

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

**Evaluation der Wirksamkeit und Sicherheit einer
Mycoplasma hyopneumoniae Vakzine bei Ferkeln in der
ersten Lebenswoche**

Inaugural-Dissertation

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

von

Lisa Zimmermann
aus Deggendorf

München 2012

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ritzmann

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Scholz

Tag der Promotion: 21.Juli 2012

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1	Taxonomie	2
2.2	Morphologie.....	2
2.3	Epidemiologie.....	3
2.4	Makroskopische und histopathologische Veränderungen der Lunge durch <i>M. hyopneumoniae</i>.....	5
2.5	Pathogenese	6
2.6	Virulenzfaktoren	7
2.7	Immunantwort.....	8
2.8	Durch <i>M. hyopneumoniae</i> verursachte Krankheitsbilder	8
2.9	Diagnostik.....	10
2.9.1	Kultureller Nachweis	10
2.9.2	Nachweis über PCR	11
2.9.3	Nachweis mit Immunfluoreszenz und Immunhistochemie	12
2.9.4	Serologischer Nachweis	13
2.10	Bekämpfungsmöglichkeiten.....	14
2.10.1	Vakzine.....	14
2.10.2	Bekämpfungsprogramme	15
2.10.3	Antibiotische Behandlung	18
2.11	Immunologie	20
2.11.1	Allgemeine Immunreaktionen	20
2.11.2	Immunreaktionen bei Jungtieren.....	21
3	MATERIAL UND METHODE	24
3.1	Anzeige eines Tierversuchsvorhabens	24

3.2	Ziel der Untersuchung	24
3.3	Versuchsbetrieb	24
3.4	Auswahl der Tiere	25
3.5	Vakzine	25
3.6	Placebo	26
3.7	Versuchsordnung	26
3.8	Klinische Untersuchung	27
3.8.1	Allgemeinuntersuchung	27
3.8.2	Lokale Reaktionen an der Injektionsstelle	27
3.8.3	Rektaltemperatur	28
3.9	Blutprobenentnahme	28
3.10	Serologische Untersuchung	29
3.11	Gewichtsentwicklung	29
3.12	Lungenbefunde am Schlachthof	29
3.13	Mortalität	30
3.14	Statistik	30
4	ERGEBNISSE	32
4.1	Verträglichkeit und Sicherheit der Vakzine	32
4.1.1	Klinische Untersuchung	32
4.2	Serologie	34
4.3	Gewichtsentwicklung	37
4.4	Lungenbefunde am Schlachthof	39
4.5	Mortalität	40
5	DISKUSSION	42
5.1	Verträglichkeit und Sicherheit der Impfung	42
5.1.1	Klinische Untersuchung	42
5.2	Serologie	43

5.3	Gewichtsentwicklung.....	45
5.4	Lungenbefunde am Schlachthof	47
5.5	Mortalität	48
5.6	Schlussfolgerung	49
6	ZUSAMMENFASSUNG	50
7	SUMMARY	52
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	53
9	TABELLENVERZEICHNIS	54
10	LITERATURVERZEICHNIS	55
	DANKSAGUNG	63

Abkürzungsverzeichnis

a.i.	ante injectionem
APP	Actinobacillus pleuropneumoniae
B.	Bordetella
BALF	Broncho-alveolar lavage fluid
BALT	Bronchus-associated lymphatic tissue
bp	Basenpaare
CD	Cluster of differentiation
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EU	Europäische Union
g	Gramm
GHRH	Growth Hormone Releasing Hormone
Ig	Immunglobulin
II	Interleukin
IFN	Interferon
ISOWEAN	Isolated Early Weaning
kg	Kilogramm
L.	Lobus
M.	Mycoplasma
MEW	Medicated Early Weaning
MIRD	Mycoplasma-induced-Respiratory-Disease-Komplex
ml	Milliliter
mm	Millimeter
NaCl	Natriumchlorid
nPCR	nested PCR
nm	Nanometer
OD	optische Dichte
P.	Pasteurella
p.i.	post injectionem
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCV2	Porcines Circovirus Typ 2
PDNS	Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome
PMWS	Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome

ppm	parts per million
PRDC	Porcine Respiratory Disease Complex
PRRSV	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
SDS-PAGE	Sodium-Dodecyl-Sulfat-Polyacrylamid-Gradientengel- Elektrophorese
SEW	Segregated Early Weaning
SIV	Swine Influenza Virus
SPF	specific pathogen free
TNF	Tumor-Nekrosefaktor
TLR	Toll-Like Rezeptor
U/min	Umdrehungen pro Minute

1 Einleitung

Die Pathogenese der Erkrankung durch *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* erklärt sich bereits durch die im englischen übliche Bezeichnung Mycoplasma-induced-Respiratory-Disease (MIRD). *M. hyopneumoniae* heftet sich nach oronasaler Übertragung an das zilienbesetzte Epithel des Respirationstraktes an (ZIELINSKI und ROSS, 1993) und schädigt es, so dass die mucoziliäre Clearance der Lunge als Abwehrmechanismus für Sekundärerreger beeinträchtigt wird (THACKER, 2006). Zudem kommt es durch Modulation des Immunsystems zur weiteren Schwächung der Abwehr (MAES, 2010). Die betroffenen Tiere sind somit prädisponiert für Sekundärinfektionen, die eine ernste, fieberhafte Erkrankung auslösen können. Die alleinige Infektion mit *M. hyopneumoniae* führt zu einer chronischen Erkrankung mit trockenem, unproduktivem Husten, verringerten Tageszunahmen, schlechterem Wachstum der Tiere und reduzierter Futteraufnahme (THACKER, 2006).

Durch eine Impfung kann der wirtschaftliche Schaden der Erkrankung minimiert werden, auch wenn keine Erregerfreiheit erreicht wird. Für eine frühe Impfung in der ersten Lebenswoche spricht die verminderte körperliche Belastung für Mensch und Tier, die Möglichkeit der Kombination mit zotechnischen Maßnahmen und rechtzeitiger Schutz bei einem frühen Infektionszeitpunkt. Allerdings sind bei einer Impfung zu einem frühen Zeitpunkt Interferenzen mit maternalen Antikörpern denkbar welche kontrovers diskutiert werden (HODGINS et al., 2004; MARTELLI et al., 2006).

Ziel dieser Untersuchung ist es den für die Anwendung ab der dritten Lebenswoche bereits zugelassenen One-Shot-Impfstoff Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) auf seine Wirksamkeit und Sicherheit bei der Anwendung in der ersten Lebenswoche zu überprüfen.

Eine mit Suvaxyn[®] MH-One vakzinierte Versuchsgruppe wird zu diesem Zweck mit einer Kontrollgruppe verglichen, der sterile Kochsalzlösung injiziert wird. Als Parameter für die Sicherheit werden die lokale Reaktion an der Injektionsstelle, die Körpertemperatur und eine Allgemeinuntersuchung der Tiere herangezogen. Für die Überprüfung der Wirksamkeit werden die Gewichtsentwicklung der Tiere und die Lungenbefunde am Schlachthof beurteilt. Außerdem wird mithilfe von 14-tägigen Blutentnahmen der Verlauf der Antikörper im Serum bestimmt.

2 Literaturübersicht

2.1 Taxonomie

In der Klasse der zellwandlosen Mollicutes findet sich neben den drei Ordnungen Entoplasmatales, Acholeplasmatales und Anaeroplasmatales die Ordnung Mycoplasmatales, die nur eine Familie, die Mycoplasmataceae beinhaltet. Die dort zugehörige Gattung *Mycoplasma* beinhaltet medizinisch bedeutsame Erreger bei Mensch und Tier (SELBITZ, 2007). Für das Schwein pathogen sind neben *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* auch *M. hyorhinis* und *M. hyosynoviae*, wohingegen *M. flocculare*, *M. suis* und *M. hopharyngis* apathogen zu sein scheinen (THACKER, 2006). Diese Mycoplasmen heften sich ebenfalls an die Zilien des Respirationstrakts an, können diese aber offensichtlich nicht oder nur in sehr geringem Maße schädigen (YOUNG et al., 2000).

2.2 Morphologie

Durch das Fehlen der Zellwand kann die Form von *M. hyopneumoniae* von kugelförmig bis zu verzweigt und helikal variieren. Die Zellen sind unbeweglich und ausschließlich von einer Cytoplasmamembran umgeben. Diese hat eine dreifache laminare Struktur, die sonst für Bakterien untypisch ist und beinhaltet außerdem Sterole, die sonst nur bei pflanzlichen Zellen vorkommen (SELBITZ, 2007). *M. hyopneumoniae* besitzt meist einen Durchmesser von 400-1200nm und seine Cytoplasmamembran ist von einer 16nm dicken, lockeren Schicht aus vielen feinen bis zu 250nm langen Fibrillen umgeben (TAJIMA und YAGIHASHI, 1982). Nicht nur die Zellen sind relativ klein, sondern auch das Genom, es beinhaltet nur 600-1350kb. Dies führt zu einer eingeschränkten Stoffwechselkapazität und daraus folgend parasitärer oder kommensaler Lebensweise. Deshalb stellen Mycoplasmen bei der Anzucht sehr hohe Ansprüche an die verwendeten Nährmedien (SELBITZ, 2007).

2.3 Epidemiologie

Unter Praxisbedingungen wird *M. hyopneumoniae* am häufigsten über infizierte Schweine übertragen. Obwohl das langsame Wachstum und die hohen Ansprüche von *M. hyopneumoniae* den Eindruck erwecken könnten, dass die Übertragung zwischen Betrieben schwierig ist, stellt GOODWIN (1985) fest, dass sich Tiere in Betrieben mit weniger als 3,2 km Abstand gegenseitig infizieren können. Häufig findet eine Infektion der Ferkel durch den Kontakt zur Muttersau statt (KYRIAKIS et al., 2001; RAUTIAINEN und WALLGREN, 2001). Vor allem im Absetzalter tritt dann eine Übertragung zwischen Buchtengenossen auf (THACKER, 2006). Durch Koinfektionen mit anderen Pathogenen wie *Pasteurella (P.) multocida*, *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* (PRRSV), *Swine Influenza Virus* (SIV) und *Porcine Circovirus 2* (PCV2) ist es oft schwierig eine exakte Prävalenz festzustellen (THACKER, 2006). GROSSE BEILAGE et al. (2009) untersuchen in einer Studie 2578 Sauen aus 67 Betrieben in Nord-West-Deutschland und stellen fest, dass 65% der Muttersauen *M. hyopneumoniae* seropositiv sind und der Anteil an seropositiven Sauen in allen Betrieben bei mindestens 14% liegt. Das Risiko einer Sau seropositiv für *M. hyopneumoniae* zu sein steigt, wenn nicht nur Ferkel erzeugt werden, sondern auch Aufzucht und Mast zum Betrieb gehören und die Ferkel nicht gegen *M. hyopneumoniae* geimpft werden. Außerdem ist das Risiko bei einem 2-Wochen-Abferkel-Rhythmus, bei fehlendem Rein-Raus-Verfahren im Abferkelbereich und fehlender Eingewöhnungszeit für Eber erhöht. In Frankreich waren im Jahr 2010 55% der Sauen aus 5 getesteten Betrieben seropositiv (FABLET et al., 2011). VILLARREAL et al. (2010b) stellen in 9 europäischen Ländern fest, dass in zwei Drittel der Herden bereits 3 Wochen alte Ferkel mit *M. hyopneumoniae* infiziert sind. In einer Untersuchung von NATHUES et al. (2010) liegt die Prävalenz von *M. hyopneumoniae* im Lungengewebe von Saugferkeln bei 2% und von Absetzferkeln bei 9%. Durch eine vorausgegangene Antibiose lässt sich der Nachweis nicht beeinflussen. Die Anwesenheit von PRRSV (EU), *P. multocida*, *Haemophilus (H.) parasuis*, *M. hyorhinis* oder *Streptococcus (S.) suis* korreliert mit einer höheren Wahrscheinlichkeit *M. hyopneumoniae* zu finden. Auch die Haltungsbedingungen der Schweine haben einen Einfluss auf die Verbreitung von *M. hyopneumoniae*. Die Seroprävalenz von *M. hyopneumoniae* und *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) korreliert positiv mit der Anzahl von Schweinen pro Bucht

im Absetzbereich, wohingegen das Absetzalter negativ mit dem Nachweis von Pleuritis korreliert. Als Risikofaktor für Pneumonie fungiert vor allem der Zukauf von Tieren (MEYNS et al., 2011). SIBILA et al. (2004) stellen fest, dass in Betrieben, in denen Abferkelung, Aufzucht und Mast in getrennten Gebäuden untergebracht sind, signifikante Unterschiede in der Häufigkeit des Nachweises der Mycoplasmen mittels nested Polymerase Chain Reaktion (nPCR), aber keine beim Antikörpernachweis gegen *M. hyopneumoniae* zu finden sind. Trotzdem gibt es abhängig vom Produktionssystem signifikante Unterschiede bei der Infektionsdynamik und den klinischen Auswirkungen der Infektion. Zudem ist die Besiedelung durch *M. hyopneumoniae* und die Serokonversion der Schweine stark vom Einfluss des einzelnen Betriebes abhängig. So stellen DIFRANCO et al. (1989) fest, dass Betriebe mit ungeeigneten Stallgebäuden, ungünstigem Management und Bezug der Ferkel von Ferkelmärkten statt direkt vom Erzeuger stärker von Enzootischer Pneumonie betroffen sind als gut geführte Betriebe und solche, die Ferkel direkt vom Erzeuger kaufen. Auch die Form der Aufstallung hat Einfluss. So finden BILIC und BILKEI (2006) bei Schweinen, die im Freien gehalten werden, weniger Antikörper und Lungenläsionen im Vergleich zu konventioneller Haltung, wenn die Tiere beim Absetzen auf die verschiedenen Haltungssysteme verteilt wurden. Dies deckt sich mit der Feststellung von VICCA et al. (2003), dass die Enzootische Pneumonie stark durch Management und Haltung beeinflusst wird, aber auch andere Faktoren wie die unterschiedliche Virulenz der *M. hyopneumoniae* Stämme eine Rolle spielen. SEGALLES et al. (2011) zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit für Schweine in der nPCR-positiv für *M. hyopneumoniae* zu sein umso größer ist, je höher der wöchentliche Niederschlag ist. Zudem sind die Schweine eher seropositiv für *M. hyopneumoniae*, je niedriger die durchschnittliche wöchentliche Außentemperatur ist. So sind im Herbst geborene Schweine (wenn der meiste Niederschlag fällt), die im Winter in die Mast gehen (wenn die niedrigsten Temperaturen gemessen werden) und im Frühling geschlachtet werden, häufiger mit *M. hyopneumoniae* infiziert und am ehesten für *M. hyopneumoniae* seropositiv.

