

Aus der Klinik für Schweine  
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. habil Karl Heinritzi)  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Keimspektrum und Erregerassoziationen  
bei gesunden und  
an Pneumonie erkrankten Schweinen

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Andreas Palzer  
aus Trier

München 2006

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. Märtlbauer  
Referent: Univ.-Prof. Dr. K. Heinritzi  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Hoffmann

Tag der Promotion:

28.07.2006

**Meiner Familie**

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	1
Abkürzungsverzeichnis .....	4
1 Einleitung .....	6
2 Literaturübersicht .....	7
2.1 Porcine Respiratorische Erkrankungen .....	7
2.1.1 Mycoplasmen .....	8
2.1.1.1 Mycoplasma hyopneumoniae.....	8
2.1.1.2 Mycoplasma hyorhinis.....	10
2.1.2 Viren.....	11
2.1.2.1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)11	
2.1.2.2 Porcines Cirocvirus Typ 2.....	12
2.1.2.3 Influenzavirus .....	14
2.1.3 Bakterien .....	15
2.1.3.1 Actinobacillus pleuropneumoniae.....	15
2.1.3.2 Bordetella bronchiseptica .....	16
2.1.3.3 Haemophilus parasuis.....	17
2.1.3.4 Pasteurella multocida .....	19
2.1.3.5 Streptokokken .....	20
2.1.3.6 Weitere Pneumonieerreger .....	21
2.2 Untersuchungsmaterialien.....	21
2.2.1 Tupferproben.....	21
2.2.2 Lungenbiopsie .....	22
2.2.3 Bronchoalveoläre Lavage.....	22
2.2.3.1 Entwicklung der Bronchoalveolären Lavage.....	22
2.2.3.2 Mikrobiologische Befunde in der BAL.....	24
2.2.4 Serologie .....	26
2.2.5 Sektion .....	26
3 Material und Methoden.....	28
3.1 Untersuchte Tiere .....	28
3.2 Ablauf der Untersuchungen.....	28
3.3 Durchführung der Untersuchungen.....	29
3.3.1 Klinische Untersuchung.....	29

3.3.2	Narkose .....	30
3.3.3	Bronchoalveoläre Lavage.....	30
3.3.4	Bakteriologische Untersuchung.....	31
3.3.5	Molekularbiologische Untersuchung.....	32
3.3.6	Euthanasie.....	32
3.3.7	Sektion .....	33
3.3.8	Auswertung.....	33
3.3.9	Statistik.....	34
4	Ergebnisse .....	35
4.1	Gruppenverteilung .....	35
4.1.1	Klinische Befunde.....	35
4.1.2	Körpertemperatur .....	36
4.1.3	Gewicht .....	36
4.1.4	Pathologisch-anatomische Befunde .....	36
4.2	Nachgewiesene Keimspektren .....	37
4.3	Erregernachweishäufigkeit nach klinischem Status.....	39
4.4	Erregernachweishäufigkeit nach Gewicht.....	40
4.5	Erregerassoziationen.....	42
4.5.1	Klinisch unauffällige Tiere.....	42
4.5.2	Klinisch auffällige Tiere.....	43
4.6	Auswertungen der Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern .....	46
4.6.1	Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach klinischem Score .	46
4.6.2	Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach pathologisch- anatomischen Veränderungen.....	47
4.6.3	Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach Gewichtsklassen .	48
4.7	Korrelationen von Erregern und klinischem „Pneumoniescore“ .....	49
4.8	Korrelation von Erregern und „Pathologiescore“ .....	50
4.9	Keimspektrum nach Anreicherung in der bakteriologischen Untersuchung	50
5	Diskussion.....	52
5.1	Gesundheitsstatus der untersuchten Tiere und bronchoalveoläre Lavage .	52
5.2	Ergebnisse der bakteriologischen und molekularbiologischen Untersuchung .....	53
5.2.1	Vergleich der Nachweishäufigkeiten nach klinischem Status .....	53
5.2.2	Vergleich der Nachweishäufigkeiten nach Gewichtgruppen .....	56

5.3	Erregerassoziationen und Korrelation verschiedener Erreger mit den klinischen und pathologischen Ergebnissen.....	57
5.3.1	Erregerassoziationen.....	57
5.3.2	Erregerkorrelationen.....	59
5.4	Mehrfachinfektionen und deren Bedeutung für die Faktorenkrankheit Pneumonie .....	60
5.5	Schlussfolgerungen für die Diagnostik von Pneumonien.....	62
6	Zusammenfassung.....	65
7	Summary.....	67
8	Literaturverzeichnis .....	69
	Danksagung.....	95
	Lebenslauf .....	96

## Abkürzungsverzeichnis

<i>A. equuli</i>	<i>Actinobacillus equuli</i>
<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
APP	Actinobacillus-Pleuropneumonie
Apx	RTX-Toxin von <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
BAL	Bronchoalveolar Lavage
BALF	Bronchoalveolar Lavage Fluid
B. bronchi.	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
<i>B. bronchiseptica</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EP	Enzootische Pneumonie
H	Haemogglutinin
H. parasuis	<i>Haemophilus parasuis</i>
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
KGW	Körpergewicht
<i>K. oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
M. hyo	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
M. hyorh.	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>
<i>M. hyorhinis</i>	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>
<i>M. morganii</i>	<i>Morganella morganii</i>
N	Neuraminidase
<i>P. aerogenes</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCMV	Porcines Cytomegalie Virus
PCV-2	Porcines Circovirus Typ 2
PRCV	Porcines Respiratorisches Corona Virus
PRDC	Porcines Respiratory Disease Complex
PRRSV	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus
<i>P. multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>

RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
SHV-1	Schweine Herpesvirus Typ 1
SPF	Spezifisch-Pathogen-frei
<i>S. choleraesuis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>S. suis</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
TNF	Tumor Nekrose Faktor

## 1 Einleitung

Bronchopneumonien zählen zu den wichtigsten Krankheiten in der Schweineproduktion (CHRISTENSEN et al., 1999). Effektive therapeutische und prophylaktische Maßnahmen auf Bestandsebene erfordern möglichst eine ätiologische Diagnostik an ausgesuchten Tieren. Im Falle eines nicht zufrieden stellenden Therapieerfolges, der seine Ursache in einer nicht zielgerichteten Therapie (BLAHA, 1993; FLAßHOFF, 1996) sowie in der Ausbildung von Resistenzen gegen verschiedene antimikrobielle Substanzen haben kann (KROKER et al., 2002), ist eine genauere Diagnostik notwendig. Die Untersuchung von Lungen verendeter oder euthanasierter Schweine kann durch präfinal oder postmortal in die Lunge eingeschwemmte Erreger erschwert sein (STEINHAUSEN, 1999). Für pathologisch-anatomische Untersuchungen stehen oftmals nur multimorbide, chronisch kranke oder vorbehandelte Tiere zur Verfügung. Vorteile der Probengewinnung am lebenden Tier sind die Auswahl verschiedener Altersgruppen sowie die Möglichkeit, einen repräsentativen Stichprobenumfang zu gewährleisten.

In der Literatur werden verschiedene Methoden der bronchoalveolären Lavage (BAL) erläutert (FLAßHOFF, 1996; KAPPELMANN, 2002; NIENHOFF, 2004; PABST, 2004). FLAßHOFF beschreibt 1996 als Erster eine auch routinemäßig in Schweinebeständen durchzuführende Methode. Dabei werden die Tiere in Narkose in Brustlage auf einen Tisch gelagert, die Vorder- und Hintergliedmaße nach kaudal gestreckt und der Kopf mit einer Oberkieferschlinge leicht nach dorsal gezogen. Nach Schleimhautanästhesie des Kehlkopfes wird ein steriler Tracheotubus in die Trachea vorgeführt und durch diesen mit einer Ernährungssonde die bronchoalveoläre Lavage durchgeführt. Dabei wird mehrfach sterile Kochsalzlösung instilliert und aspiriert.

Häufig können mehrere Keime aus einer BAL isoliert werden (HENSEL et al., 1994). Mehrfachinfektionen, insbesondere Doppelinfektionen mit verschiedenen bakteriellen oder viralen Erregern treten mit zunehmendem Alter häufiger auf (VON ALTROCK, 1998).

Ziel der Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit war eine Auswertung der molekularbiologischen und bakteriologischen Untersuchung von BALF in Bezug auf Mehrfachinfektionen. Dabei sollten insbesondere Erregerassoziationen bei unterschiedlichen klinischen Schweregraden von Pneumonien dargestellt werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Porcine Respiratorische Erkrankungen

Atemwegserkrankungen beim Schwein sind nur selten Folge einer Monoinfektion. Meist liegen Infektionen mit mehreren bakteriellen und viralen Erregern vor, die zusätzlich von verschiedenen Umweltfaktoren und spezifischen Eigenschaften des betroffenen Organismus beeinflusst werden (GROSSE BEILAGE, 1999). Die wichtigsten Erreger sind in Abb. 1 aufgeführt. Dabei werden die Abwehrmechanismen der Lunge durch Viren oder auch Mycoplasmen primär so geschädigt, dass sich sekundär Bakterien leichter ansiedeln können (ROSS, 1999; THANAWONGNUWECH et al., 2004). Der Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) ist ein typisches Gesundheitsproblem bei Schweinen im Alter von 16 – 22 Wochen, jedoch spielen Erkrankungen durch unterschiedliche Atemwegserreger auch bei jüngeren Schweinen eine bedeutende Rolle. PRDC ist gekennzeichnet durch verlangsamtes Wachstum, schlechtere Futtermittelverwertung, Anorexie, Fieber, Husten und Dyspnoe (HALBUR, 1998; THACKER, 2001). *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* und das Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) sind dabei die häufigsten im Zusammenhang mit PRDC isolierten Keime (DEE, 1996; THACKER et al., 1999). Neben diesen beiden Erregern werden *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae*, *Bordetella (B.) bronchiseptica*, *Pasteurella (P.) multocida*, *Streptokokkus (S.) suis*, Influenzaviren und das Porcines Circovirus (PCV-2) als beteiligte Pathogene angesehen (CHIOU et al., 2004; GROSSE BEILAGE, 1999; HALBUR, 1998; HARMS et al., 2002; KIM et al., 2003; THACKER, 2001).

Endogene und exogene Umwelteinflüsse sind ebenfalls durch Beeinträchtigung von Lungenclearance und Immunmechanismen an der Pathogenese von Pneumonien beteiligt. Zu hohe Ammoniakkonzentrationen können die bakterielle Clearance beeinträchtigen (DRUMMOND et al., 1978) oder die Besiedlung des Atmungstraktes mit Bakterien begünstigen (ANDREASEN et al., 2000). Andere Autoren können hingegen keinen Einfluss von erhöhten Schadgasbelastungen auf die Entstehung von Pneumonien beobachten (CLARK et al., 1993). In Untersuchungen von CURTIS et al. (1976) wird der hemmende Einfluss von niedrigen Umgebungstemperaturen auf die Abwehrmechanismen der Lunge von Ferkeln nachgewiesen. Das Betriebsmanagement beeinflusst ebenfalls erheblich das Auftreten von Pneumonien

beim Schwein. So begünstigen kontinuierliche Belegungen, das Zusammenstallen von Tieren unterschiedlicher Herkunft und eine zu hohe Belegdichte die Entstehung von Pneumonien (KÖFER et al., 1993; SCHEIDT et al., 1995).

Erreger	Pathogenität
H1N1; H3N2; H1N2 Mycoplasma hyopneumoniae Actinobacillus pleuropneumoniae Metastrongylus spez.	obligat pathogen
Pasteurella multocida Bordetella bronchiseptica Haemophilus parasuis Mycoplasma hyorhinis Chlamydia psittaci	
Streptokokken Arcanobacterium pyogenes Staphylokokken	Sekundärerreger

Abb. 1: Pneumonien des Schweines

## 2.1.1 Mycoplasmen

### 2.1.1.1 Mycoplasma hyopneumoniae

*M. hyopneumoniae* gehört als auslösendes Agens der Enzootischen Pneumonie der Schweine zu den bedeutendsten pathogenen Atemwegserregern in der Schweineproduktion. Eine alleinige Infektion mit *M. hyopneumoniae* verläuft klinisch relativ unauffällig, in Kombination mit weiteren bakteriellen Atemwegserregern können jedoch klinisch schwerwiegende Bronchopneumonien entstehen (DESROSIERS, 2001). *M. hyopneumoniae* verursacht nach Besiedlung des Atemtrakts eine Ziliennekrose, die eine Ansiedlung von anderen Pathogenen begünstigt (ZIELINSKI u. ROSS, 1993; ROSS, 1999). Der Nachweis einer Infektion mit *M. hyopneumoniae* ist mittels PCR aus bronchoalveolärer Lavage möglich (BAUMEISTER et al., 1998). Serologische Untersuchungen sind neben dem direkten Erregernachweis eine gute Ergänzung, um eine korrekte Diagnose zu stellen (THACKER, 2004a). Die Beteiligung von *M. hyopneumoniae* an dem sogenannten Porcine Respiratory Disease Complex (PRCD) ist ausführlich untersucht worden. Mehrere Autoren beschreiben den Einfluss von Stallklima und Management. Dabei

können von CLARK et al. (1993) und ANDREASEN et al. (2000) keine Unterschiede in klinischen und histopathologischen Untersuchungen unterschiedlich schwer belasteter Tiere festgestellt werden. Der Ammoniakgehalt hat aber eine Auswirkung auf die Besiedlung der Nasentubuli durch *P. multocida*, die in durch hohe Ammoniakwerte belasteten Tieren quantitativ mehr nachgewiesen werden können (ANDREASEN et al., 2000). Das Produktionsmanagement beeinflusst ebenfalls das klinische Erscheinungsbild einer durch *M. hyopneumoniae* ausgelösten Pneumonie. So kann in 3-site Produktionssystemen eine geringere Nachweishäufigkeit von *M. hyopneumoniae* mittels PCR, verbunden mit weniger ausgeprägten Pneumoniesymptomen gegenüber 1-site oder 2-site Produktionssystemen festgestellt werden (SIBILA et al., 2004). Die Interaktion von *M. hyopneumoniae* mit anderen Atemwegserregern ist in einer Vielzahl von Studien untersucht worden. Dabei weisen mehrere Autoren eine Interaktion von *M. hyopneumoniae* mit *P. multocida* nach (AMASS et al., 1994; CIPRIÁN et al., 1988; FEENSTRA et al., 1994). AMASS et al. (1994) erkennen in einer Infektionsstudie, dass *P. multocida* nach Inokulation nur bei den Tieren in der Lunge nachgewiesen werden kann, die zusätzlich mit *M. hyopneumoniae* infiziert sind. Die Potenzierung einer *A. pleuropneumoniae* Infektion durch *M. hyopneumoniae* ist ebenfalls beschrieben (YAGIHASHI et al., 1984). Die Interaktion von *M. hyopneumoniae* und PRRS wird in mehreren Versuchen untersucht. In Infektionsversuchen stellt sich heraus, dass eine Doppelinfektion mit beiden Erregern sowohl die klinischen als auch die pathologisch feststellbaren Veränderungen verstärkt (THACKER et al., 1998; THACKER et al., 1999; THANAWONGNUWECH et al., 2004). Die Forschungsergebnisse zeigen, dass eine Impfung gegen *M. hyopneumoniae* die klinischen Symptome einer PRRSV-*M. hyopneumoniae* Doppelinfektion mildert, was auf eine gegenseitige Potenzierung dieser Erreger hindeutet (THACKER et al., 2000). THACKER et al. (2001) und YAZAWA et al. (2004) untersuchen die Interaktion von Influenzavirus H1N1 und *M. hyopneumoniae*. Dabei zeigt sich, dass Tiere, die mit beiden Erregern infiziert sind, einen signifikant erhöhten Hustenindex gegenüber den Tieren mit Einzelinfektionen und der Kontrollgruppe aufweisen (THACKER et al., 2001). Neben den genannten Erregern wird eine Interaktion von *M. hyopneumoniae* und PCV-2 diskutiert. Eine Potenzierung dieser Erreger, bei der eine Doppelinfektion sowohl klinisch als auch pathologisch-anatomisch schwerwiegender verläuft, wird beschrieben (OPRIESSNIG et al., 2004; THACKER, 2004b).

### 2.1.1.2 Mycoplasma hyorhinis

Die Beteiligung von *Mycoplasma (M.) hyorhinis* an der Genese von Pneumonien beim Schwein ist noch weitgehend ungeklärt. *M. hyorhinis* gilt als ubiquitärer Bewohner der Nasenhöhle des Ferkels (GOIS et al., 1969; SCHULMANN et al., 1970), kann aber oft in pneumonisch verändertem Gewebe diagnostiziert werden (GOIS u. KUSKA, 1974). *M. hyorhinis* wird bei an Pneumonie erkrankten wie auch bei unauffälligen Tieren häufig aus BAL mittels PCR isoliert (PALZER et al., 2005). Bei Saugferkeln kann *M. hyorhinis* öfter nachgewiesen werden als bei Masttieren (PALZER et al., 2005). Weiterhin ist die Nachweishäufigkeit aus pneumonisch verändertem Gewebe signifikant höher als aus unverändertem Gewebe (JOHANNSEN et al., 1991).

Nach experimenteller Infektion ist es durchaus möglich, dass *M. hyorhinis* eine serofibrinöse Polyserositis (ROBERTS et al., 1963) oder eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie mit einer interstitiellen Komponente (KINNE et al., 1991) verursacht. Die intranasale Infektion mit einem virulenten *M. hyorhinis* Stamm kann zu einer interstitiellen Pneumonie führen (GOIS u. KUSKA, 1974). Bei Schweinen mit pathologisch feststellbarer Serositis (FRIIS u. FEENSTRA, 1994) und Arthritis (JANSSON et al., 1983) kann *M. hyorhinis* als auslösendes Agens nachgewiesen werden.

*M. hyorhinis* scheint bei der Genese von Pneumonien eine Rolle als Sekundärerreger, vor allem im Zusammenhang mit der Enzootischen Pneumonie zu spielen. Eine vorhergehende PRRSV Infektion bewirkt eine höhere Nachweisquote von *M. hyorhinis* bei pneumoniekranken Tieren (KOBAYASHI et al., 1996; KAWASHIMA et al., 1996). Für die Entstehung einer Polyserositis bzw. Arthritis scheinen unter natürlichen Bedingungen gewisse prädisponierende Faktoren, wie weitere Erkrankungen oder eine Immunsuppression, notwendig zu sein (CHRISTENSEN et al., 1999; ROSS, 1999).

Bei der Entstehung von Pneumonien, an denen *M. hyorhinis* beteiligt ist, spielen wahrscheinlich Belastungen durch Stress oder Umweltfaktoren eine wichtige Rolle (KINNE et al., 1991).

### 2.1.2 Viren

#### 2.1.2.1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)

Im Jahr 1987 wird in den USA und 1990 in Europa ein RNA-Virus nachgewiesen (ALBINA, 1997), welches sowohl Reproduktionsstörungen (GROÙE BEILAGE et al., 2002) als auch interstitielle Pneumonien (COOPER et al., 1995; THACKER et al., 1998) verursacht. Es lassen sich 2 Stämme des PRRSV unterscheiden, der amerikanische Stamm VR 2332 und der europäische LV Stamm, die aber jeder für sich gesehen, eine große genetische Variabilität aufweisen (BENFIELD et al., 1999). PRRSV kann häufig bei Tieren mit klinischen Anzeichen einer Pneumonie nachgewiesen werden (HALBUR et al., 1993). Die Ausscheidung des Virus erfolgt über Speichel, Trachealsekret, Urin, Sperma und Milch (BENFIELD et al., 1999). Der Erregernachweis in der Diagnostik kann aus Serum, Tonsillen, Lymphknoten oder bronchoalveolar Lavage Fluid erfolgen (BATISTA, 2005). Tiere infizieren sich über Tröpfcheninfektion innerhalb des Bestandes, wobei infizierte Tiere das Virus in einem Zeitraum von maximal 60 Tagen ausscheiden (WILLS et al., 2002). Die Übertragung durch Fliegen (OTAKE et al., 2003), Personal oder Gerätschaften (DEE et al., 2002) und über Aerosole (DESROSIERS, 2005) ist belegt. Dabei wirken niedrige Temperaturen begünstigend, da das Virus durch höhere Temperaturen schneller inaktiviert wird (BENFIELD et al., 1999; DEE et al., 2002), weiterhin reichen auch sehr geringe Virusmengen für eine Infektion aus (YOON et al., 1999). Unter Berücksichtigung der Epidemiologie und der Immunität kann eine Bekämpfung des PRRS mit dem Ziel der Kontrolle oder der Eradikation des Erregers durchgeführt werden (GROÙE BEILAGE, 2002). Zur Kontrolle einer PRRSV Infektion stehen unterschiedliche Impfstoffe und Managementprotokolle zur Verfügung (DEE u. PHILIPS, 1998). Zur Eradikation oder zur Minimierung der Fruchtbarkeitsstörungen sind verschiedene Strategien beschrieben worden (KÜMMERLEN et al., 2005; SCHRÖDER u. BREMERICH, 2003). Dabei werden in vielen Fällen attenuierte Lebendvakzine angewendet. Diese Lebendvakzine lassen sich auch nach Beendigung der Impfmaßnahmen noch über Wochen bis hin zu Monaten in Probenmaterial nachweisen (MENGELING et al., 1996). Zum Abklären einer gegenseitigen Beeinflussung von PRRSV und anderen viralen und bakteriellen Erregern sind verschiedene Studien durchgeführt worden. COOPER et al. (1995) haben 5 Wochen alte SPF-Ferkel erst mit PRSSV und eine Woche später mit

*H. parasuis*, *S. suis*, *Salmonella choleraesuis* oder *P. multocida* infiziert. Dabei zeigen sich keine Unterschiede zwischen den einzelnen Doppelinfektionsgruppen und der Gruppe, die nur mit PRRSV infiziert ist. THACKER et al. (1998) und THANAWONGNUWECH et al. (2004) haben Infektionsstudien zur Untersuchung einer Doppelinfektion von PRRSV und *M. hyopneumoniae* durchgeführt. THANAWONGNUWECH et al. (2004) stellen in der Gruppe der Tiere, die mit beiden Pathogenen infiziert sind, signifikant mehr makroskopische Lungenläsionen und ausgeprägtere klinische Symptome fest als in den einzeln infizierten Gruppen. Die Tiere mit Doppelinfektion weisen eine längere Viruspersistenz, und erhöhte Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6) und Tumor Nekrose Faktor (TNF)-Werte in der BAL auf. THACKER et al. (1998) stellen fest, dass *M. hyopneumoniae* eine von PRRSV induzierte Pneumonie verstärken kann. Eine Interaktion von PRRSV mit applizierten Lipopolysacchariden ist von VAN GUCHT et al. (2003) untersucht worden. Das Forschungsergebnis zeigt, dass eine zusätzliche Belastung von PRRSV infizierten Tieren mit Lipopolysacchariden die klinischen Anzeichen und die Werte von IL und TNF in BAL erhöht. Daraus lässt sich schließen, dass gram-negative Bakterien wie Pasteurellen, Bordetellen, *H. parasuis* und *A. pleuropneumoniae* eine PRRSV bedingte Pneumonie verstärken können. Zwischen PRRSV und PCV-2 wird ebenfalls eine Interaktion nachgewiesen (DROLET et al., 2003; PESCH et al., 2003; KYRIAKIS, 2003). In der Studie von KYRIAKIS (2003) kann bei Tieren, die gegen PRRSV vakziniert sind, eine niedrigere Morbidität von PMWS mit reduzierter Mortalität der Ferkel festgestellt werden. Dies weist auf die klinische Bedeutung einer PRRSV PCV-2 Doppelinfektion hin.

### 2.1.2.2 Porcines Circovirus Typ 2

Das porcine Circovirus Typ 2 (PCV-2) wird als Auslöser des sogenannten Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) erstmals 1996 in Saskatchewan (HARDING, 1996) beschrieben und ist inzwischen weltweit nachgewiesen (SEGALÉS u. DOMINGO, 2002). In Deutschland ist PCV-2 weit verbreitet und kann in allen Regionen diagnostiziert werden (GROßE BEILAGE u. BRAKMANN, 2004; SOIKE et al., 2000). Die Situation in Bayern unterscheidet sich nicht von der im restlichen Bundesgebiet. Es ist eine weite Verbreitung von PCV-2 in allen Regionen beschrieben, wobei das Virus in schweinedichten Regionen wie Niederbayern öfter auftritt (RITZMANN et al., 2002). In Betrieben mit Tieren aus

verschiedenen Herkünften läßt sich das Virus häufiger isolieren als in Ferkelerzeuger- oder geschlossenen Systemen (RITZMANN et al., 2002). Das Vorliegen einer Erkrankung mit PMWS ist an die Erfüllung von drei Voraussetzungen geknüpft. Dazu gehören das klinische Bild, typische pathohistologische Veränderungen und der Virusnachweis (CHAE, 2004). Neben dem PMWS spielt PCV-2 eine Rolle bei der Entstehung des Porcinen Dermatitis und Nephropathy Syndromes (PDNS) (RITZMANN et al., 2005), und bei der Entstehung von Pneumonien (CHIOU et al., 2004; KIM et al., 2003; OPRIESSNIG et al., 2004; RITZMANN et al., 2002). Da PCV-2 sowohl bei klinisch auffälligen wie auch bei unauffälligen Tieren häufig nachweisbar ist (PALZER et al., 2005; GROÙE BEILAGE et al., 2003), kann von einer Bedeutung der Coinfektionen bei der Entstehung der beschriebenen Krankheitsbilder ausgegangen werden. Neben den Coinfektionen scheint die Schwere des klinischen Bildes von der unterschiedlichen genetischen Herkunft (ARMSTRONG u. BISHOP, 2004; HASSING et al., 2004), und dem Stress, bzw. dem Kontakt mit ausscheidenden Ferkeln während des Transportes und danach (KRISTENSEN et al., 2004) eine Rolle bei der Entstehung von durch PCV-2 bedingten Krankheiten zu spielen. Die Ausscheidung von PCV-2 erfolgt über alle Sekrete und Exkrete (CALSAMIGLIA et al., 2004). Dabei können in Tupfern der Bronchien die höchsten Virusmengen nachgewiesen werden, gefolgt von Tupfern der Nase und der Tonsillen (CALSAMIGLIA, 2004).

Mögliche Coinfektionen bei Tieren mit PMWS oder Pneumonie werden in einer Vielzahl von Studien untersucht. Die gegenseitige Beeinflussung von PCV-2 und PRRSV ist besonders gründlich erforscht. So erbringen Infektionsversuche den Beweis, dass eine gleichzeitige Infektion das klinische Bild verschlimmert (ROVIERA et al., 2002). Diese Ergebnisse werden in Untersuchungen an natürlich infizierten Tieren bestätigt, bei denen eine Assoziation von PCV-2 und PRRSV festgestellt wird (DROLET et al., 2003; MARTELLI et al., 2000; OHLINGER et al., 2000; PESCH et al., 2003; POGRANICHNIY et al., 2002). SEGALÉS et al. (2002) finden in ihren Untersuchungen jedoch heraus, dass PRRSV zwar eine häufige Coinfektion von PCV-2 darstellt, dieser Zusammenhang aber eher zufällig ist. Neben PRRSV ist ebenfalls eine Interaktion zwischen PCV-2 und *M. hyopneumoniae* beschrieben (OPRIESSNIG et al., 2004; THACKER, 2004b). OPRIESSNIG et al. (2004) erkennen dabei in Infektionsversuchen, dass Einzelinfektionen mit PCV-2 oder *M. hyopneumoniae* leichte respiratorische Erkrankungen hervorrufen, wohingegen

eine Doppelinfection eine schwere Pneumonie verursachen kann. PPV wird von verschiedenen Autoren als Cofaktor einer PCV-2-Infektion angesehen (KIM u. CHAE, 2002; PESCH et al., 2003).

