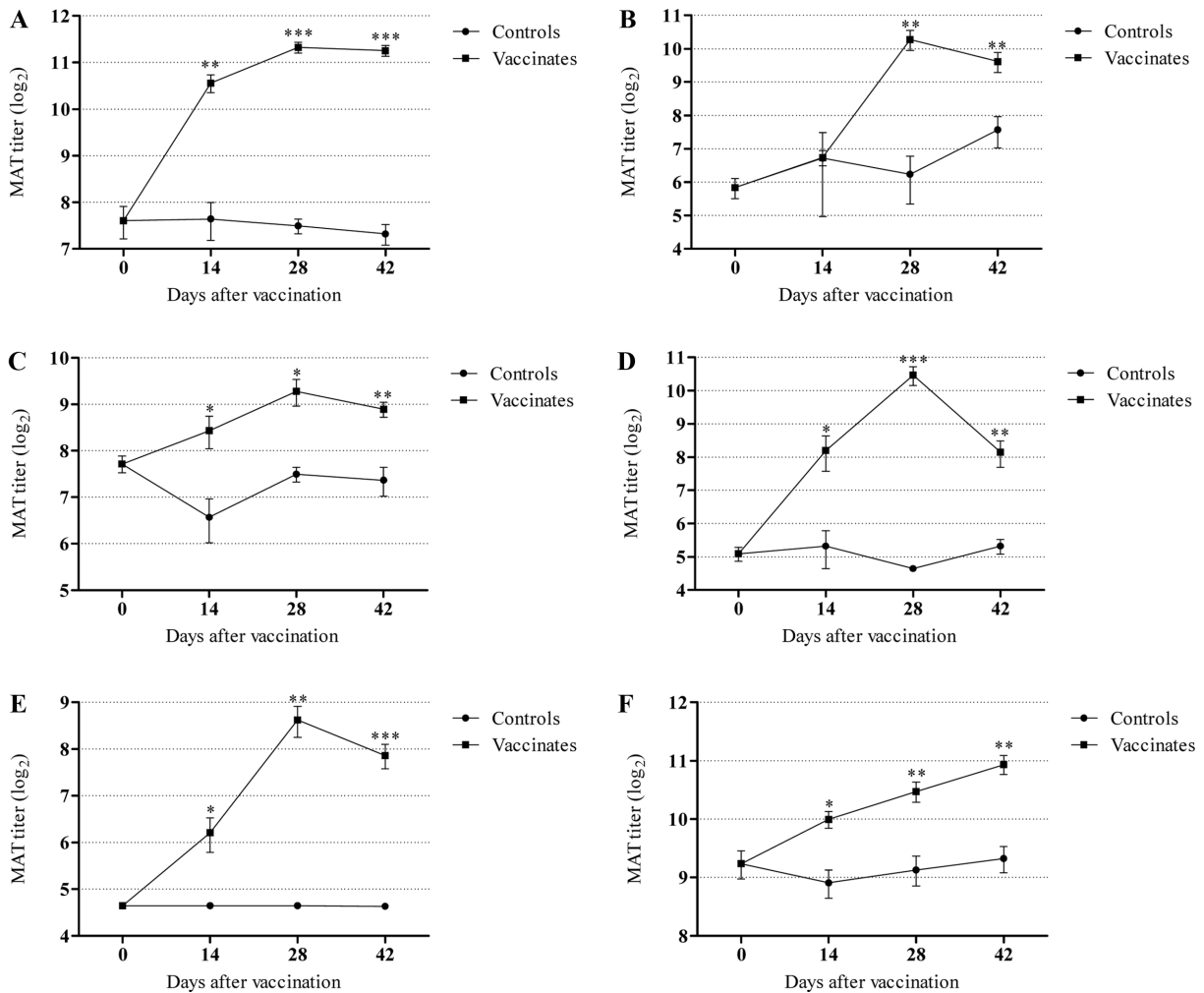


Fig. 3. Microagglutination test (MAT) titers (log₂) against *Leptospira interrogans* serovars. (A) Bratislava. (B) Canicola. (C) Grippityphosa. (D) Hardjo. (E) Icterohaemorrhagiae. (F) Pomona. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 and ****p* < 0.001 vs. the unvaccinated (control) group.

Table 3. Reproductive performance of pregnant sows after vaccination under field condition

Groups	Vaccinates	Controls*
Pregnant (<i>N</i>)	47	37
Total born (<i>N</i>)	611	444
Total born (avg)	13.0	12.0
Stillbirths (<i>N</i>)	27	41
% Stillbirths	4.4	9.2
Born alive (avg)	12.4	10.9

*The control group was inoculated with commercial parvovirus and erysipelas vaccines following the manufacturer's instructions. *N*, number; avg, average.