2.4 Makroskopische und histopathologische Veränderungen der Lunge durch *M. hyopneumoniae*

Makroskopisch erzeugt eine Mycoplasmen-Pneumonie violett bis grau gefärbte, verfestigte Bereiche in den cranio-ventralen Teilen der Lunge. Hauptsächlich treten die Läsionen in den ventralen Teilen der cranialen und medialen Lungenlappen, im Lobus accessorius und in den cranio-ventralen Teilen der Hauptlappen auf. In den Atemwegen findet sich oft katarrhalisches Sekret und die regionalen Lymphknoten sind vergrößert (THACKER, 2006). Als differenziertere Befunde am Lungengewebe im Zusammenhang mit einer *M. hyopneumoniae* Infektion treten katarrhalische bronchointerstitielle Pneumonie, mit einer Infiltration von Entzündungszellen in die Lamina propria der Bronchien, Bronchiolen und der Alveolarsepten auf. Die Hyperplasie von mononukleären Zellen im Broncho Alveolar Lymphatic Tissue (BALT) ist die bedeutendste histologische Veränderung. Das BALT zeigt einen hohen morphologischen und zellulären Organisationsgrad. Die Hauptkomponenten der Keimzentren sind Makrophagen und B-Lymphozyten. T-Lymphozyten sind in erster Linie in den perifollikulären Arealen des BALT, in der Lamina propria und im Epithel der Luftwege zu finden. Plasmazellen, die IgG oder IgA enthalten, findet man in der Peripherie des BALT, in der Lamina propria der Bronchien und Bronchiolen, in den Alveolarsepten und um bronchiale Submukosadrüsen angeordnet. Das hyperplastische BALT besteht aus Makrophagen, dendritischen Zellen, T- und B-Lymphozyten und IgG+ und IgA+ Plasmazellen. CD4+ Zellen dominieren über CD8+ Zellen. Die lokale humorale Immunität scheint eine wichtige Rolle bei der Infektion zu spielen (SARRADELL et al., 2003). Auch KOBISCH und FRIIS (1996) finden die vor allem bei jungen Schweinen auftretenden Lungenläsionen charakterisiert durch eine Hyperplasie der Epithelzellen und eine gesteigerte perivaskuläre und peribronchioläre Akkumulation mononukleärer Zellen. Nach erfolgter Infektion werden Immunreaktionen beobachtet und eine Immunität wird ausgebildet. Der Zeitpunkt der Auseinandersetzung der Tiere mit dem Pathogen hat einen Einfluss auf das makroskopische Erscheinungsbild der Läsionen. So zeigen Schweine, die nahe dem Schlachtttermin serokonvertieren, das größte Ausmaß an Spitzenlappenpneumonie (mycoplasma-like catarrhal pneumonia), eine frühe Serokonversion entspricht eher einer ausgedehnten cranio-ventralen Pleuritis (ANDREASEN et al., 2001).

2.5 Pathogenese

M. hyopneumoniae gelangt nach der Übertragung zum zilienbesetzten Epithel der Atemwege und heftet sich dort an die Zilien an (ZIELINSKI und ROSS, 1993). Die Anheftung oder zumindest enge Verbindung von *M. hyopneumoniae* zum Flimmerepithel des Respirationstrakts scheint nötig zu sein, um die folgende Ziliostase, Verklumpung und den Verlust von Zilien auszulösen (DEBEY und ROSS, 1994). YOUNG et al. (2000) untersuchen invitro die Anheftung von *M. hyopneumoniae* an Zilien von porzinen Trachealepithelzellen. Ein pathogener *M. hyopneumoniae*-Stamm heftet sich an und verursacht offensichtliche Schäden, wohingegen ein nicht pathogener Stamm sich nicht an die Zilien heftet. Die Rezeptoren für *M. hyopneumoniae* auf den Zilien des Respirationstrakts von Schweinen sind in erster Linie Glycokonjugate (ZHANG et al., 1994). Die Anheftung von *M. hyopneumoniae* an Zilien kann durch Inkubation mit Serum rekonvaleszenter Tiere nur bei geringen Konzentrationen des Serums und selbst dann auch nur partiell gehemmt werden (ZIELINSKI und ROSS, 1993). Bei der Infektion mit *M. hyopneumoniae* sind die Schweine nicht nur durch Zerstörung des Epithels, sondern auch durch die Verursachung von atemwegsverengenden Läsionen durch lymphohistiozytäre Infiltrate, durch die Produktion von zähem, dickem Schleim und Modulation des Immunsystems für Infektionen mit Sekundärerregern prädisponiert (MAES, 2010). Die Kolonisierung der Atemwege mit *M. hyopneumoniae* resultiert in einer signifikanten Reduktion der mucozilären Clearance, die normalerweise die Atemwege von Ablagerungen und eindringenden Pathogenen, vor allem von Bakterien befreit. Dies ist ein wichtiger Mechanismus für die gesteigerte Besiedelung der Atemwege mit Bakterien wie *P. multocida*, *Bordetella (B.) bronchiseptica*, APP, *Actinobacillus (A.) pyogenes* und weiteren. Die Kombination mit viralen Pathogenen des Respirationstraktes, wie PRRSV und PCV2 spielt ebenso eine Rolle (THACKER, 2006). YANG et al. (2005) führen Phage-display durch, um die Epitopstrukturen von *M. hyopneumoniae* zu entschlüsseln und zeigen, dass die Mykoplasmen-Proteine 97kDa, 56kDa, 30kDa, 23kDa eine wichtige Rolle bei der Immunantwort spielen. Ein weiteres wichtiges immundominantes Oberflächenlipoprotein von *M. hyopneumoniae* ist das Protein P65. Es tritt vor allem während der Erkrankung des Tieres auf der Oberfläche des Erregers in Erscheinung. Bei diesem Protein beobachten SCHMIDT et al. (2004) Esterase- und Lipase-Aktivität und stellen fest,

dass Kaninchen-Anti-p65-Antikörper das Wachstum von *M. hyopneumoniae* hemmen. Die physiologische und/oder pathogene Rolle dieser lipolytischen Enzyme von *M. hyopneumoniae* wird nicht erfasst, aber sie spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle im Nährstoffbedarf von *M. hyopneumoniae* für langkettige, gesättigte Fettsäuren und können die Funktion des Surfactant bei Mykoplasmen-induzierter Pneumonie reduzieren. Nicht nur an den Zilien des Bronchialepithels treten Veränderungen auf, auch beinhalten Bronchien und Bronchioli infizierter Schweine in allen Stadien der Infektion weniger Becherzellen als gleichaltrige Kontrollschweine. Diese Becherzellen infizierter Schweine enthalten zudem signifikant weniger Mucin und Sialomucin und signifikant mehr Sulfomucin als Becherzellen von Kontrollen. Die höheren Werte an Sulfomucin in den Bronchial-Becherzellen könnten die veränderte Glycoproteinproduktion oder Sekretion als Antwort auf die Infektion mit *M. hyopneumoniae* widerspiegeln (DEBEY et al., 1992).

2.6 Virulenzfaktoren

M. hyopneumoniae weist eine große antigenetische Vielfalt auf, die zuerst durch FREY et al. (1992) festgestellt und später durch ARIUSHIN und MINION (1996) und KOKOTOVIC et al. (1999) bestätigt wurde. Neuere Untersuchungen zeigen außerdem Unterschiede in der Virulenz verschiedener Feldstämme von *M. hyopneumoniae*. Es können auch signifikante Unterschiede hinsichtlich Respiratory Disease Score, Lungenscore, Histopathologie, Immunfluoreszenz und Serologie zwischen den verschiedenen Stämmen festgestellt werden. Zudem findet sich ein typisches 5000 Basenpaar (bp) Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fragment bei hochgradig und mittelgradig virulenten Stämmen, welches bei wenig virulenten Stämmen fehlt (VICCA et al., 2003). Laut SCARMAN et al. (1997) produzieren zwar mehrere verschiedene *M. hyopneumoniae*-Stämme gleiche Protein- und Antigenprofile im SDS-PAGE ELISA, aber aufgrund der Abweichungen eines untersuchten Stammes, der zudem wenig immunogen ist, besitzen wohl einige Stämme ein strukturell modifiziertes Repertoire an Antigenen.

2.7 Immunantwort

Zelluläre Botenstoffe treten bei einer Infektion mit *M. hyopneumoniae* in veränderter Zusammensetzung auf. So geht ein signifikanter Anstieg der Expression von Zytokinen (IL-1alpha, IL-1beta, IL-8, TNF-alpha und INF-gamma) und Lymphoid-Markern (CD4+, CD8+, Muramidase, IgG+, IgA+) einher mit den histopathologischen Veränderungen, wie Exsudaten in Luftwegen und Alveolarlumina, peribronchialer und peribronchiolärer, lymphoider Hyperplasie und Vergrößerung der Alveolarsepten, die von Tag 7 bis 28 nach der Infektion auftreten (REDONDO et al., 2009). Auch laut CHOI et al. (2006) scheinen die Zytokine Interleukin-1, TNF-alpha und Interleukin-6 bei der Entstehung und Regulation der Entzündungsreaktionen eine Rolle zu spielen, da sie bei *M. hyopneumoniae* infizierten Lungen ausgebildet werden, bei nicht Infizierten dagegen nicht. Des Weiteren stellen sie fest, dass die Zytokine bis Tag 21 nach der Infektion ansteigen, danach fallen ihre Werte wieder ab. Die Produktion dieser proinflammatorischer Zytokine steigert die Entzündungsreaktion der Lunge, was wiederum die Fähigkeit des respiratorischen Immunsystems, andere Pathogene im Respirationstrakt zu bekämpfen, reduziert. Obwohl die Entzündungsantwort wichtig für die Abwehr des Pathogens ist, scheinen die Gewebeschäden und das Ausmaß der Erkrankung mehr von der Immunantwort des Wirts selbst als vom Erreger verursacht zu sein (THACKER, 2006).

2.8 Durch *M. hyopneumoniae* verursachte Krankheitsbilder

Eine alleinige Infektion mit *M. hyopneumoniae* wird als Mycoplasmen-Pneumonie bezeichnet. Da meist auch diverse andere ätiologische Agentien, wie *P. multocida*, *S. suis*, *H. parasuis* oder APP im Krankheitskomplex eine Rolle spielen, wird der Begriff Enzootische Pneumonie am häufigsten bei bakteriellen Sekundärinfektionen verwendet. Die Bezeichnung PRDC findet bei einer Co-Infektion mit PCV2, PRRSV oder SIV Anwendung (THACKER, 2006). Mycoplasma-Induced Respiratory Disease (MIRD) wird dagegen der gesamte auch von Umweltfaktoren beeinflusste Krankheitskomplex bezeichnet (SELBITZ, 2007). Die durch Mycoplasmen verursachte Pneumonie stellt sich als eine chronische Erkrankung mit hoher Morbidität und niedriger Mortalität dar. Sie ist klinisch durch einen trockenen, unproduktiven Husten charakterisiert, wobei dessen An- oder Abwesenheit vom

einzelnen Tier abhängt. Die Tiere wachsen nicht und die Futtermittelaufnahme ist reduziert (THACKER, 2006). Weitere klinische Symptome wie Fieber, verminderter Appetit, forcierte Atmung oder Erschöpfung treten in der Regel erst bei Sekundärinfektionen auf (THACKER, 2006; SELBITZ, 2007). Die klinische Symptomatik tritt allmählich im Bestand auf und bleibt über Wochen und Monate bestehen (THACKER, 2006). Experimentell können 7-14 Tage nach der Infektion klinische Symptome beobachtet werden, bei einer natürlichen Infektion ist der Ausbruch der Erkrankung allerdings weit weniger vorhersehbar (VICCA et al., 2002). Bei der klinischen Untersuchung ist in- und expiratorisch eine deutlich bronchial verschärfte Atmung, oft auch begleitet von Rasseln oder Giemen festzustellen (HEINRITZI, 2006). THACKER (2001) stellt fest, dass die beiden häufigsten Pathogene des PRDC, PRRSV und *M. hyopneumoniae*, beide die Fähigkeit des respiratorischen Immunsystems auf sie selbst oder andere Pathogene zu reagieren, verändern. Durch diesen Eingriff in das respiratorische Immunsystem erhöhen diese beiden verbreiteten Pathogene die Empfänglichkeit für die vielen weiteren Pathogene, die mit PRDC assoziiert sind. Außerdem werden eine durch PRRSV hervorgerufene Erkrankung und die entsprechenden Lungenläsionen durch *M. hyopneumoniae* potenziert. So zeigen *M. hyopneumoniae* infizierte Tiere mit nur minimalen oder nicht feststellenden Mykoplasmen-Pneumonien signifikant schwerere PRRSV-Pneumonien als Tiere, die im Vergleich nur mit PRRSV infiziert sind (THACKER et al., 1999). OPRIESSNIG et al. (2004) kommen zu dem Schluss, dass durch Koinfektionen mit *M. hyopneumoniae* PCV2-assoziierte Lungen- und Lymphgewebsläsionen verschlimmert werden, und auch das Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) deutlich häufiger auftritt. Mit beiden Erregern infizierte Schweine zeigen moderate Dyspnoe, Lethargie und verringerte Zunahmen. Außerdem sind die makroskopischen Lungenveränderungen, PCV2-assoziierte Lungen- und Lymphgewebsläsionen pathohistologischer Art und auch die Menge des PCV2-Antigens in diesen Veränderungen signifikant erhöht. Bakterielle Erreger verkomplizieren die Infektion ebenfalls. CIPRIAN et al. (1994) stellen fest, dass *M. hyopneumoniae* alleine eine milde Pneumonie verursacht, dagegen eine zusätzliche Infektion mit *P. multocida* die durch *M. hyopneumoniae* ausgelöste Pneumonie verschlimmert. AMASS et al. (1994) kommen in ihren Untersuchungen ebenfalls zu diesem Schluss und zeigen zudem, dass *M. hyopneumoniae* geimpfte, beziehungsweise nach Infektion rekonvaleszente Tiere resistent gegen eine Infektion

mit *P. multocida* sind. Weitere Erreger spielen eine wichtige Rolle. So stellen MAROIS et al. (2009) fest, dass eine alleinige Infektion mit *M. hyopneumoniae* zwar typische Symptome hervorruft, eine zusätzliche Infektion mit APP verkompliziert die Erkrankung jedoch. Am stärksten sind Symptome und Lungenveränderungen ausgeprägt, wenn die Infektion mit *M. hyopneumoniae* im Alter von 6 Wochen und die Infektion mit APP 4 Wochen später erfolgt. Endoparasiten müssen ebenfalls Beachtung finden, denn STEENHARD et al. (2009) zeigen, dass experimentelle Infektionen mit *Ascaris (A.) suum* signifikant den Impferfolg gegen *M. hyopneumoniae* beeinträchtigen. Die mit *A. suum* infizierten Tiere weisen deutlich mehr Lungenveränderungen auf, zudem wird eine Th2-abhängige Immunantwort auf *A. suum* vermutet. PALZER et al. (2008) untersuchen den Zusammenhang verschiedener Pathogene bei Pneumonien und Bronchopneumonien. Sie weisen PRRSV(US), PRRSV(EU), PCV2, *Influenza Virus Typ A*, α -hämolyisierende *Streptokokken-Spezies*, β -hämolyisierende *Streptokokken-Spezies*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis* und APP häufiger aus den Lungen von respiratorisch auffälligen Tieren nach, als bei Schweinen ohne klinische Symptome. Außerdem stellen sie fest, dass α -hämolyisierende *Streptokokken* und *M. hyopneumoniae* oft mit der Anwesenheit von *M. hyorhinis*, PRRSV(EU), *P. multocida* und *B. bronchiseptica* assoziiert sind. *P. multocida* und *B. bronchiseptica* treten signifikant häufiger im Zusammenhang mit *M. hyopneumoniae*, α -hämolyisierenden *Streptokokken*, EU-PRRSV und US-PRRSV auf. Bestimmte unbelebte Faktoren, wie hohe Besatzdichte, schlechte Ventilation, niedrige Temperaturen oder starke Temperaturunterschiede, feuchte oder schlecht gedämmte Böden, Zugluft und hohe Schadgasgehalte beeinflussen die Ausprägung der Erkrankung zusätzlich (HEINRITZI, 2006).