Neben den genannten Erregern können verschiedene Bakterien bei Tieren mit PMWS oder Pneumonie in Kombination mit PCV-2 isoliert werden. Dabei scheint *P. multocida* (CHIOU et al., 2004; MARTELLI et al., 2000), *H. parasuis* (OHLINGER et al., 2000) und *S. suis* (OHLINGER et al., 2000) eine Bedeutung als mögliche Coinfektionen zu haben. Einzelne Fälle einer Doppelinfection von PCV-2 und Chlamydia spezieis (CARRASCO et al., 2000) oder dem Schweineherpesvirus (SHV1) (RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al., 1999) sind beschrieben. Es lässt sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen PCV-2-Infektion und Chlamydien- oder SHV1-Infektionen darstellen. Die Fälle belegen aber die erhöhte Anfälligkeit von PCV-2 infizierten Tieren für andere Infektionserreger (CARRASCO et al., 2000, RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al., 1999).

### 2.1.2.3 Influenzavirus

MÜLLER et al. (1981) und OTTIS et al. (1981) weisen als Erste das Auftreten einer durch Influenzavirus Typ A (H1N1) ausgelösten Pneumonie in Deutschland nach. Eine Pneumonie durch Influenzaviren ist klinisch gekennzeichnet durch plötzliche pneumonische Symptome, Inappetenz und Apathie in Verbindung mit hohem Fieber. Die Tiere genesen bei einer reinen Influenzainfektion nach 4 Tagen (OTTIS et al., 1981). Neben dem Stamm H1N1 spielen in Deutschland die Stämme H3N2 und H1N2 eine Rolle als Pneumonieerreger bei Schweinen (JUNG et al., 2005; SCHRADER u. SÜSS, 2003; SCHRADER u. SÜSS, 2004). Dabei können Mehrfachinfektionen mit verschiedenen Influenzastämmen bei einem Schwein auftreten (MALDONADO et al., 2006). Die Bildung neutralisierender Antikörper erfolgt innerhalb von 7 – 14 Tagen nach stattgefundenener Infektion (DESROSIERS et al., 2004). Hohe Nachweisquoten erreicht man aus Nasentupfern klinisch frisch erkrankter Tiere (VAN REETH et al., 1996). Eine mögliche Interaktion von Influenzaviren mit anderen pathogenen Erregern ist von mehreren Autoren untersucht worden. Eine durch PRRSV ausgelöste Pneumonie wird durch eine zusätzliche Infektion mit H1N1 in ihren klinischen Symptomen gegenüber den Einzelinfektionen verstärkt (VAN REETH et al., 2001). Dabei spielt der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Infektionen eine bedeutende Rolle (VAN REETH et

al., 2001). Andere Autoren können keinen Einfluss einer Doppelinfektion von PRRSV und Influenzavirus H3N2 auf das klinische Geschehen feststellen (POL et al., 1997). GUTIÉRREZ-MARTÍN et al. (2000) untersuchen die Prävalenz von Antikörpern gegen *A. pleuropneumoniae*, PRRSV, Aujeszky'sche Krankheit und Influenzaviren. Sie können keine signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten der einzelnen Antikörper erkennen. Coinfektionen von PCV2 mit Schweineinfluenzavirus werden von HARMS et al. (2001) beschrieben. Neben den genannten Erregern ist *M. hyopneumoniae* und seine Interaktion mit Influenzaviren untersucht worden. Dabei zeigt sich, dass Tiere mit Doppelinfektionen deutlich schwerwiegendere klinische Symptome entwickeln als Tiere, die nur mit einem der beiden Erreger infiziert sind (THACKER et al., 2001; YAZAWA et al., 2004).

### 2.1.3 Bakterien

#### 2.1.3.1 Actinobacillus pleuropneumoniae

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) ist eine der bedeutendsten bakteriellen Erkrankungen des Respirationstraktes von Schweinen und kommt in den meisten Schweine produzierenden Ländern vor (TAYLOR, 1999). Nach BLAHA (1993) weisen 20 – 30% von den an Schlachthöfen in Deutschland untersuchten Lungen „APP-typische“ Veränderungen auf. Das schmale gram-negative bekapselte Bakterium wird in 15 verschiedene bekannte und eine Anzahl von unbekanntem Serovaren eingeteilt (ANGEN u. JESSING, 2004; JACQUES et al., 2004; MARSTELLER u. FENWICK, 1999). In Deutschland werden insbesondere die Serotypen 2, 3, 7 und 9 (BLAHA, 1993), sowie 4, 5 und 6 festgestellt (HENNIG et al., 1998). Nach Phagozytose oder Anheftung an Makrophagen produziert das Bakterium sogenannte Apx-Toxine, die zytotoxisch wirken (TAYLOR, 1999). Der klinische Verlauf einer Infektion mit *A. pleuropneumoniae* kann in Abhängigkeit vom Immunstatus der betroffenen Tiere, von Umweltbedingungen, Infektionsdosis und der Virulenz des Erregers perakut, akut oder chronisch verlaufen (HENNIG et al., 1998; HENSEL et al., 1993; TAYLOR, 1999). Die perakute Verlaufform ist durch eine hochgradige Störung des Allgemeinbefindens mit hohem Fieber, Apathie und Anorexie gekennzeichnet. Schwere Dyspnoe mit Maulatmung sowie Zyanosen der Akren sind weitere Symptome. Kurz vor dem Verenden kann häufig ein blutig-seröser schaumiger Ausfluss aus Nase und Maul beobachtet werden. Für die akute

Verlaufsform sind Fieber, Inappetenz und hochgradige respiratorische Symptome mit Dyspnoe und Husten kennzeichnend. Bei chronisch verlaufenden Infektionen können nur vereinzelt Husten und Leistungseinbußen mit geringgradig erhöhter Körpertemperatur festgestellt werden. Charakteristische pathologische Befunde der perakuten Form und akuten Form sind eine lobuläre Pneumonie und fibrinöse Pleuritis (LIGGETT u. HARRISON, 1987). Das klinische Bild erlaubt bei einem perakutem oder akutem Verlauf eine Verdachtsdiagnose. Da es neben pathogenen (Serotypen 5, 6, 7, 9) auch apathogene (Serotypen 2, 3) Serotypen gibt, ist eine Serotypisierung der isolierten Erreger von besonderer Bedeutung (MARSTELLER u. FENWICK, 1999; TAYLOR, 1999). Die serologische Untersuchung ist neben dem direkten Erregernachweis mittels kultureller oder molekularbiologischer Methoden (ANGEN u. JESSING, 2004; GRAM et al., 1996) im Rahmen der Bestandsüberwachung von Bedeutung (SØRENSEN et al., 1996). Andere Infektionen des Atmungsapparates können durch prädisponierende oder synergistisch wirkende Faktoren an der Pathogenese einer durch APP ausgelösten Pneumonie beteiligt sein. *M. hyopneumoniae* kann eine *A. pleuropneumoniae* Infektion in ihrer klinischen Verlaufsform potenzieren (YAGIHASHI et al., 1984). VAN GUCHT et al. (2003) beschreiben die Verstärkung der klinischen Anzeichen einer PRRSV Infektion durch applizierte Lipopolysaccharide, was auf eine mögliche synergistische Bedeutung von gram-negativen Bakterien wie *A. pleuropneumoniae* schließen lässt.

### 2.1.3.2 Bordetella bronchiseptica

*Bordetella (B.) bronchiseptica* kann bei Saugferkeln (L'ECUYER et al., 1961; DUNCAN et al., 1966, ROOP et al., 1987) und älteren Tieren (JANETSCHKE et al., 1977) eine Bronchopneumonie verursachen. Eine besondere Bedeutung hat dieser Erreger im Bereich der Enzootischen Pneumonie, bei der er als Sekundärerreger eine Rolle spielt (ACKERMANN et al., 1997; KIELSTEIN et al., 1981), sowie bei der Rhinitis atrophicans (DE JONG, 1999; ÉLIÁS et al., 1982; SCHÖSS, 1982; ROOP et al., 1987). *B. bronchiseptica* ist in der Schweinepopulation weit verbreitet und kann häufig diagnostiziert werden, sowohl bei klinisch unauffälligen Tieren als auch bei Tieren, die Anzeichen einer Pneumonie oder Rhinitis atrophicans zeigen (LARIVIERE et al., 1993; PALZER et al., 2005). Bordetellen besitzen die Eigenschaft, sich mittels Virulenzfaktoren an den zilienträgenden Epithelzellen der

Nasenschleimhaut anzuheften und Zytotoxine zu bilden (BROCKMEIER et al., 2002; GOODNOW, 1980). Die Übertragung des Erregers erfolgt über Aerosole, aus denen er isoliert werden kann (STEHMANN et al., 1991), wobei die Muttersau die wichtigste Infektionsquelle zu sein scheint. Es ist möglich, dass sich nach einer Infektion bei Saugferkeln eine Bronchopneumonie entwickelt (L'ECUYER et al., 1961). Diese Form der alleinigen *B. bronchiseptica* Bronchopneumonie scheint aber selten vorzukommen (ROSS, 1999). *B. bronchiseptica* kann aus Lungen von Läufern oder Mastschweinen relativ häufig isoliert werden (ACKERMANN et al., 1997; KIELSTEIN et al., 1981). Dabei spielen die Virulenz des Erregerstammes (GOODNOW, 1980), der Infektionsdruck (STEHMANN et al., 1991), Managementfehler (DRUMMOND et al., 1981) und Stress (DUNCAN et al., 1966) eine prädisponierende Rolle. Eine intranasale oder intratracheale natürliche oder auch experimentelle Infektion verursacht bei Saugferkeln Husten, Dyspnoe und Fieber (L'ECUYER et al., 1961; DUNCAN et al., 1966). Pathohistologisch werden nach einer Infektion mit *B. bronchiseptica* eitrig Bronchopneumonien nachgewiesen (DUNGWORTH, 1993). Eine katarrhalisch-eitrig Bronchopneumonie entwickelt sich im Verlauf einer Enzootischen Pneumonie nach sekundärer Infektion mit *B. bronchiseptica* (DUNGWORTH, 1993). *B. bronchiseptica* wird meist zusammen mit *P. multocida* und *H. parasuis* aus dem Respirationstrakt von erkrankten Schweinen isoliert (KIELSTEIN und ÉLIÁS, 1984). Eine vorherige Infektion mit *B. bronchiseptica* begünstigt die Besiedlung des oberen Respirationstraktes mit *P. multocida* und *H. parasuis* (BROCKMEIER et al., 2001; BROCKMEIER et al., 2004), eine zusätzliche Infektion mit PRRSV begünstigt die Infektion des oberen Respirationstraktes und der Lunge mit *P. multocida* (BROCKMEIER et al., 2001). Dabei scheinen Interaktionen von PRRSV und *B. bronchiseptica* mit Abwehrmechanismen der Lunge eine Infektion mit *P. multocida* zu begünstigen. *B. bronchiseptica* wird häufig in Kombination mit Streptokokken aus Lungenspülproben isoliert, eine pathogenetische Unterstützung dieser Erreger wird beschrieben (DELBECK et al., 1997).

### 2.1.3.3 Haemophilus parasuis

Im Jahr 1910 weist Glässer bei Tieren mit fibrinöser Serositis und Polyarthritits ein gram-negatives Bakterium nach. Dieser Erreger wird später zuerst als *Haemophilus suis* und folgend in *Haemophilus influenza suis* umbenannt. Heute wird das

Bakterium als *Haemophilus (H.) parasuis* in die Gruppe der Pasteurellaceae eingeordnet (KIELSTEIN u. LEIRER, 1990; RAPP-GABRIELSON, 1999). In den letzten Jahren ist eine deutliche Zunahme an Erkrankungen durch *H. parasuis* zu beobachten (MÜLLER et al., 2004; OLIVIERA u. PIJOAN, 2004; RAPP-GABRIELSON, 1999). Neben dem Verlauf als Allgemeinerkrankung, bei der neben Husten auch hohes Fieber, Lahmheiten, umfangsvermehrte Gelenke und zentralnervöse Symptome zu beobachten sind (KIELSTEIN et al., 1994; RAPP-GABRIELSON, 1999; VOS, 2004; ZIMMERMANN u. MÜLLER, 2004), kann sich die klinische Symptomatik aber auch ausschließlich auf den Respirationstrakt beschränken (OLIVIERA et al., 2002; KIELSTEIN et al., 1986). Betroffen sind in der Regel Absatzferkel und Läufer Schweine nach Belastungssituationen wie zum Beispiel Transport in Verbindung mit hohem Infektionsdruck (KIELSTEIN u. LEIRER, 1990; CHRISTENSEN et al., 1999; RAPP-GABRIELSON, 1999).

*H. parasuis* zählt zum physiologischen Keimspektrum des oberen Respirationstraktes (KIELSTEIN et al., 1994; OLIVIERA u. PIJOAN, 2004) und kann sowohl bei klinisch auffälligen als auch bei unauffälligen Tieren in der BAL bakteriologisch nachgewiesen werden (PALZER et al., 2005). Auf eine Beteiligung bei der Enzootischen Pneumonie lässt die Isolierung des Erregers aus entsprechend veränderten Lungen schließen (KIELSTEIN u. LEIRER, 1990; RAPP-GABRIELSON, 1999). Eine mögliche synergistische Bedeutung einer vorangehenden Infektion mit *B. bronchiseptica* (BROCKMEIER, 2004) auf die nasale Besiedlung mit *H. parasuis* wird belegt. OLIVIERA u. PIJOAN (2004) beschreiben eine PRRSV-Infektion als mögliche Coinfektion. SEGALÈS et al. (1998) können keinen Einfluss einer vorhergehenden PRRSV-Infektion auf das Auftreten der Glässerschen Krankheit erkennen.

Die pathologisch feststellbaren Lungenveränderungen bei Sekundärinfektionen mit *H. parasuis* bestehen aus einer unspezifischen katarrhalisch-eitrigen Bronchopneumonie, die zusammen mit einer Pleuritis auftreten kann.

Im klinischen Verdachtsfall einer Infektion mit *H. parasuis* in Form der Glässerschen Krankheit kann der Nachweis des Erregers mittels einer bakteriologischen oder molekularbiologischen Untersuchung der serösen Häute durchgeführt werden (OLIVIERA et al., 2001).

### 2.1.3.4 Pasteurella multocida

*Pasteurella (P.) multocida* kann als das wichtigste, an der Entstehung der Enzootischen Pneumonie oder des Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) beteiligte Bakterium betrachtet werden (PIJOAN, 1999). Dabei können bekapselte *P. multocida* Stämme als virulenter als unbekapselte betrachtet werden (JACQUES et al., 1993). Eine Beteiligung toxinbildender *P. multocida* Stämme zusammen mit *Bordetella bronchiseptica* an der Entstehung der Rhinitis atrophicans ist belegt (DAVIES et al., 2003; DE JONG, 1999). *P. multocida* kann als physiologische Schleimhautflora beim Schwein nachgewiesen werden (CHRISTENSEN et al., 1999; PIJOAN, 1999). Daher sind die diagnostischen Möglichkeiten sehr differenziert zu betrachten. Der Nachweis aus Nasentupfern ergibt keine Hinweise auf die Beteiligung von *P. multocida* an einem pneumonischen Geschehen, sondern eine Beprobung der Lunge erbringt aussagekräftige Resultate (PIJOAN, 1999). Die Möglichkeit der Übertragung von *P. multocida* durch Aerosole wird von THOMSON et al. (1992) nachgewiesen. Hohe Ammoniakwerte in Verbindung mit einer *M. hyopneumoniae*-Infektion bewirken eine verstärkte Besiedlung der Nasenmuscheln mit toxischen *P. multocida*-Stämmen (ANDREASEN et al., 2000; HAMILTON et al., 1998). Da Pasteurellen auch als physiologische Keimflora des oberen Respirationstraktes vorkommen, sind zur Entstehung einer Bronchopneumonie zusätzliche prädisponierende Faktoren wie weitere Infektionen mit bakteriellen oder viralen Atemwegserregern notwendig. Die Interaktion von *M. hyopneumoniae* mit *P. multocida* ist dabei am besten untersucht. *M. hyopneumoniae* prädisponiert die Lunge für eine nachfolgende Infektion mit *P. multocida* (AMASS et al., 1994; CIPRIAN et al., 1988; FEENSTRA et al., 1994). Dabei sind die Pasteurellen für das Entstehen der Lungenläsionen verantwortlich (SØRENSEN et al., 1997). Eine Infektion mit *B. bronchiseptica* führt zu einer vermehrten Besiedlung des oberen Respirationstraktes mit *P. multocida* (BROCKMEIER et al., 2001). Es ist möglich, dass eine Doppelinfektion mit *B. bronchiseptica* und PRRSV zur Entstehung einer durch *P. multocida* ausgelösten Bronchopneumonie führt (BROCKMEIER et al., 2001). CARVALHO et al. (1997) können keinen signifikanten Einfluss einer vorhergehenden PRRSV-Infektion auf eine nachfolgende Inokulation mit *P. multocida* feststellen. MORITA et al. (1999) zeigen in Infektionsstudien auf, dass die Infektion mit *M. hyorhinis* eine Infektion des Innenohres mit *P. multocida* begünstigt. Eine Beteiligung von *P. multocida* in

Verbindung mit PCV-2 bei der Entstehung des sogenannten Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) wird von mehreren Autoren diskutiert (LAINSON et al., 2002; THOMSON et al., 2001). Neben diesen Erkrankungen sind in Infektionsversuchen die Möglichkeiten einer durch *P. multocida* Serotyp A bedingten Septikämie und Arthritis beschrieben (ONO et al., 2003).

### 2.1.3.5 Streptokokken

Die Bedeutung der *Streptokokkus (S.) suis*-Infektion liegt neben der möglichen Erkrankung von Tieren auch darin, dass er den Zoonoseerregern zuzuordnen ist (CLIFTON–HADLEY, 1983). Innerhalb der Gruppe der  $\alpha$ -hämolisierenden Streptokokken sind die Serotypen 1 und 2 die bedeutendsten. Dabei kann *S. suis* Typ 1 verantwortlich sein für Erkrankungen bei Saugferkeln in den ersten Lebenswochen, Typ 2 sehr häufig bei Tieren im Alter von 3 – 12 Wochen oder älter (CLIFTON–HADLEY, 1983; GRIFFITHS et al., 1991; HIGGENS u. GOTTSCHALK, 1999; STEVENSON, 1998). Aus bronchoalveolärer Spülflüssigkeit können  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken sowohl bei klinisch auffälligen als auch bei unauffälligen Tieren häufig isoliert werden (KIPPER, 1990; PALZER et al., 2005). Die pathogene Bedeutung dieser Erreger in der Lunge ist nicht eindeutig geklärt (GANTER u. AMTSBERG, 1996). HENSEL et al. (1994) weisen bei 49,4% der untersuchten Spülproben von gesunden Schweinen  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken nach. KIPPER (1990) isoliert aus BAL „lungengesunder“ Tiere vor allem Streptokokken, während in Proben pneumoniekranke Tiere vorrangig *P. multocida* festgestellt wird. Bei Schweinen wird eine pathogene Bedeutung von *S. suis* beschrieben (HIGGENS u. GOTTSCHALK, 1999; RACHEL et al., 1994; RASMUSSEN et al., 1999). Neben respiratorischen Erkrankungen (RACHEL et al., 1994) sind Arthritiden und Meningitiden häufig vorkommende Erkrankungen, die von Streptokokken verursacht werden (HIGGENS u. GOTTSCHALK, 1999; PALLARÉS et al., 2002). Virale Infektionen können die klinischen und pathologischen Erscheinungen einer Streptokokkeninfektion verstärken. IGLESIAS et al. (1992) stellen fest, dass klinische Erkrankungen, die mit *S. suis* assoziiert sind, durch eine gleichzeitige Infektion mit Pseudorabiesvirus verstärkt werden können. Eine PRRSV Infektion verstärkt den klinischen und pathologischen Schweregrad einer *S. suis* Infektion (FENG et al., 2001; GALINA et al., 1994; HALBUR et al., 2000). Andere

Autoren können keinen Einfluss einer vorhergehenden PRRSV Infektion auf den Verlauf einer *S. suis* Infektion erkennen (COOPER et al., 1995).

### 2.1.3.6 Weitere Pneumonieerreger

*Salmonella (S.) cholerasuis* wird von TURK et al. (1992) als möglicher Pneumonieerreger angesehen. *S. typhimurium* ist unter bestimmten Voraussetzungen, wie zum Beispiel gestörte Abwehrmechanismen möglicherweise Ursache einer chronisch verlaufenden, eitrigen Bronchopneumonie. Bei sehr jungen Tieren können Salmonellen-Infektionen zu akuten interstitiellen Pneumonien führen (DUNGWORTH, 1993).

*Arcanobacterium (A.) pyogenes* kann als Sekundärerreger der Enzootischen Pneumonie und Virusinfektionen bei Tieren mit Bronchopneumonie nachgewiesen werden (KIELSTEIN et al., 1981). Durch hämatogene Streuung von einem Primärherd aus ist *A. pyogenes* in der Lage, die Lunge zu besiedeln, und kann dann aus in der Lunge entstandenen multiplen Abszessen isoliert werden (KIELSTEIN et al., 1981; CHRISTENSEN et al., 1999).

*Klebsiella (K.) pneumoniae* wird von verschiedenen Autoren als mögliche Ursache von Pneumonien bei verschiedenen Tierarten aufgeführt (PODSCHUN u. ULLMANN, 1998; WANG et al., 2001; YANG et al., 1989).

ONO et al. (2001) beschreiben in einem Fallbericht die Entstehung einer durch *Morganella (M.) morganii* ausgelösten serofibrinösen Pleuropneumonie bei Ferkeln.

## 2.2 Untersuchungsmaterialien

### 2.2.1 Tupferproben

Tupferproben der Nasenschleimhaut sind einfach zu entnehmende Materialien zur mikrobiologischen Untersuchung (SCHÖSS u. ALT, 1995). Die Aussagekraft hinsichtlich der festgestellten Erreger ist aber, je nach Fragestellung, sehr unterschiedlich. So sind Nasentupfer geeignet zum Nachweis einer Infektion mit Influenzaviren oder PRRSV-Infektionen, soweit sie zu Beginn einer Virusinfektion

entnommen werden (VAN REETH et al., 1996). Weiterhin sind Nasentupfer zur Abklärung einer Rhinitis atrophicans geeignet. Werden aus Nasentupfern Toxin bildende Pasteurellen isoliert, gilt der Bestand als Rhinitis atrophicans befallen (COWART et al., 1989; ROOP et al., 1987). Andere bakteriologische Untersuchungsergebnisse sind durch die Besiedlung der Schleimhaut mit unspezifischen oder nur fakultativ pathogenen Keimen von keiner großen Aussagekraft (SCHÖSS u. ALT, 1995).

PLONAIT et al. (1995) beschreiben die Entnahme von Trachealtupfern, deren bakteriologische Untersuchung eine höhere Aussagekraft hat als die von Nasentupfern.

### **2.2.2 Lungenbiopsie**

Die Lungenbiopsie wird sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin zur ätiologischen Diagnostik von Lungenerkrankungen eingesetzt. Bei Schweinen sind Untersuchungen von STEINHAUSEN (1999) und KAPPELMANN (2002) durchgeführt worden. Die Lungenbiopsie ermöglicht die Gewinnung von Lungengewebe für bakteriologische, histologische und zytologische Untersuchungen, deren Ergebnis sehr viel spezifischer und damit aussagekräftiger ist als das einer pathologischen Untersuchung (STEINHAUSEN, 1999). KAPPELMANN (2002) führt einen Vergleich von Lungenbiopsie und bronchoalveolärer Lavage durch. Er kann feststellen, dass unspezifische Keime und Kontaminationen bei der BAL wesentlich häufiger anzutreffen sind als in Lungenbiopsaten. Um eine ätiologische Pneumoniediagnostik durchzuführen, sind aber sowohl die ultraschallgeführte Lungenbiopsie als auch die BAL gleichermaßen geeignete Verfahren. Ein Nachteil der ultraschallgeführten Lungenbiopsie ist der apparative Aufwand.

### **2.2.3 Bronchoalveoläre Lavage**

#### 2.2.3.1 Entwicklung der Bronchoalveolären Lavage

Die ersten in der Literatur beschriebenen Lungenspülungen bei Tieren werden von MYRVIK et al. (1961) am Kaninchen durchgeführt. Diese Methode der Probenentnahme wird an kleinen Labortieren (BRAIN u. FRANK, 1968; HOLT, 1979), am getöteten Kalb (GOINS et al., 1979; ALLAN et al., 1979) und am

euthanasierten Schwein (HOLMGREN, 1973; WILLIAMS, 1978; BRASSIN et al., 1976) beschrieben.

Diese Methoden sind weiterentwickelt worden, um bei landwirtschaftlichen Nutztieren eine intravitale Lungenspülung durchzuführen. Sie werden bezüglich ihrer Anwendungen beim Schwein (HARMSSEN et al., 1979; CHARLEY u. FRENOVE, 1980; CHARLEY et al., 1980) und beim Kalb (LE JAN et al., 1980; WILKIE u. MARKHAM, 1981) geschildert.

Die gewonnene Spülflüssigkeit kann mikrobiologisch, molekularbiologisch, zytologisch und immunologisch untersucht werden.

Im Allgemeinen unterscheidet man die Lungenspülung unter Sichtkontrolle mittels einer bronchoskopischen Untersuchung (GANTER et al., 1993; HENSEL et al., 1994; RUNGE et al., 1996) und die Lungenspülung ohne Sichtkontrolle (FLAßHOFF, 1996; DELBECK et al., 1997).

FLAßHOFF (1996) erläutert als erster eine kostengünstig unter einem geringen apparativen Aufwand im Bestand durchzuführende Methode. Dabei erfolgt die Einführung des Katheters über den Laryngoskopspatel in einen zufälligen Lungenlappen. Die Spülung erfasst je nach Größe des Tieres 1,5 bis 3% der Lungenoberfläche. Es besteht die Gefahr, dass durch Kontakt des Katheters mit der Mundschleimhaut oder den Tonsillen oropharyngeale Keime in die Lunge eingebracht werden und das bakteriologische Ergebnis verfälschen (BARTLETT et al., 1976; HARMSSEN et al., 1979; NEUMANN et al., 1985; GANTER et al., 1993). Die Kontamination mit Umweltkeimen ist aber deutlich geringer als bei der Probengewinnung aus dem nasopharyngealen Bereich (BURKHARDT u. SCHAAL, 1992). BAL-Proben sind aussagekräftig in Bezug auf den Nachweis obligat lungenpathogener Keime, im Hinblick auf die Isolierung fakultativ pathogener Keime ist eine Interpretation der Befunde schwierig (MÜLLER-QUERNHEIM, 1992).