증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 각 혈청형에 대한 백신 접종군의 MAT 항체가는 대조군을 기준으로 Bratislava는 7.5~15.3배, Canicola는 1.0~16.5배, Grippityphosa는 2.9~3.6배, Hardjo는 7.1~56.3배, Icterohaemorrhagiae는 3.0~15.8배 그리고 Pomona는 2.1~3.1배 높은 수준의 항체가를

보이며 유의적인 차이를 나타냈다(**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001).

생산 성적

백신 접종에 따른 생산 성적을 비교한 결과 총 84두 중 백신 접종군 47두의 모돈이 611두를 분만하였고, 그중 27두(4.4%)가 사산되어 평균 12.4두의 자돈을 출산하였다(Table 3). 그러나 대조군은 37두의 모돈이 총 444두를 분만하였고, 그중 41두(9.2%)가 사산되어 평균 10.9두의 자돈을 출산하였다.

고 찰

돼지 파보바이러스, 단독 그리고 렙토스피라 감염은 번식 장애를 일으켜 전 세계적으로 경제적 피해를 주는 대표적인 병원체이다 [4, 6, 12]. 특히 돼지 파보바이러스는 농장 내 상시 존재하기 때문에 백신을 하지 않으면 임신 모돈에게 유산, 사산, 조산 등이 발생하여 생산성 저하를 초래하는 질병

이므로 효과적인 예방 백신이 요구되고 있다 [10]. 따라서 본 연구에서는 FarrowSure Gold B 백신을 대상으로 안전성 및 면역원성을 조사하였으며, 국내 양돈농가를 대상으로 야외 임상시험을 실시하였다. 국가검정 동물용의약품 검정기준에 따른 안전시험에서 마우스, 기니피그 그리고 돼지 모두 생존하였으며, 특히 목적 동물인 돼지는 접종량의 2두분을 투여하였음에도 불구하고 과민반응이나 주사부위의 특별한 이상 증상 또한 나타나지 않았다.

국가 검정에 따른 혈청 역가시험 및 효력시험에서는 백신 접종군(기니피그 또는 마우스)이 돼지 파보바이러스, 단독 그리고 렙토스피라에 대한 기준치 이상의 항체가 생성되는 것을 확인하였다(data not shown). 게다가 야외 임상 시험에 따른 돼지에서의 효능 시험에서 백신 접종 24, 48시간 후 실험군과 대조군 모두 정상범위의 직장체온을 유지하였으며, 무기력과 구토, 식욕부진, 운동실조 등의 증상은 나타나지 않았다. 백신 접종에 따른 혈청학적 검사에서는 백신 접종군 대부분이 대조군에 비해 높은 수준의 항체를 보이며 유의적인 결과를 나타냈다. 돼지 파보바이러스의 경우 백신 접종군에서 최고 7,800배 이상의 HI 항체를 나타냈는데, 이는 PPV-NADL-2와 PPV-IDT 백신주보다 비교적 높은 수준의 HI 항체를 유도한 것이므로 파보 바이러스를 방어하는데 유효할 것으로 판단된다 [18]. 돼지 단독의 경우도 백신 접종군에서 최고 63배 이상의 GIT 항체를 나타냈는데, 이는 Choi 등 [3]이 보고한 돼지 단독 불활화 백신의 공격접종에 따른 효능 평가에서 완벽한 방어성적을 나타낸 것과 유사한 수준의 GIT항체가이므로 돼지 단독을 방어하는데 충분할 것으로 생각한다. 그리고 렙토스피라의 경우에는 다양한 혈청형이 존재하므로 교차방어가 필수적인데, 본 연구에서는 6개의 혈청형 모두 양호한 수준의 MAT 항체를 나타냈다. 이는 Jacobs 등 [8]이 보고한 8가 불활화 백신의 렙토스피라 혈청형에 대한 돼지에서의 면역원성 평가 결과보다 상당히 높은 수준의 MAT 항체가이므로 대표적인 렙토스피라 혈청형을 모두 방어할 수 있을 것으로 판단된다. 특히 전 세계적으로 돼지에서 가장 유행하고 있는 혈청형 Pomona에 대한 MAT 항체는 최고 1,900배 이상을 나타냈다.