2.9 Diagnostik

2.9.1 Kultureller Nachweis

Die klinischen Symptome, die makroskopischen und die mikroskopischen Läsionen sind nicht spezifisch für eine Mycoplasmen-Pneumonie. Des Weiteren ist auch die Isolation und Anzucht von *M. hyopneumoniae* teuer, schwierig und unpraktisch, so dass auch die Kultur nicht als diagnostische Maßnahme empfohlen werden kann (THACKER, 2006). Wenn ein Nachweis über eine Kultivierung angestrebt wird,

müssen für die Kultur speziell angereicherte Nährmedien verwendet werden, denen antibiotische Zusätze, wie Penicilline, zugesetzt sind, um Bakterienwachstum zu hemmen (FRIIS, 1975). Bei der Anzüchtung wächst *M. hyopneumoniae* schließlich auch im Vergleich zu anderen Mycoplasmen langsam und erzeugt im Nährmedium eine Trübung und einen sauren Farbumschlag 3 bis 30 Tage nach Beimpfung desselben. Bei Beimpfung von Agargelplatten in einer 5 bis 10% Kohlenstoffdioxid Atmosphäre erscheinen nach 2 bis 3 Tagen kaum sichtbare Kolonien (THACKER, 2006). MAROIS et al. (2007) stellen fest, dass bei der Probenentnahme für die Anzüchtung von *M. hyopneumoniae* Tachealtupfer und tracheobronchioläre Lavage besser geeignet sind als Nasen- oder Tonsillentupfer. HENNIG-PAUKA et al. (2007) stellen ebenfalls Untersuchungen zu diesem Thema an und betrachten die bronchoskopische und die transtracheale Lavage als besser geeignet für bakteriologische und zytologische Diagnostik als die endotracheale Lavage. Die wenigsten Epithelzellen und die wenigsten kontaminierenden Bakterien finden sich bei der transtrachealen Spülung. Laut HEINRITZI et al. (2003) eignet sich auch eine Lungenbiopsie zur Probenentnahme für die Kultur. In einer Studie von HILTERMANN-LINDEN (2004) erweist sich die kulturelle Untersuchung auf *M. hyopneumoniae* als ineffizient, da allein 53% der entnommenen Lungenproben durch Kontamination mit anderen Keimen nicht auszuwerten waren.

2.9.2 Nachweis über PCR

Da *M. hyopneumoniae* schwer zu kultivieren ist, nutzt man molekulare diagnostische Methoden. Als Basis des Nachweises werden ribosomale RNA-Moleküle verwendet. Die PCR im Speziellen nutzt spezifische Oligonucleotidprimer auf der Basis von DNA-DNA-Hybridisierungen. Die Vorteile dieser Methode liegen in der Automatisierbarkeit, der Schnelligkeit, der Sensitivität und Spezifität und der Unabhängigkeit vom Immunstatus. Als Nachteile sind hohe Kosten, Störanfälligkeit und der Nachweis bereits toter Erreger anzuführen (KRÜGER und SEIDLER, 2007). Allerdings scheinen PCR-Testsysteme, die mit nur einem Set von Primern arbeiten, nicht sensitiv genug zu sein um geringe Zahlen von *M. hyopneumoniae* zu erkennen. Deshalb werden von diagnostischen Labors meist nested PCR-Testsysteme verwendet, die zwei Sets von Primern nutzen und vier bis fünf Mikroorganismen erkennen können (THACKER, 2004). Auch CALSAMIGLIA et al. (1999) kommen zu

diesem Schluss, außerdem finden bei der nested PCR weniger Kreuzreaktionen mit anderen Mycoplasmen-Spezies statt. HENNIG-PAUKA et al. (2007) stellen fest, dass PCR in Kombination mit bronchoskopischer Lavage die höchste diagnostische Sensitivität hat. FABLET et al. (2010) belegen, dass tracheo-bronchioläre Tupfer und Lavage in Kombination mit nested PCR die sensitivsten Nachweismethoden für den *M. hyopneumoniae* Nachweis an lebenden, natürlich infizierten Schweinen sind. Tracheo-bronchioläre Tupfer steigern die diagnostische Genauigkeit. Sie sind 3,5x sensitiver als herkömmliche Nasentupfer, die üblicherweise in Schweinebetrieben Verwendung finden. MOORKAMP et al. (2010) zeigen, dass bei Ferkeln mit Nachweis von *M. hyopneumoniae* in BALF mittels nested PCR typische pathologische Veränderungen mit höherer Wahrscheinlichkeit erwartet werden können, als bei negativem nested PCR Befund.

2.9.3 Nachweis mit Immunfluoreszenz und Immunhistochemie

Zum Nachweis von *M. hyopneumoniae* kann auch Immunfluoreszenz (IF) oder Immunhistochemie (IHC) verwendet werden. Um *M. hyopneumoniae* mit IF nachzuweisen muss allerdings gefrorenes Gewebe verwendet werden, was das Sammeln von Proben in Betrieben oft erschwert. Die IHC nutzt fixierte Gewebeproben, dadurch erleichtert sich die Probennahme auf dem Betrieb. Es ist allerdings von entscheidender Bedeutung, dass die Proben, die für die IHC gesammelt werden, Luftwege mit zilienbesetzten Epithelzellen enthalten, damit *M. hyopneumoniae* nachgewiesen werden kann (THACKER, 2006). Nach MOORKAMP et al. (2010) ist die IHC mit dem in ihrer Studie eingesetzten monoklonalem Antikörper ein geeignetes ergänzendes Untersuchungsverfahren, aber keine Alternative zu dem direkten Nachweis von *M. hyopneumoniae* mittels nPCR. Eventuell waren in der Studie nicht alle Feldstämme mit dem verwendeten monoklonalen Antikörper nachweisbar. Laut HILTERMANN-LINDEN (2004) zeigt sich die IF verglichen mit dem Chekit[®]-Hyoptest II, einem Tween 20 ELISA, bei typisch verändertem Lungengewebe überlegen.

2.9.4 Serologischer Nachweis

Obwohl für die Einzeltierdiagnostik von geringerem Wert, wird für die Bestandsdiagnostik häufig auf serologische Methoden zurückgegriffen. Sowohl Serum, als auch Kolostrum kann hierfür verwendet werden. In erster Linie werden indirekte oder blocking ELISA-Testsysteme genutzt (SELBITZ, 2007). So eruieren auch SIBILA et al. (2009) ELISA und PCR neben der Post-Mortem Untersuchung am Schlachtband oder der Pathologie als die häufigsten Methoden, um eine potentielle Beteiligung von *M. hyopneumoniae* an einer Erkrankung des Atmungstrakts festzustellen. In den USA gibt es drei ELISA-Testsysteme, zwei indirekte, den Tween-20 Assay und den HerdChek[®] *Mycoplasma hyopneumoniae* ELISA (Idexx Laboratories, Westbrook, Maine) und einen blocking ELISA, den DAKO[®] *Mycoplasma hyopneumoniae* ELISA (DAKO Corporation, Carpinteria, California), der auf einem antigenen internem Protein basiert (THACKER, 2004). THACKER (2004) stellt fest, dass ELISA-Testsysteme eine exzellente Spezifität haben. Sie produzieren somit eine sehr geringe Rate an falsch positiven Ergebnissen. Die Sensitivität hingegen ist niedrig, sie beträgt zwischen 37% und 49%. Dies resultiert in einem hohen Prozentsatz falsch negativer Ergebnisse. Der DAKO-ELISA findet am zuverlässigsten infizierte Schweine. Die niedrige Sensitivität der ELISA-Testsysteme kann teilweise darauf zurückgeführt werden, dass *M. hyopneumoniae* die Luftwege besiedelt, in geringem Kontakt zum systemischen Immunsystem steht und deshalb relativ unterschiedliche serologische Ergebnisse liefert. HILTERMANN-LINDEN (2004) vergleicht vier ELISA-Testsysteme zum Nachweis von Antikörpern in denselben Proben. Die ELISA-Testsysteme, Chekit[®]-Hypotest I und II nach Dr. Bommeli, DAKO[®] *Mycoplasma hyopneumoniae* und ein ELISA der Tierärztlichen Hochschule Hannover, bestätigten wiederum ihre Eignung für die Herdendiagnostik, aber nicht für die Einzeltierdiagnostik. Auch finden sie chronisch infizierte Tiere nicht zuverlässig. Es ist auch keine Korrelation zwischen den ELISA-Ergebnissen und den Lungenveränderungen der Schweine festzustellen. THACKER (2004) zeigt, dass die verschiedenen Assays unterschiedlich gut Antikörper nachweisen können, die nach experimenteller Infektion von Schweinen mit verschiedenen Feldstämmen von *M. hyopneumoniae* entstehen. THACKER (2004) beschreibt zudem die Serologie allein als nicht gut geeignet, einen negativen Herdenstatus zu bestätigen, wohingegen die PCR üblicherweise nicht benötigt wird, um den Zeitpunkt für Impfung oder Therapie festzulegen. Dieser sollte auf dem Auftreten klinischer Symptome

basieren. Der Western Blot Immunoassay (WBI) ist ein nützlicher Bestätigungstest, um mit kommerziellem ELISA gescreente Proben zu bestätigen (AMERI et al., 2006).

2.10 Bekämpfungsmöglichkeiten

2.10.1 Vakzine

Um die Klinik zu minimieren werden häufig Totimpfstoffe gegen *M. hyopneumoniae* eingesetzt, die aus dem kompletten Organismus oder aus Membranteilen desselben bestehen und jeweils mit Adjuvans versetzt sind (THACKER, 2006). So evaluieren DAWSON et al. (2002) die Sicherheit und Verträglichkeit eines One-Shot *M. hyopneumoniae* Impfstoffs für den Einsatz im Alter von drei bis fünf Wochen und erreichen durch die Impfung signifikant höhere durchschnittliche tägliche Zunahmen und signifikant niedrigere Lungenscores. Außerdem stellt sich der Impfstoff als sicher hinsichtlich systemischen oder lokalen Reaktionen dar. Laut SIUGZDAITE et al. (2003) werden durch die Impfung nicht nur Tageszunahmen und Gewicht am Ende der Mast erhöht, sondern verbessert sich auch die Fleischqualität und erhöht sich der Magerfleischanteil. Außerdem sind in dieser Untersuchung die Antikörper, die zwei Wochen nach der zweiten Impfung (1. und 3. Lebenswoche) gebildet werden, bis zum Schlachtermin nachweisbar. In einer Untersuchung von KYRIAKIS et al. (2001) besteht ein Unterschied bei Zunahmen, Futtermittelverwertung und Lungenscore bei verschiedenen Impfzeitpunkten. So steigert sich die Futtermittelverwertung im Vergleich zur Kontrolle bei an Lebenstag 3 und 25 geimpften Tieren um 13% und bei den nur einmal am Lebenstag 70 geimpften Tieren um 5%. MEYNS et al. (2006) stellen allerdings fest, dass die Impfung die Infektion mit *M. hyopneumoniae* nicht verhindern kann und sich auch die Übertragungsrate zwischen Buchtengenossen nicht signifikant reduziert. Auch PIETERS et al. (2010) zeigen, dass die Impfung die Kolonisation von Sentinel-Tieren bei Kontakt mit infizierten Schweinen nicht verhindert. Die Übertragungsrate auf geimpfte in Gegensatz zu nicht geimpften Tieren unterscheidet sich ebenfalls nicht. Auch laut VILLARREAL et al. (2010a) wird durch die Vakzination die Übertragung des Pathogens nicht signifikant reduziert. REYNOLDS et al. (2009) kommen zu dem Schluss, dass weniger Lungenläsionen im Vergleich zu Ungeimpften nicht nur bei seronegativ geimpften Tieren, sondern auch bei seropositiv geimpften Tieren auftreten. Um die erfolgte Impfung der Tiere zu

überprüfen, kann laut WALDERS et al. (2005) eine Marker-Technologie eingesetzt werden, bei der die Vakzine mit einem Peptid-Keyhole-Limpet-Hemocyanin-(KLH) Konjugat versetzt wird und die Tiere anschließend für beides serokonvertieren. Die Anwesenheit von PRRSV, ob von einer Infektion oder von einer Lebendvakzine stammend, während, oder kurz nach der Impfung ist nach THACKER et al. (2000) ein Hauptgrund für eine signifikant reduzierte Wirksamkeit von *M. hyopneumoniae*-Impfstoffen. Laut VILLARREAL et al. (2010a) reduziert die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* bei mit zwei verschiedenen *M. hyopneumoniae* Stämmen infizierten Tiergruppen signifikant die Schwere der Erkrankung und ist auch in der mit dem weniger virulenten *M. hyopneumoniae*-Stamm infizierten Tiergruppe förderlich, auch wenn die Effekte weniger bedeutend sind. Die positiven Effekte einer Impfung lassen sich mit einfachen Mitteln weiter steigern. So stellt GUILMOTO (2010) fest, dass, über einen Zeitraum von sechs Jahren betrachtet, nach dem Optimieren des Zeitpunkts und der Qualität der Impfung eine deutliche Verbesserung der Mortalität, der Lungenscores und des Gewichts am Beginn und Ende der Mast zu sehen ist. Auch andere Applikationsformen als die intramuskuläre Injektion werden evaluiert. PANAGIOTIS et al. (2010) untersuchen die Wirkung einer einmaligen, nadellosen Injektion eines *M. hyopneumoniae* Impfstoffs bei Schweinen in Alter von vier Wochen und kommen zu dem Schluss, dass mit dem nadellosen Injektionsgerät IDAL[®] (Intervet International B.V., Boxmeer, Niederlande) Lungenläsionen und Pleuritis am Schlachthof signifikant reduziert werden und die durchschnittlichen Tageszunahmen signifikant zunehmen. ELICKER und SIPOS (2009) stellen Untersuchungen zur Gewebeverträglichkeit von Vakzinen gegen *M. hyopneumoniae* an und finden heraus, dass die lokalen Gewebereaktionen bei Verabreichung von verschiedenen Vakzinen in erster Linie vom Injektionsvolumen und vom verwendeten Adjuvans abhängen. Das Alter der Tiere hingegen spielt eine untergeordnete Rolle.