Neben den dargestellten Methoden der Gewinnung von Bronchoalveolarfluid werden in jüngerer Zeit zwei weitere Methoden beschrieben. Bei der von NIENHOFF (2004) durchgeführten BAL wird ein dünner Katheter durch eine die Trachea punktierende große Braunüle eingeführt. Eine weitere Methode wird am unsedierten Tier, welches an einer Oberkieferschlinge fixiert wird, durchgeführt. Der Katheter wird durch die Nase bis zum Larynx geschoben und im Moment des Einatmens in die Lunge vorgeschoben (NIENHOFF et al., 2004). Dabei ist aber eine große Gefahr der Kontamination mit oronasal vorkommenden Keimen gegeben, und es ist möglich,

dass der Spülkatheter in den Magen vorgeschoben wird. Weiterhin ist diese Methode aus Sicht des Tierschutzes kritisch zu betrachten.

### 2.2.3.2 Mikrobiologische Befunde in der BAL

HENSEL et al. weisen 1994 in Lungenspülproben von SPF-Schweinen Streptokokken spp. (49,4%), *B. bronchiseptica* (3,1%), *H. parasuis* (2,4%) und *M. hyorhinis* (3,1%) nach. Sie schließen daraus, dass diese Bakterien auch als apathogene Schleimhautbesiedler in der Lunge vorkommen können. Verschiedene Autoren haben Lungenspülungen an pneumoniekranke Tiere durchgeführt, die sich in der isolierten Keimflora unterscheiden (DELBECK et al., 1997; FLAßHOFF, 1996; GANTER et al., 1993; KIPPER, 1990; RUNGE et al., 1996). Die unterschiedlichen Ergebnisse sind in Tab. 1 dargestellt. FLAßHOFF (1996) und DELBECK et al. (1997) führen die Bronchoalveoläre Lavage ohne, GANTER et al. (1993), KIPPER (1990) und RUNGE et al. (1996) mit Sichtkontrolle durch.

HENSEL et al. (1994) und KIPPER (1990) betrachten die bakteriologischen Befunde von klinisch unauffälligen Tieren, während alle anderen aufgeführten Autoren nur Schweine, die Anzeichen einer Pneumonie zeigen, berücksichtigen.

DELBECK et al. (1997) weisen aus Lungenspülproben von Schweinen mit klinisch diagnostizierten Pneumonien  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis* sowie *P. multocida* in abnehmender Häufigkeit nach. HENSEL et al. (1994) können in 49,4% der untersuchten Lungenspülproben gesunder Schweine  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken feststellen. KIPPER (1990) weißt in der Gruppe der „lungengesunden“ Schweine vorrangig Streptokokken nach, während aus Proben pneumoniekranke Tiere hauptsächlich *P. multocida* isoliert wird. HENSEL et al. (1994) ist es gelungen, in seiner Studie meist mehrere Erreger aus der BAL eines Tieres zu isolieren. Mehrfachinfektionen können mit zunehmendem Alter der Schweine häufiger beobachtet werden (VON ALTROCK, 1998).

In Untersuchungen von HARTWIG (1994), FLAßHOFF (1996) und VON ALTROCK (1998) ist *P. multocida* der am häufigsten bei lungenkranken Tieren isolierte Keim. HARTWIG (1994) weist bei 39 untersuchten Tieren zusätzlich *S. suis*, *B. bronchiseptica* und *Mycoplasma* spp., FLAßHOFF (1996)  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken und *Mycoplasma* spp. und VON ALTROCK (1998) mit abnehmender Häufigkeit *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchiseptica* sowie *H. parasuis* nach. Aus Lungen klinisch unauffälliger Tiere sind  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken,

$\beta$ -hämolisierende Streptokokken, *H. parasuis*, *B. bronchiseptica* und *P. multocida* in abnehmender Häufigkeit zu isolieren (KIPPER, 1990).

Tab. 1: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung der BAL verschiedener Autoren

	Hensel et al. 1994	Ganter et al. 1993	Flaßhoff 1996	Delbeck 1997	Steinhausen 1999
Krankheitsstatus	Gesund	Pneumonie	Pneumonie	Pneumonie	Pneumonie
Anzahl untersuchter Tiere	164	90	40	165	44
Probenmaterial	BALF	BALF	BALF	BALF	Biopsie
<b>positiven Nachweise im BALF oder Lungenbiopstat der untersuchten Tiere</b>					
Kein Keimwachstum	10	1	0	0	57
Mycoplasma spp.	3	0	25	9	0
<i>A. pleuropneumoniae</i>	0	4	0	2	2
<i>P. multocida</i>	0	73	37	13	25
<i>Haemophilus</i> sp.	2	8	0	19	2
<i>B. bronchiseptica</i>	0	6	18	24	2
<i>A. pyogenes</i>	4	0	2	0	11
<i>S. suis</i> Typ I	0	0	2	9	0
<i>S. suis</i> Typ II	0	0	12	0	2
$\alpha$ - häm Strept.	49	40	33	33	9
$\beta$ - häm Strept.	4	10	5	0	0
sonstige Strept.	26	18	28	0	0
<i>Staph. hyicus</i>	13	3	8	1	0
<i>Staph. aureus</i>	0	0	15	0	0
sonstige Staph.	52	16	10	7	0
<i>Pseudomonas</i> sp.	5	7	13	1	0
<i>Klebsiella</i> sp.	18	9	3	0	0
<i>E. coli</i>	42	18	28	12	0
sonstige Bakterien	15	3	18	8	0

BALF: Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit, 0: nicht isoliert oder untersucht

### 2.2.4 Serologie

Die Bestimmung von Antikörpertitern im Serum ermöglicht einen indirekten Nachweis einer stattgefundenen Infektion mit dem Erreger. Eine einzelne Serumprobe ermöglicht jedoch keine Aussage über den Zeitpunkt der Infektion und die aktuelle Situation. Antikörper werden im Allgemeinen ca. 2 Wochen nach der Infektion gebildet (BENFIELD et al., 1999; TAYLOR, 1999). Diese Antikörper sind über einen Zeitraum von Monaten im Serum nachweisbar (DESROSIERS et al., 2004). Bei Erkrankungen durch *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, PRRSV und Influenzaviren können serologische Verlaufsuntersuchungen oder die Beprobung verschiedener Altersgruppen eine sinnvolle Möglichkeit der Herdendiagnostik sein (BATISTA, 2005; DESROSIERS et al., 2004; MARSTELLER u. FENWICK, 1999; THACKER, 2004a). Bei der Interpretation serologischer Befunde sind die gegebenenfalls vorhandenen maternalen und vakzinationsbedingten Antikörpertiter sowie die Sensitivität und Spezifität der Untersuchungsmethode zu berücksichtigen (BÜTTNER, 2002). Die serologische Diagnostik eignet sich in Schweinebeständen insbesondere zur Überwachung des Gesundheitsstatus und der Freiheit von Tierseuchen.

### 2.2.5 Sektion

Die Sektion verendeter oder euthanasierter Schweine ist eine häufig durchgeführte Form der unterstützenden Diagnostik. Dabei werden von einzelnen Tieren Rückschlüsse auf die Bestandssituation gezogen. Neben der makroskopischen Beurteilung von Pleura und Lunge kann geeignetes Probenmaterial für bakteriologische, histologische und molekularbiologische Untersuchungen gezielt entnommen werden (CHRISTENSEN et al., 1999; ZIMMERMANN u. PLONAIT, 2004). Die Auswahl der zur Sektion vorgesehenen Tiere ist dabei von besonderer Bedeutung (SEGALÉS, 2005). Da vom Besitzer häufig aus wirtschaftlichen Gründen nur verendete oder mehrfach vorbehandelte, chronisch kranke Tiere zur Sektion ausgewählt werden, sind die zu erwartenden Untersuchungsergebnisse nicht repräsentativ. Für sinnvolle Entscheidungen über therapeutische und prophylaktische Maßnahmen sind solche Befunde nur unter Vorbehalt zu verwenden (SEGALÉS, 2005). Grundsätzlich sollten möglichst akut erkrankte, unbehandelte Tiere in frischem Erhaltungszustand zur Sektion ausgewählt werden. Dies ist insbesondere

bei sehr schwierig nachzuweisenden Keimen wie zum Beispiel *H. parasuis* von besonderer Bedeutung (OLIVIERA, 2004). Der Erregernachweis aus Sektionsmaterial kann aber durch präfinal über das Blut bzw. postmortal in das Gewebe eingewanderte Bakterien, ablaufenden verunreinigten Speichel, sowie durch eine mögliche Kontamination während des Sektionsvorganges erschwert sein (STEINHAUSEN, 1999). Insbesondere Infektionen mit fakultativ pathogenen Erregern sind postmortal nicht sicher diagnostizierbar.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Untersuchte Tiere**

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurden an insgesamt 308 Tieren durchgeführt. Dabei handelte es sich um Tiere, die zur Diagnosestellung entweder in die Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität eingeliefert wurden oder um Tiere, die auf Beständen aus diagnostischen Gründen beprobt wurden. Berücksichtigt waren Saugferkel, Absatzferkel, Läufer und Mastschweine bis zu einem Alter von 20 Wochen, da die Lavage bei Schweinen mit einem Lebendgewicht > 100 kg technisch nur schwer möglich ist (PABST, 2004).

Vorberichtlich stellten Pneumonien in den 65 Betrieben das vorrangige Bestandsproblem dar, auch wenn nicht alle beprobten Tiere Anzeichen einer Pneumonie zeigten. Der Vakzinationsstatus der Tiere und insbesondere der Herden war unbekannt. Die Tiere waren in den letzten Tagen vor der Beprobung laut Vorbericht nicht mit Antibiotika behandelt worden.

Insgesamt 257 Tiere wurden in der Auswertung nach Gewicht berücksichtigt. Eine pathologisch-anatomische Untersuchung wurde bei 128 Tieren durchgeführt. Die in die Untersuchung einbezogenen Tiere kamen aus Ferkelerzeuger-, Ferkelaufzucht- und Mastbeständen unterschiedlicher Art und Größe.

### **3.2 Ablauf der Untersuchungen**

Nach der klinischen Untersuchung wurde die Körpertemperatur gemessen. Die bronchoalveoläre Lavage mit anschließender Blutentnahme erfolgte im Anschluss an die Neuroleptanalgesie. Der Ablauf der Untersuchungen unterschied sich nicht zwischen Tieren, die zur Diagnostik in die Klinik eingeliefert wurden und solchen, die im Herkunftsbestand beprobt wurden. Die gewonnene Lungenspülflüssigkeit (BALF) wurde am gleichen Tag bakteriologisch im Institut für Mikrobiologie und Seuchenmedizin der LMU München untersucht. Die molekularbiologische Untersuchung der BALF erfolgte im Landeslabor Schleswig Holstein, Neumünster mittels multiplex-PCR. Die zur Diagnostik in die Klinik für Schweine eingelieferten Tiere wurden am Tag der Einlieferung oder 1-2 Tage später euthanasiert und im

Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim einer Routinesektion unterzogen.

### 3.3 Durchführung der Untersuchungen

#### 3.3.1 Klinische Untersuchung

Die klinische Untersuchung umfasste insbesondere die Beurteilung des Allgemeinzustandes und des Atmungsapparates der Tiere. Dabei wurden Verhalten, Ernährungszustand, Husten, Atemgeräusche mittels Auskultation untersucht, die Füllung der Tarsalgelenke bestimmt und die Körperinnentemperatur gemessen. Die Befunde wurden anhand eines Scoresystems eingestuft. Ein physiologischer Befund wurde mit 0 Scorepunkten, eine geringgradige Abweichung vom Normalbefund mit 1 Punkt, eine mittelgradige mit 2 und eine hochgradige mit 3 Punkten bewertet. Husten bekam die Scorepunktzahl 2, Giemen oder Reiben erhielten 2 Scorepunkte. Eine Körperinnentemperatur von 39,8 bis 40,2 wurde mit 1 Scorepunkt, eine Temperatur von > 40,2 mit 2 Scorepunkten bewertet. Aus diesen drei Untersuchungsparametern konnte dann ein „Pneumoniescore“ zur Einstufung der Tiere in eine Gruppe mit Anzeichen von Pneumonie und eine Gruppe von klinisch unauffälligen Tieren errechnet werden. Dabei erfolgte die Einteilung der Tiere mit einem „Pneumoniescore“ < 2 in die Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere, während alle anderen Schweine als klinisch auffällig gewertet wurden.

Tab. 2: Scorepunkteverteilung nach klinischen Einzelbefunden

	Score		Score		Score
Körperinnentemperatur		Auskultation		Husten	
< 39,8° C	0	o.b.B.	0	ja	2
≥ 39,8°C < 40,2°C	1	ggr. verschärft	1	nein	0
≥ 40,2°C	2	mgr. verschärft	2		
		hgr. verschärft	3		
		Giemen	2		
		Reiben	2		

### 3.3.2 Narkose

Lungenspülungen müssen beim Schwein – wie verschiedene andere diagnostische Maßnahmen – in Neuroleptanalgesie durchgeführt werden, da eine sichere Fixierung und geeignete Lagerung am wachen Tier nicht gewährleistet werden kann (FLAßHOFF, 1996).

Für die Neuroleptanalgesie wurde eine Kombination des Neuroleptikums Azaperon (Stresnil<sup>®</sup>, Janssen-Cilag) mit dem Analgetikum Ketamin (Ursotamin<sup>®</sup>, Serumwerke Bernburg) intramuskulär appliziert. Die Dosierung betrug für Azaperon 2 mg/kg KGW und für Ketamin 20 mg/kg KGW.

### 3.3.3 Bronchoalveoläre Lavage

Die anästhesierten Schweine wurden auf einem Tisch o.ä. in Bauchlage gebracht. Die Lagerung der Tiere erfolgte so, dass die Hinterbeine nach vorne und die Vorderbeine nach hinten zeigten (Abb. 2). Der Oberkiefer der Tiere wurde nach oben ausgebunden, so dass die Rückenlinie gerade verlief und die Augen auf Höhe der Tischkante waren. Die Zunge des Schweines wurde mittels eines Zellstofftuches außerhalb der Maulhöhle fixiert. Anschließend wurde je nach Größe des Tieres ein Zungenspatel (Typ Miller, Fa. Heine Optotechnic, Herrsching) unterschiedlicher Größe in Verbindung mit einem Laryngoskop (Laryngoskop-Accusan-Griff, Fa. Heine Optotechnic, Herrsching) unter Sichtkontrolle über den Zungengrund in Richtung Kehldeckel geführt. In der Regel lag der Kehldeckel über dem weichen Gaumensegel. Mittels des Laryngoskopspatels wurde der Kehldeckel nach unten gezogen, so dass der freie Rand der Epiglottis sichtbar war. Anschließend wurde der Zungenspatel über den freien Rand der Epiglottis in die Stimmritze geführt und diese mit dem Spatel auseinander gedrückt. Den Zungenspatel als Führung nutzend, wurde ein Norm-Ansaugkatheter (Fa. Rüsck u. Seidel, Gauting) als Spülkatheter in die Lunge vorgeführt. Bei richtiger Lage des Katheters induzierte dieser einen Hustenreiz. Die Lavage erfolgte je nach Größe des Tieres mit unterschiedlichen Mengen (10 – 50 ml) isotonischer Natriumchlorid-Lösung. Nach ein bis zwei Atemzügen waren mindestens 3 ml der Lavageflüssigkeit mit der gleichen Spritze zurückgewinnbar und wurden anschließend in ein steriles Plastikröhrchen umgefüllt. Zur weiteren Bearbeitung der Spülflüssigkeit wurde diese bei 3000g für 10 min

zentrifugiert, bis auf 2 ml dekantiert, anschließend das Zentrifugat in diesen 2 ml gelöst und in zwei Portionen aufgeteilt.

Die bakteriologische Untersuchung von 1 ml zurück gewonnener Spülflüssigkeit erfolgte am Tag der Probenentnahme oder einen Tag später. Der für die multiplex-PCR bestimmte Teil des BALF wurde innerhalb von 2 Tagen molekularbiologisch untersucht.



Abb. 2: Lagerung des Schweines zur Durchführung der bronchoalveolären Lavage

### 3.3.4 Bakteriologische Untersuchung

Für die bakteriologische Untersuchung wurden die Proben zuerst auf Blutagarplatten mit und ohne Hemmstoff CNA (Colistin-Nalidixinsäure zur Unterdrückung gramnegativer Bakterien), Enterobakterien-Nährböden (Gassner- und Rambachplatten) sowie Nähragarplatten verimpft. Zusätzlich wurden Bordet-Gengou Platten für die Isolierung von Bordetellen und Ammenkulturen bei CO<sub>2</sub>- Bebrütung für hämophile Bakterien angelegt. Die Inokulation der Proben erfolgte bei allen Platten als Verdünnungsausstrich mit drei Ösen.

Bei einem Teil der in die Arbeit eingeschlossenen Tiere wurden für die Erfassung geringer Bakterienmengen ca. 0,5 ml Probenflüssigkeit in 84 ml Anreicherungsmedium inokuliert (Signal Blood Culture System, Fa. Oxoid). Zur biochemischen Differenzierung der Isolate wurden Standardverfahren angewendet (Enterotube, Fa. Becton-Dickinson; API-Systeme, Fa. Bio Merieux).

Die semiquantitative Beurteilung der Bakterienkulturen erfolgte für jeden Kolonientyp nach dem in Tab. 3 aufgeführten Schema.

Tab. 3: Semiquantitative Beurteilung der Bakterienkulturen

Befundung	Wert	Menge des Kolonientyps im Primärausstrich (ca. 50 µL)
nach Anreicherung	0,25	kein Wachstum im Primärausstrich, Isolat erst nach Anreicherung in Nährbouillon
(+)	0,5	eine bis 10 Kolonien
+	1	11 – ca. 20 Kolonien
++	2	dicht stehende Kolonien im 1., einzelnstehende im 2. Impfstrich
+++	3	dicht stehende Kolonien im 2., einzelnstehende im 3. Impfstrich
++++	4	dicht stehende Kolonien im 3. Impfstrich

### 3.3.5 Molekularbiologische Untersuchung

Die molekularbiologische Untersuchung mittels nonaplex RT-PCR (HARDER u. HUEBERT, 2004) umfasste die Erreger *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyo*), *Mycoplasma hyorhinis* (*M. hyorh.*), Influenzavirus Typ A, *porzines respiratorisches Coronavirus* (PRCV), *porzines Circovirus Typ 2* (PCV-2), *porzines Cytomegalievirus* (PCMV), *porcine respiratory and reproductive syndrome Virus US-* sowie *EU-Typ* (PRRSV-US, PRRSV-EU). Es wurden aber nur die Ergebnisse der *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, Influenzavirus, PCV-2 und PRRSV-Nachweise in der Auswertung berücksichtigt. Dabei erfolgte eine qualitative Auswertung der Ergebnisse.

### 3.3.6 Euthanasie

Die zur Diagnostik in die Klinik eingelieferten Tiere wurden – noch in Narkose liegend – durch eine intravenöse Injektion von Eutha 77 (Fa. Essex) getötet.

### 3.3.7 Sektion

#### Pathologisch-anatomische Untersuchung

Im Rahmen der am Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim durchgeführten Routinesektion wurden Brusthöhle und Lunge makroskopisch untersucht. Von veränderten Teilen der Lunge wurde eine histologische Untersuchung durchgeführt. Die pathologisch-anatomischen Befunde wurden in der vorliegenden Arbeit nur im Hinblick auf Anzeichen einer interstitiellen, katarrhalisch-eitrigen Bronchopneumonie oder dem Fehlen von Anzeichen einer Pneumonie ausgewertet. Aus den erhobenen pathologisch-anatomischen Veränderungen konnte ein „Pathologiescore“ berechnet werden (Tab. 4). Der Nachweis von interstitieller Pneumonie, katarrhalisch-eitriger Bronchopneumonie und/oder Pleuritis wurde mit jeweils einem Scorepunkt gewertet.

Tab. 4: Scorepunkteverteilung nach pathologischen Einzelbefunden

	Score
keine Anzeichen einer Pneumonie	0
interstitielle Pneumonie	1
katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie	1
Pleuritis	1

### 3.3.8 Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte jeweils für die Gruppe der klinisch auffälligen und die der unauffälligen Tiere. Neben dem Vergleich der Anzahl von Isolaten in den beiden Gruppen wurden die Erregerassoziationen zwischen *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis.*, PRRSV (EU-Typ), PRRSV (US-Typ), PCV-2; Influenzavirus Typ A,  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken, *B. bronchiseptica*, *P. multocida*, und *H. parasuis* innerhalb der beiden Gruppen ausgewertet. Dabei wurden kulturell isolierte Bakterien semiquantitativ und molekularbiologisch nachgewiesene Erreger qualitativ betrachtet. Bei der Berechnung der Mehrfachinfektionen wurde nur der positive Erregernachweis und nicht die Quantität dieses Nachweises berücksichtigt. Die Verteilung der drei Gruppen von Mehrfachinfektionen ( $\leq 2$ , 3+4 und  $\geq 5$ ) nach klinischem Status, Gewicht und „Pathologiescore“ der Tiere wurde dargestellt.

Bakterielle Isolate wurden nur in die Auswertung der Anreicherung aufgenommen, wenn sie im direkten Ausstrich nicht nachweisbar waren.

### **3.3.9 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte mittels chi-Quadrat oder T-Test. Das Signifikanzniveau betrug 0,05. Die Richtungen der einzelnen Assoziationen wurde durch die Errechnung des Spearman-Rho Faktor bestimmt. Eine Errechnung der Signifikanzen erfolgte nur im Vergleich zwischen klinisch auffälligen und unauffälligen Tieren für jeden einzelnen Erreger. Bei der Berechnung der Signifikanzen zwischen den drei Gruppen von Mehrfachinfektionen ( $\leq 2$ , 3+4 und  $\geq 5$  Infektionen) erfolgte nur ein Vergleich der Nachweishäufigkeit innerhalb der Gruppe. Bei der Auswertung der Mehrfachinfektionen wurden nur die Signifikanzen innerhalb der gebildeten Gruppen errechnet.

Die Berechnung der Korrelation erfolgte durch die Bestimmung des Spearman-Rho Faktors.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Gruppenverteilung

Von den insgesamt 308 untersuchten BAL waren 20 Proben inhibiert. Diese Tiere wurden nicht in die Auswertung mit aufgenommen. Von den 288 verbleibenden Tieren waren 197 Tiere klinisch auffällig und 91 Tiere mit einem „Pneumoniescore“ von <2 klinisch unauffällig. Bei 205 Schweinen wurde in der bakteriologischen Untersuchung eine Anreicherung durchgeführt. Insgesamt 128 Tiere wurden pathologisch-anatomisch untersucht. Eine Auswertung nach Gewicht war bei 257 Tieren möglich.

#### 4.1.1 Klinische Befunde

Die klinischen Befunde wurden nach einem Scoreplan ausgewertet (siehe 3.3.1). Die Häufigkeiten der vom Normalbefund abweichenden klinischen Befunde ist in Tab. 5 dargestellt.

Tab. 5: Klinische Befunde in Bezug auf Anzeichen einer Pneumonie der untersuchten Tiere (n= 288, Häufigkeitsverteilung in %)

Häufigkeit <sup>1</sup> (%)	Auskultation (Verschärfung)	Husten	Giemen	Reiben
o.b.B.	9,7%			
geringgradig	45,8%			
mittelgradig	23,6%			
hochgradig	20,9%			
ja		25%	13,5%	7,3%
nein		75%	86,5%	92,7%

<sup>1</sup>= Häufigkeit in Prozent der Tiere die diesen Befund zeigten

Insgesamt 28 Tiere (9,7%) waren auskultatorisch o.b.B, während 132 (45,8%) eine geringgradige, 68 (23,6%) eine mittelgradige und 60 (20,9%) eine hochgradige Verschärfung aufwiesen. 72 Tiere (25%) husteten während der Untersuchung. Bei 39 (13,5%) konnte ein Giemen und bei 21 (7,3%) Schweinen ein Reibegeräusch festgestellt werden.

#### 4.1.2 Körpertemperatur

Die ermittelte Körpertemperatur wurde in die Berechnung des „Pneumoniescores“ miteinbezogen (siehe 3.3.1). Die Häufigkeitsverteilung nach Temperaturintervallen wird in Tab. 6 dargestellt. Von insgesamt 288 Tieren wiesen 188 (65,3%) eine Körperinnentemperatur von weniger als 39,8° C auf. Bei 30 Tiere (10,4%) lag die Körpertemperatur über 40,1 ° C.

Tab. 6: Häufigkeitsverteilung nach Temperaturintervallen

Intervall	Anzahl	%
< 39,8 ° C	188	65,3
≥ 39,8°C < 40,2°C	70	24,3
≥ 40,2 ° C	30	10,4

#### 4.1.3 Gewicht

Für insgesamt 256 Tiere konnte eine Auswertung nach Körpergewicht durchgeführt werden. Das Maximum lag bei 66,7 kg und das Minimum bei 3,2 kg. Die Häufigkeitsverteilung nach Gewichtsintervallen ist in Tab. 7 dargestellt.

Tab. 7: Häufigkeitsverteilung in Gewichtsintervallen

Intervall	Anzahl	%
3 – 7,5 kg	54	21,1
7,6 – 25 kg	125	48,8
> 25 kg	77	30,1

#### 4.1.4 Pathologisch-anatomische Befunde

In die Auswertung der pathologisch-anatomischen Befunde wurden insgesamt 128 Tiere aufgenommen. Dabei wurde der makroskopische und histologische Nachweis einer katarrhalisch-eitrigen Bronchopneumonie, interstitiellen Pneumonie und die Feststellung einer Pleuritis berücksichtigt. Die Häufigkeitsverteilung der pathologischen Befunde ist in Tab. 8 dargestellt. 89 Schweine (69,5%) wiesen eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie und 47 (36,7%) eine interstitielle Pneumonie auf. Bei 29 Tieren (22,8%) konnte keine Pneumonie festgestellt werden. 38

Schweine (29,7%) wiesen Anzeichen einer Pleuritis auf. Auffallend war die hohe Anzahl von Tieren, bei denen sowohl eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie als auch eine interstitielle Pneumonie festgestellt wurden.

Tab. 8: Häufigkeitsverteilung der pathologisch-anatomischen Befunde

katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie	52	40,6%		
interstitielle Pneumonie	10	7,8%		
katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie und interstitielle Pneumonie	37	28,9%		
keine Pneumonie	29	22,7%		
Pleuritis			38	29,7%
Gesamtanzahl	128	100%		

### 4.2 Nachgewiesene Keimspektren

Insgesamt konnten 25 verschiedene Erreger mittels bakteriologischer und molekularbiologischer Untersuchungen in der BAL von Schweinen diagnostiziert werden. Bis auf 2 Ausnahmen waren alle isolierten Bakterien, Mykoplasmen und Viren in der Gruppe der klinisch auffälligen öfter zu isolieren als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere (Tab. 9; Tab. 10). Nur diverse Kokken und *E. coli* wurden bei klinisch unauffälligen Tieren häufiger in der BAL nachgewiesen als in der Gruppe der klinisch auffälligen. Obligat pathogene Keime wie *M. hyopneumoniae* und die Influenzaviren waren in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere häufiger festzustellen als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere, in der sie aber ebenfalls nachweisbar waren. *A. pleuropneumoniae* konnte in BALF nur bei zwei Tieren, die Anzeichen einer Pneumonie zeigten, festgestellt werden.