백신 접종에 따른 생산 성적 결과에서는 대조군이 9.2%의 사산율을 나타냈지만 백신 접종군은 4.4%로 약 52%의 감소율을 보였으며, 이에 따라 백신 접종군이 평균 1.5마리의 자돈을 더 출산한 것으로 나타났다. 종합하면, FarrowSure Gold B 백신은 안전하고, 야외 임상시험에서 유의적인 수준의 항체를 유도하였으며, 향상된 생산 성적을 나타냈다. 따라서 돼지 파보바이러스, 단독 그리고 렙토스피라에 대한 국내 방역 프로그램에 사용 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 강원대학교 동물의학종합연구소의 지원으로 이루어졌습니다.

References

1. **Back YS, Lee JS, Kim YE, Kim BH.** [Bacteriological study of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from the pigs in Youngnam area]. Korean J Vet Serv 1991, **14**, 49-61. Korean.
2. **Borrathybay E, Gong FJ, Zhang L, Nazierbieke W.** Role of surface protective antigen A in the pathogenesis of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strain C43065. J Microbiol Biotechnol 2015, **25**, 206-216.
3. **Choi H, Won H, Yoon I.** [Efficacy test of swine erysipelas inactivated vaccine]. Korean J Vet Public Health 2008, **32**, 135-140. Korean.
4. **Fidalgo SG, Riley TV.** Detection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in clinical and environmental samples. Methods Mol Biol 2004, **268**, 199-205.
5. **Friendship CR, Bilkei G.** Concurrent swine erysipelas and *Clostridium novyi* infections associated with sow mortality in outdoor sows in Kenya. Vet J 2007, **173**, 694-696.
6. **Guo C, Zhong Z, Huang Y.** Production and immunogenicity of VP2 protein of porcine parvovirus expressed in *Pichia pastoris*. Arch Virol 2014, **159**, 963-970.
7. **Hartleben CP, Leal FMA, Monte LG, Hartwig DD, Seixas FK, Vasconcellos SA, Brihuega B, Dellagostin OA.** Serological analysis by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigen LipL32 for the diagnosis of swine leptospirosis. Curr Microbiol 2013, **66**, 106-109.
8. **Jacobs AA, Harks F, Hoeijmakers M, Collell M, Segers RP.** Safety and efficacy of a new octavalent combined Erysipelas, Parvo and Leptospira vaccine in gilts against *Leptospira interrogans* serovar Pomona associated disease and foetal death. Vaccine 2015, **33**, 3963-3969.
9. **Levett PN.** Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001, **14**, 296-326.
10. **Li X, Zhu L, Liu X, Sun X, Zhou Y, Lang Q, Li P, Cai Y, Qiao X, Xu Z.** Differential expression of microRNAs in porcine parvovirus infected porcine cell line. Virol J 2015, **12**, 128.
11. **Mayr A, Bachmann P, Siegl G, Mahnel H, Sheffy BE.** Characterization of a small porcine DNA virus. Arch Gesamte Virusforsch 1968, **25**, 38-51.
12. **Miraglia F, Moreno LZ, Morais ZM, Langoni H, Shimabukuro FH, Dellagostin OA, Hartskeerl R, Vasconcellos SA, Moreno AM.** Characterization of *Leptospira interrogans* serovar Pomona isolated from swine in Brazil. J Infect Dev Ctries 2015, **9**, 1054-1061.
13. **Molitor TW, Joo HS, Collett MS.** Porcine parvovirus: virus purification and structural and antigenic properties of virion polypeptides. J Virol 1983, **45**, 842-854.
14. **Opriessnig T, Xiao CT, Gerber PE, Halbur PG.** Identification of recently described porcine parvoviruses in archived North American samples from 1996 and association with porcine circovirus associated disease. Vet Microbiol 2014, **173**, 9-16.
15. **Ren X, Tao Y, Cui J, Suo S, Cong Y, Tijssen P.** Phylogeny and evolution of porcine parvovirus. Virus Res 2013, **178**, 392-397.
16. **Streck AF, Bonatto SL, Homeier T, Souza CK, Gonçalves KR, Gava D, Canal CW, Truyen U.** High rate of viral evolution in the capsid protein of porcine parvovirus. J Gen Virol 2011, **92**, 2628-2636.

17. **Streck AF, Canal CW, Truyen U.** Molecular epidemiology and evolution of porcine parvoviruses. *Infect Genet Evol* 2015, **36**, 300-306.
18. **Zeeuw EJ, Leinecker N, Herwig V, Selbitz HJ, Truyen U.** Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *J Gen Virol* 2007, **88**, 420-427.