2.10.2 Bekämpfungsprogramme

Eine effektive Vorbeugung und Bekämpfung von Mycoplasmen-Pneumonie, Enzootischer Pneumonie oder PRDC basiert prinzipiell darauf, optimale Umweltbedingungen für die Schweine anzubieten. Dies impliziert geeignete Luftqualität, Belüftung, Umgebungstemperatur und eine angemessene Tierzahl auf der vorhandenen Fläche. Managementfaktoren wie Rein-Raus-Systeme, Medicated

Early Weaning (MEW) Programme und ein Aufteilen der verschiedenen Alters- und Produktionsgruppen auf mehrere Betriebe unterstützen die Bekämpfung von *M. hyopneumoniae* ebenfalls (THACKER, 2006). Nach MAES et al. (2008) kann neben der Optimierung von Management und Unterbringung auch der strategische Einsatz von Antibiotika gegen *M. hyopneumoniae* und bestenfalls auch gegen die wichtigsten Sekundärerreger zu Zeiten sinnvoll sein, in denen die Tiere besonders gefährdet für Erkrankungen des Respirationstrakts sind. SIBILA et al. (2004) zeigen, dass in Betrieben, in denen Abferkelung, Aufzucht und Mast in getrennten Gebäuden untergebracht sind, signifikante Unterschiede in der Häufigkeit des nested PCR Nachweis der Mycoplasmen, aber keine beim Antikörpernachweis gegen *M. hyopneumoniae* zu finden sind. Trotzdem gibt es, abhängig vom Produktionssystem, signifikante Unterschiede bei der Infektionsdynamik und den klinischen Auswirkungen der Infektion. Zudem ist die Besiedlung durch *M. hyopneumoniae* und die Serokonversion der Schweine stark vom Einfluss des einzelnen Betriebs abhängig. Laut MEYNS et al. (2011) ist der Zukauf von Tieren als Hauptrisikofaktor für das Auftreten von Pneumonie zu sehen.

Um *M. hyopneumoniae* aus dem Betrieb zu eradikieren, eignet sich das Specific Pathogen Free (SPF) Verfahren, das zwar hohe Kosten verursacht, aber gesundheitlich hochwertige Sauen und Eber für Betriebe auf der Zuchtstufe liefern kann. Die Bestände werden durch isolierte Aufzucht von Ferkeln, die durch Hysterektomie oder Hysterotomie frei von spezifischen Pathogenen sind, neu aufgebaut (GINDELE, 2006). MEW, Segregated Early Weaning (SEW) und Isolated Early Weaning (ISOWEAN) sind Verfahren, die durch sehr frühes Absetzen der Ferkel im Alter zwischen 10 und 21 Tagen die Ansteckung der Ferkel durch die Sau verhindern sollen. Bei gut immunisierten Muttertieren mit guter Milchleistung und einer anschließenden vom Bestand isolierten Aufzucht kann die Infektionskette unterbrochen werden. Allerdings ist zu beachten, dass in Deutschland ein Absetzen vor dem 21. Lebenstag verboten ist (GINDELE, 2006). Beim MEW werden die Sauen am 110. Trächtigkeitstag in die Abferkelbuchten eingestallt und vor dem Abferkeln und während der ganzen Laktation mit Tiamulin und Trimethoprim-Sulfonamid behandelt. Die Ferkel werden fünf Tage bei der Mutter belassen und von der Geburt bis zum 10. Lebenstag mit derselben Wirkstoffkombination behandelt und anschließend in gesonderten Isolierställen aufgezogen (ALEXANDER et al., 1980). Bei der Teilsanierung werden über einem Zeitraum von 14 Tagen nur trächtige

Sauen und Eber im Betrieb gehalten und alle anderen Tiere entfernt. Jungtiere die jünger als zehn Monate sind, werden als Hauptinfektionsquelle betrachtet. Außerdem wird für diese Zeit den verbliebenen Tieren eine Antibiose über das Futter verabreicht. Der Betrieb wird weiterhin klinisch überwacht, die Lungen kontrolliert und Blut oder Kolostrum serologisch untersucht. Dies ist deutlich weniger kostenintensiv als eine Totalsanierung und die so erzeugten Tiere können *M. hyopneumoniae* nicht mehr auf SPF-Tiere übertragen (ZIMMERMANN et al., 1989). In Norwegen wird erfolgreich die Eradikation von *M. hyopneumoniae* durch eine Kombination aus Aufstallung getrennt nach Alter und Medikation, und in Mastbetrieben durch Depopulation und Repopulation betrieben. Die wichtigste Entscheidung für das Gelingen ist, in den Kern- und Vermehrungsbetrieben mit der Eradikation zu beginnen. Eine geringe Schweinedichte, die geringe Größe der Betriebe, geographische Gegebenheiten, gut organisierte Märkte und strikte Regionalisierung bei der Eradikation sind weitere wichtige Faktoren. 1994 wurden 12% der Herden als positiv eingeordnet. 2009 wurden alle getesteten Schweine negativ für *M. hyopneumoniae* bewertet. Für die norwegische Schweineindustrie, die ca. 1,5 Millionen Schweine pro Jahr schlachtet, bedeutet die Freiheit von *M. hyopneumoniae* grob geschätzt einen Gewinn von 1-2,5 Millionen Euro pro Jahr (LIUM et al., 2010). GEIGER und GROTH (2010) beschreiben die erfolgreiche Elimination von *M. hyopneumoniae* aus einem geschlossenen 3800 Sauen System mit Hilfe mehrerer Schlüsselfaktoren: *M. hyopneumoniae*-Vakzination der kompletten Sauenherde, Belegungen und Abferkelungen auch während des Eliminationsprozesses, Nutzung von mindestens zweimal geferkelten Sauen, bevor diese durch *M. hyopneumoniae* naive Tiere ersetzt werden, Lincomycin im Tränkwasser in der Aufzuchtherde, Tulathromycin-Injektion der Ferkel bei der Geburt und elf Tage später und Depopulation von Flatdeck- und Mastgebäuden vor dem Einstellen *M. hyopneumoniae* negativer Schweine. HEINONEN et al. (2011) beobachten ebenfalls, dass die Eradikation von *M. hyopneumoniae* aus einem Mastbestand mit 3243 Schweinen auch ohne totale Depopulation möglich ist. Dafür müssen allerdings getrennte Belüftung und getrennte Güllekanäle in verschiedenen, positiven und negativen Stallabteilen, Impfung zugekaufter *M. hyopneumoniae* negativer Tiere und Medikation restlicher *M. hyopneumoniae* positiver Tiere eingehalten werden. YESKE (2010) vergleicht verschiedene Systeme mit und ohne Medikation und kommt zu dem Schluss, dass der Aufbau eines geschlossenen

Betriebs in Kombination mit Medikation erfolgreicher ist als die alleinige Medikation mit Tulathromycin, auch wenn beide Methoden über die Zeit als erfolgreich anzusehen sind. Jedoch dauert es länger alleine durch Aufbau eines geschlossenen Betriebs *M. hyopneumoniae* negative Schweine zu bekommen und abhängig vom ökonomischen Vorteil ist häufig die Medikation der Herde attraktiver.

2.10.3 Antibiotische Behandlung

Der Einsatz von Antibiotika gegen *M. hyopneumoniae* dient der Kontrolle der Erkrankung, er erbringt aber keine Erregerfreiheit und auch schon bestehende Lungenläsionen bleiben unbeeinflusst (THACKER, 2006). Laut NATHUES et al. (2010) beeinflusst eine Antibiose bei Saugferkeln und Absetzferkeln den Nachweis von *M. hyopneumoniae* im Lungengewebe von diesen Tieren nicht. LE CARROU et al. (2006) zeigen, dass die Behandlung mit Marbofloxacin trotz Gewebepenetration, vor allem der Trachea und der trachealen Sekrete, keinen Einfluss auf den Nachweis von *M. hyopneumoniae* aus Nasentupfern hat. Da *M. hyopneumoniae* ein zellwandloser Erreger ist, sind Antibiotika, die mit der Zellwandsynthese interagieren, wie Penicillin, Ampicillin, Amoxicillin und Cephalosporin wirkungslos (THACKER, 2006). THONGKAMKOON et al. (2010) stellen an thailändischen *M. hyopneumoniae* Stämmen fest, dass Pleuromutiline, im Speziellen Valnemulin und Tiamulin die niedrigsten Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) aufweisen und offensichtlich die effektivsten Therapeutika zur Kontrolle von *M. hyopneumoniae* sind. Doxycycline, Enrofloxacin, Lincomycin und Florfenicol zeigen deutlich höhere MIC's. Allerdings müssen invitro Untersuchungen über die Wirksamkeit von Antibiotika vorsichtig beurteilt werden, da die Wirksamkeit aufgrund der Lokalisation von *M. hyopneumoniae* auf den Zilien der Luftwege beeinflusst sein kann. Um gut wirksam zu sein, müssen ausreichende Werte im Mucus und sonstigen Flüssigkeiten des Respirationstrakts erreicht werden (THACKER, 2006). Auch in Feldstudien ist es schwierig die Wirkung von Antibiotika auf *M. hyopneumoniae* richtig einzuschätzen, da die Schweine meist mit mehreren verschiedenen Erregern infiziert sind. *M. hyopneumoniae* tritt oft erneut in Erscheinung, nachdem die medikamentöse Behandlung abgeschlossen wurde. Da oft auch Sekundärinfektionen auftreten, müssen teilweise mehrere Antibiotika verwendet werden, um die verschiedenen Atemwegspathogene zu bekämpfen (THACKER, 2006). STIPKOVITS et al. (2001)

vergleichen verschiedene Fütterungsantibiotika und kommen nach Beurteilung von klinischen Parametern, makroskopischen, histologischen und mikrobiologischen Befunden zu dem Ergebnis, dass Valnemulin in Kombination mit Chlortetracyclin am Besten wirken, gefolgt von Tetramutin und Tilmicosin und schließlich die Kombination aus Lincomycin und Chlortetracyclin. NAKANISHI et al. (2010) bestätigen in Japan die gute klinische Wirkung von Valnemulin aufgrund höherer Zunahmen, weniger nachgewiesener Erreger in der Lunge und Reduktion der Lungenläsionen fest. STAKENBORG et al. (2005) zeigen, dass bereits in Erscheinung tretende Resistenzen gegen Makrolide (Erythromycin, Tylosin, Clindamycin, Azithromycin, Clarithromycin) und Lincosamide (Lincomycin) unter Feldbedingungen bei *M. hyopneumoniae* aufgrund einer 23S rRNA Mutation auftreten. Laut NUTSCH et al. (2005), NANJIANI et al. (2005) und JOHNSON und HOOVER (2010) bewährt sich Tulathromycin (Triamilid-Antibiotikum) in Feldstudien auch bei Ausbrüchen des übergeordneten Krankheitskomplexes Swine Respiratory Disease (SRD), dem zusätzlich zu *M. hyopneumoniae* auch APP, *P. multocida* und *H. parasuis* zuzuordnen sind. HAMMER et al. (2010) kommen zu dem Schluss, dass Tiamulin über zwei Wochen dem Futter beigemischt, sowohl in einer Dosis von 165ppm als auch mit 137,5ppm zu einer signifikanten Reduktion der Lungenläsionen und einer Reduktion der Hustenrate führt, was von klinischem Nutzen für infizierte Schweine ist. VICCA et al. (2005) stellen fest, dass Tylosin, drei Wochen lang über das Futter verabreicht, den Score für Atemwegserkrankungen und die Lungenläsionen von Schweinen, die mit *M. hyopneumoniae* infiziert wurden, reduziert. MATEUSEN et al. (2002) vergleichen die Behandlung mit Lincomycin, die Vakzination gegen *M. hyopneumoniae* und die Behandlung mit Lincomycin kombiniert mit einer Vakzination und stellen fest, dass bei allen Behandlungsschemata eine bessere Futtermittelverwertung und höhere Tageszunahmen im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe auftreten, aber untereinander unterscheiden sich die Behandlungsschemata nicht signifikant. Auch klinische Symptome, Serologie, Pathologie und Mortalität differieren hierbei nicht signifikant.

2.11 Immunologie

2.11.1 Allgemeine Immunreaktionen

Bei der Mycoplasmen-Pneumonie spielen vor allem mukosale Antikörper, Entzündungsmediatoren und zell-mediierte Immunantworten eine wichtige Rolle. So führt die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* mit anschließender Infektion zu einer lokalen mukosalen Immunantwort im Atmungstrakt von Schweinen und zur Sekretion von *M. hyopneumoniae*-spezifischen Antikörpern. Außerdem wird die Produktion von *M. hyopneumoniae*-spezifischen T-Lymphozyten, die IFN γ sezernieren stimuliert. Diese scheinen sehr wichtig für eine schützende Immunantwort zu sein. Bei nicht geimpften, infizierten Schweinen ist um den 80. Lebenstag TNF α im BALF im Vergleich zu geimpften Tieren erhöht. Dass die Zahl der B-Zellen im Blut einer vakzinierten und infizierten Tiergruppe nicht ansteigt, spricht dafür, dass durch die Impfung die Proliferation von Lymphozyten, die normalerweise einer Infektion folgt, gehemmt wird (THACKER et al., 2000). Toll-Like Rezeptor (TLR) 2 und TLR6 sind wichtig für die Erkennung von *M. hyopneumoniae* durch Makrophagen, die zur angeborenen Immunität gegen *M. hyopneumoniae* gehören. MUNETA et al. (2003) finden porcine TLR2 und TLR6, die von Schweine-Alveolarmakrophagen exprimiert werden. Anti-TLR2 bzw. TLR6-Antikörper blockieren synergistisch die TNF α Produktion von Makrophagen, die mit *M. hyopneumoniae* stimuliert wurden. WALLGREN et al. (1992) stellen Antigen-reaktive Zellen, die die Fähigkeit haben in vitro Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* zu bilden, sieben Tage nach der ersten Immunisierung fest. Sie erreichen ihre höchste Antigen-Reaktivität eine Woche später. Im Vergleich können Antigen-reaktive Zellen drei Tage nach der Booster-Immunisierung festgestellt werden und bleiben für zwei Wochen in der Zirkulation. THACKER et al. (2006) stellen fest, dass eine Injektion mit Plasmid-vermitteltem Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) vor der Impfung den Schutz gegen *M. hyopneumoniae*- induzierte Pneumonie erhöhen kann und, dass eine einzelne Dosis von Plasmid-vermitteltem GHRH genügt, um ein besseres klinisches Ergebnis in einem Challenge-Versuch herbeizuführen.

2.11.2 Immunreaktionen bei Jungtieren

SIEGRIST (2001) zeigt, dass, obwohl keine schnelle und starke Antikörperantwort von Neonaten auf die Immunisierung besteht, doch ein effizientes immunologisches Priming und eine gute Basis für zukünftige Immunantworten geschaffen werden. Die offensichtliche Schwäche der CD4 und CD8 T-Zell-Funktion im frühen Leben scheint aus suboptimaler Interaktion von Antigen-präsentierenden Zellen und T-Zellen zu resultieren, kann aber durch spezielle Adjuvantien und Verabreichungsmethoden überwunden werden. Maternale Antikörper limitieren die infantile Antikörperantwort, aber die Ausbildung der T-Zell-Antwort bleibt unberührt von passiv transferierten Antikörpern. Die Menge der Antikörper im Serum von trächtigen Sauen wird während der letzten Wochen der Trächtigkeit geringer. Drei Tage nach dem Ferkeln entspricht der Serumwert der Sauen nur 53% des im Kolostrum gefundenen Wertes. Aus der Tatsache, dass bei mit 14 Tagen abgesetzten und in isolierte Stallungen verbrachten Ferkeln von *M. hyopneumoniae*-infizierten Muttersauen *M. hyopneumoniae* nicht mehr nachweisbar ist, wird gefolgert, dass hohe Antikörperwerte im Kolostrum die Ferkel vor *M. hyopneumoniae* schützen (RAUTIAINEN und WALLGREN, 2001). Wichtig ist zudem die Tatsache, dass Kolostrum in den ersten zwei Stunden nach der Geburt dreimal so viele Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* enthält als zwei bis zwölf Stunden nach der Geburt (RAUTIAINEN et al., 2000). SIBILA et al. (2008) finden zwar keinen statistischen Unterschied zwischen der Zahl der infizierten Ferkel von vakzinierten und nicht vakzinierten Muttertieren, allerdings zeigen die Ferkel der vakzinierten Sauen signifikant weniger Lungenläsionen beim Schlachten. Auf den Gehalt an Antikörpern im Blut der Jungtiere hat die Vakzination der Sauen allerdings Einfluss, denn bei Ferkeln geimpfter Sauen lassen sich auch entsprechend gesteigerte Antikörpertiter während der ersten vier Lebenswochen feststellen. Die Impfung dieser Ferkel im Alter von einer und vier Wochen führt zu einer serologischen Reaktion, die deutliche Interferenzen mit den maternalen Antikörpern zeigt, so dass eine aktive immunologische Reaktion erst im Alter von acht Wochen sichtbar ist. Im Alter von vier bis acht Wochen geimpfte Ferkel reagieren serologisch deutlich stärker (GROSSE BEILAGE und SCHREIBER, 2005). Auch laut HODGINS et al. (2004) sollen Ferkel nur bei moderatem Vorhandensein von maternalen Antikörpertitern geimpft werden, da in ihrer Studie maternale Antikörper mit reduzierten Antikörperreaktionen der Ferkel einhergehen. Das Alter der Ferkel bei der Vakzination spielt dagegen keine Rolle für die spätere Höhe des Antikörpertiters.