Alle fakultativ pathogenen Keime konnten in der Gruppe der auffälligen Tiere häufiger festgestellt werden als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere. Auffallend sind die häufigen Nachweise von *M. hyorhinis* (60,1%), *H. parasuis* (51,7%), PCV-2 (78,1%) und  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken (80,2%) in der Gesamtpopulation, was für eine weite Verbreitung dieser Erreger spricht. Innerhalb der Gruppe der Bakterien, die ebenfalls aus der BAL der untersuchten Tiere nachgewiesen wurden, waren Micrococcaceae (23,3%) und *E. coli* (31,3%) diejenigen die am häufigsten isoliert werden konnten.

Tab. 9: Keimspektrum in Anzahl der bakteriellen Isolate nach klinischem Status und Anzahl von Isolaten in allen untersuchten Tieren

Nachgewiesenes Bakterium	Klinisch auffällig n = 197	Klinisch unauffällig n = 91	Gesamtanzahl n = 288
α-hämolysierende Streptokokken	167 = 84,8%	64 = 70,3%	231 = 80,2%
β- hämolysierende Streptokokken	14 = 7,1%	3 = 3,3%	17 = 5,9%
<i>P. multocida</i>	32 = 16,4%	12 = 13,2%	44 = 15,3%
<i>B. bronchiseptica</i>	35 = 17,8%	12 = 13,2%	47 = 16,3%
<i>H. parasuis</i>	110 = 55,8%	39 = 42,9%	149 = 51,7%
<i>A. pleuropneumoniae</i>	2 = 1%	0 = 0%	2 = 0,7%
<i>P. aerogenes</i>	9 = 4,6%	3 = 3,3%	12 = 4,2%
<i>K. pneumoniae</i>	7 = 3,6%	1 = 1,1%	8 = 2,8%
<i>K. oxytoca</i>	1 = 0,5%	0 = 0%	1 = 0,3%
<i>M. morganii</i>	1 = 0,5%	0 = 0%	1 = 0,3%
Staphylokokken spezie	22 = 11,2%	8 = 8,8%	30 = 10,4%
Enterobacteriaceae	16 = 8,1%	6 = 6,6%	22 = 7,6%
Diverse Kokken	21 = 10,7%	14 = 15,4%	35 = 12,2%
Micrococcaceae	49 = 24,9%	18 = 19,8%	67 = 23,3%
<i>E. coli</i>	59 = 29,9%	31 = 34,1%	90 = 31,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	4 = 2%	3 = 3,3%	7 = 2,4%
<i>A. equuli</i>	1 = 0,5%	0 = 0%	1 = 0,3%
Arcanobacteriaceae	6 = 3%	4 = 4,4%	10 = 3,5%

Die zwei verschiedenen PRRSV Typen waren in den beiden Gruppen annähernd gleich häufig nachzuweisen. Bei 8 verschiedenen Bakterienspezies lag die Anzahl von Nachweisen für beide Gruppen zusammen betrachtet unter 10 Isolierungen, was keine statistisch abgesicherte Auswertung möglich machte.

Tab. 10: Keimspektrum der molekularbiologischen Untersuchung in Anzahl der Isolate nach klinischem Status und Anzahl von Nachweisen in allen untersuchten Tieren

Nachgewiesener Erreger	Klinisch auffällig n = 197	Klinisch unauffällig n = 91	Gesamtanzahl n = 288
M. hyopneumoniae	52 = 26,4%	13 = 14,3%	65 = 22,6%
M. hyorhinis	128 = 65%	45 = 49,5%	173 = 60,1%
PRRSV (EU-Typ)	25 = 12,7%	11 = 12,1%	36 = 12,5%
PRRSV (US-Typ)	37 = 18,8%	15 = 16,5%	52 = 18,1%
PCV-2	158 = 80,2%	67 = 73,6%	225 = 78,1%
Influenzavirus Typ A	12 = 6,1%	2 = 2,2%	14 = 4,9%

### 4.3 Erregernachweishäufigkeit nach klinischem Status

Alle bakteriologisch (Abb. 3) und molekularbiologisch (Abb. 4) ausgewerteten Erreger konnten in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere häufiger festgestellt werden als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere.

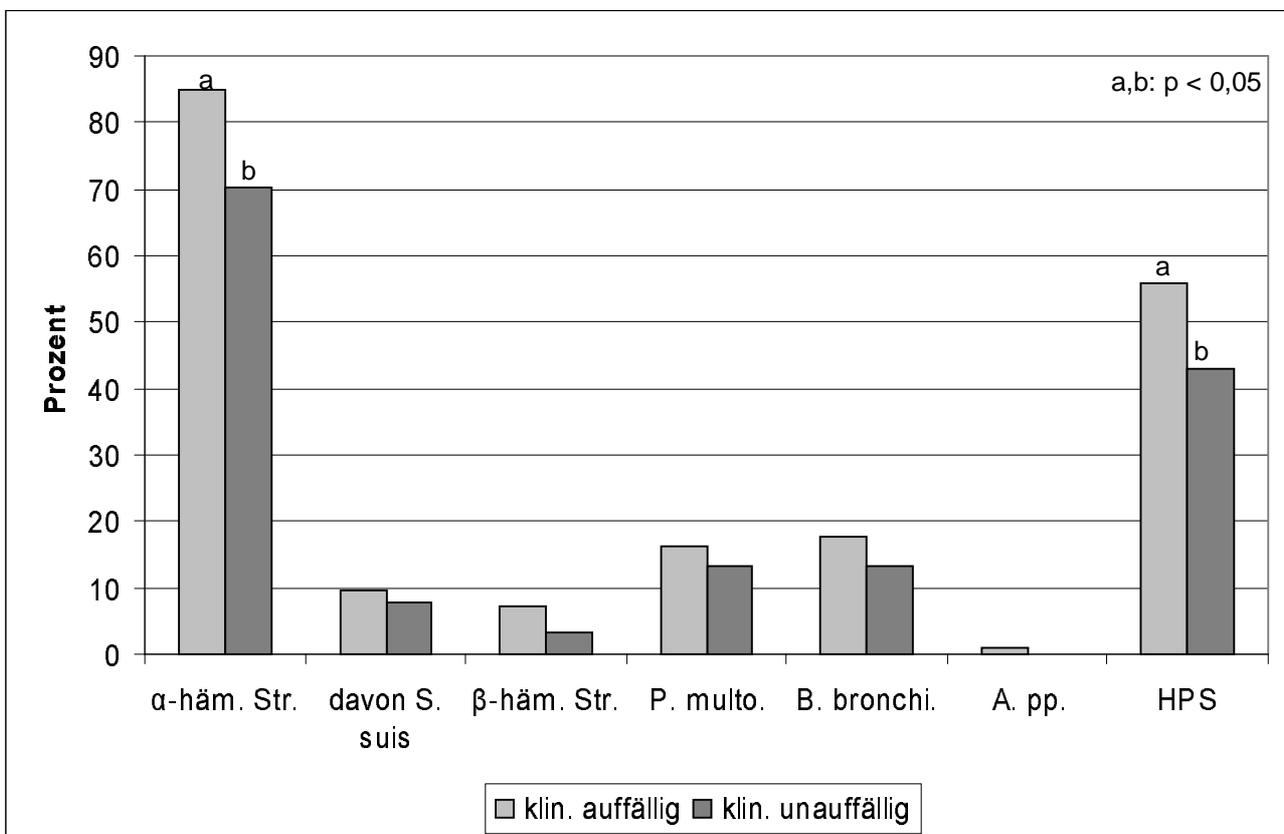


Abb. 3: Erregernachweishäufigkeit (%) der bakteriologischen Untersuchung und signifikante Unterschiede nach klinischem Status

Für *H. parasuis* ( $p=0,0404$ ),  $\alpha$ -hämolyzierende Streptokokken ( $p=0,0042$ ), *M. hyopneumoniae* ( $p=0,0223$ ) und *M. hyorhinis* ( $p=0,0124$ ) waren signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisbar. Für alle anderen obligaten oder fakultativen Pneumonieerreger sind keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

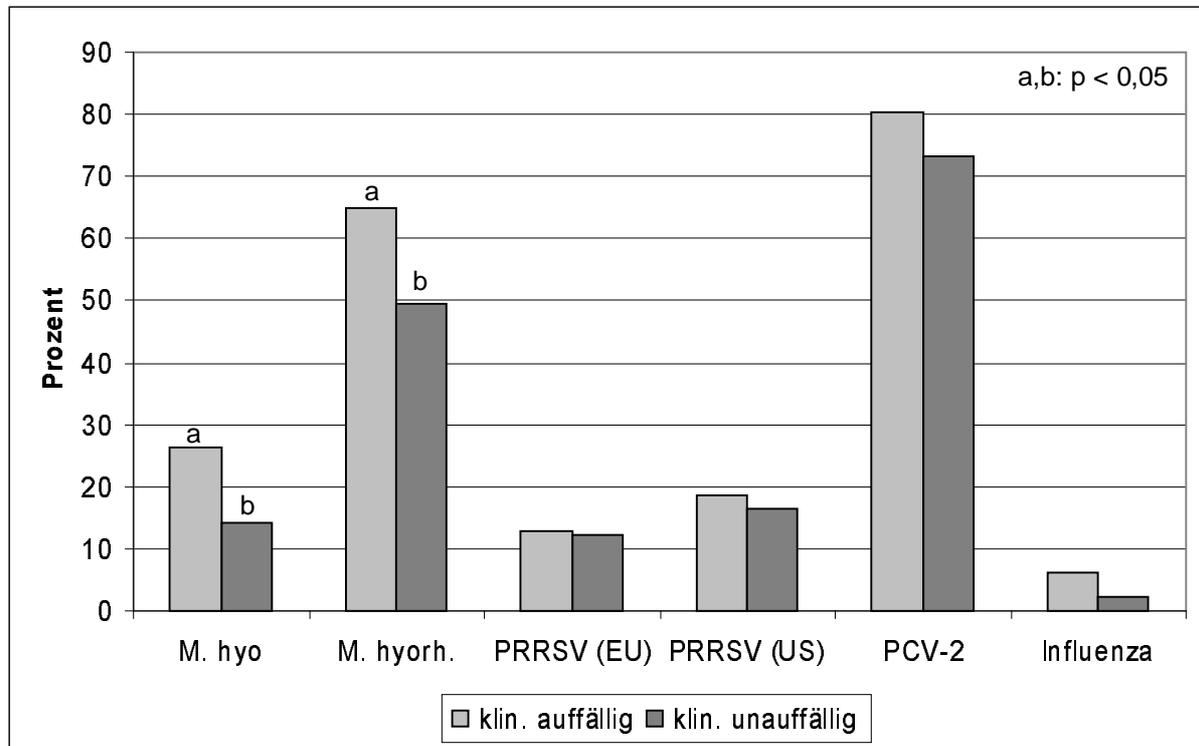


Abb. 4: Erregernachweishäufigkeit (%) der molekularbiologischen Untersuchung und signifikante Unterschiede nach klinischem Status

#### 4.4 Erregernachweishäufigkeit nach Gewicht

Innerhalb der Bakterien ließen sich *P. multocida* und *B. bronchiseptica* in der Gruppe der Tiere  $\geq 25$  kg häufiger nachweisen als in den Gruppen der leichteren Schweine. *H. parasuis* und  $\alpha$ -hämolyzierende Streptokokken konnten hingegen bei Tieren mit einem Gewicht von  $\geq 25$  kg seltener isoliert werden als in den beiden anderen Gewichtgruppen (Abb. 5). Bei *B. bronchiseptica* und *H. parasuis* waren signifikante Unterschiede in der Nachweishäufigkeit feststellbar. *B. bronchiseptica* wurde in der Gruppe der Tiere mit einem Gewicht von  $\leq 25$  kg signifikant häufiger nachgewiesen als in der Gruppe der Tiere mit einem KGW  $\leq 7,5$  kg ( $p=0,0243$ ). *H. parasuis* hingegen konnte in der Gruppe mit einem KGW  $\leq 7,5$  kg signifikant öfter isoliert werden als in der Gruppe mit einem KGW  $\geq 25$  kg ( $p=0,0234$ ). Für alle anderen Erreger waren keine signifikanten Unterschiede feststellbar. *M. hyopneumoniae* war

jedoch tendenziell häufiger bei Tieren mit einem KGW > 25 kg nachweisbar (p=0,07) als in der Gruppe der Tiere mit einem Gewicht < 7,5 kg (Abb. 6).

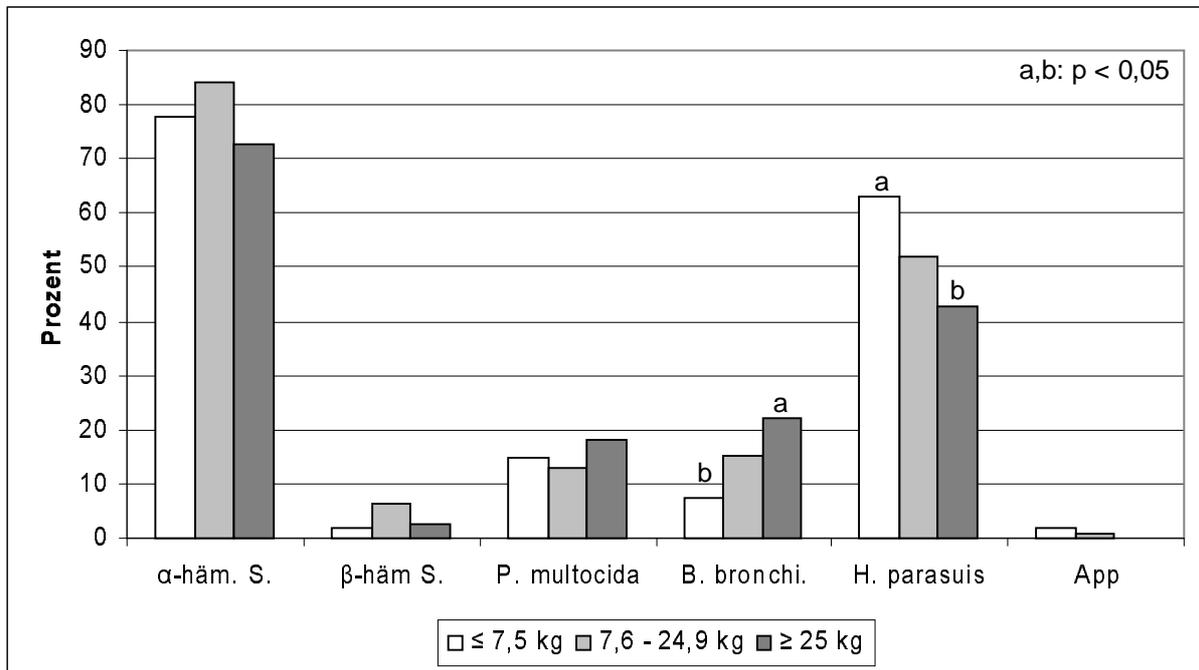


Abb. 5: Erregernachweishäufigkeit (%) der bakteriologischen Untersuchung und signifikante Unterschiede nach Gewicht in kg KGW

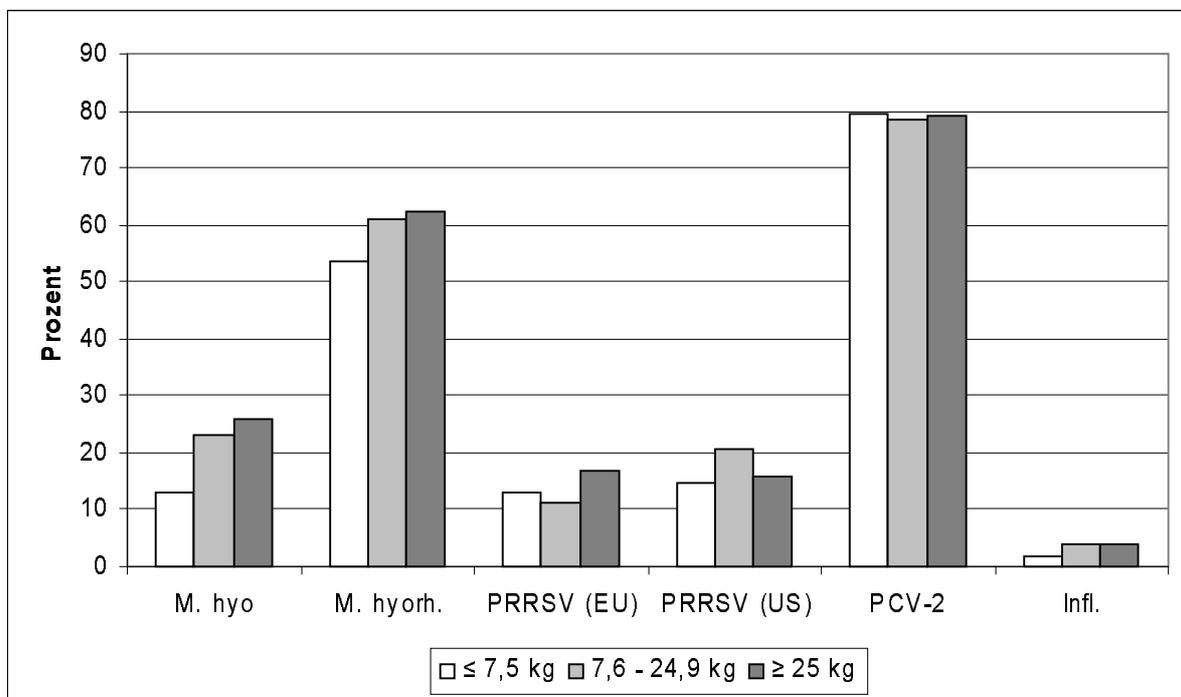


Abb. 6: Erregernachweishäufigkeit (%) der molekularbiologischen Untersuchung und signifikante Unterschiede nach Gewicht in kg KGW

Neben dem hohen Prozentsatz positiver Proben bei  $\alpha$ -hämolysierenden Streptokokken und PCV-2 waren diese Erreger innerhalb der einzelnen Gewichtgruppen annähernd gleich verteilt.

### 4.5 Erregerassoziationen

Eine Berechnung für die Assoziationen von *A. pleuropneumoniae* mit anderen Erregern war aufgrund der geringen Anzahl von positiven Nachweisen statistisch nicht möglich. Für alle anderen ausgewerteten Erreger sind die errechneten Signifikanzen im Folgenden aufgeführt.

#### 4.5.1 Klinisch unauffällige Tiere

Insgesamt konnten in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere 7 positive Erregerassoziationen (Tab. 11) festgestellt werden. Bei folgenden Erregerpaaren lag die statistische Assoziation bei  $p \leq 0,005$ :  $\alpha$ -hämolysierende Streptokokken und  $\beta$ -hämolysierende Streptokokken jeweils zu *H. parasuis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, und PRRSV (US- Typ), sowie *M. hyopneumoniae* zu Influenzavirus.

Tab. 11: Signifikanzen der einzelnen Erregerassoziationen

Erregerassoziationen	Signifikanz (p)
$\alpha$ -hämolysierende Streptokokken zu <i>H. parasuis</i>	< 0,001
$\beta$ -hämolysierende Streptokokken zu <i>H. parasuis</i>	0,002
<i>P. multocida</i> zu <i>B. bronchiseptica</i>	< 0,001
<i>B. bronchiseptica</i> zu PRRSV (US- Typ)	0,002
<i>M. hyopneumoniae</i> zu <i>M. hyorhinis</i>	0,032
<i>M. hyopneumoniae</i> zu PCV-2	0,02
<i>M. hyopneumoniae</i> zu Influenzavirus	< 0,001

Die meisten signifikanten Assoziationen konnten für *M. hyopneumoniae* ermittelt werden, die mit *M. hyorhinis*, PCV-2 und Influenzavirus signifikant assoziiert waren. Zusätzlich waren jeweils  $\alpha$ - und  $\beta$ -hämolysierenden Streptokokkenstämme mit *H. parasuis* assoziiert. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass in klinisch

unauffälligen Tieren Streptokokken und *H. parasuis* signifikant häufiger zusammen als getrennt voneinander vorkommen. *M. hyopneumoniae* und *M. hyorhinis* ( $p=0,032$ ), *M. hyopneumoniae* und PCV-2 ( $p=0,02$ ) sowie *M. hyopneumoniae* und Influenzavirus ( $p<0,001$ ) waren in klinisch unauffälligen Tieren ebenfalls signifikant assoziiert. Doppelinfektionen von *B. bronchiseptica* und *P. multocida* ( $p<0,001$ ), von *B. bronchiseptica* und PRRSV (US- Typ) ( $p=0,002$ ) oder der gleichzeitige negative Befund für diese beiden Erreger wurde signifikant häufiger festgestellt, als Einzelinfektionen mit den beiden Erregern.

### 4.5.2 Klinisch auffällige Tiere

In der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere waren insgesamt 16 Erregerpaare signifikant assoziiert (Tab. 12). Neben  $\alpha$ -hämolyzierenden Streptokokken, die mit 4 weiteren Erregern eine signifikante Assoziation aufwiesen, waren *P. multocida* und *B. bronchiseptica* mit jeweils 4 bzw. 5 weiteren Erregern signifikant assoziiert. Bei 7 Erregerpaaren konnte eine Signifikanz von  $p\leq 0,005$  ermittelt werden. *M. hyopneumoniae* und Bakterien wie *P. multocida* ( $p=0,002$ ), *B. bronchiseptica* ( $p<0,001$ ), sowie *M. hyopneumoniae* und *M. hyorhinis* ( $p=0,001$ ) und  $\alpha$ -hämolyzierende Streptokokken jeweils mit *P. multocida* ( $p<0,001$ ), *B. bronchiseptica* ( $p=0,001$ ) und *M. hyorhinis* ( $p=0,003$ ) gehörten zu diesen 7 Erregerpaaren. Die signifikanten Assoziationen waren, bis auf *M. hyorhinis* zu PCV-2 und  $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken zu *M. hyorhinis* alle positiv. Diese beiden Erregerpaare waren signifikant negativ assoziiert. Dies bedeutet, dass *M. hyorhinis* und PCV-2 bzw.  $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken, signifikant häufiger getrennt voneinander in einem Tier nachgewiesen werden konnten, als zusammen.

Tab. 12: Signifikanzen der einzelnen Erregerassoziationen

Erregerassoziationen	Signifikanz (p)
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken zu <i>M. hyorhinis</i>	0,003
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken zu PRRSV (EU-Typ)	0,043
$\beta$ -hämolyisierende Streptokokken zu <i>M. hyorhinis</i>	0,006*
$\beta$ -hämolyisierende Streptokokken zu PRRSV (US-Typ)	0,014
<i>P. multocida</i> zu <i>M. hyopneumoniae</i>	0,002
<i>P. multocida</i> zu PRRSV (EU- Typ)	0,005
<i>P. multocida</i> zu PRRSV (US- Typ)	0,023
<i>P. multocida</i> zu $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	< 0,001
<i>B. bronchiseptica</i> zu <i>M. hyopneumoniae</i>	< 0,001
<i>B. bronchiseptica</i> zu PRRSV (EU- Typ)	0,035
<i>B. bronchiseptica</i> zu PRRSV (US- Typ)	0,042
<i>B. bronchiseptica</i> zu $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken	0,029
<i>B. bronchiseptica</i> zu $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	0,001
<i>M. hyopneumoniae</i> zu <i>M. hyorhinis</i>	0,001
<i>M. hyopneumoniae</i> zu PRRSV (EU-Typ)	0,033
<i>M. hyorhinis</i> zu PCV-2	0,034*

- = negativ assoziiert

Die errechneten Assoziationen belegen, dass Doppelinfektionen von *M. hyopneumoniae* ( $p=0,002$ ) oder  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ( $p<0,001$ ) mit *P. multocida* signifikant häufiger vorkamen als Einzelinfektionen. Der gleichzeitige Nachweis von *B. bronchiseptica* und *M. hyopneumoniae* ( $p<0,001$ ) oder  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ( $p=0,001$ ) war ebenfalls signifikant wahrscheinlicher als ein getrenntes Auftreten dieser Erreger. Auffallend war beim Vergleich der Erregerassoziationen für  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken und *M. hyopneumoniae*, dass diese mit *M. hyorhinis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica* und PRRSV (EU-Typ) positiv assoziiert in der BAL nachgewiesen werden konnten (Tab. 13).

Tab. 13: Erregerassoziationen für  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken und *M. hyopneumoniae* sowie Signifikanzen

<b><math>\alpha</math>-hämolyisierende Streptokokken</b>	p	<b><i>M. hyopneumoniae</i></b>	p
M. hyorhinis	0,003	M. hyorhinis	0,001
P. multocida	< 0,001	P. multocida	0,002
B. bronchiseptica	0,001	B. bronchiseptica	< 0,001
PRRSV (EU-Typ)	0,043	PRRSV (EU-Typ)	0,035

*P. multocida* und *B. bronchiseptica* waren, bis auf eine Ausnahme, ebenfalls mit den gleichen Erregern signifikant häufiger zusammen in BALF nachweisbar als getrennt von diesen 4 bzw. 5 Erregern (Tab. 14). Neben PRRSV (EU-Typ), PRRSV (US-Typ) gehörten  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken und *M. hyopneumoniae* zu diesen mit *P. multocida* und *B. bronchiseptica* assoziierten Erregern.

Tab. 14: Erregerassoziationen für *P. multocida* und *B. bronchiseptica* sowie Signifikanzen

<b><i>B. bronchiseptica</i></b>	p	<b><i>P. multocida</i></b>	p
<i>M. hyopneumoniae</i>	< 0,001	<i>M. hyopneumoniae</i>	0,002
PRRSV (EU- Typ)	0,035	PRRSV (EU- Typ)	0,005
PRRSV (US- Typ)	0,042	PRRSV (US- Typ)	0,023
$\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken	0,001	$\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken	< 0,001
$\beta$ -hämolyisierende Streptokokken	0,029		

## 4.6 Auswertungen der Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern

### 4.6.1 Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach klinischem Score

In der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere war der Anteil von Mehrfachinfektionen mit 5 oder mehr Keimen signifikant höher ( $p=0,001$ ) als der Anteil von Tieren, bei denen 2 oder weniger verschiedene Keime aus dem BALF isoliert werden konnten (Abb. 7). Der Anteil von Tieren mit 2 oder weniger Keimisolierungen war in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere signifikant größer als der Anteil der Tiere bei denen 5 oder mehr verschiedene Erregernachweisbar waren.