MARTELLI et al. (2006) hingegen zeigen anhand des Musters nach dem das Immunsystem der von ihnen untersuchten Schweine reagiert, dass die Impfung der Schweine am siebten Lebenstag ihr Immunsystem für die folgende Auseinandersetzung mit *M. hyopneumoniae* primt. Außerdem haben passiv erworbene Antikörper wenig oder gar keinen Effekt auf ein entweder Vakzine-induziertes Priming oder eine folgende anamnestiche Immunantwort. Der serologische Status der Sau interferiert auch hier nicht mit der Antikörperantwort der früh geimpften Ferkel, deshalb ist eine frühe Impfung der Ferkel unabhängig vom serologischen Status der Sau sinnvoll. BANDRICK et al. (2011) messen *M. hyopneumoniae*-spezifische Antikörper sowohl bei nicht umgesetzten Ferkeln von vakzinierten Sauen als auch bei Ferkeln, die nach sechs oder mehr Stunden von geimpften zu ungeimpften Sauen umgesetzt werden. Beim Umsetzen zwischen vakzinierten Sauen sind zu jeder Zeit Antikörper messbar. Ferkel, die von ungeimpften zu geimpften Sauen umgesetzt werden, haben nur messbare Antikörper gegen *M. hyopneumoniae*, wenn sie während der ersten sechs Stunden nach der Geburt umgesetzt wurden. Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Abwehr von *M. hyopneumoniae* ist die zelluläre Immunität. ALMOND et al. (2010) stellen fest, dass bei Immunisierung von Ferkeln mit *M. hyopneumoniae*-Impfstoff die drei Lymphozytenpopulationen mit dem Alter der Tiere ansteigen. Allerdings wird die Anzahl der CD8⁺ Lymphozyten im Blut und die Anzahl der CD4⁺ Lymphozyten gemessen in Kombination mit CD8⁺ Lymphozyten im Blut nicht verändert, dies kann teilweise damit erklärt werden, dass negative Selektion in Lymphknoten und lymphatischem System stattfindet und sich deshalb die Zahl dieser Zellen in der peripheren Zirkulation nicht verändert. Neugeborene Ferkel von geimpften und ungeimpften Sauen werden auf zwei Arten auf eine zelluläre Immunantwort überprüft. Zum einen über Delayed-Type Hypersensitivity (DTH) und zum anderen über Invitro-Lymphozyten-Proliferation, basierend auf Blutlymphozyten des Ferkels und kolostralen Lymphozyten der Sau. DTH-Antworten auf *M. hyopneumoniae* werden nur für Nachkommen geimpfter Sauen gemessen, während DTH-Antworten auf das unspezifische mitogene Phytohämagglutinin bei allen Ferkeln festgestellt werden. *M. hyopneumoniae*-spezifische Lymphozyten-Proliferation wird für kolostrale Lymphozyten von vakzinierten Sauen und für Blut-Lymphozyten von neugeborenen Ferkeln vakzinierter Sauen, aber nicht für Blut-Lymphozyten von Ferkeln ungeimpfter Sauen festgestellt. Also werden funktionale antigen-spezifische T-Zellen von

geimpften Sauen auf die Nachkommen übertragen und nehmen nach Stimulation auch an der neonatalen Immunantwort teil (BANDRICK et al., 2008). Der Transfer von *M. hyopneumoniae* spezifischer Cell-Mediated Immunity (CMI) auf Ferkel scheint demnach von der Quelle abhängig zu sein und wird auch bei BANDRICK et al. (2011) nur bei Ferkeln beobachtet, die mindestens zwölf Stunden nach der Geburt bei ihrer eigenen Mutter waren, früher umgesetzte Ferkel erhalten keine zelluläre Immunität von ihrer Mutter.

3 Material und Methode

3.1 Anzeige eines Tierversuchsvorhabens

Am 14.12.2010 wurde der Eingang der Anzeige des Tierversuchsvorhabens „Überprüfung der Sicherheit, Verträglichkeit und Wirksamkeit einer frühen Vakzination von Suvaxyn[®] MH-One“ mit dem Zeichen 55.2-1-54-2531.2-38-10 bestätigt.

3.2 Ziel der Untersuchung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Wirksamkeit und Sicherheit des Impfstoffes Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) bei Ferkeln in der ersten Lebenswoche im Rahmen einer Feldstudie zu überprüfen. Eine mit Suvaxyn[®] MH-One vakzinierte Versuchsgruppe wurde deshalb mit einer Kontrollgruppe verglichen, die sterile Kochsalzlösung erhielt. Als Parameter für die Sicherheit wurden die lokale Reaktion an der Injektionsstelle, die Rektaltemperatur und das Allgemeinbefinden der Tiere bewertet. Für die Überprüfung der Wirksamkeit wurden die Gewichtsentwicklung der Tiere und die Lungenbefunde am Schlachthof beurteilt. Außerdem wurde der Verlauf der Antikörpertiter im Serum beobachtet.

3.3 Versuchsbetrieb

Die Untersuchungen wurden von März bis September 2011 in Niederbayern in einem geschlossenen Betrieb mit 170 Muttersauen und 1200 Mastplätzen durchgeführt. Die Muttersauen der Rasse DE x DL und DL wurden mit Pietrain Ebersamen belegt. Der Betrieb impfte gegen *Parvovirose* und *Rotlauf* (Parvoruvac[®], Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland), gegen PRRSV (Ingelvac[®] PRRS MLV, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland) und gegen SIV (Respiporc Flu3, IDT Biologica GmbH Dessau-Roßlau, Deutschland). Außerdem wurde den Sauen ein bestandsspezifischer *Escherichia (E.) coli* Impfstoff verabreicht. Die Ferkel wurden zusätzlich gegen PCV2 (CircoFLEX[®], Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland) geimpft. Eine Räudebekämpfung und Entwurmung

der Mastschweine und der Zuchttiere erfolgte einmal pro Mastdurchgang über das Futter mit Alfamectin[®] 6mg/g (alfavet Tierarzneimittel GmbH, Neumünster, Deutschland). In den Stallabteilen im Abferkelbereich befanden sich zwischen 6 und 12 Sauen. Die Abferkelbuchten waren mit Plastikspaltenboden, Fußbodenheizung im Ferkelnest und einer Rotlichtlampe ausgestattet. Im Alter von 3 Wochen wurden die Ferkel abgesetzt und ins Flatdeck verbracht. Die ca. 3,5m x 3m großen Buchten bestanden je zum Teil aus planbefestigtem Beton und Spaltenboden. Zum Absetzen wurden die Ferkel zudem eine Woche mit aniMedica[®] Enteroxid N (aniMedica[®] GmbH, Senden-Bösesell, Deutschland) in einer Dosierung von 5mg/kg/d Colistinsulfat therapiert. Nach 8 Wochen im Flatdeck wurden die Schweine in die Mast eingestallt. Im Maststall befand sich auf der ganzen Fläche der 5,25m mal 5m großen Buchten Betonspaltenboden. Die Lüftung erfolgte im Abferkelbereich über Lochbänder und Ventilatoren, im Flatdeck über eine Türgang-, und im Mastbereich über eine kombinierte Türgang-Futtergangentlüftung. Bereits vor dem Absetzen wurden die Ferkel ad libitum mit handelsüblichem Prestarter gefüttert, die Muttersauen erhielten eine Mischung aus hofeigenem Getreide (Gerste und Weizen), Sojaschrot und Mineralfutter. Im Flatdeck und in der Mast wurde über Quertröge Flüssigfütterung angeboten. Die Absetzferkel erhielten die Mischung aus hofeigenem Getreide in Kombination mit Nassmais, Molke und Ergänzern, während in der Mast zu Getreide und Nassmais, Molke, Bierhefe, Rapsschrot, Soja und Mineralfutter zugefügt wurden. Der Zugang zu Wasser war jederzeit ad libitum über Nippeltränken möglich.

3.4 Auswahl der Tiere

240 Ferkel von 24 Sauen im Alter von 4 und 5 Tagen wurden unabhängig vom Geschlecht randomisiert in die Studie aufgenommen. Es wurden nur Tiere ausgewählt, die klinisch gesund und schwerer als 1,3kg waren, zudem durften sie keine immunsuppressiven Mittel erhalten haben.

3.5 Vakzine

Für die Studie wurde der bereits für die Anwendung ab der 3. Lebenswoche zugelassene Inaktivat-Impfstoff Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin,

Deutschland) verwendet. Der Impfstoff enthält den inaktivierten *Mycoplasma hyopneumoniae* Stamm P-5722-3 und als Adjuvantien Carbopol #941 (4mg/ Dosis) und Squalan (3,24mg/ Dosis). Je 2ml der Vakzine wurden jedem Ferkel der Vakzinegruppe auf der linken Seite hinter dem Ohr am Übergang von unbehaarter zu behaarter Haut in die Halsmuskulatur injiziert. Dazu wurden 0,80 x 40mm große sterile Einmalkanülen (Sterican[®], Braun Medical AG, Emmenbrücke, Schweiz) und 2ml Spritzen (Injekt[®] 2ml) der Firma Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland verwendet. Jedes Ferkel wurde mit einer eigenen Einmalkanüle und -spritze vakziniert.

3.6 Placebo

Die Kontrollgruppe bekam 2ml 0,9%ige sterile Kochsalzlösung injiziert. Die Injektion erfolgte ansonsten in gleicher Weise wie die der Vakzine.

3.7 Versuchsanordnung

Am Tag 0 erhielten alle ausgewählten Ferkel eine grüne, bedruckte Ohrmarke (MS[®] Tag, Schippers GmbH, Kerken, Deutschland) mit einer Zahl von 1 bis 240. Sie wurden gewogen, nach Gewicht randomisiert und einer Impf- und einer Placebogruppe zuteilt. Die Studie war als Doppelblindstudie angelegt, so dass Randomisierung und Impfung von Klinikmitarbeitern durchgeführt wurden, die im weiteren Verlauf keinen Anteil mehr an der Studie hatten. Die Hälfte der Tiere bekam den Impfstoff appliziert, die andere Hälfte Kochsalzlösung. 25% der Tiere aus beiden Gruppen wurden nach dem Randomisierungsplan in eine Safety-Group eingeteilt. Diese Tiere wurden vor und nach der Injektion, und anschließend 14 Tage lang täglich klinisch untersucht. Vorhandensein von Appetit, Husten, Niesen, Atemnot, Niedergeschlagenheit und das Allgemeinbefinden der Ferkel wurden jeweils gesondert beobachtet. Zudem wurde die Rektaltemperatur gemessen und Veränderungen der Injektionsstelle festgehalten. Des Weiteren wurden in 14tägigem Abstand Blutproben entnommen. Zum leichteren Auffinden dieser Tiere in den Buchten wurden deren grüne Ohrmarken durch gelbe mit identischer Nummer ersetzt.

3.8 Klinische Untersuchung

3.8.1 Allgemeinuntersuchung

Bei den für die Safety-Group ausgewählten 25% der Ferkel wurde am Tag 0 vor Applikation der Testsubstanzen eine klinische Allgemeinuntersuchung durchgeführt. 30 bis 60 Minuten nach der Applikation erfolgte eine weitere Allgemeinuntersuchung. Bis zum Tag 14 wurde diese klinische Allgemeinuntersuchung täglich wiederholt.

3.8.2 Lokale Reaktionen an der Injektionsstelle

Bei den 25% der Tiere der Safety-Group wurde vor der Applikation, im Zeitraum von 30 bis 60 Minuten danach und an den folgenden 14 Tagen jeweils einmal täglich die Injektionsstelle beurteilt und nach dem Score aus Tabelle 1 eingeteilt.

Tabelle 1: Score der Lokalreaktionen an der Injektionsstelle

0	Normal	Nicht mehr als eine sichtbare Injektionsstelle mit einem Erythem < 0,5cm, Schwellung der Haut nur in Verbindung mit der Injektionsstelle. Keine Anzeichen von Reizung
1	Leicht	Abmessungen >0,5-2cm, Erythem der Haut ohne deutlich zu palpierende subkutane oder intramuskuläre Schwellung, evtl. Anzeichen von Reizung, wie gelegentliches Scheuern der Injektionsstelle
2	Mittelgradig	Abmessungen >2-5cm, Erythem der Haut oder palpierbare subkutane oder intramuskuläre Schwellung mit Anzeichen von Reizung, wie anhaltendes Scheuern der Injektionsstelle, kein Exsudat
3	Stark	Abmessungen >5cm, Erythem der Haut, sichtbare und palpierbare subkutane oder intramuskuläre Schwellung mit Anzeichen von Reizung und Schmerzen, wie anhaltendes Scheuern der Injektionsstelle oder Gegenwehr und Vokalisation bei Palpation, evtl. Exsudate oder palpierbare flüssigkeitsgefüllte Schwellung

3.8.3 Rektaltemperatur

Mit einem flexiblen Digitalthermometer (Scala SC 49[®], Vega Technologies INC., Guangdong, China) wurde bei den Ferkeln der Safety-Group vor der Applikation, im Zeitraum von 30 bis 60 Minuten danach und an den folgenden 4 Tagen jeweils einmal täglich die Körpertemperatur gemessen.

3.9 Blutprobenentnahme

Blutentnahmen erfolgten ebenfalls bei den 25% der Schweine aus der Safety-Group. Die erste Entnahme fand vor der Vakzination statt, die Weiteren im 2-Wochen Rhythmus bis zur Schlachtung der jeweiligen Tiere bei Erreichen des Endmastgewichts von ca. 115-120 kg. Bis zum Tag 28 wurde das Blut aus der Vena cava cranialis gewonnen, danach aus der Vena jugularis externa. Die Serummonovetten (Primavette[®] V Serum 7,5ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) wurden mit Kryolabels (CRYO-BABIES[®], Diversified Biotech, Dedham, Massachusetts, USA) beklebt, die mit der Nummer des jeweiligen Tieres und dem Blutentnahmetag bedruckt waren. Bis zum Tag 56 wurden 0,80 x 40mm große sterile Einmalkanülen (Sterican[®], Braun Medical AG, Emmenbrücke, Schweiz) verwendet. Anschließend bis Tag 140 Kanülen der Größe 1,10 x 50mm (Sterican[®], Braun Medical AG, Emmenbrücke, Schweiz). Zum Mastende wurden SUPRA[®] 1,20 x 75mm Kanülen (Ehrhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) benutzt. Nach dem Zentrifugieren (10min, 3000 U/min) in einer Hettich[®] Rotanta 460R Zentrifuge (Andreas Hettich[®] GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) wurde das Serum auf je drei Serumröhrchen (Eppendorf[®] Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) verteilt, wiederum mit den entsprechenden Kryolabels etikettiert und bei -22°C bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren. Zu erwähnen ist, dass die ersten Schweine am Tag 177 geschlachtet wurden und somit die letzten beiden Termine zur Blutentnahme nicht mehr mit der ursprünglichen Tierzahl durchgeführt wurden.

3.10 Serologische Untersuchung

Das gewonnene Serum wurde nach der letzten Blutprobenentnahme tiefgefroren zu den Biobest Laboratories Ltd (6 Charles Darwin House, The Edinburgh Technopole, Milton Bridge, Nr Penicuik, EH26 0PY, England) transportiert und dort auf Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* untersucht. Zur Auswertung wurde der IDEXX[®] ELISA *M. hyopneumoniae* Ab (IDEXX[®] Laboratories Inc., One IDEXX Drive, Westbrook, Maine, U.S.A.) verwendet. Dies ist ein indirekter ELISA, bei dem der in der Probe enthaltene Antikörper zwischen einem an die Platte gebundenen Antigen und einem enzymmarkierten anti-Speziesglobulinkonjugat gebunden wird. Anschließend wird ein Enzymsubstrat-Chromogenreagenz zugegeben und eine Färbung wird erkennbar, deren Intensität proportional zur Menge der in der Probe enthaltenen Antikörper ist. Als Cut-off Wert für die Serokonversion wurde 0,3 (der logarithmierten Werte) angesetzt. Werte <0,3 wurden als negativ, Werte ≥0,3 als positiv gewertet. Bei einem Anstieg über 0,3 spricht man von einer Serokonversion.

3.11 Gewichtsentwicklung

Das erste Wiegen erfolgte am Tag 0 vor der Injektion, anschließend wurden alle in die Untersuchung eingeschlossenen Tiere am Tag 28, 84, 140 und 168 gewogen. Am Tag 0 und Tag 28 wurde eine elektronische Plateauwaage (MS[®] Wiegeplateau, Schippers GmbH, Kerken, Deutschland), ab Tag 84 eine mobile digitale Selektionswaage (Mobile Einzeltierwaage, Meier-Brakenberg[®] GmbH & Co. KG, Extertal, Deutschland) verwendet.

3.12 Lungenbefunde am Schlachthof

Die Schweine wurden in drei Gruppen abhängig vom Erreichen des gewünschten Schlachtgewichtes von ca. 115-120kg geschlachtet. Die drei Schlachtermine erstreckten sich über einen Zeitraum von 5 Wochen beginnend am Tag 177. Am Schlachtband wurde die jeweilige Ohrmarke am zugehörigen Geschlinge befestigt und beides nach erfolgter amtlicher Fleischuntersuchung abgenommen und an einem geeigneten Platz untersucht. Die einzelnen Lungenlappen (Lobus (L.) sinister cranialis, L. sinister medialis, L. sinister caudalis,

L. dexter cranialis, L. dexter medialis, L. dexter caudalis, L. assessorius) bekamen entsprechend dem dreidimensionalen Umfang ihrer mycoplasmenspezifischen Veränderung Prozentangaben zwischen 0% und 100% zugewiesen.

3.13 Mortalität

Verendet aufgefundene und euthanasierte Tiere wurden vermerkt und zu diagnostischen Zwecken ins Institut für Tierpathologie der Ludwig-Maximilians-Universität verbracht und dort seziert.

3.14 Statistik

Verantwortlich für die statistische Datenanalyse war ein Repräsentant der Biometrie (BMR) von Versatile Mobile Reconnaissance Device (VMRD)-Biometrics, (Global Development and Operations (Biometrics), Pfizer Animal Health, Richland, USA). Die Datenauswertung erfolgte mit einem zentralen Daten-Management-System (SAS/STAT 9.1, SAS Institute, Cary, NC). Zur Beurteilung der Wirksamkeit des Impfstoffs wurde die Analyse der Lungenläsionen, der Gewichtsentwicklung und der Blutproben als abhängige Variablen verwendet. Zur Beurteilung der Sicherheit des Impfstoffs wurde weiterhin die Analyse der klinischen Untersuchung, der Körpertemperatur sowie der Untersuchung der Injektionsstelle herangezogen. Die Körpertemperatur wurde für jede Gruppe mit einem generalisierten linearen Wachstumskurvenmodell analysiert. Für jeden Untersuchungszeitpunkt wurden Kleinstquadrat-Mittelwerte, ein Signifikanzniveau von 95%, Minimal- und Maximalwerte bestimmt. Die Häufigkeitsverteilung der klinischen Befunde wurde für jede Gruppe und jeden Untersuchungszeitpunkt kalkuliert. Außerdem wurde eine Häufigkeitsverteilung für das Auftreten klinischer Befunde, wenn sie wenigstens zu einem Zeitpunkt auftraten, für jede Gruppe kalkuliert. Das Körpergewicht wurde ebenfalls mit einem generalisierten linearen Wachstumskurvenmodell ausgewertet. Für jeden Zeitpunkt wurden Kleinstquadrat-Mittelwerte, ein Signifikanzniveau von 95%, Minimal- und Maximalwerte bestimmt. Paarweise Vergleiche der Versuchsgruppen wurden zu jedem Zeitpunkt berechnet, um einen Effekt der Impfung sowie sonstige Interaktionseffekte zu untersuchen. Zudem wurden lineare Funktionen der Kleinstquadrat-Mittelwerte der Körpergewichte erstellt, um eine

Abschätzung der Tageszunahmen für jeden Lebensabschnitt vornehmen zu können. Weiterhin wurden Häufigkeitsverteilungen von den Scores der Injektionsstellen für jeden Zeitpunkt und jede Gruppe erarbeitet. Der Prozentsatz der Veränderungen der gesamten Lunge wurde über folgende Formel berechnet:

$$100x \left((0,10x \text{ L. cranialis sinister}) + (0,10x \text{ L. medialis sinister}) + (0,25x \text{ L. caudalis sinister}) + (0,10x \text{ L. cranialis dexter}) + (0,10x \text{ L. medialis dexter}) + (0,25x \text{ L. caudalis dexter}) + (0,10x \text{ L. accessorius}) \right)$$

Vor der Analyse wurden die Prozentwerte der Lungenveränderungen in eine Arkussinus Quadratwurzel umgewandelt. Die umgewandelten Werte wurden mit einem generalisierten linearen Wachstumskurvenmodell analysiert. Wenn ein Effekt der Impfung sichtbar wurde, wurden paarweise Vergleiche der Gruppen berechnet. Die zurücktransformierten Kleinstquadrat-Mittelwerte der Prozentwerte der Veränderungen der gesamten Lunge, ihre Standardfehler, ein Signifikanzniveau von 95%, Minimal- und Maximalwerte wurden berechnet. Häufigkeitsverteilungen wurden für jede Gruppe für die folgenden Kategorien ermittelt: 0%-5%, 5%-<10%, 10%-<20%, 20%-<30%, 30% und mehr. Die Serologie wurde mit einem generalisierten linearen Wachstumskurvenmodell ausgewertet, für jeden Zeitpunkt wurden Kleinstquadrat-Mittelwerte, ein Signifikanzniveau von 95%, Minimal- und Maximalwerte bestimmt. Kleinstquadrat-Mittelwerte auf der Logarithmus-Skala für Serologie wurden für jede Gruppe eingezeichnet. Für jedes Tier wurde außerdem festgelegt, ob es zu einem Zeitpunkt der Studie serokonvertierte. Dazu wurde für jede Gruppe zusätzlich eine Häufigkeitsverteilung erstellt.

4 Ergebnisse

Insgesamt wurden 240 Tiere in die Studie eingeschlossen, davon 134 weibliche und 106 männliche. Alle Tiere waren beim Einschluss vier bis fünf Tage alt und wurden randomisiert der Placebogruppe T01 (NaCl) und der Impfgruppe T02 (Vakzine) zugeteilt. Gruppe T01 enthielt 118 Tiere und Gruppe T02 122 Tiere. Lungenscores konnten nach der Schlachtung von 215 Tieren erhoben werden. Die übrigen 25 Tiere hatten entweder ihre Ohrmarken verloren, sie waren vor Ende des Untersuchungszeitraums gestorben oder wurden aus Tierschutzgründen euthanasiert.

4.1 Verträglichkeit und Sicherheit der Vakzine

4.1.1 Klinische Untersuchung

4.1.1.1 Allgemeinuntersuchung

72 Tiere, davon 34 aus der Placebogruppe und 38 aus der Vakzinegruppe, die randomisiert in die Safety-Group eingeteilt waren, wurden vor und nach der Injektion, und anschließend 14 Tage lang täglich klinisch untersucht. Das Vorhandensein von Appetit, Husten, Niesen, Atemnot, Niedergeschlagenheit und das Allgemeinbefinden der Ferkel wurden jeweils gesondert beobachtet und ausgewertet. Hinsichtlich der verschiedenen klinischen Parameter wurde für jede Gruppe festgestellt, ob diese in der entsprechenden Gruppe jemals, das heißt bei mindestens einem Tier zu mindestens einem Zeitpunkt während der 14 Tage, auftraten.

Während der 14-tägigen Überwachung der Safety-Group trat keine Beeinflussung des Appetits bei geimpften und ungeimpften Tieren auf. Bei einem Tier der Placebogruppe trat am Tag 2 Husten auf. Zehn geimpfte und fünf ungeimpfte Tiere zeigten Niedergeschlagenheit. Ebenso zeigten zehn geimpfte und vier ungeimpfte Tiere eine Beeinflussung des Allgemeinbefindens. Zwei geimpfte und drei ungeimpfte Tiere zeigten Niesen. Fünf geimpfte und vier ungeimpfte Tiere hatten zu einem Zeitpunkt Atemnot. Die geimpften Tiere zeigten zahlreicher Zeichen von Niedergeschlagenheit und reduziertem Allgemeinbefinden, allerdings waren maximal 26,3% der Tiere davon betroffen. Teilweise konnte dies auf Durchfall oder Gelenkentzündungen zurückgeführt werden. Insgesamt traten Husten, Niesen und

Atemnot vereinzelt auf und das Auftreten war zwischen den Gruppen vergleichbar. Tabelle 2 zeigt die Auswertung der Allgemeinuntersuchung der beiden Tiergruppen im Vergleich.

Tabelle 2: Auswertung der Allgemeinuntersuchung der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich

	Placebo		Vakzine	
	Anzahl der Tiere	Tiere in Prozent	Anzahl der Tiere	Tiere in Prozent
Appetit erhalten	34	100%	38	100%
Husten	1	2,90%	0	0%
Niesen	3	8,80%	2	5,30%
Atemnot	4	11,80%	5	13,20%
Niedergeschlagenheit	5	14,70%	10	26,30%
Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens	4	11,80%	10	26,30%
Gesamtzahl	34	100%	38	100%

4.1.1.2 Beurteilung der Injektionsstelle

Zu keinem Zeitpunkt während der 14-tägigen Überwachung der Injektionsstelle traten bei den geimpften oder den mit NaCl behandelten Ferkeln Reaktionen auf, die über eine sichtbare Injektionsstelle mit einem Erythem <0,5cm und einer Schwellung der Haut in Verbindung mit der Injektionsstelle hinausgingen.

4.1.1.3 Körpertemperatur

Die durchschnittliche Körpertemperatur der Ferkel sowohl der Impf- als auch der Kontrollgruppe blieb während der vier Tage nach der Applikation im physiologischen Bereich. Der höchste durchschnittliche Unterschied der Gruppen betrug 0,3°C. Die größte Differenz zwischen dem Zeitpunkt vor der Injektion und dem höchsten gemessenen Wert betrug 1,6°C bei einem ungeimpften Ferkel, sowie 1,7°C bei einem geimpften Tier (Abbildung 1).

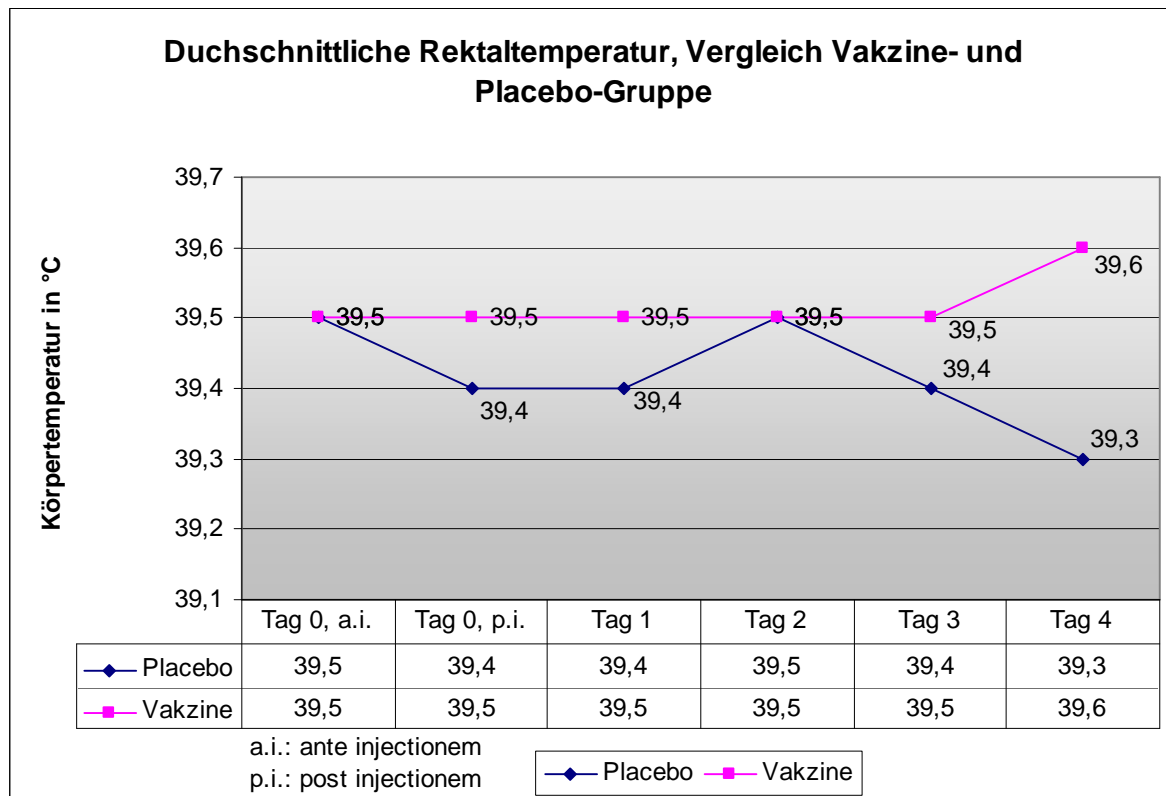


Abbildung 1: Durchschnittliche Körpertemperatur der Vakzine- im Vergleich zur Placebogruppe

4.2 Serologie

Die Kleinstquadrat-Mittelwerte der Antikörpertiter wurden verwendet, um für jeden Erhebungszeitpunkt die Unterschiede zwischen den Antikörpertitern der beiden Gruppen und deren Signifikanz zu berechnen. An Tag 0 und Tag 14 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Placebo- und Vakzinegruppe. Die Werte der Antikörpertiter fielen in diesem Zeitraum bei beiden Gruppen ab. An Tag 28, eine Woche nach dem Absetzen, lag zwischen Placebogruppe und Vakzinegruppe ein signifikanter Unterschied vor. Zu diesem Zeitpunkt lag die Impfung vier Wochen zurück. An Tag 42, Tag 56 und Tag 70 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. Beide Gruppen erreichten an Tag 56 ihre Tiefstwerte. Ab Tag 70 war bei beiden Gruppen wieder ein Ansteigen der Antikörpertiter zu verzeichnen. Signifikante Unterschiede bestanden am Tag 84, 98, 112 und am Tag 126, wobei die Werte beider Gruppen stetig anstiegen. Dieser Zeitraum entspricht in etwa der Anfangsphase der Mast, da die Tiere am Tag 85 vom

Flatdeck in den Maststall verbracht wurden. Die Werte der Vakzinegruppe stiegen früher (ab Tag 70) und mit größerer Steigung an. Die Antikörpertiter der geimpften Tiere erreichten ihren höchsten Wert an Tag 112, die der Placebogruppe dagegen 12 Wochen später an Tag 182. An Tag 140, 154, 168, 182 und Tag 196 waren zwischen beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede mehr vorhanden und die Werte der Antikörpertiter näherten sich wieder an. Einen Überblick über den Verlauf der Antikörpertiter der Tiere der Placebo- und Vakzinegruppe im Vergleich bietet Abbildung 2.