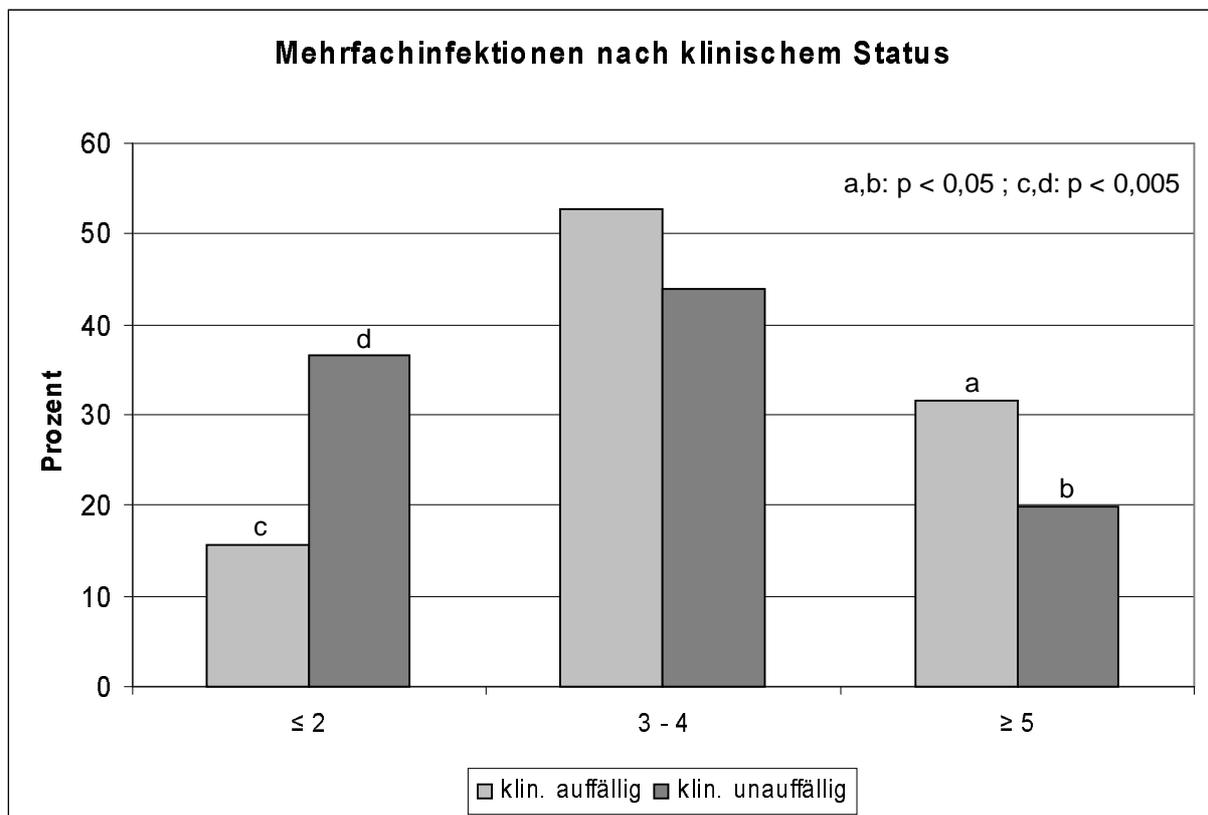


Abb. 7: Prozentsatz von Mehrfachinfektionen nach dem klinischen Status

Unterteilt man die klinisch auffälligen nochmals in eine Gruppe mit einem „Pneumoniescore“ von 2 oder 3 und Tiere mit einem Score von  $\geq 4$ , kann festgestellt werden, dass Mehrfachinfektionen mit 5 oder mehr Keimen in der Gruppe der klinisch auffälligen Schweine mit einem „Pneumoniescore“ von 2 oder 3, bzw.  $\geq 4$  signifikant häufiger waren als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere mit einem „Pneumoniescore“ von 0 oder 1 ( $p=0,0002$ ).

Der Zusammenhang zwischen „Pneumoniescore“ und Anzahl von nachgewiesenen Pneumonieerregern in BAL war positiv. Kein signifikanter Unterschied ließ sich zwischen Tieren mit einem „Pneumoniescore“ von 2-3 und Tieren mit einem Score mehr als 4 ermitteln.

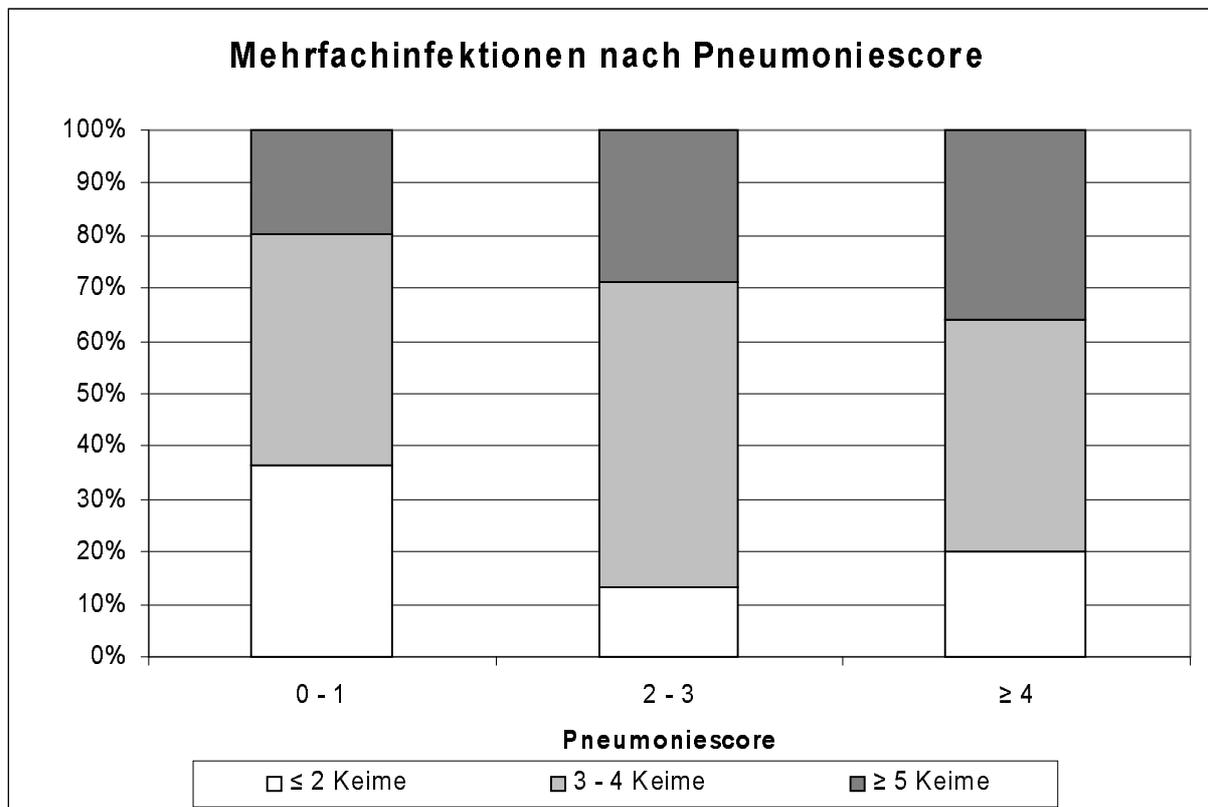


Abb. 8: Prozentsatz von Mehrfachinfektionen nach „Pneumoniescore“

### 4.6.2 Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach pathologisch-anatomischen Veränderungen

Eine Auswertung des durchschnittlichen „Pathologiescores“ nach Anzahl der nachgewiesenen Erreger ergibt, dass mit ansteigender Anzahl von positiven Erregernachweisen der makroskopische oder histologische Nachweis von Pleuritis, interstitieller und katarrhalisch-eitriger Bronchopneumonie zunahm. Dabei stieg der „Pathologiescore“ von 0,4 bei Tieren mit maximal einer Infektion auf einen durchschnittlichen Score von 1,7 und mehr in der Gruppe von Tieren mit 5 oder mehr verschiedenen pathogenen Erregern (Abb.9).

Der Zusammenhang zwischen durchschnittlichem „Pathologiescore“ und Anzahl von Infektionen war positiv und signifikant (Spearman-Rho Faktor: 0,254;  $p < 0,001$ ).

Je mehr verschiedene Keime aus der BAL eines Tieres isoliert werden konnten, umso stärkere pathologisch-anatomisch feststellbare Veränderungen wies ein solches Tier auf.

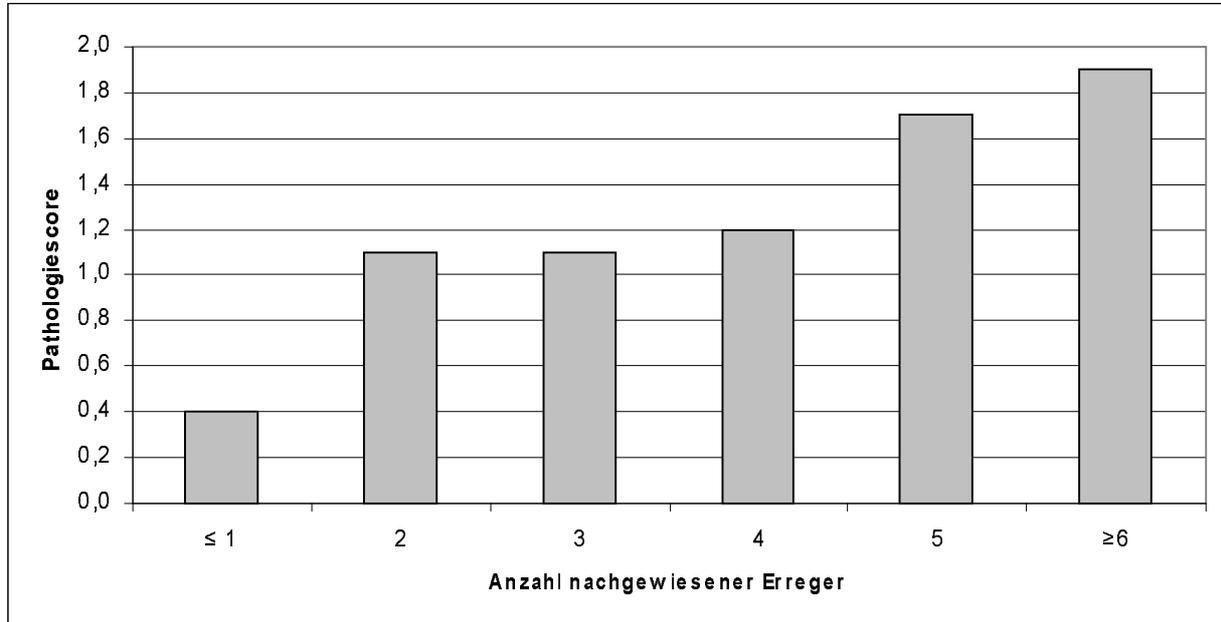


Abb. 9: Durchschnittlicher „Pathologiescore“ nach Anzahl nachgewiesener Erreger

#### 4.6.3 Mehrfachinfektionen mit Pneumonieerregern nach Gewichtsklassen

Die Verteilung der Anzahl der nachgewiesenen Erreger nach Gewichtsklassen zeigt, dass Mehrfachinfektionen bei älteren Tieren häufiger vorkamen als bei jüngeren Tieren (Abb. 10). Insbesondere Infektionen mit 5 oder mehr Pathogenen wurden bei den leichteren Tieren mit einem Gewicht von  $\leq 7,5$  kg (18,5%) weniger oft nachgewiesen als bei den Schweinen mit einem Gewicht von  $\geq 25$  kg (32,5%).

Tab. 15: Häufigkeitsverteilung in Prozent von Mehrfachinfektionen nach Gewichtsklassen

KGW	$\leq 2$ Erreger	3 – 4 Erreger	$\geq 5$ Erreger	Anzahl
$\leq 7,5$ kg	22,2%	59,3%	18,5%	100% (n=54)
7,6 – 25 kg	20,8%	53,6%	25,6%	100% (n=125)
> 25 kg	27,3%	40,3%	32,5%	100% (n=77)

In der Gruppe der Schweine mit einem Gewicht von 7,6 bis 25 kg KGW ließen sich Infektionen mit 5 oder mehr verschiedenen Keimen genauso häufig nachweisen wie

Mono- oder Doppelinfektionen. In der Gruppe der Tiere mit einem Gewicht von mehr als 25 kg waren sowohl Infektionen mit bis zu 2 Keimen (27,3%) als auch Infektionen mit 5 oder mehr Keimen (32,5%) häufiger als in den beiden anderen Gruppen. Die prozentuale Häufigkeit von Tieren, bei den 3 oder 4 verschiedene Erreger aus BAL nachgewiesen werden konnten, nahm hingegen mit zunehmendem Gewicht ab.

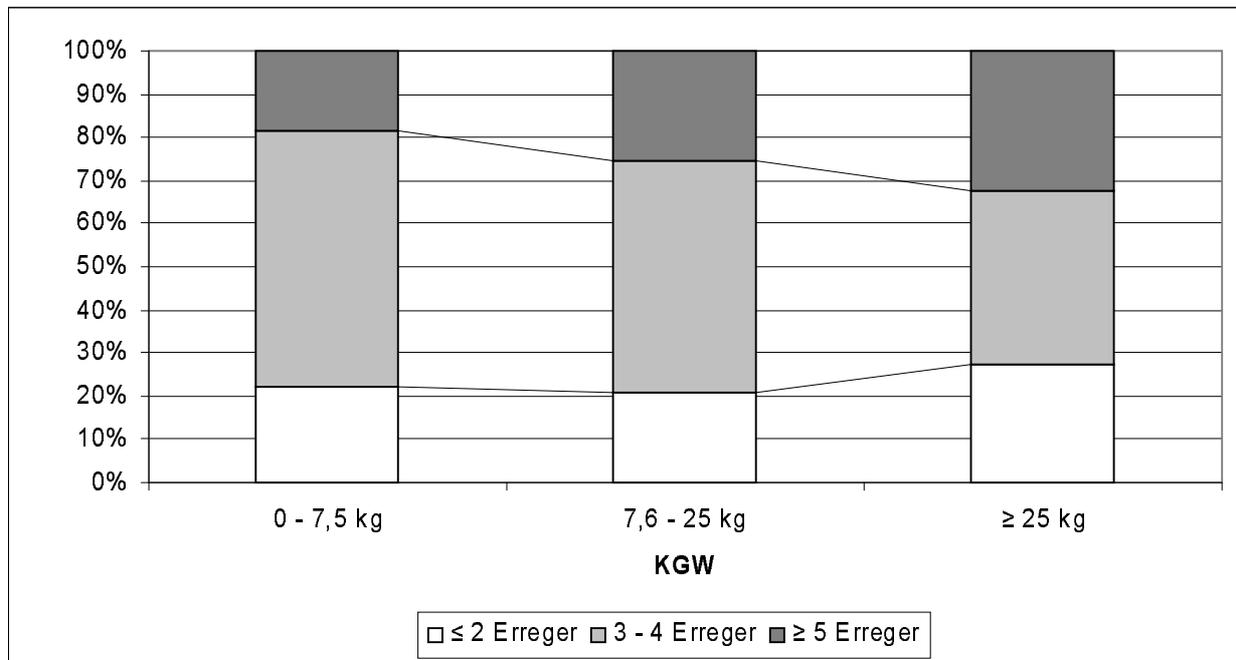


Abb. 10: Mehrfachinfektionen nach einzelnen Gewichtsklassen

#### 4.7 Korrelationen von Erregern und klinischem „Pneumoniescore“

Von den ausgewerteten Pneumonieerregern waren vier signifikant und positiv mit dem ermittelten klinischen „Pneumoniescore“ korreliert. *M. hyopneumoniae* ( $p=0,009$ ), *M. hyorhinitis* ( $p=0,004$ ), Influenzaviren ( $p=0,036$ ) und  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken ( $p<0,001$ ) konnten mit ansteigendem Schweregrad der klinischen Erscheinungen häufiger und in einer größeren semiquantitativ ermittelten Menge in Bezug auf Streptokokken, in der BAL von Schweinen nachgewiesen werden.

Tab. 16: Korrelation von Erregern mit dem „Pneumoniescore“

Erreger	p	Spearman-Rho Faktor
<i>M. hyopneumoniae</i>	0,009	0,153
<i>M. hyorhinitis</i>	0,004	0,170
Influenzaviren	0,036	0,124
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	< 0,001	0,208

#### 4.8 Korrelation von Erregern und „Pathologiescore“

Fünf der ausgewerteten Pneumonieerreger waren signifikant positiv mit dem „Pathologiescore“ korreliert. Neben  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ( $p=0,007$ ), *B. bronchiseptica* ( $p=0,048$ ) und *M. hyopneumoniae* ( $p=0,001$ ) korrelierten PRRSV (US-Typ) ( $p=0,003$ ) sowie PCV2 ( $p=0,004$ ) positiv mit dem ermittelten „Pathologiescore“. Diese Erreger konnten in der BAL bei Tieren mit vermehrten pathologisch-anatomischen Veränderungen mit ansteigender Häufigkeit isoliert werden.

Tab. 17: Korrelation von Erregern mit dem „Pathologiescore“

Erreger	p	Spearman-Rho Faktor
<i>M. hyopneumoniae</i>	0,001	0,285
<i>B. bronchiseptica</i>	0,048	0,175
PRRSV (US-Typ)	0,003	0,257
PCV-2	0,004	0,256
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	0,007	0,237

#### 4.9 Keimspektrum nach Anreicherung in der bakteriologischen Untersuchung

Die bakteriologische Anreicherung von BAL ergab in Bezug auf 11 verschiedene Bakterien eine zusätzliche Isolierung von, im direkten Ausstrich nicht feststellbaren, bakteriellen Isolat. In Tab. 18 sind die zusätzlichen Nachweise nach Anreicherung dargestellt. Dabei kann festgestellt werden, dass vor allem Keime wie  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken, Staphylokokken spezieis, Micrococcacea und *E. coli* durch die Anreicherung zusätzlich nachgewiesen wurden. In Bezug auf *B. bronchiseptica*, *P. multocida*, *H. parasuis* und *A. pleuropneumoniae* gelang nur in einem Fall ein zusätzlicher Nachweis von *P. multocida*, der im direkten Austrich nicht feststellbar war. Dies bedeutet, dass mittels Anreicherung mit Ausnahme von  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken in der Regel nur eine zusätzliche Isolierung von Keimen gelang, die weder zu den obligat pathogenen, noch zu den fakultativ pathogenen Erregern gerechnet werden können.

Tab. 18: Positive bakteriologische Nachweise nach Anreicherung

Nachgewiesenes Bakterium	Anzahl der Isolate von n = 205
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	65 = 31,7%
$\beta$ -hämolyisierende Streptokokken	9 = 4,4%
<i>P. multocida</i>	1 = 0,5%
<i>B. bronchiseptica</i>	0 = 0%
<i>H. parasuis</i>	0 = 0%
<i>A. pleuropneumoniae</i>	0 = 0%
<i>P. aerogenes</i>	4 = 2%
<i>K. pneumoniae</i>	5 = 2,4%
<i>K. oxytoca</i>	0 = 0%
Corynebakterien	0 = 0%
<i>M. morganii</i>	0 = 0%
Staphylokokken spezie	16 = 7,8%
Enterobacteriaceae	6 = 2,9%
Diverse Kokken	3 = 1,5%
Micrococcaceae	33 = 16,1%
<i>E. coli</i>	47 = 22,9%
<i>Proteus mirabilis</i>	4 = 2%
<i>A. equuli</i>	0 = 0%
Arcanobacteriaceae	0 = 0%

## 5 Diskussion

Ziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen war die Beurteilung der Möglichkeiten von Interpretationen bakteriologischer und molekularbiologischer Untersuchungen der bronchoalveolären Lavage bei Schweinen. Dabei sollten zum einen Unterschiede zwischen klinisch an Pneumonie erkrankten und klinisch unauffälligen Tieren in Bezug auf das festgestellte Keimspektrum und zum anderen die gegenseitige Beeinflussung der verschiedenen Erreger ermittelt werden. Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit war die Betrachtung von Mehrfachinfektionen bei Schweinen mit Atemwegserkrankungen und deren Bedeutung bei der Entstehung von Bronchopneumonien.

Anhand der klinischen Untersuchung erfolgte die Einteilung der Tiere in zwei Gruppen. Die mittels bronchoalveolärer Lavage gewonnene Spülflüssigkeit wurde einer bakteriologischen und molekularbiologischen Untersuchung auf verschiedene Erreger unterzogen. Ein Teil der Tiere wurde pathologisch-anatomisch auf Anzeichen einer Pneumonie und Pleuritis untersucht. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte anhand des klinischen Bildes. Die Betrachtung der Mehrfachinfektionen wurde getrennt nach klinischem und pathologischem Bild, und ferner nach Gewichtsklassen durchgeführt.

### 5.1 Gesundheitsstatus der untersuchten Tiere und bronchoalveoläre Lavage

Die Untersuchung erfolgte an insgesamt 288 Schweinen. Von diesen waren 197 klinisch mit Pneumoniesymptomatik auffällig und 91 klinisch unauffällig. Es handelte sich dabei um Saugferkel, Absatzferkel, Läufer und Mastschweine. Der Grad der Erkrankung variierte zwischen einer geringgradigen bis hochgradigen respiratorischen Symptomatik. Es wurden Tiere in die Studie aufgenommen, die entweder zur Diagnosestellung in die Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität eingeliefert wurden oder um Tiere, die in den Herkunftsbetrieben aus diagnostischen Gründen beprobt wurden.

Bei einem Teil der Tiere war der Vorbehandlungsstatus unbekannt. Eine mittelgradig bis hochgradig verschärfte Atmung war bei 44,5% der Tiere festzustellen. Von 128

Tieren, die pathologisch-anatomisch untersucht wurden, wiesen 77,3% der Tiere eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie oder eine interstitielle Pneumonie auf.

STEINHAUSEN (1999) wies nach, dass ein Großteil der zur Pneumoniediagnostik in die Klinik für Schweine eingelieferten Tiere entweder chronisch erkrankt oder vergeblich vorbehandelt sind.

Diese Ergebnisse bestätigen Angaben von GANTER et al. (1993), dass vielfach aus wirtschaftlichen Gründen nur chronisch erkrankte Tiere vom Landwirt ausgewählt werden.

Hier liegt einer der wesentlichen Vorteile der auf dem Betrieb durchzuführenden bronchoalveolären Lavage, die es ermöglicht, akut und charakteristisch erkrankte Tiere, die noch nicht vorbehandelt sind, zu beproben (FALßHOFF, 1996). Dies ermöglicht eine aussagekräftige ätiologische Pneumoniediagnostik.

## **5.2 Ergebnisse der bakteriologischen und molekularbiologischen Untersuchung**

### **5.2.1 Vergleich der Nachweishäufigkeiten nach klinischem Status**

Die Untersuchung der Proben der bronchoalveolären Lavage mittels kultureller und molekularbiologischer Verfahren ergab Keimspektren, die mit verschiedenen Untersuchungen von KIPPER (1990), GANTER et al. (1993), HARTWIG (1994), DELBECK et al. (1997) und RUNGE et al. (1996) übereinstimmen. Unterschiede zeigen sich aber in Bezug auf die verschiedenen Häufigkeiten mit der die einzelnen Erreger nachgewiesen werden. Bei den meisten der in der BAL kulturell nachgewiesenen Bakterien handelt es sich um  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken, die bei 84,8% der erkrankten Tiere vorkommen. Bei klinisch gesunden Tieren gehören  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken ebenfalls zu den am häufigsten isolierten Erregern. Die hohen Nachweisquoten sowohl bei gesunden als auch erkrankten Tieren deuten darauf hin, dass  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken häufig in der Lunge vorkommenden. HENSEL et al. (1994) und KIPPER (1990) isolierten aus BALF „lungengesunder“ Schweine vor allem Streptokokken. Zwischen klinisch auffälligen und unauffälligen Tieren ist in der vorliegenden Arbeit jedoch ein signifikanter Unterschied in der Nachweisquote festzustellen. Dies ist entweder auf eine pathogene Bedeutung der  $\alpha$ -hämolisierenden Streptokokken oder auf die

Überwucherung von Streptokokkenkolonien durch andere bakterielle Erreger auf den Nähragarplatten zurückzuführen. Da für jeden Betrieb nur eine Streptokokkenkultur weiterdifferenziert wurde ist es möglich, dass es sich bei einem Teil der  $\alpha$ -hämolyzierende Streptokokken um *S. suis* handelt.

Der am zweithäufigsten aus BALF sowohl bei klinisch auffälligen, wie auch bei unauffälligen Tieren isolierte Keim ist *H. parasuis*. Dieser kann bei 55,8% der auffälligen und 42,9% der klinisch unauffälligen Tiere nachgewiesen werden. Die Bedeutung als Verursacher einer katarrhalisch-eitrigen Bronchopneumonie wird von KIELSTEIN u. LEIRER (1990) und RAPP-GABRIELSON (1999) beschrieben. Die signifikant häufigere Isolierung von *H. parasuis* bei klinisch auffälligen Tieren bestätigt diese Vermutung. Allerdings weisen die hohen Nachweisquoten bei klinisch unauffälligen Tieren darauf hin, dass auch dieser Erreger nicht zu den obligat pathogenen Erregern der Lunge zählt. Weitere Autoren weisen ebenfalls, wenn auch in sehr viel geringerer Häufigkeit, *H. parasuis* aus BALF gesunder Schweine nach (HENSEL et al., 1994; KIPPER, 1990). *A. pleuropneumoniae* wird nur in 2 Fällen aus BALF klinisch auffälliger Tiere nachgewiesen. Diese niedrige Isolierungsrate stimmt mit Untersuchungen von DELBECK (1997), FLAßHOFF (1996) und RUNGE et al. (1996) überein. Vermutlich ist die niedrige Nachweisrate methodisch bedingt. Einerseits könnte die Lokalisierung der Erreger in so genannten Kavernen dafür verantwortlich sein, da die für die Lungenspülung benutzte Kochsalzlösung nicht in Kontakt mit dem Erreger kommen kann. Eine weitere Möglichkeit ist die Überwucherung von *A. pleuropneumoniae* beim kulturellen Nachweisverfahren durch andere in der Lavage vorhandene Erreger.

Sowohl *P. multocida* als auch *B. bronchiseptica* können bei klinisch auffälligen Tieren öfter nachgewiesen werden als bei klinisch unauffälligen Tieren. Diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Die Häufigkeit der Erregerisolierung liegt dabei weit unter den von FLAßHOFF (1996) und GANTER et al. (1993) beschriebenen Nachweishäufigkeiten. Die von FLAßHOFF (1996) und GANTER et al. (1993) festgestellten sehr hohen Nachweisquoten sind vermutlich auf die niedrige Anzahl der untersuchten Tiere sowie das streng vorselektierte Tiermaterial zurückzuführen.

Unter den mittels Multiplex-PCR nachgewiesenen Mykoplasmen und Viren ist PCV-2 das am häufigsten isolierte Pathogen. Die sehr hohen Prozentzahlen positiver Tiere von 80,2% bei klinisch auffälligen und 73,6% bei klinisch gesunden Tieren weist auf die weite Verbreitung dieses Erregers in der Gesamtpopulation hin. Es ist kein

signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu erkennen, jedoch ist PCV-2 in der BAL klinisch auffälliger Tiere öfter feststellbar.