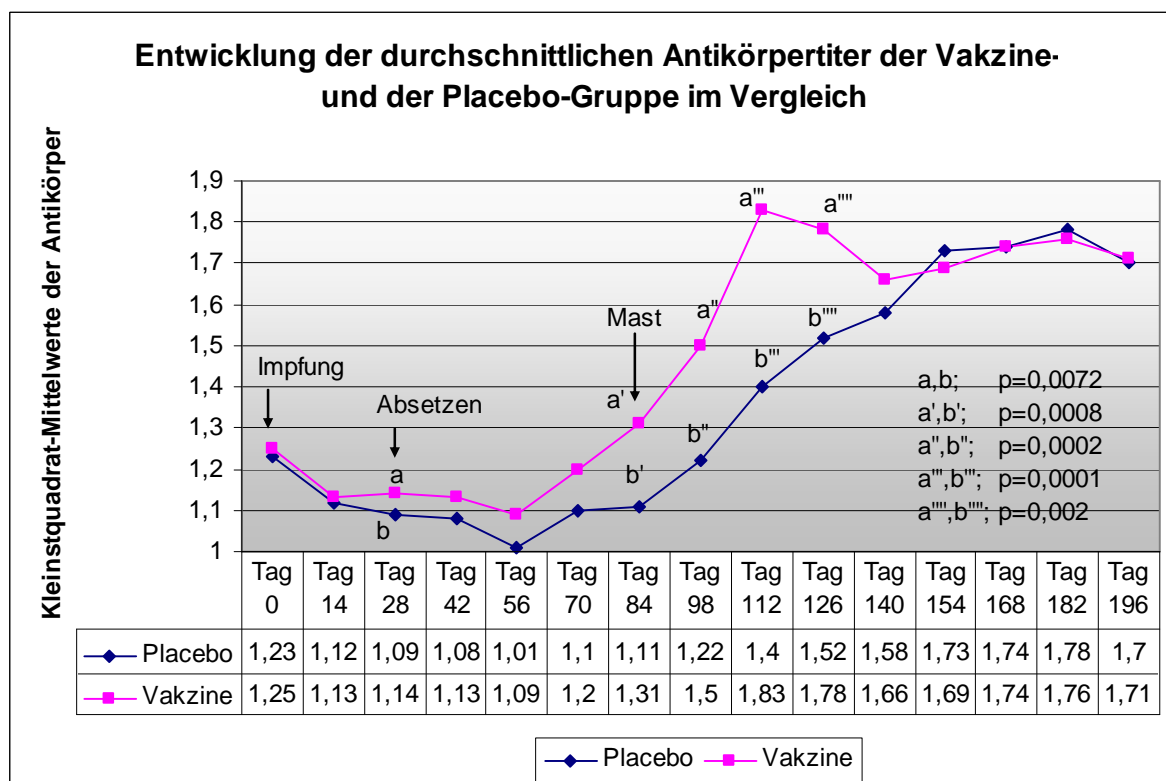


Abbildung 2: Mittelwerte der Antikörpertiter von Vakzine- und Placebogruppe im Verlauf der Untersuchungen im Vergleich

In der Vakzinegruppe serokonvertierten alle Tiere. Die beiden Tiere, die in der Placebogruppe nicht serokonvertierten, verstarben schon nach wenigen Tagen bzw. sechs Wochen. Für jeden Messzeitpunkt wurde berechnet, wie viel Prozent der Tiere seropositiv waren. Am Tag der Applikation der Testsubstanzen (Tag 0) waren 30,0% der Tiere aus der Placebogruppe und 30,6% der Tiere der Vakzinegruppe seropositiv. Von Tag 14 über Tag 28 bis Tag 42 sank die Rate der seropositiven Tiere in beiden Gruppen ab. In diesen Zeitraum fällt auch das Absetzen der

gesamten Tiergruppe. Am Tag 42 wurde schließlich in beiden Gruppen der Tiefstand mit 3,1% (Placebo) und 7,9% (Vakzine) seropositiven Tieren erreicht. Ab Tag 56 stiegen die Werte in beiden Gruppen wieder an. An Tag 70 erreichte die Placebogruppe 3,2%, wohingegen bei der Vakzinegruppe 21,1% der Tiere seropositiv waren. An Tag 84 waren in der Placebogruppe 6,5% der Tiere positiv, in der Vakzinegruppe 39,5% der Tiere. Zu diesem Zeitpunkt fand das Umstallen in die Mast statt. An Tag 98 begann die Serokonversionsrate bei der Placebogruppe mit 29,0% anzusteigen, in der Vakzinegruppe waren zu diesem Zeitpunkt 73,7% seropositiv. Die Werte beider Gruppen stiegen weiter an, wobei die Vakzinegruppe an Tag 112 eine Serokonversionsrate von 97,4% erreichte (Placebogruppe: 63,3%). Von Tag 126 bis Tag 196 gleicht sich die Rate der Serokonversion zwischen der Vakzine- und der Placebogruppe an. Die Unterschiede der Serokonversion der beiden Gruppen sind in nachfolgender Graphik (Abbildung 3) dargestellt.

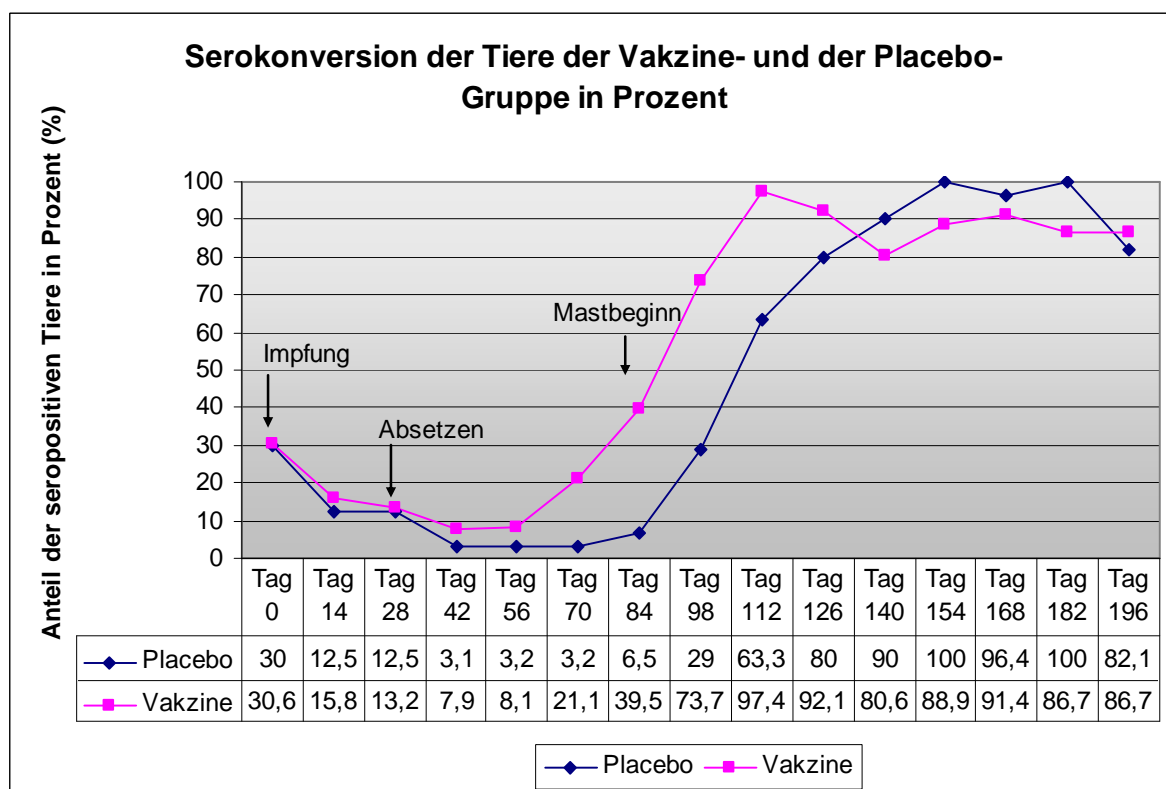


Abbildung 3: Serokonversionsrate der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe in Prozent im Vergleich

4.3 Gewichtsentwicklung

Alle Schweine wurden zu Beginn der Studie (Tag 0), 6 Tage nach dem Absetzen (Tag 28), einen Tag vor dem Umstellen in die Mast (Tag 84), zur Mitte der Mast (Tag 140) und abschließend am Tag 168, acht Tage bevor die ersten Tiere geschlachtet wurden, gewogen. Die Mittelwerte der Gewichte und die mittleren täglichen Zunahmen wurden berechnet. Am 4. beziehungsweise 5. Lebenstag der Tiere, der dem Studientag 0 und dem Zeitpunkt der Impfung entspricht, unterschied sich das durchschnittliche Gewicht der beiden Gruppen nicht. An Tag 28 und an Tag 84 war kein signifikanter Unterschied zu erkennen. An Tag 140 war ein signifikanter Unterschied zwischen der Placebo- und der Vakzinegruppe von 4,0kg ($p=0,0034$), vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt lag die Impfung 20 Wochen zurück und die Tiere befanden sich seit 8 Wochen im Maststall. Beim abschließenden Wiegen an Tag 168 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Placebo- und Vakzinegruppe von 4,5kg ($p=0,0073$) (Abbildung 4).

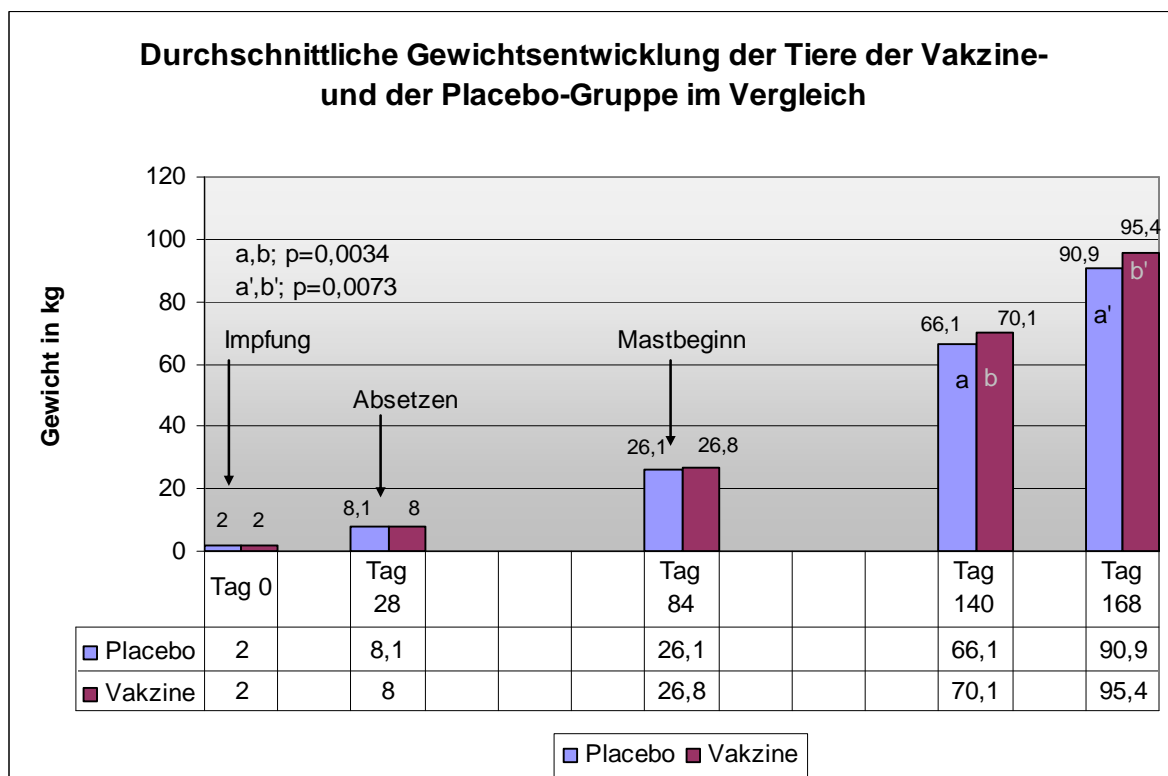


Abbildung 4: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich

Die durchschnittlichen täglichen Zunahmen der Vakzine- und der Placebogruppe waren von Tag 0 bis Tag 28 identisch. Auch im Zeitraum von Tag 28 bis Tag 84 (Flatdeck-Phase) unterschieden sie sich nicht signifikant. Zwischen Tag 84 und Tag 140 (Anfang Mast) nahmen die geimpften Tiere mit durchschnittlich 50g täglich signifikant mehr zu. Zwischen Tag 140 und 168 (Ende Mast) war kein signifikanter Unterschied vorhanden. Die durchschnittlichen Tageszunahmen über den gesamten Untersuchungszeitraum von Tag 0 bis Tag 168 waren bei den vakzinierten Tieren um 30g signifikant höher (Abbildung 5).