Die Interpretation der PRRSV- Nachweise ist aufgrund des ungeklärten Impfstatus der verschiedenen Betriebe nur mit Einschränkungen möglich. Eine eventuelle Impfung mit Lebendvakzinen kann zu positiven Virusnachweisen in der BAL führen. Ein Impfvirus kann weiterhin noch nach Monaten im Bestand nachgewiesen werden (MENGELING et al., 1996), auch wenn die beprobten Tiere selbst nicht mehr geimpft sind. Eine Auswertung der vorliegenden Daten ergibt nur geringe Unterschiede in der Nachweishäufigkeit zwischen klinisch auffälligen und klinisch gesunden Tieren.

Die beiden ausgewerteten Mykoplasmenspezies können in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere signifikant häufiger festgestellt werden. Ein kultureller Nachweis von Mykoplasmen ist aufgrund der Kontamination oft nicht möglich (DELBECK et al., 1997), wobei *M. hyorhinis*, die ebenfalls ubiquitär vorkommen (GOIS et al., 1969; SCHULMANN et al., 1970) deutlich häufiger isoliert werden können als *M. hyopneumoniae* (DELBECK et al., 1997). Die durch molekularbiologische Methoden untersuchten BALF Proben sind in der vorliegenden Arbeit häufiger *M. hyorhinis* (60,1%) als *M. hyopneumoniae* (22,6%) positiv. Die Untersuchung von BALF durch eine PCR auf *M. hyopneumoniae* erbrachte signifikant mehr Nachweise als die kulturelle Untersuchung (BAUMEISTER et al., 1998). Dass beide Mykoplasmenspezies bei klinisch auffälligen Tieren signifikant häufiger isoliert werden können, ist ein Hinweis auf die Beteiligung an der Entstehung von Pneumonien bzw. Bronchopneumonien. Diese Beteiligung ist für *M. hyopneumoniae* bewiesen, die eine Ziliennekrose bewirken und so die Besiedlung des Respirationstraktes durch Bakterien begünstigen und daher zu den obligat pathogenen Erregern zu zählen sind (ZIELINSKI u. ROSS, 1993; ROSS, 1999). Die pathogene Bedeutung von *M. hyorhinis* ist hingegen noch nicht eindeutig geklärt. *M. hyorhinis* ist als Auslöser einer Pneumonie beschrieben (JOHANNSEN et al., 1991; KINNE et al., 1991), und die vorliegenden Daten weisen ebenfalls auf die Beteiligung an einem klinisch sichtbaren Pneumoniegeschehen hin. *M. hyorhinis* kann jedoch nur im Zusammenspiel mit weiteren Erregern zu einer Bronchopneumonie führen und zählt daher zu den fakultativ pathogenen Erregern.

Influenzaviren können nur relativ selten festgestellt werden. Da Influenzaviren in der Regel ein deutliches klinisches Bild erzeugen, werden oft keine weiteren diagnostischen Maßnahmen getroffen. Erst wenn Sekundärerreger das klinische Bild

verkomplizieren und Therapiemaßnahmen keinen Erfolg versprechen, wird eine weitere Diagnostik durchgeführt. Die ursprünglich beteiligten Influenzaviren sind in diesem Krankheitsstadium oft nicht mehr feststellbar.

Die nachgewiesenen *E. coli*, Micrococcaceae und anderen Begleitkeime sind keine auf natürlichem Weg in die Lunge gelangten Keime, sondern wie die Ergebnisse von STEINHAUSEN (1999) beweisen, Bakterien die im Verlauf der Lungenspülung durch Verunreinigungen in die BAL eingebracht werden.

### 5.2.2 Vergleich der Nachweishäufigkeiten nach Gewichtgruppen

Die Nachweishäufigkeiten für einzelne Erreger unterscheiden sich zum Teil erheblich zwischen den einzelnen Gewichtgruppen. Der Prozentsatz positiver Tiere nimmt mit ansteigendem Gewicht für vier verschiedene Erreger zu. *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *B. bronchiseptica* und *P. multocida* können in der Gruppe von Tieren mit einem Körpergewicht von mehr als 25 kg häufiger diagnostiziert werden als in den anderen Gewichtgruppen.

*M. hyopneumoniae* war in allen Gruppen nachweisbar. Proben von 13% der Tiere mit einem Gewicht von bis zu 7,5 kg waren in der vorliegenden Arbeit positiv. Die Übertragung von *M. hyopneumoniae* von Sauen auf Saugferkel ist beschrieben (STEVENSON, 1998). Im Gegensatz zu PABST (2004) wurden auch bei jüngeren Tieren *M. hyopneumoniae* spezifische Genomabschnitte nachgewiesen. *P. multocida* konnte wie *B. bronchiseptica* bei schwereren Tieren am häufigsten kulturell aus BALF isoliert werden. Dies bestätigt die Annahme, dass diese Erreger in Vormast- und Mastgruppen gehäuft vorkommen und subakute Infektionen verursachen (PIJOAN, 1999; STEVENSON, 1998).

Die Nachweishäufigkeit von PRRSV und PCV-2 war in allen Gewichtsklassen annähernd gleich groß. Im Fall von PCV-2 spricht dies für eine weite Verbreitung dieses Erregers in der Gesamtpopulation. Die hohen Nachweisquoten von PRRSV in der Gruppe der Tiere mit einem Gewicht von bis zu 7,5 kg, die häufig noch nicht geimpft werden, lassen den Schluss zu, dass entweder ein Impfvirus oder ein Feldvirus in der Herde zirkuliert und sich auch schon junge Tiere mit diesem Erreger infizieren.

*H. parasuis* konnte mit zunehmendem Alter der Tiere immer seltener aus BAL nachgewiesen werden. Bei Erkrankungen durch *H. parasuis* ist eine

Altersabhängigkeit beschrieben (LAHRMANN u. PLONAIT, 1997). Danach treten Erkrankungen durch *H. parasuis* meist eine Woche nach Umstallung auf. In der vorliegenden Auswertung konnten diese Ergebnisse nicht eindeutig bestätigt werden.

### **5.3 Erregerassoziationen und Korrelation verschiedener Erreger mit den klinischen und pathologischen Ergebnissen**

Erkrankungen der Atemwege sind nur selten Folge einer Monoinfektion, sondern meist sind eine Vielzahl verschiedener bakterieller und viraler Erreger und Umweltfaktoren für die Entstehung von Pneumonien verantwortlich (GROSSE BEILAGE, 1999). Die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Erreger bei der Entstehung und dem Schweregrad von Pneumonien oder Bronchopneumonien ist für verschiedene Erregerkombinationen eingehend untersucht. Dabei spielen die Assoziationen von obligat pathogenen Erregern wie *M. hyopneumoniae* und Influenzaviren zu den fakultativ pathogenen Erregern eine wichtige Rolle. Verschiedene Autoren beweisen, dass Doppelinfektionen mit Pneumonieerregern den Schweregrad und auch die Entstehung von Pneumonien beeinflussen (AMASS et al., 1994; DROLET et al., 2003; OPRIESSNIG et al., 2004; THACKER et al., 1998; THACKER et al., 2001).

Können Erreger signifikant assoziiert aus BAL erkrankter Tiere nachgewiesen werden, kann von einer gegenseitigen Beeinflussung dieser Keime ausgegangen werden.

#### **5.3.1 Erregerassoziationen**

Klinisch unauffällige Tiere

In der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere waren 7 verschiedene Erregerassoziationen nachweisbar. Auffallend ist, dass die in dieser Tiergruppe ermittelten Assoziationen in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere nicht festzustellen waren. Für einige dieser Erregerassoziationen wurde die gegenseitige Beeinflussung nachgewiesen. Für *M. hyopneumoniae* und PCV-2, die in der vorliegenden Arbeit mit einer Signifikanz von  $p=0,02$  positiv assoziiert sind, ist eine gegenseitige Potenzierung von OPRIESSNIG et al. (2004) und THACKER (2004b) beschrieben. Die Assoziation von *M. hyopneumoniae* und Influenzaviren in der

vorliegenden Arbeit ( $p < 0,001$ ) ist ebenfalls nachgewiesen (THACKER et al., 2001; YAZAWA et al., 2004). *P. multocida* und *B. bronchiseptica* sind signifikant und positiv assoziiert ( $p < 0,001$ ). Diese gegenseitige Beeinflussung wird 2001 von BROCKMEIER et al. beschrieben. Dabei scheinen sich diese beiden fakultativ pathogenen Erreger gegenseitig bei der Besiedlung der Lunge zu beeinflussen.

BROCKMEIER et al. (2001) weisen ebenfalls nach, dass eine Infektion mit PRRSV die Besiedlung der Lunge mit *P. multocida* begünstigt. Die Interpretation der anhand der vorliegenden Daten nachgewiesenen Assoziation von *B. bronchiseptica* und PRRSV (US- Typ) ( $p = 0,002$ ) ist aufgrund des unbekanntes Impfstatus nur unter Vorbehalt möglich. Die festgestellte Assoziation könnte aber als Hinweis auf eine Interaktion dieser Erreger gedeutet werden, wobei PRRSV die Besiedlung mit *B. bronchiseptica* durch Auslösung einer interstitiellen Pneumonie begünstigt.

Eine positive Assoziation von *H. parasuis* mit  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ( $p < 0,001$ ) und  $\beta$ -hämolyisierenden Streptokokken ist bisher nicht beschrieben. Da beide Erreger aber zur physiologischen Flora der Atemwege zählen, ist eine sinnvolle Interpretation kultureller Befunde, wie in der vorliegenden Arbeit, nur anhand des semiquantitativen Nachweises möglich.

### Klinisch auffällige Tiere

Innerhalb der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere konnten insgesamt 16 verschiedene Erregerassoziationen ermittelt werden. Die Erregerassoziationen von *M. hyopneumoniae* und  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken stimmten in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere überein. Beide waren jeweils mit *M. hyorhinis*, PRRSV (EU-Typ), *P. multocida* und *B. bronchiseptica* signifikant positiv assoziiert. Einige dieser Erregerkombination und deren Auswirkung auf das klinische Bild wurden experimentell bestätigt. Die Interaktionen von *M. hyopneumoniae* mit *P. multocida* (AMASS et al., 1994; CIPRIAN et al., 1988) und PRRSV (THACKER et al., 1999; THANAWONGNUWECH et al., 2004) ist beschrieben. Da *M. hyopneumoniae* eine Ziliolenkrose verursacht (ZIELINSKI u. ROSS, 1993), ist die verstärkte Besiedlung der Lunge durch Bakterien wie *P. multocida*, *B. bronchiseptica* und *M. hyorhinis* erklärbar.

Die pathogene Bedeutung von Streptokokken ist hingegen noch nicht eindeutig geklärt (GANTER u. AMTSBERG, 1996). Die Beteiligung von *S. suis* an der Entstehung von Bronchopneumonien wird von verschiedenen Autoren vermutet

(HIGGENS u. GOTTSCHALK, 1999; RACHEL et al., 1994; RASMUSSEN et al., 1999). In der vorliegenden Arbeit scheinen  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken einen ähnlichen Effekt wie *M. hyopneumoniae* zu haben und ebenfalls die Besiedlung der Lunge mit weiteren bakteriellen Erregern zu begünstigen. Eine Vermehrung von  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken kann die Lungenoberfläche anscheinend so beeinflussen, dass diese für eine Besiedlung mit weiteren fakultativ pathogenen Keimen wie zum Beispiel *P. multocida*, *B. bronchiseptica* oder *M. hyorhinis* empfänglicher ist. Eine weitere Möglichkeit ist, dass sich  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken nach einer Infektion mit den aufgeführten Erregern verstärkt in der Lunge vermehren. Da jedoch nicht alle isolierten Streptokokken weiterdifferenziert wurden kann keine abschließende Bewertung durchgeführt werden.

*M. hyorhinis* zählt zu den ubiquitären Besiedlern der Nasenhöhle beim Schwein (GOIS et al., 1969; SCHULMANN et al., 1970). Die vorliegenden Daten weisen aber darauf hin, dass unter bestimmten Umständen im Zusammenspiel mit weiteren Atemwegserregern *M. hyorhinis* bei der Entstehung von Bronchopneumonien beteiligt sein kann. Dies bestätigt die Arbeiten von KINNE et al. (1991), der eine durch *M. hyorhinis* bedingte katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie experimentell nachweist.

Für *P. multocida* und *B. bronchiseptica* konnten ebenfalls bis auf eine Ausnahme die gleichen Erregerassoziationen ermittelt werden. Beide waren mit *M. hyopneumoniae*, PRRSV (EU-Typ), PRRSV (US-Typ) und  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken signifikant positiv assoziiert. Aufgrund des unbekanntem Impfstatus ist eine Interpretation der Assoziation mit PRRSV nur unter Vorbehalt möglich. Es ist jedoch möglich, dass auch die Infektion mit einem Impfvirus die Besiedlung der Lunge mit verschiedenen Bakterien durch das Auslösen einer interstitiellen Pneumonie begünstigt. Ob dieser Effekt sich dann auf das klinische Bild auswirkt, kann anhand der vorliegenden Daten nicht geklärt werden. VAN GUCHT et al. (2003) zeigen auf, dass die zusätzliche Belastung von PRRSV infizierten Tieren mit Lipopolysacchariden die klinischen Anzeichen einer Pneumonie verstärkt.

### 5.3.2 Erregerkorrelationen

Für vier Erreger konnte eine Korrelation mit dem klinischen Schweregrad der Pneumonie, ausgedrückt durch den „Pneumoniescore“, ermittelt werden. Diese

Erreger können also mit ansteigendem „Pneumoniescore“ häufiger im BALF nachgewiesen werden. Neben *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* und Influenzaviren gehören auch  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken zu diesen Erregern. Eine Korrelation mit der Ausprägung des pathologisch-anatomischen Bildes, ausgedrückt im „Pathologiescore“, kann für *M. hyopneumoniae*, *B. bronchiseptica*, PRRSV (US-Typ), PCV-2 und  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken ermittelt werden.

Von *M. hyopneumoniae* und Influenzaviren ist die Bedeutung für das klinische Bild bekannt (AMASS et al., 1994; MÜLLER et al., 1981; THACKER et al., 2001). Dass *M. hyopneumoniae* sowohl mit dem klinischen als auch mit dem pathologisch-anatomischen Bild korreliert, unterstreicht die Bedeutung dieses Erregers für die Entstehung einer Pneumonie. Influenzaviren korrelieren hingegen nur mit dem klinischen Bild, was sich dadurch erklären lässt, dass Influenzaviren deutliche klinische Symptome verursachen (OTTIS et al., 1981), in der Regel aber komplikationslos abheilen, wenn keine Besiedlung mit Sekundärerregern stattfindet.

Die Korrelation von  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ( $p < 0,001$ ) und *M. hyorhinis* ( $p = 0,004$ ) mit dem Schweregrad der klinischen Erscheinungen ist ein weiterer Hinweis für die klinische Bedeutung dieser Erreger. Die pathogene Bedeutung von  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken ist in der Korrelation mit dem „Pathologiescore“ erkennbar.

Die Korrelation von PCV-2 mit dem „Pathologiescore“ ( $p = 0,004$ ) ist ein Hinweis auf die Beteiligung von PCV-2 bei der pathologisch-anatomischen Manifestation einer Pneumonie. Dass der Nachweis von PRRSV (US-Typ) ebenfalls mit der Anzahl von pathologischen Veränderungen korreliert, kann einerseits darauf zurückzuführen sein, dass in solchen Beständen vermehrt vakziniert wird oder andererseits, dass Tiere die einen erhöhten „Pneumoniescore“ aufweisen, empfänglicher für das in der Herde zirkulierende Impfvirus sind.

### **5.4 Mehrfachinfektionen und deren Bedeutung für die Faktorenkrankheit Pneumonie**

Bronchopneumonien gehören neben anderen Erkrankungen, wie zum Beispiel Dysenterie zu den so genannten Faktorenerkrankungen (BOLLWAHN, 1989). Bei der Entstehung spielen neben Faktoren wie Stallklima (ANDREASEN et al., 2000), Fütterungsfehlern (BOLLWAHN, 1989), Managementfehlern wie kontinuierliche

Belegung von Stallabteilen (SCHEIDT et al., 1995) und fehlerhafte Arzneimittelanwendungen (BOLLWAHN, 1989), Mehrfachinfektionen mit verschiedenen Pneumonieerregern eine besondere Rolle. GROSSE BEILAGE (1999) weist nach, dass aus Probenmaterial erkrankter Schweine meist mehrere verschiedene Keime isoliert werden können.

In der vorliegenden Arbeit kann diese Aussage bestätigt werden. In die Auswertung der Mehrfachinfektionen wurden *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, PRRSV, PCV-2, Influenzaviren,  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken,  $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *A. pleuropneumoniae* und *H. parasuis* aufgenommen.

Betrachtet man die Anzahl der verschiedenen Keimnachweise getrennt nach dem klinischen Status, kann aufgezeigt werden, dass klinisch unauffällige Tiere einen signifikant höheren Anteil von Infektionen mit 2 oder weniger Keimen aufweisen als klinisch auffällige Tiere. Infektionen mit 5 oder mehr Keimen kommen hingegen in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere signifikant häufiger vor. Unterteilt man die Gruppe der klinisch auffälligen Tiere nach dem ermittelten „Pneumoniescore“, kann dargestellt werden, dass Mehrfachinfektionen mit 5 oder mehr Keimen in der Gruppe der Schweine mit einem „Pneumoniescore“ von 2-3 und  $\geq 4$  signifikant häufiger sind als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere mit einem Score von 0 oder 1 ( $p=0,002$ ).

Es lässt sich hingegen kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen von an einer Pneumonie oder Bronchopneumonie erkrankten Tieren darstellen (siehe 4.6.1 Abb. 8) Dies deutet darauf hin, dass der Schweregrad der Pneumonie keinen weiteren Einfluss auf die Anzahl verschiedener Erregernachweise in der BAL hat, sondern nur der klinische Status von Bedeutung ist. Dies ist ein weiterer Beweis für die Theorie, dass die Besiedlung mit 1 oder 2 verschiedenen, obligat oder fakultativ pathogenen Keimen nicht zu einem deutlich sichtbaren klinischen Bild führt, sondern vielmehr das Zusammenspiel mehrerer verschiedener Erreger eine Bronchopneumonie auslöst.

Eine weitere Auswertung der Mehrfachinfektionen erfolgte nach der durchschnittlichen Anzahl pathologisch-anatomisch feststellbarer Veränderungen in Form von katarrhalisch-eitriger Bronchopneumonie, interstitieller Pneumonie und Pleuritis. Dabei konnte festgestellt werden, dass mit steigender Anzahl von verschiedenen Erregern die aus dem BALF isoliert wurden, die Zahl der pathologisch

sichtbaren Veränderungen zunahm. Diese Korrelation war signifikant und monoton ( $p < 0,001$ ). Dieses Ergebnis deutet ebenfalls auf die Beeinflussung des Schweregrades von Bronchopneumonien durch Mehrfachinfektionen hin. Ein solcher Zusammenhang wird für die pathologisch-anatomische Diagnose einer Pleuritis von CHRISTENSEN et al. (1999) beschrieben. Die Ergebnisse bestätigen wiederum die Annahme, dass jedes der betrachteten Pathogene, für sich gesehen, keine gravierenden Auswirkungen hat, sondern erst das Zusammenspiel verschiedener Erreger feststellbare Veränderungen hervorruft.

Erfolgt die Auswertung der Mehrfachinfektionen nach Gewichtsklassen, so ist feststellbar, dass Infektionen mit 5 oder mehr verschiedenen Erregern, sowie Infektionen mit 2 oder weniger Keimen, mit zunehmendem Gewicht und damit mit zunehmendem Alter, immer häufiger werden. Die Zunahme von Mehrfachinfektionen mit mehreren verschiedenen Keimen könnte damit zusammenhängen, dass die Tiere sich im Laufe ihres Lebens mit immer mehr Keimen infizieren. Dies ist vor allem der Fall, wenn zum Beispiel im Mast- oder Aufzuchtbereich Tiere verschiedener Herkünfte gemischt werden und damit der Infektionsdruck steigt. Eine weitere Möglichkeit ist, dass im Bestand vorhandene Primärerreger die Zilien zerstören und so die Ansiedlung von weiteren Erregern erst ermöglichen. Werden Tiere hingegen in einem geschlossenen System aufgezogen und gemästet, ist damit zu rechnen, dass die Anzahl von Erregernachweisen mit zunehmendem Alter abnimmt. Tiere mit einem Körpergewicht  $\leq 7,5$  kg weisen den niedrigsten Prozentsatz von Infektionen mit  $\geq 5$  verschiedenen Keimen auf. Vermutlich ist dies darauf zurückzuführen, dass leichtere und damit jüngere Tiere in der Regel noch nicht mit Tieren anderer Herkünfte und Altersklassen gemischt werden, und somit die Möglichkeit sich mit verschiedenen Erregern zu infizieren minimiert ist. Weiterhin sind Saugferkel durch maternale Antikörper noch vor einer Infektion mit verschiedenen Erregern geschützt (ZEPERITZ u. MARTENS, 2003).

### **5.5 Schlussfolgerungen für die Diagnostik von Pneumonien**

Bei der Diagnostik von Pneumonien ist, insbesondere beim Nachweis von fakultativ pathogenen Keimen oder von Sekundärerregern, eine sinnvolle Interpretation des Untersuchungsergebnisses nur im Zusammenhang mit dem klinischen Bild möglich. Um eine aussagekräftige Diagnostik auf Bestandsebene durchzuführen, müssen

immer mehrere möglichst unbehandelte Tiere beprobt werden und die Untersuchung der gewonnenen Proben alle obligat und fakultativ pathogenen Erreger umfassen. Dies ist notwendig, da Bronchopneumonien von einer Vielzahl verschiedener Erreger ausgelöst werden, und Ansätze zur Therapie und Prophylaxe dieses Zusammenspiel der Pathogene berücksichtigen sollten.

Da bestimmte Erreger in verschiedenen Gewichtsklassen mit einer unterschiedlichen Häufigkeit nachgewiesen werden konnten, sollte die Beprobung je nach Fragestellung unterschiedliche Gewichts- und damit Altersklassen umfassen. So wurden *M. hyopneumoniae*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* bei schwereren Tieren häufiger diagnostiziert, während die Wahrscheinlichkeit für die Isolierung von *H. parasuis* bei jüngerem Tieren höher war. Auffällig war der seltene Nachweis von *A. pleuropneumoniae* bei den in der Arbeit beprobten Tieren. In der Schweinepopulation ist dieses Bakterium hingegen weit verbreitet (TAYLOR, 1999). Dies deutet darauf hin, dass die BAL für den Nachweis von *A. pleuropneumoniae* nicht das Mittel der Wahl ist, sondern die bakteriologische Untersuchung von Lungenproben, Lungenbiopsien oder der serologische Nachweis der Infektion bessere Möglichkeiten der Diagnostik darstellen.

Influenzaviren konnten zwar mittels der in der Arbeit verwendeten Multiplex-PCR gut in BALF festgestellt werden, beim klinischen Verdacht einer reinen Influenzavirusinfektion stellt jedoch die Beprobung von Schweinen mittels Nasentupfer (VAN REETH et al., 2001) eine geringere Belastung für die Tiere dar. Da es sich bei Influenzaviren um obligat pathogene Erreger handelt, ist der Ort der Isolierung ohne Bedeutung für die Aussagekraft der Diagnostik.

Werden in BALF fakultativ pathogene Keime wie *H. parasuis* oder  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken isoliert, muss die Interpretation die Quantität des Nachweises der festgestellten Pathogene berücksichtigen. Weiterhin ist zu beachten, dass es sich bei nachgewiesenen PRRS Viren um Impfstämme handeln kann.

Wurde die BAL neben dem normalen Ausstrich auf Blutagarplatten zusätzlich eine Anreicherung der Spülflüssigkeit durchgeführt, konnten in der Regel weitere Bakterien nachgewiesen werden. Unterteilt man die isolierten Bakterien in obligat pathogene, fakultativ pathogene, mögliche Sekundärerreger und andere Keime kann festgestellt werden, dass nur in einem Fall von 205 Anreicherungen ein fakultativ pathogener Keim zusätzlich zum Blutagarausstrich isoliert werden konnte. Nur für die vermutlich pathogenen  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken gelangen zusätzliche

Nachweise, die in ihrer semiquantitativen Höhe jedoch zu vernachlässigen sind. Meist werden jedoch nur Keime isoliert, die bedingt durch Kontaminationen während des Spülvorgangs in geringen Mengen in die Spülflüssigkeit gelangen. Diese geringen Mengen können im Routineausstrich nicht isoliert werden, sind in der Anreicherung jedoch nachweisbar. Meist werden durch die Anreicherung  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken (31,7%), *E.coli* (22,9%) und Micrococcaceae (16,1%) isoliert.

Erfolgt ein Kosten-Nutzen-Vergleich ist eine kulturelle Anreicherung bei der Untersuchung von BALF nicht sinnvoll und daher klinisch sowie diagnostisch zu vernachlässigen.

## 6 Zusammenfassung

### Keimspektrum und Erregerassoziationen bei gesunden und an Pneumonie erkrankten Schweinen

Ziel dieser Arbeit war die Auswertung der gegenseitigen Beeinflussung verschiedener Erreger bei der Entstehung von Pneumonien und Bronchopneumonien des Schweines. Dabei wurde BALF von 91 klinisch unauffälligen und 197 klinisch mit Atemwegsproblemen auffälligen Tieren molekularbiologisch und kulturell untersucht. Bei 128 Schweinen wurde anschließend eine pathologisch-anatomische Untersuchung durchgeführt. Bei der Auswertung wurden *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, PRRSV (US-Typ), PRRSV (EU-Typ), PCV-2, Influenzavirus Typ A,  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken,  $\beta$ -hämolisierende Streptokokken, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis* und *A. pleuropneumoniae* berücksichtigt. Die pathologisch-anatomische Untersuchung wurde im Hinblick auf das Vorliegen einer interstitiellen Pneumonie, katarrhalisch-eitrigen Bronchopneumonie und Pleuritis ausgewertet. Alle untersuchten Pathogene waren in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere häufiger zu isolieren als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere, wobei dieser Unterschied bei  $\alpha$ -hämolisierenden Streptokokken, *H. parasuis*, *M. hyopneumoniae* und *M. hyorhinis* signifikant war. PCV-2 und  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken waren die am häufigsten aus BALF zu isolierende Pathogene. *A. pleuropneumoniae* konnte nur in 2 Fällen kulturell aus der BAL isoliert werden. Erfolgte ein Vergleich der Nachweishäufigkeiten nach Gewichtsklassen, waren *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* häufiger bei schwereren und damit älteren Tieren, *H. parasuis* hingegen häufiger bei Tieren mit einem Körpergewicht  $\leq 7,5$  kg nachweisbar. Erregerassoziationen konnten in der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere häufiger festgestellt werden als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere. Auffallend war, dass sowohl  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken als auch *M. hyopneumoniae* mit *M. hyorhinis*, PRRSV (EU-Typ), *P. multocida* und *B. bronchiseptica* assoziiert waren. *P. multocida* und *B. bronchiseptica* waren beide jeweils mit *M. hyopneumoniae*,  $\alpha$ -hämolisierenden Streptokokken, PRRSV (EU-Typ) und PRRSV (US-Typ) signifikant assoziiert.

Weiterhin erfolgte die Berechnung der Korrelation des ermittelten Scores der klinischen Untersuchung und des Scores der pathologisch-anatomischen

Untersuchung mit den einzelnen Erregern. Dabei stellte sich heraus, dass die Häufigkeit und Höhe des Nachweises von  $\alpha$ -hämolisierenden Streptokokken mit beiden Scores positiv korreliert. Gleiches gilt für den Nachweis von *M. hyopneumoniae*, die ebenfalls mit beiden Merkmalen positiv korreliert. Diese beiden Erreger sind mit ansteigendem Schweregrad der klinischen und pathologisch-anatomischen Veränderungen häufiger und semiquantitativ mehr aus BALF zu isolieren. Die Bedeutung von Mehrfachinfektionen mit verschiedenen Erregern für das Krankheitsbild der Pneumonie oder Bronchopneumonie wurde untersucht. In der Gruppe der klinisch auffälligen Tiere lag der Anteil von Mehrfachinfektionen mit fünf oder mehr Erregern signifikant höher als in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere. Der Anteil von Tieren, bei denen nur zwei oder weniger Pathogene aus dem BALF nachgewiesen wurden, war in der Gruppe der klinisch unauffälligen Tiere signifikant höher als in der Gruppe der klinisch auffälligen Schweine. Je höher der klinische Score war umso höher war der Anteil von Tieren bei denen fünf oder mehr verschiedenen Pathogene festgestellt wurden. Für den ermittelten Score der pathologisch-anatomischen Untersuchung konnte ein ähnlicher Zusammenhang ermittelt werden. Je mehr verschiedene Erreger aus dem BALF eines Tieres isoliert wurden umso höher war der durchschnittliche „Pathologiescore“. Die Auswertung nach Gewichtsklassen ergab, dass mit steigendem Gewicht der Anteil von Tieren mit  $\geq 5$  und  $\leq 2$  verschiedenen Erregern zunimmt. Dies könnte in den verschiedenen Haltungssystemen begründet sein, die eine Infektion mit mehreren Keimen wahrscheinlicher macht, zum Beispiel bei kontinuierlicher Belegung mit Tieren aus verschiedenen Herkunft, oder unwahrscheinlicher macht, wie in einem geschlossenen Betrieb.

Für die Diagnostik von Pneumonien bzw. Bronchopneumonien bei Schweinen kann die BAL als geeignet angesehen werden. Dabei sollte aber immer eine kulturelle und molekularbiologische Untersuchung von mehreren Proben durchgeführt werden, um geeignete prophylaktische und therapeutische Maßnahmen einzuleiten. Für die Untersuchung auf *A. pleuropneumoniae* ist eine serologische Untersuchung der kulturellen Untersuchung von BAL vorzuziehen. Weiterhin kann davon ausgegangen werden dass  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken, unter Berücksichtigung des semiquantitativen Nachweises, eine pathogene Bedeutung haben. Die bakteriologische Anreicherung von BALF ist für eine klinisch relevante Aussage zu vernachlässigen.

## 7 Summary

### **Microorganism spectrums and causal agent associations in healthy and pigs with pneumonia**

The objective of this study was to evaluate mutual influence of different pathogens in the development of pneumonia and bronchopneumonia in pigs. Bronchoalveolar lavage fluid of 91 clinically unsuspected and 197 pigs with respiratory problems, were examined. A postmortal examination was done in 128 pigs.

In the analysis, *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, PRRSV (US-Type), PRRSV (EU-Type), PCV-2, Influenzavirus Type A,  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus,  $\beta$ -hämolytic Streptococcus, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis* and *A. pleuropneumoniae*, were taken into consideration. The pathological-anatomical examination was evaluated with the prospect of the existence of an interstitial, catarrhal-purulent bronchopneumonia and pleuritis. All examined pathogens were found more often in the clinically suspected animals than in the group of clinically unsuspected animals. This difference was significant for  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus, *H. parasuis*, *M. hyopneumoniae* and *M. hyorhinis*. PCV-2 and  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus were isolated most frequently in BAL. The pathogen *A. pleuropneumoniae* was isolated culturally in two cases from BALF.

A comparison of detection frequency in different weight groups showed that *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *P. multocida* and *B. bronchiseptica* occurred more often in heavier, older animals. *H. parasuis* occurred most frequently in animals with a body weight of  $\leq 7,5$  kg.

Causal agent associations could be ascertained more frequently in the group of clinically suspected animals than in the group of clinically unsuspected pigs. Remarkably noticeable was that both  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus as well as *M. hyopneumoniae* were associated with *M. hyorhinis*, PRRSV (EU-Type), *P. multocida* and *B. bronchiseptica*. These pathogens seemed to favour infections with the above mentioned four causal agents, or that  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus occurs more when pigs are infection with other pathogens.

*P. multocida* and *B. bronchiseptica* were both associated significantly with *M. hyopneumoniae*,  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus, PRRSV (EU-Type) and PRRSV (US-Type) respectively. Furthermore a correlation of clinical and pathological

examinations scores could be seen for *M. hyopneumoniae* and  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus. These two agents were isolated more frequently and semi quantitatively more often in BALF, with increasing severity of clinical and pathological-anatomical changes.

The importance of multiple infections with different causal agents for the disease picture of pneumonia and bronchopneumonia was analysed. A multiple infection with five or more agents was detected significantly more often in the group of clinically suspected animals than in the group of unsuspected pigs. The number of animals, where two or less than two pathogens were detected in the BALF, was significantly higher in the group of clinically unsuspected pigs than in the group of clinically suspected pigs.

The higher the clinical examination score was, the higher were the number of animals, where 5 or more different pathogens could be detected. A similar connection could be seen in the pathological-anatomical examination score.

The more different agents were isolated in BALF in one animal, the higher was the average pathological-anatomical examination score. The results of the analysis in weight groups, showed that with an increase in weight, the number of animals with  $\geq 5$  and  $\leq 2$  different agents increased.

This could be due to the different husbandry systems which could cause an infection with various pathogens. Infections with different pathogens are more likely in explorations with continuous occupation of animals from different origins. A multiple infection is more unlikely in closed explorations.

BAL can be seen as suitable to diagnose pneumonia or bronchopneumonia in pigs. A cultural and molecular biological evaluation of several samples should be done to enable the initiation of suitable prophylactic and therapeutic measures. A serological examination is given priority, for the detection of *A. pleuropneumoniae*.

Furthermore, taking the semi quantitative evaluation into consideration it is assumed that  $\alpha$ -hämolytic Streptococcus have a pathogen meaning. The clinical relevance of the bacteriological enrichment of BALF is useless.

## 8 Literaturverzeichnis

ACKERMANN M.R., K.B. REGISTER, C. GENTRY-WEEKS, S.M. GWALTNEY, T. MAGYAR (1997): A porcine model for the evaluation of virulence of *Bordetella bronchiseptica*. *J. Comp. Pathol.* 116, 55–61.

ALBINA, E. (1997): Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. *Vet. Microbiol.* 55, 309–316.

ALLAN, E.M., H.M. PIRIE, J.E. SELMANN (1979): Immunoglobulin containing cells in the bronchopulmonary system of nonpneumonic calves. *Res. Vet. Sci.* 26, 349–355.

ALTROCK, von A. (1998): Untersuchungen zum Vorkommen bakterieller Infektionserreger in pathologisch-anatomisch veränderten Lungen von Schweinen und Zusammenstellung der Resistenzspektren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 111, 164–172.

AMASS, S.F., L.K. CLARK, W.G. VAN ALSTINE, T.L. BOWERSOCK, D.A. MURPHY, K.E. KNOX, S.R. ALBREGTS (1994): Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida* infections in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 102–107.

ANDREASEN, M., P. BAEKBO, J.P. NIELSEN (2000): Lack of the effect of aerial ammonia on atrophic rhinitis and pneumonia induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* and toxigenic *Pasteurella multocida*. *J. Vet. Med. B.* 47, 161–171.

ANGEN, Ø., S. JESSING (2004): PCR tests for serotype specific identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg; Vol. 1, 161.

ARMSTRONG, D., S.C. BISHOP (2004): Analysis of factors affecting PMWS mortality. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg; Vol. 1, 60.

BARTLETT, J.G., J. ALEXANDER, J. MAYHEW, N. SULLIVAN-SIGLER, S.L. GORBACH (1976): Should fiberoptic bronchoscopy aspirates be cultured? *Am. Rev. Resp. Dis.* 114, 73–78.

BATISTA, L. (2005): Porcine reproductive and respiratory syndrome diagnostics in the breeding herd: Back to the basics. *J. Swine Health Prod.* 13, 96–98.

BAUMEISTER, A.K., M. RUNGE, M. GANTER, A.E. FEENSTRA, F. DELBECK, H. KIRCHHOFF (1998): Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in bronchoalveolar lavage fluids of pigs by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 36, 1984–1988.

BENFIELD, D.A., J.E. COLLINS, S.A. DEE, P.G. HALBUR, H.S. JOO, K.M. LAGER, W.L. MENGELING, M.P. MURTAUGH, K.D. ROSSOW, G.W. STEVENSON, J.J. ZIMMERMAN (1999): Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Alaire, D.J. Taylor (Hrsg.): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 201–232.

BLAHA, T. (1993): Zur Prävalenz der respiratorischen Erkrankungen des Schweines in den wichtigsten schweineproduzierenden Ländern. *Prakt. Tierarzt* 74, 64–67.

BOLLWAHN, W. (1989): Infektiöse Faktorenkrankheiten beim Schwein. *Proc. 18. Kongress der DVG*, Bad Nauheim, 59–67.

BRAIN, J.D., N.R. FRANK (1968): Recovery of free cells from rat lungs by repeated washing. *J. Appl. Physiol.* 25, 63–69.

BRASSIN, M., A. DE WAELE, M. COUFFAUX (1976): Intranasal infection with *Bordetella bronchiseptica* in gnotobiotic piglets. *Res. Vet. Sci.* 20, 162–166.

BROCKMEIER, S.L. (2004): Prior infection with *Bordetella bronchiseptica* increases nasal colonisation by *Haemophilus parasuis* in swine. *Vet. Microbiol.* 99, 75–78.

BROCKMEIER, S.L., M.V. PALMER, S.R. BOLIN, R.B. RIMLER (2001): Effects of intranasal inoculation with *Bordetella bronchiseptica*, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, or a combination of both organisms on subsequent infection with *Pasteurella multocida* in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 62, 521–525.

BROCKMEIER, S.L., K.B. REGISTER, T. MAGYAR, A.J. PULLINGER, R.A. KUNKLE (2002): Role of the Dermonecrotic Toxin of *Bordetella bronchiseptica* in the Pathogenesis of Respiratory Disease in Swine. *Infect. Immun.*, 70, 481–490.

BURKHARDT, F.U., K.P. SCHAAL (1992): Gewinnung und Verarbeitung von Untersuchungsmaterial – Bewertung der Befunde. *In: F. Burkhardt (Hrsg.): Mikrobiologische Diagnostik.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

BÜTTNER, M. (2002): Allgemeine Virologie. *In: M. Rolle, A. Mayr (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre 7. Auflage.* Enke Verlag, Stuttgart, 65–143.

CALSAMIGLIA, M. (2004): Studies concerning PMWS rapid diagnostic tools and epidemiology. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress, Hamburg; Vol. 2, 807.*

CALSAMIGLIA, M., A. OLVERA, J. SEGALÉS, M. DOMINGO (2004): Quantification of PCV2 in different routes of excretion: possible transmission routes and correlation with presence of PMWS characteristic lesions. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress, Hamburg; Vol. 1, 11.*

CARRASCO L., J. SEGALÉS, M.J. BAUTISTA, J.C. GÓMEZ-VILLAMANDOS, C. ROSELL, E. RUIZ-VILLAMOR, M.A. SIERRA (2000): Intestinal chlamydial infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Vet. Rec.* 146, 21–23.

CARVALHO, L.F., J. SEGALÉS, C. PIJOAN (1997): Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on subsequent *Pasteurella multocida* challenge in pigs. *Vet. Microbiol.* 55, 241–246.

CHAE, C. (2004): Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. *Vet. Journal* 168, 41–49.

CHARLEY, B., B. FRENOVE (1980): Fo and C<sub>3</sub> receptors of swine alveolar macrophages. *Res. Vet. Sci.* 28, 380–381.

CHARLEY, B., B. FRENOVE, P. VILLIERES (1980): Description et efficacité d'une méthode modifiée de lavage pulmonaire chez le porc anesthésié. *Ann. Rech. Vet.* 11, 209–213.

CHIOU, M.T., C.N. LIN, M.S. CHUANG, H.C. CHIANG, C.P. TSAI (2004): Etiological and epidemiological survey of PRDC associated pathogens in Taiwan. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress, Hamburg; Vol. 1*, 191.

CHRISTENSEN, G., V. SØRENSEN, J. MOUSING (1999): Diseases of the Respiratory system. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Alaire, D.J. Taylor (Hrsg.): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 913–940.

CIPRIÁN, A., C. PIJOAN, T. CRUZ, J. CAMACHO, J. TÓRTORA, G. COLMENARES, R. LÓPEZ-REVILLA, M. DE LA GARZA (1988): *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. *Can. J. Vet. Res.* 52, 434–438.

CLARK, K., C.H. ARMSTRONG, A.B. SCHEIDT, W.G. VAN ALSTINE (1993): The effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection on growth in pigs with or without environmental constraints. *J. Swine Health and Prod.* 1, 10–14.

CLIFTON-HADLEY, F.A. (1983): Streptococcus suis type 2 infections. *Br. Vet. J.* 139, 1–5.

COOPER, V.L., A.R. DOSTER, R.A. HESSE, N.B. HARRIS (1995): Porcine reproductive and respiratory syndrome-NEB-1 PRRSV infection did not potentiate bacterial pathogens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7, 313–320.

COWART, R.P., L. BACKSTROM, T.A. BRIM (1989): *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in atrophic rhinitis and pneumonia in swine. *Can. J. Vet. Res.* 53, 295–300.

CURTIS, S.E., D.A. KINGDON, J. SIMON, J.G. DRUMMOND (1976): Effects of age and cold on pulmonary bacterial clearance in the young pig. *Am. J. Vet. Res.* 37, 299–301.

DAVIES, R.L., R. MacCORQUODALE, S. BAILLIE, B. CAFFREY (2003): Characterization and comparison of *Pasteurella multocida* strains associated with porcine pneumonia and atrophic rhinitis. *J. Med. Microbiol.* 52, 59–67.

DEE, S. (1996): The porcine respiratory disease complex: are subpopulations important? *J. Swine Health and Prod.* 4, 147–149.

DEE, S., J. DEEN, K. ROSSOW, C. WIESE, S. OTAKE, H.S. JOO, C. PIJOAN (2002): Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *Can. J. Vet. Res.* 66, 232–239.

DEE, S., R. PHILIPS (1998): Using vaccination and unidirectional pig flow to control PRRSV transmission. *J. Swine Health and Prod.* 6, 21–25.

DE JONG, M.F. (1999): (Progressive) atrophic rhinitis. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Allaire, D.J. Taylor (Hrsg): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 355–384.

DELBECK, F., R. TEGELER, M. GANTER (1997): Lungenspülungen bei Schweinen im Erzeugerbetrieb. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 104, 374–378.

DESROSIERS, R. (2001): A review of some aspects of the epidemiology, diagnosis, and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. *J. Swine Health and Prod.* 9, 233–237.

DESROSIERS, R. (2005): Aerosol transmission of swine pathogens: overview of the subject and evaluation of suspected field cases. *Am. Ass. Swine Vet.*, 405–416.

DESROSIERS, R., R. BOUTIN, A. BROES (2004): Persistence of antibodies after natural infection with swine influenza virus and epidemiology of the infection in a herd previously considered influenza- negative. *J. Swine Health and Prod.* 12, 78–81.

DROLET, R., R. LAROCHELLE, M. MORIN, B. DELISLE, R. MAGAR (2003): Detection rates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, and swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Vet. Pathol.* 40, 143–148.

DRUMMOND, J.G., S.E. CURTIS, R.C. MEYER, J. SIMON, H.W. NORTON (1981): Effects of atmospheric ammonia on young pigs experimentally infected with *Bordetella bronchiseptica*. *Am. J. Vet. Res.* 42, 963–968.

DRUMMOND, J.S., S.E. CURTIS, J. SIMON (1978): Effects of atmospheric ammonia on pulmonary bacterial clearance in the young pig. *Am. J. Vet. Res.* 39, 211–212.

DUNCAN, J.R., F.K. RAMSEY, W.P. SWITZER (1966): Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine: pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* 27, 467–472.

DUNGWORTH, D.L. (1993): The respiratory system. In: K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy u. N. Palmer (Hrsg.): *Pathology of Domestic Animals*, Vol. 2. 4<sup>th</sup> edition, Academic Press Inc., San Diego, 413–552.

ÉLIÁS, B., M. KRÜGER, F. RÁTZ (1982): Epizootiologische Untersuchungen der Rhinitis atrophicans des Schweines II. Biologische Eigenschaften der von Schweinen isolierten Bordetella bronchiseptica Stämme. *Zbl. Vet. Med. B* 29, 619–635.

FENG, W-H., S.M. LASTER, M. TOMPKINS, T. BROWN, J-S. XU, C. ALTIER, W. GOMEZ, D. BENFIELD, M.B. McCAW (2001): In utero infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus is sufficient to increase susceptibility of piglets to challenge by Streptococcus suis Type II. *J. Virol.* 75, 4889–4895.

FEENSTRA, A.A., V. SØRENSEN, N.F. FRIIS, N .E. JENSEN, V. BILLE-HANSEN (1994): Experimental Mycoplasma hyopneumoniae infection in pigs. *Proc. 13<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Bangkok, 187.

FLAßHOFF, J. (1996): Ein praxisrelevantes Verfahren zur frühzeitigen Differenzierung bakterieller Bronchopneumonieerreger beim Schwein mittels Bronchiallavage (BAL). *Prakt. Tierarzt* 77, 1020–1024.

FRIIS, N.F., A.A. FEENSTRA (1994): Mycoplasma hyorhinis in the etiology of serositis among piglets. *Acta Vet. Scand.* 35, 93–98.

GALINA, L., C. PIJOAN, M. SITJAR, W.T. CHRISTIANSON, K. ROSSOW, J.E. COLLINS (1994): Interaction between Streptococcus suis serotype 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in specific pathogen-free piglets. *Vet. Rec.* 134, 60–64.

GANTER, M., G. AMTSBERG (1996): Alte und neue Probleme durch Streptococcus – suis Infektionen. *Prakt. Tierarzt* 77, 41–43.

GANTER, M., S. KIPPER, H. SCHOTTGER-WEGENER, G. BECKMANN, S. BUNKA (1993): Pneumoniediagnostik am lebenden Schwein mit Hilfe der Lungenspülung. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 106, 330–333.

GOINS, A.J., L.W. SCHWARTZ, S.K. SPERLICH (1979): Influence of *Pasteurella haemolytica* on bovine alveolar macrophage phagocytosis. *Federation Proceedings* 39, 1034.

GOIS, M., M. CERNY, V. ROSKOSNY, M. SOVADINA (1969): Studies on the epizootiological significance of some species of mycoplasma isolated from nasal swabs and lungs of pigs. *Zbl. Vet. Med. B* 16, 253–265.

GOIS, M., F. KUSKA (1974): Intranasal infection of gnotobiotic piglets with *Mycoplasma hyorhinis*: Differences in virulence of the strains and influence of age of age on the development of infections. *Zbl. Vet. Med. B* 21, 352–361.

GOODNOW, R. A. (1980): Biology of *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiol. reviews*, 44, 722–738.

GRAM, T., M.J. JACOBSEN, P. AHRENS, J.P. NIELSEN (1996): Diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in tonsils by culture and polymerase chain reaction. *Proc. 14<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Bologna, 186.

GRIFFITHS, I.B., S.H. DONE, B.W. HUNT (1991): Pneumonia in a sow due to *Streptococcus suis* type II and *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Rec.* 128, 354–355.

GROSSE BEILAGE, E. (1999): Klinische und serologische Verlaufsuntersuchungen zu Prävalenz, Inzidenz und Interaktion viraler und bakterieller Infektionen des Respirationstraktes von Mastschweinen. *Habil.-Schr.*, Hannover.

GROSSE BEILAGE, E. (2002): Internationale Erfahrungen mit der Bekämpfung des Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS). *Tierärztl. Prax.* 30(G), 153–163.

GROSSE BEILAGE, E., B. BRAKMANN (2004): PMWS in Deutschland. *Nutztierpraxis Aktuell*, 10.

GROSSE BEILAGE, E., B. BRAKMANN, M. BUSEMANN, U. HINRICHS, C. OPITZ, R. TEGELER, T. BLAHA (2003): The (limited) possibility to use results from routine diagnostics for epidemiological analyses of the PCV2-infection in swine herds. *Proc. 4<sup>th</sup> Int. Symposium on emerging and re-emerging pig diseases*, Rome, 168–169.

GROSSE BEILAGE, E., K. DAMMANN-TAMKE, P. KÜHNLEIN (2002): Die Diagnostik der PRRSV-Infektion bei Spätaborten und der Geburt lebensschwacher Ferkel. *Tierärztl. Prax.* 30(G), 324–328.

GUTIÉRREZ-MARTIN, C.B., Ó. RODRÍGUEZ-DELGADO, D. ÁLVAREZ-NISTAL, V.A. DE LA PUENTE-REDONDO, F. GARCÍA-RIOJA, J. MARTÍN-VICENTE, E.F. RODRÍGUEZ FERRI (2000): Simultaneous serological evidence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, PRRS, Aujeszky's disease and influenza viruses in Spanish finishing pigs. *Res. Vet. Sci.* 68, 9–13.

HALBUR, P.G. (1998): Porcine respiratory disease. *Proc. 15<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Birmingham; Vol. 1, 1–10.

HALBUR, P., P. PAUL, B. JANKE (1993): Viral contributors to the porcine respiratory disease complex. *Proc. Congress Am. Ass. Swine Pract.*, 343–350.

HALBUR P., R. THANAWONGNUWECH, G. BROWN, J. KINYON, J. ROTH, E. THACKER, B. THACKER (2000): Efficacy of antimicrobial treatments and vaccination regimes for control of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Streptococcus suis* coinfection of nursery pigs. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1156–1160.

HAMILTON, T.D.C., J.M. ROE, C.M. HAYES, A.J.F. WEBSTER (1998): Effects of Ammonia inhalation and acetic acid pre-treatment on colonization kinetics of toxigenic *Pasteurella multocida* within upper respiratory tracts of swine. *J. Clin. Microbiol.* 36, 1260–1265.

HARDER, T.C., P. HUEBERT (2004): Development and application of a nonplex RT-PCR for simultaneous detection of mycoplasmal and viral agents associated with the porcine respiratory disease complex. *Proc 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress, Hamburg*; Vol. 1, 341.

HARDING, J.C. (1996): Post-Weaning multisystemic wasting syndrome: preliminary epidemiology and clinical findings. *Proc. Western Canadian Association of swine practitioners*. 21.

HARMS, P.A., P.G. HALBUR, S.D. SORDEN (2002): Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *J. Swine Health and Prod.* 10, 27–30.

HARMS, P.A., S.D. SORDEN, P.G. HALBUR, S.R. BOLIN, S.R. BOLIN, K.M. LAGER, I. MOROZOV, P.S. PAUL (2001): Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Pathol.* 38, 528–539.

HARMSSEN, A.G., J.R. BIRMINGHAM, R.L. ENGEN, E.L. JESKA (1979): A method for obtaining swine alveolar macrophages by segmental pulmonary lavage. *J. Immunol. Methods* 27, 199–202.

HARTWIG, W. (1994): Die Eignung der Bronchoskopie und der bronchoalveolären Lavage (BAL) für die epidemiologische Untersuchung respiratorischer Erkrankungen im Schweinebestand. *Vet. Med. Diss, Hannover*.

HASSING, A.G., C.S. KRISTENSEN, P. BAEKBO, H. WACHMANN (2004): Effect of sow on the mortality of pigs after weaning in PMWS herds. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress, Hamburg*; Vol. 1, 76.

HENNIG I., K.H. WALDMANN, M. GANTER, G.F. GERLACH (1998): Klinische und labordiagnostische Befunde bei der chronischen Pleuropneumonie des Schweines. *Tierärztl. Praxis* 26(G), 78–84.

HENSEL, A., M. GANTER, S. KIPPER, S. KREHON, M.M. WITTENBRINK, K. PETZOLDT (1994): Prevalence of aerobic bacteria in bronchoalveolar lavage fluids from healthy pigs. *Am. J. Vet. Res.* 55, 1697–1702.

HENSEL, A., H. WINDT, N. STOCKHOFE-ZURWIEDEN, H. LÖDDING, W. KOCH, K. PETZOLDT (1993): A porcine aerosol infection model for studying dose dependent effects caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* bacteria. *J. Aerosol Med.* 6, 73–88.

HIGGENS, R., M. GOTTSCHALK (1999): Streptococcal Disease. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D´Allaire, D.J. Taylor (Hrsg): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 563–578.

HOLMGREN, N. (1973): Immunoglobulines in normal porcine tracheobronchial secretions. *Acta vet. Scand.* 14, 366–380.

HOLT, P.G. (1979): Alveolar macrophages. I. A simple technique for the preparation of high numbers of viable alveolar macrophages from small laboratory animals. *J. Immunol. Methods.* 27, 189–198.

IGLESIAS, J.G., M. TRUJANO, J. XU (1992): Inoculation of pigs with *Streptococcus suis* type 2 alone or in combination with pseudorabies virus. *Am. J. Vet. Res.* 53, 364–367.

JACQUES, M., M. KOBISCH, M. BÉLANGER, F. DUGAL (1993): Virulence of capsulated and noncapsulated isolates of *Pasteurella multocida* and their adherence to porcine respiratory tract cells and mucus. *Inf. Immunity* 61, 4785–4792.

JACQUES, M., J. LABRIE, M.A. PARADIS, C.P. DICK, C. KLOPFENSTEIN, A. BROES, N. FITTIPALDI, M. GOTTSCHALK (2004): Isolation of an atypical strain of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1 with a deep-rough lipopolysaccharide profile. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg; Vol. 1, 193.

JANETSCHKE, P., H. GUNTHER, P. KIELSTEIN, J. MARTIN, W. SCHONHERR (1977): *Bordetella bronchiseptica* Pneumonie beim Schwein. *Arch. Exp. Vet.* 31, 289–298.

JANSSON, E., A. BACKMAN, K. HAKKARAINEN, A. MIETTINEN, B. SENIUSOVA (1983): *Mycoplasmas and arthritis*. *Rheumatol.* 42, 315–319.

JOHANNSEN, U., S. MENGER, J. KINNE, R. NEUMANN, G. MEHLHORN, H. PFÜTZNER (1991): Untersuchungen zur Pathologie und Pathogenese der experimentellen *Mycoplasma hyorhinis* – Infektion von Ferkeln ohne und mit thermomotorischer Belastung. 2 Mitteilung: Elektronenmikroskopische Untersuchungsergebnisse. *J. Vet. Med. A* 38, 321–336.

JUNG, K., Y. HA, C. CHAE (2005): Pathogenesis of swine influenza virus subtype H1N2 infection in pigs. *J. Comp. Path.* 132, 179–184.

KAPPELMANN, S. (2002): Die ultraschallgeführte Lungenbiopsie und bronchoalveoläre Lavage beim Schwein. *Vet. Med. Diss.*, München.

KAWASHIMA, K., S. YAMADA, H. KOBAYASHI, M. NARITA (1996): Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyorhinis* antigens in pulmonary lesions of pigs suffering from respiratory distress. *Comp. Pathol.* 114, 315–323.

KIELSTEIN, P., B. ÉLIÁS (1984): Ein Beitrag zur Ätiopathogenese der *Bordetella bronchiseptica* – Infektion des Schweines. *Zbl. Vet. Med. B* 31, 96–106.

KIELSTEIN, P., R. LEIRER (1990): Zur Glässerschen Krankheit des Schweines – Ätiologische-epizootiologische Untersuchungen zum Erregerspektrum. *Mh. Vet.-Med.* 45, 577–582.

KIELSTEIN, P., W. METHLING W., D. SEYFRATH, A. KELLER (1986): Zur Bedeutung der Glässerschen Krankheit in Schweinebeständen. *Arch. Exper. Vet. Med.* 40, 170.

KIELSTEIN, P., A. RASSBACH, D. PÖHLE, U. JOHANNSEN, M. WIEGAND, M. SCHÄFER (1994): Zur Pathogenese der Haemophilus parasuis-Infektion des Schweines (Glässersche Krankheit). *Mh. Vet.- Med.* 49, 71–75.

KIELSTEIN, P., D. SCHIMMEL, F. HORSCH (1981): Vergleichende ätiopathogenetische Untersuchungen zur Pneumonie des Kalbes und Schweines. *Mh. Vet.-Med.* 36, 133–139.

KIM J., C. CHAE (2002): Simultaneous detection of porcine circovirus 2 and porcine parvovirus in naturally and experimentally coinfecting pigs by double in situ hybridization. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 14, 236–240.

KIM J., H.K. CHUNG, C. CHAE (2003): Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet. J.* 166, 251–256.

KINNE, J., U. JOHANNSEN, R. NEUMANN, G. MEHLDORN, H. PFÜTZNER (1991): Untersuchungen zur Pathologie und Pathogenese der experimentellen Mycoplasma hyorhinis – Infektion von Ferkeln ohne und mit thermomotorischer Belastung. 1. Mitteilung: Pathologisch-anatomische, -histologische und immunmorphologische Untersuchungsergebnisse. *J. Vet. Med. A* 38, 306–320.

KIPPER, S. (1990): Bronchoskopie bei Schweinen sowie mikrobiologische und zytologische Untersuchungen der bronchoalveolären Spülflüssigkeit. *Vet. Med. Diss.*, Hannover.

KOBAYASHI, H., T. MOROZUMI, C. MIYAMOTO, M. SHIMIZU, S. YAMADA, S. OHASHI, M. KUBO, K. KIMURA, K. MITANI, N. ITO, K. YAMAMOTO (1996): Mycoplasma hyorhinis infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *J. Vet. Med. Sci.* 58, 109–113.

KÖFER, J., M. AWAD-MASALMEH, G. THIEMANN (1993): Der Einfluss von Haltung, Management und Stallklima auf die Lungenveränderungen bei Schweinen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 100, 319–322.

KRISTENSEN, C.S., P. BAEKBO, V. BILLE-HANSEN, A.G. HASSING, A. BØTNER (2004): Transmission of PMWS. *Proc 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg; Vol 1, 77.

KROKER, R., R. SCHERKL, F.R. Ungemach (2002): Chemotherapie bakterieller Infektionen. In: W. Löscher, F.R. Ungemach (Hrsg.): *Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. 2. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 353–389.

KÜMMERLEN D., M. RITZMANN, C. FISCHÄß, W. SCHMIDT, K. HEINRITZI (2005): Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit einer PRRSV-Lebendvakzine (Europäischer Stamm). *Tierärztl. Umschau* 60, 29–34.

KYRIAKIS, S.C. (2003): Evaluation of Porcilis PRRS<sup>®</sup> in the reduction of the effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) on piglet health and performance on farm suffering from both porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Proc. PRRS Intervet Satellite symposium, 4<sup>th</sup> Int. symposium on Emerging and Re-emerging pig diseases*, Rome, 8–14.

LAINSON, F.A., K.D. AITCHISON, W. DONACHIE, J.R. THOMSON (2002): Typing of *Pasteurella multocida* isolated from pigs with and without Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome. *J. Clin. Microbiol.* 40, 588–593.

LAHRMANN, K.H., H. PLONAIT (2004): Gliedmaßen- und Skeletterkrankungen. In: K.H. Waldmann, M. Wendt (Hrsg.). *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. 4. Auflage, Parey Verlag, Stuttgart, 261–306.

LARIVIERE S., L. LEBLANC, K.R. MITTAL, G.P. MARTINEAU (1993): Comparison of isolation methods for the recovery of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* from the nasal cavities of piglets. *J. Clin. Microbiol.* 31, 364–367.

L'ECUYER, C., E.D. ROBERTS, W.P. SWITZER (1961): An outbreak of *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in swine. *Vet. Med.* 56, 420–424.

LE JAN, C., M.A.S.Y. EL AZHARY, M. GALLINA (1980): Characterisation of cells from the respiratory tract of calves. *Ann. Rech. Vet.* 11, 301–306.

LIGGETT, A.D., L.R. HARRISON (1987): Sequential study of lesion development in experimental *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Res. Vet. Sci.* 42, 204–221.

MALDONADO, J., K. VAN REETH, P. RIERA, M. SITJÀ, N. SAUBI, E. ESPUNA, C. ARTIGAS (2006): Evidence of the concurrent circulation of H1N2, H1N1 and H3N2 influenza A viruses in densely populated pig areas in Spain. *Vet. J.* Article in press.

MARSTELLER T.A., B. FENWICK (1999): *Actinobacillus pleuropneumoniae* disease and serology. *J. Swine Health and Prod.* 7, 161–165.

MARTELLI, P., M. TERRENI, N. AMENNA, H. MORVAN, S. CAVIRANI (2000): Involvement of PCV2 in an outbreak of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Italy. *Proc. 16<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Melbourne, 634.

MENGELING, W.L., K.M. LAGER, A.C. VORWALD, S.L. BROCKMEIER (1996): Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *Am. J. Vet. Res.* 57, 834–839.

MORITA, T., S. OHIWA, A. SHIMADA, S. KAZAMA, T. YAGIHASHI, T. UMEMURA (1999): Intranasally inoculated *Mycoplasma hyorhinis* causes eustachitis in pigs. *Vet. Pathol.* 36, 174–178.

MÜLLER, C., M. DOHERR, C. EGLI, D. SICHER, B. MOURITS, W. ZIMMERMANN (2004): Haemophilus parasuis infection: vaccination and serological follow-up. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg Vol. 1, 817.

MÜLLER, E., K.W. KNOCKE, H. WILLERS, R. JOCHIMS (1981): Über das Auftreten der Schweineinfluenza in Norddeutschland. *Prakt. Tierarzt* 8, 669–672.

MÜLLER-QUERNHEIM, J. (1992): Bronchoalveoläre Lavage. *In: R. Ferlinz (ed.): Diagnostik in der Pneumologie* 2. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

MYRVIK, Q.N., E.S. LEAKE, B. FARISS (1961): Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit: A technique to procure them in a high state of purity. *J. Immunol.* 86, 128–132.

NEUMANN, R., W. LEONHARDT, A. BALLIN, G. MEHLORN, S. DIECKE (1985): Die Methode der intravitalen Lungenspülung beim Schwein – Gewinnung und Differenzierung. *Arch. Exper. Vet. Med.* 39, 525–534.

NIENHOFF, H. (2004): A practical way to perform bronchiolar lavage (BL) in pigs on farm. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg Vol. 2, 633.

NIENHOFF, H., H. BOSSOW, R. BOSSOW (2004): Lung wash on piglets and fattening pigs two practice-related procedures for extracting antigen at farm level. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg Vol. 2, 870.

OHLINGER, V. F., U. SCHMIDT, S. PESCH (2000): Studies on the pathogenetic aspects of the post weaning multisystemic wasting syndrome. *Proc. 16<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Melbourne; 577

OLIVIERA, S. (2004): Improving rate of success in isolating Haemophilus parasuis from clinical samples. *J. Swine Health and Prod.* 12, 308–309.

OLIVIERA, S., L. GALINA, C. PIJOAN (2001): Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13, 495–501.

OLIVIERA, S., C. PIJOAN (2002): Diagnosis of *Haemophilus parasuis* in affected herds and use of epidemiological data to control disease. *J. Swine Health and Prod.* 10, 22–25.

OLIVIERA, S., C. PIJOAN (2004): *Haemophilus parasuis* new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet. Microbiol.* 99, 1–12.

ONO, M., T. NAMIMATSU, T. OHSUMI, M. MORI, M. OKADA, K. TAMURA (2001): Immunohistopathologic demonstration of pleuropneumonia associated with *Morganella morganii* in a piglet. *Vet. Pathol.* 38, 336–339.

ONO, M., M. OKADA, T. NAMIMATSU, S. FUJII, T. MUKAI, T. SAKANO (2003): Septicaemia and arthritis in pigs experimentally infected with *Pasteurella multocida* capsular serotype A. *J. Comp. Path.* 129, 251–258.

OPRIESSNIG, T., S. YU, X.J. MENG, E.L. THACKER, P.G. HALBUR (2004): PCV2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* coinfection model. *Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg; Vol 1, 95.

OTAKE, S., S.A. DEE, K.D. ROSSOW, R.D. MOON, C. TRINCADO, C. PIJOAN (2003): Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 152, 73–76.

OTTIS K, W. BOLLWAHN, P.A. BACHMANN, K. HEINRITZI (1981): Ausbruch von Schweineinfluenza in der Bundesrepublik Deutschland: Klinik, Nachweis und Differenzierung. *Tierärztl. Umschau* 36, 608–612.

PABST, T. (2004): Ausbreitung von *M. hyopneumoniae* in endemisch infizierten Schweineherden und Bekämpfung der Enzootischen Pneumonie mittels one-shot Impfung (Ingelvac<sup>®</sup> M.hyo). *Vet. Med. Diss.*, Hannover.

PALLARÉS, F.J., P.G. HALBUR, C.S. SCHMITT, J.A. ROTH, T. OPRIESSNIG, P.J. THOMAS, J.M. KINYON, D. MURPHY, D.E. FRANK, L.J. HOFFMANN (2002): Comparison of experimental models for *Streptococcus suis* infection of conventional pigs. *Can. J. Vet. Res.* 67, 225–228.

PALZER A., M. RITZMANN, G. WOLF, K. HEINRITZI (2005): Erregernachweis aus bronchoalveolärer Lavage bei Schweinen mit Atemwegserkrankungen. *Tierärztl. Umschau* 60, 550–556.

PESCH, S., U. JOHANNSEN, G. STRIJKSTRA, V.F. OHLINGER (2003): Screening for pathogens in PCV2 associated diseases. 4<sup>th</sup> *Int. Symposium on Emerging and Re-Emerging Pig diseases*. Rome, 205–206.

PIJOAN, C. (1999): Pneumonic Pasteurellosis. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Allaire, D.J. Taylor (Hrsg): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 511–520.

PLONAIT, H., A. CÖSTER, R. BÜHRER (1995): Entnahme von Trachealtupfern zur mikrobiologischen Diagnostik am lebenden Schwein. *Vet. Impulse* 4, 16–17.

PODSCHUN R., U. ULLMANN (1998): *Klebsiella* spp. Nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 589–603.

PÖHLE, D., U. JOHANNSEN, P. KIELSTEIN, A. RAßBACH, M. WIEGAND (1992): Investigations on pathology and pathogenesis of *Haemophilus parasuis*. *Proc. 12<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, The Hague Vol. 1, 335.

POGRANICHNIY, R.M., K.J. YONN, P.A. HARMS, S.D. SORDEN, M. DANIELS (2002): Case-control study on the association of porcine circovirus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 14, 449–456.

POL, J.M., L.A. VAN LEENGOED, N. STOCKHOFE, G. KOK, G. WENSVOORT (1997): Dual infections of PRRSV/Influenza or PRRSV/Actinobacillus pleuropneumoniae in the respiratory tract. *Vet. Microbiol.* 55, 259–264.

RACHEL, Y.R., L.T. GLICKMAN, D.D. HARRINGTON, H.L. THACKER, T.L. BOWERSOCK (1994): Streptococcus suis infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 326–334.

RAPP-GABRIELSON, V.J. (1999): Haemophilus parasuis *In*: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D´Allaire, D.J. Taylor (Hrsg.): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 475–482.

RASMUSSEN S.R., F.M. AARESTRUP, N.E. JENSEN, S.E. JORSAL (1999): Associations of Streptococcus suis serotype 2 ribotype profiles with clinical disease and antimicrobial resistance. *J. Clin. Microbiol.*, 37, 404–408.

RITZMANN, M., M. MAJZOUB, W. HERMANN, K. HEINRITZI, U. TRUYEN (2005): Klinische, hämatologische und klinisch-chemische Befunde beim porcinen Dermatitis-Nephropathie-Syndrom (PDNS). *Tierärztl. Prax.* 33 (G), 299–303.

RITZMANN, M., K. VORBUCHNER, M. MAJZOUB, W. HERMANN, K. HEINRITZI, K. GEIBLER, U. TRUYEN (2002): Untersuchungen zur Verbreitung des porcinen Circovirus Typ 2 in Bayern. *Tierärztl. Prax.* 30 (G), 386–391.

ROBERTS, E.D., W.P. SWITZER, F.K. RAMSEY (1963): Pathology of the visceral organs of swine inoculated with Mycoplasma hyorhinis. *Am. J. Vet. Res.* 24, 9–18.

RODRÍGUEZ-ARRIOJA G.M., J. SEGALÉS, C. ROSELL, J. QUINTANA, S. AYLLÓN, A. CAMPRODÓN, M. DOMINGO (1999): Aujeszky´s disease virus infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Vet. Rec.* 144, 152–153.

ROOP, R.M., H.P. VEIT, R.J. SINSKY, S.P. VEIT, E.L. HEWLETT, E.T. KORNEGAY (1987): Virulence factors of *Bordetella bronchiseptica* associated with the production of infectious atrophic rhinitis and pneumonia in experimentally infected neonatal swine. *Infect. Immun.* 55, 217–22.

ROSS, R.F. (1999): *Mycoplasma* Diseases. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Allaire, D.J. Taylor (Hrsg): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 495–510.

ROVIRA, A., M. BALASCH, J. SEGALÉS, L. GARCÍA, J. PLANA-DURÁN, C. ROSELL, H. ELLERBROK, A. MANKERTZ, M. DOMINGO (2002): Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J. Virology* 76, 3232–3239.

RUNGE, M., M. GANTER, F. DELBECK, W. HARTWICK, A. RÜFFER, B. FRANZ, G. AMTSBERG (1996): Nachweis von Pneumonieerregern bei Schweinen aus Problembeständen: Kulturelle und immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der bronchoalveolären Lavage (BAL) und serologische Befunde. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 109, 101–107.

SCHEIDT, A.B., T.R. CLINE, L.K. CLARK, V.B. MAYROSE, W.G. VAN ALSTINE, M.A. DIEKMAN, W.L. SINGLETON (1995): The effect of all-in-all-out growing-finishing on the health of pigs. *J. Swine Health and Prod.* 3, 202–205.

SCHÖSS, P. (1982): *Bordetella – bronchiseptica* – Infektion in einem SPF – Schweinebestand. Ein Beitrag zur Ätiologie der Rhinitis atrophicans. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 89, 177–216.

SCHÖSS, P., M. ALT (1995): Sind Nasentupfer beim Schwein zur Diagnostik bakterieller Pneumonie- Erreger geeignet. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 102, 427–430.

SCHRADER, C., J. SÜSS (2003): Genetic characterization of a porcine H1N2 influenza virus strain isolated in Germany. *Intervirology* 46, 66–70.

SCHRADER, C., J. SÜSS (2004): Molecular epidemiology of porcine H3N2 influenza A viruses isolated in Germany between 1982 and 2001. *Intervirology* 47, 72–77.

SCHRÖDER, C., S. BREMERICH (2003): Eradikation von PRRSV aus einem Schweinezuchtbestand. *Tierärztl. Umschau* 10, 532–536.

SCHULMANN, A., T. ESTOLA, A.S. GARRY-ANDERSON (1970): On the occurrence of *Mycoplasma hyorhinis* in the respiratory organs of pigs with special reference to enzootic pneumonie. *Zbl. Vet. Med. B* 17, 549–553.

SEGALÉS, J., M. CALSAMIGLIA, C. ROSELL, M. SOLER, J. MALDONADO, M. MARTÍN, M. DOMINGO (2002): Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection status in pigs naturally affected with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. *Vet. Microbiol.* 85, 23–30.

SEGALÉS, J. (2005): Workshop Angewandte Pathologie, Schwerpunkt “Respiratorische Erkrankungen”, *Proc. des Workshops, 2. Herbsttagung der Österreichischen Schweinepraktiker*, Wien.

SEGALÉS, J., M. DOMINGO (2002): Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet. Quarterly* 24, 109–124.

SEGALÉS, J., M. DOMINGO, G.I. SOLANO, C. PIJOAN (1998): Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) interaction with *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* 55, 247–257.

SIBILA, M, M. CALSAMIGLIA, D. VIDAL, L. BADIELLA, Á. ALDAZ, J.C. JENSEN (2004): Dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in 12 farms with different production systems. *Can. J. Vet. Res.* 68, 12–18.

SOIKE, D., K. ALBRECHT, A. MANKERTZ, M. DOMINGO, J. SEGALÉS (2000): Infektiöses Kümmersyndrom der Absatzferkel (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS). *Tierärztl. Prax.* 28(G), 110–115.

SØRENSEN, V., P. AHRENS, K. BARFOD, A.A. FEENSTRA, N.C. FELD, N.F. FRIIS, V. BILLE-HANSEN, N.E. JENSEN, M.W. PEDERSEN (1997): *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: duration of the disease and evaluation of four diagnostic assays. *Vet. Microbiol.* 54, 23–34.

SØRENSEN, V., K. BARFORD, J.P. NIELSEN, N.F. FELD, J. CHRISTENSEN (1996): Evaluation of a polyclonal blocking ELISA and a complement fixation assay detecting antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in pigs. *Proc. 14<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Bologna, 191.

STEHMANN R., G. MEHLDORN, V. NEUPARTH (1991): Charakterisierung aus der Stallluft isolierter Stämme von *Bordetella bronchiseptica* und der von ihnen ausgehende aerogene Infektionsdruck. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 98, 448–450.

STEINHAUSEN, G. (1999): Untersuchungen zur ultraschallgeführten Lungenbiopsie beim Schwein. *Vet. Med. Diss.* München.

STEVENSON, G.W. (1998): Bacterial pneumonia in swine. *Proc 15<sup>th</sup> IPVS Congress*, Birmingham Vol. 1, 11–18.

TAYLOR, D.J. (1999): *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: A.D. Leman, B.E. Straw, W.S. Mengling, S. D'Allaire, D.J. Taylor (Hrsg): *Diseases of swine*. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 343–354.

THACKER, E.L. (2001): Porcine respiratory disease complex – what is it and why does it remain a problem? *Pig. J.* 48, 66–70.

THACKER, E.L. (2004a): Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J. Swine Health and Prod.* 12, 252–254.

THACKER, E.L. (2004b): Porcine respiratory disease: *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2 (PCV-2). *Proc. Erste Herbsttagung der österreichischen Schweinepraktiker, Wien*, 72–73.

THACKER E., P. HALBUR, B. THACKER (1998): *Mycoplasma* and PRRSV interactions, their possible role in PRDC. *Respiratory diseases pig progress*, 30–32.

THACKER, E.L., P.G. HALBUR, R.F. ROSS, R. THANAWONGNUWECH, B.J. THACKER (1999): *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus- induced pneumonia. *J. Clin. Microbiol.* 37, 620–627.

THACKER, E.L., B.J. THACKER, B.H. JANKE (2001): Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.* 39, 2525–2530.

THACKER, E.L., B.J. THACKER, T.F. YOUNG, P.G. HALBUR (2000): Effect of vaccination on the potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)- induced pneumonia by *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vaccine* 18, 1244–1252.

THANAWONGNUWECH, R, B. THACKER, P. HALBUR, E. THACKER (2004): Increased production of proinflammatory cytokines following infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Clin. and Diagn. Lab. Immunol.* 11, 901–908.

THOMSON, C.M.A., N. CHANTER, C.M. WATHES (1992): Survival of toxigenic *Pasteurella multocida* in aerosols and aqueous liquids. *App. Environm. Microbiol.* 58, 932–936.

THOMSON, J.R., N. MACINTYRE, L.E. HENDERSON, C.S. MEIKLE (2001): Detection of *Pasteurella multocida* in pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet. Rec.* 149, 412–417.

TURK, J.R., W.H. FALES, C. MADDOX, M. MILLER, L. PACE, J. FISCHER, J. KREEGER, G. JOHNSON, S. TURNQUIST, J.A. RAMOS, H.S. GOSSER (1992): Pneumonia associated with *Salmonella choleraesuis* infection in swine: 99 cases (1987–1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 1615–1616.

VAN GUCHT, S., K. VAN REETH, M. PENSAERT (2003): Interaction between porcine reproductive-respiratory syndrome virus and bacterial endotoxin in the lungs of pigs: potentiation of cytokine production and respiratory disease. *J. Clin. Microbiol.* 41, 960–966.

VAN REETH, K., H. NAUWYNCK, M. PENSAERT (1996): Dual infection of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine respiratory coronavirus or swine influenza virus: a clinical and virological study. *Vet. Microbiol.* 48, 325–335.

VAN REETH, K., H. NAUWYNCK, M. PENSAERT (2001): Clinical effects of experimental dual infections with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by swine influenza virus in conventional and colostrums-deprived pigs. *J. Vet. Med.* 48, 283–292.

VOS, J. (2004): Glässer's Disease. *Proc. Intervet Satellite Symposium 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress Congress*, Hamburg.

WANG, E., N. OUELLET, M. SIMARD, I. FILLION, Y. BERGERON, D. BEAUCHAMP, M.G. BERGERON (2001): Pulmonary and systemic host response to *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in normal and immunosuppressed mice. *Inf. Immunity* 69, 5294–5304.

WILKIE, B.M., R.J.F. MARKHAM (1981): Bronchoalveolar washing cells and immunoglobulins of clinically normal calves. *Am. J. Vet. Res.* 42, 241–243.

WILLIAMS, P.P. (1978): Collection and cultivation of and phagocytosis by pulmonary macrophages obtained from hysterectomy-derived-pigs. *Am. J. Vet. Res.* 39, 485–489.

WILLS, R.W., A.R. DOSTER, F.A. OSORIO (2002): Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) to age-matched sentinel pigs. *J. Swine Health and Prod.* 10, 161–165.

YAGIHASHI, T., T. NUNOYA, T. MITUI, M. TAJIMA, (1984): Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection on the development of *Haemophilus pleuropneumoniae* pneumonia in pigs. *Jpn. J. Vet. Sci.* 46, 705–713.

YANG, L.Z., X.F. YANG, S.X. YUAN, S.C. ZHANG (1989): Investigations of *Klebsiella pneumoniae* infection in sucking pigs. *Chin. J. Vet. Sci. Tech.* 1, 17–18.

YAZAWA, S., M. OKADA, M. ONO, S. FUJII, Y. OKUDA, I. SHIBATA, H. KIDA (2004): Experimental dual infection of pigs with an H1N1 swine influenza virus (A/Sw/Hok/2/81) and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 98, 221–228.

YOON, K.J., J.J. ZIMMERMAN, C.C. CHANG, S. CANCEL-TIRADO, K.M. HARMON, M.J. MCGINLEY (1999): Effect of challenge dose and route on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in young swine. *Vet. Res.* 30, 629–638.

ZEPPERITZ, H., M. MARTENS (2003): Einfluss der Impfung von Sauen mit Porcilis® APP auf die maternalen Apx/OMP- Antikörpertiter bei Ferkeln sowie Serokonversion nach APP- Impfung der Ferkel in der 6. und 10. Lebenswoche. *Tierärztl. Umschau* 58, 588–598.

ZIELINSKI G.C., R.F. ROSS (1993): Adherence of *Mycoplasma hyopneumoniae* to porcine ciliated respiratory tract cells. *Am. J. Vet. Res.* 54, 1262–1269.

ZIMMERMANN, W., C. MÜLLER (2004): Bedeutung und Bekämpfung der „Glässerschen Krankheit – Transportkrankheit – Haemophilus parasuis Infektion“ in der Schweiz. *Proc. Intervet Satellite Symposium 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congress*, Hamburg.

ZIMMERMANN W., H. PLONAIT (2004): Erkrankungen des Atmungsapparates. *In: K.H. Waldmann, M. Wendt (Hrsg.). Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. 4. Auflage, Parey Verlag, Stuttgart, 111–150.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Heinritzi für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung sowie für die geduldige und zügige Korrektur der Arbeit

Herrn Dr. Ritzmann danke ich für die tatkräftige und freundschaftliche Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit

Herr Dr. Georg Wolf und besonders seine Mitarbeiterinnen danke ich ganz herzlich für die bakteriologischen Untersuchungen

Ein herzliches Dankeschön an Frau PD Dr. Dr. habil. Hafner-Marx und ihren Mitarbeiter/innen für die Durchführung der pathologisch-anatomischen Untersuchung

Herrn Prof. Dr. Küchenhoff und seiner Mitarbeiterin Frau Ossig danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung

Ein ganz besonderes Dankeschön gilt meine Eltern und Brenda für die sprachliche Korrektur bzw. für das Erstellen des Summaries und die Unterstützung während und nach dem Studium

Allen Mitarbeiter/innen der Schweineklinik danke ich für die gewährte freundliche Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit

## Lebenslauf

Name: Andreas Palzer  
Geburtsdatum: 28.10.1977  
Geburtsort: Trier  
Eltern: Johannes Palzer  
Margret Palzer, geb. Forster

### Ausbildung und Beruf:

1984 – 1988	Grundschule Trier–Pallien
1988 – 1997	Augusta–Viktoria Gymnasium, Trier
1997 – 1998	Grundwehrdienst an der Schule für Diensthundewesen der Bundeswehr
11/98–12/03	Studium der Tiermedizin an der Ludwig–Maximilians-Universität München
Januar 2004	Tierärztliche Approbation
Januar 2004	Beginn der Dissertation
01/04 – 06/04	Wissenschaftliche Hilfskraft an der Klinik für Schweine der Ludwig–Maximilians-Universität München
ab 06/04	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Schweine der Ludwig–Maximilians-Universität München