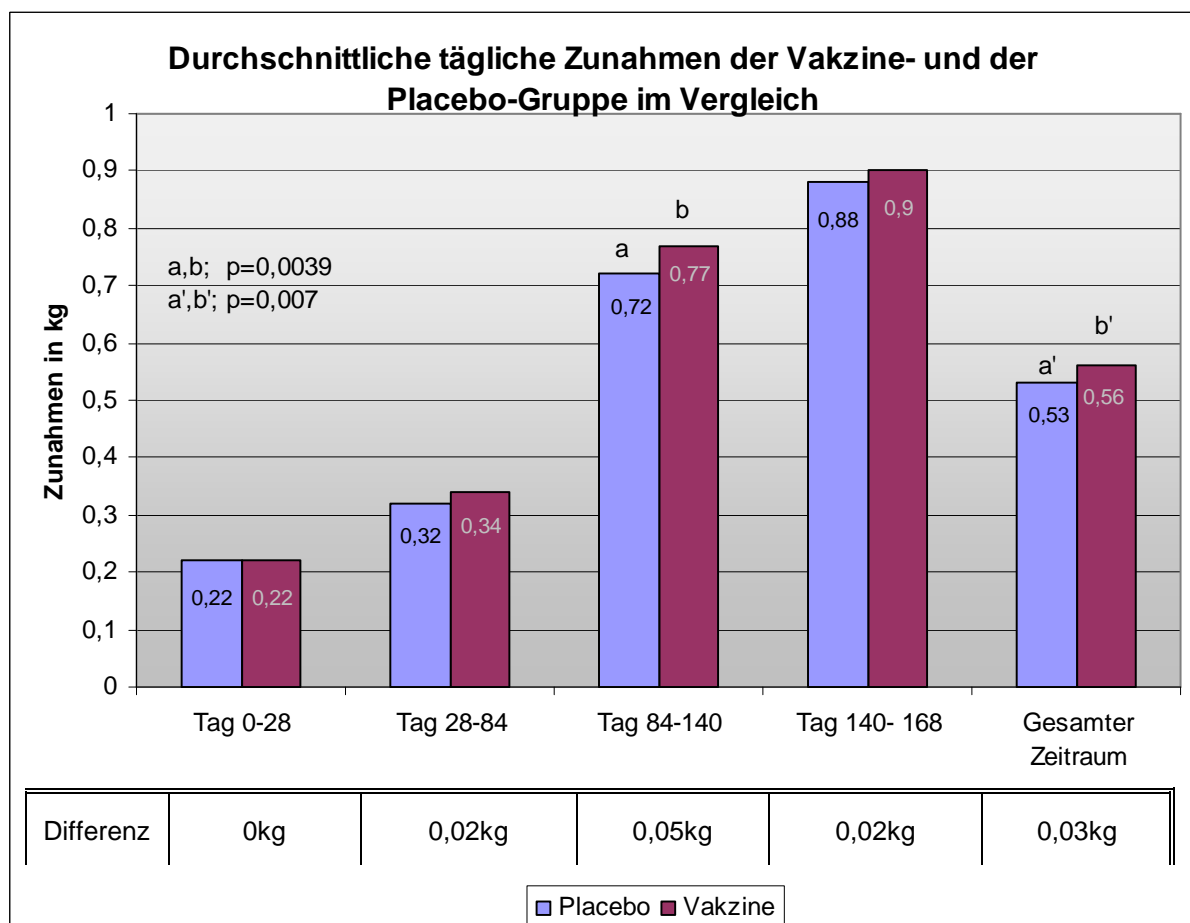


Abbildung 5: Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich

4.4 Lungenbefunde am Schlachthof

Insgesamt konnten die Lungen von 215 Tieren (104 Tiere Placebogruppe und 111 Tiere Impfgruppe) untersucht und ein Score vergeben werden. Der Prozentsatz der Lunge, welcher Veränderungen zeigt, wurde nach der im Kapitel 3.13 angegebenen Formel berechnet. Anschließend wurden Kategorien durch prozentuale Abstufung gebildet, um die Tiere aus den beiden Gruppen in den verschiedenen Kategorien vergleichen zu können. Im Bereich von 0%-5% Lungenveränderungen befanden sich 52,3% der geimpften Tiere und 36,5% der Placebogruppe. Im Bereich 5%-10% Lungenveränderungen lagen 22,1% der Placebogruppe und 23,4% der Vakzinegruppe. Der Bereich 10%-20% beinhaltete 23,1% der Placebogruppe und 18,9% der Vakzinegruppe. 9,6% der Placebogruppe und 1,8% der Vakzinegruppe befanden sich in der Kategorie 20%-30%. In der Kategorie >30% lagen die geimpften Tiere bei 3,6% und die Kontrolle bei 8,7%. Insgesamt zeigten 5,4% der geimpften Tiere Lungenveränderungen >20%, wohingegen 18,3% der Placebogruppe in diese Kategorie einzuordnen waren (Abbildung 6).

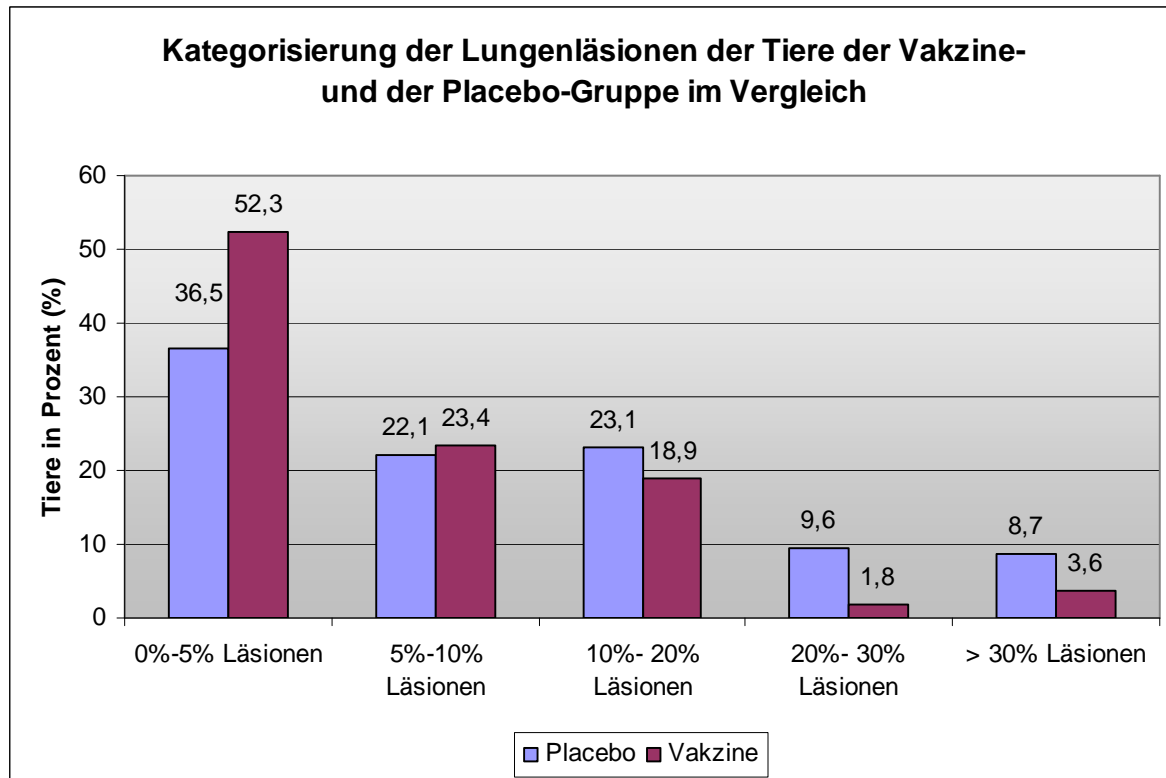


Abbildung 6: Kategorisierung der Lungenläsionen der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich

Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist bei der Gesamtheit der durchschnittlichen Lungenveränderungen zu erkennen. In der Placebogruppe waren im Durchschnitt 9% des Lungengewebes verändert, wohingegen in der Vakzinegruppe 5% verändert waren ($p=0,0001$) (Abbildung 7).

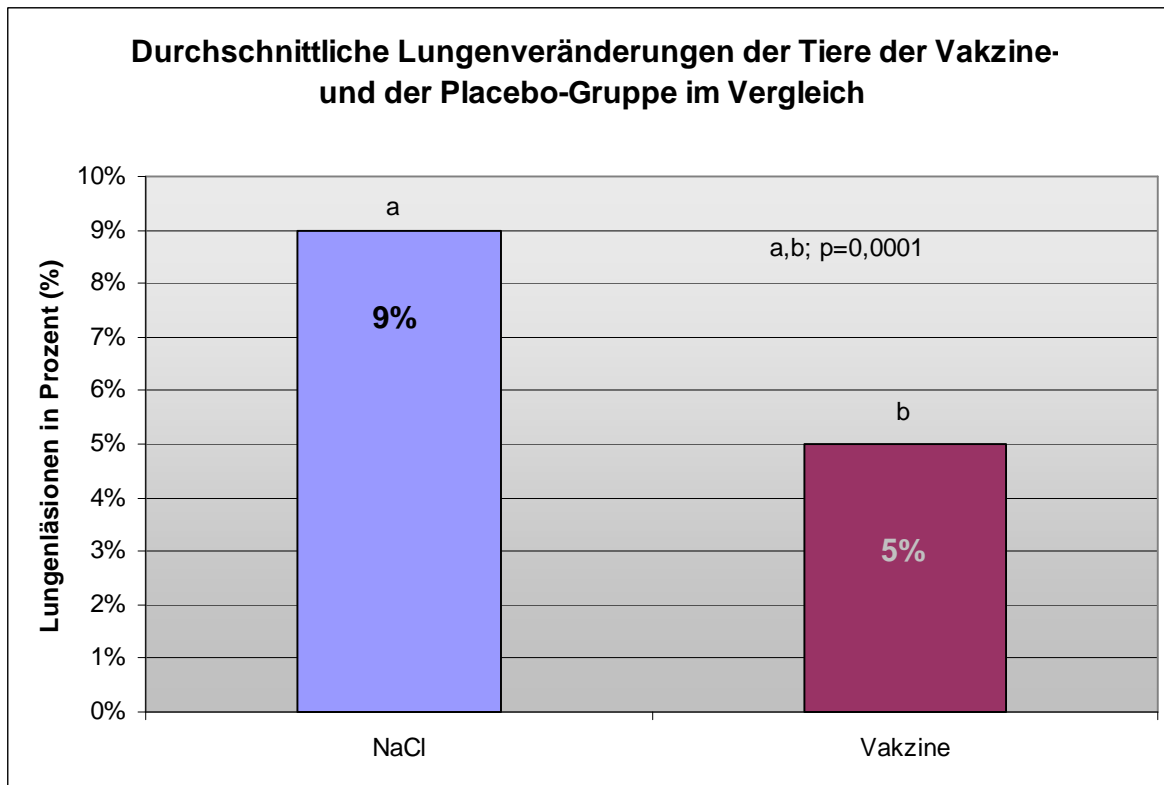


Abbildung 7: Vergleich der durchschnittlichen Lungenveränderungen der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe in Prozent

4.5 Mortalität

Insgesamt wurden 240 Tiere in die Studie eingeschlossen. Bis zum Ende der Studie (Lungenscores) konnten 215 Tiere verfolgt werden. In die Beurteilung der Mortalität gingen 14 Tiere ein. 10 Tiere verloren während des Schlachtvorgangs ihre Ohrmarken, daher konnte von diesen Tieren kein Lungenscore erhoben werden. Außerdem verlor ein Tier in der Mast seine Ohrmarke und war nicht mehr identifizierbar. Die Mortalität setzt sich aus verendeten und euthanasierten Tieren der Impf- und der Placebogruppe zusammen. Bis zum Absetzen verendeten vier Ferkel

aus der Placebogruppe. Im Flatdeck musste ein Placebotier aus Tierschutzgründen euthanasiert werden. Zwei vakzinierte Tiere verendeten. In der Mast verlor ein vakziniertes Tier seine Ohrmarke und war nicht mehr identifizierbar. Zwei Tiere der Vakzinegruppe und ein Tier der Kontrollgruppe wurden außerdem in dieser Phase aus Tierschutzgründen euthanasiert. Vier Tiere verendeten während der Mastperiode, davon drei geimpfte Tiere und ein Schwein aus der Placebogruppe (Tabelle 3).

Tabelle 3: Verendete und euthanasierte Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich

	Placebo	Vakzine
Abferkelabteil	4	0
Flatdeck	1 (davon 1 Euthanasie)	2
Mast	2 (davon 1 Euthanasie)	5 (davon 2 Euthanasie)

5 Diskussion

5.1 Verträglichkeit und Sicherheit der Impfung

5.1.1 Klinische Untersuchung

5.1.1.1 Allgemeinuntersuchung

In der durchgeführten klinischen Untersuchung wurden die Parameter Appetit, Husten, Niesen, Atemnot, Niedergeschlagenheit, Allgemeinbefinden, Reaktionen an der Injektionsstelle sowie Körpertemperatur der Ferkel beurteilt. Eine Reduktion des Appetits zeigte sich in keiner Tiergruppe. Niesen und Husten traten vereinzelt auf. Allerdings zeigten Tiere der Vakzinegruppe häufiger Zeichen von Niedergeschlagenheit und reduziertem Allgemeinbefinden, maximal waren 26,3% der Tiere betroffen und die Unterschiede nicht signifikant. DAWSON et al. (2002) testeten ebenfalls eine One-Shot-Vakzine bei drei Wochen alten Tieren und beobachteten keine unphysiologischen Reaktionen bei den vakzinierten Tieren. Ebenso konnten sie auch keinen Unterschied zwischen der durchschnittlichen Rektaltemperatur von geimpften und Placebotieren feststellen. In der Packungsbeilage des Impfstoffes wird allerdings auf mögliche Nebenwirkungen wie Erhöhung der Körpertemperatur (bis zu 1,9°C), Depression, Zittern und Erregbarkeit hingewiesen. Auch bei anderen *M. hyopneumoniae*-Impfstoffen kann es zu Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens kommen (VETIDATA, 2012).

5.1.1.2 Beurteilung der Injektionsstelle

In dieser Studie traten zu keinem Zeitpunkt während der 14-tägigen Überwachung der Injektionsstelle bei den geimpften oder den mit NaCl behandelten Ferkeln Reaktionen auf, die über eine sichtbare Injektionsstelle mit einem Erythem, im Durchmesser kleiner als 0,5cm und einer Schwellung der Haut in Verbindung mit der Injektionsstelle hinausgingen. Allerdings wird in der Packungsbeilage auf lokale Gewebsreaktionen in Form von palpablen Schwellungen an der Injektionsstelle bis zu 2 Tage nach der Impfung hingewiesen. Der Durchmesser dieser lokalen Gewebsreaktion kann bis zu 0,3cm betragen. Auch bei den anderen Vakzinen sind lokale Reaktionen in Form von unterschiedlich großen Schwellungen, Hautrötungen

und Muskelentzündungen vermerkt (VETIDATA, 2012). ELICKER und SIPOS (2009) stellten Untersuchungen zur Gewebeerträglichkeit von Vakzinen gegen *M. hyopneumoniae* an und fanden heraus, dass die lokalen Gewebereaktionen bei Verabreichung von verschiedenen Vakzinen in erster Linie vom Injektionsvolumen und vom verwendeten Adjuvans abhängen. Bei dem in dieser Untersuchung verwendeten Injektionsvolumen scheinen Reaktionen des Gewebes nur in so begrenztem Rahmen aufzutreten, dass sie die festgelegten Grenzwerte für den Score 0 nicht überschreiten.

5.1.1.3 Körpertemperatur

Die durchschnittliche Körpertemperatur der Ferkel sowohl der Impf- als auch der Placebogruppe blieb während der vier Tage nach der Applikation im Referenzbereich (PLONAIT, 2004). Der höchste durchschnittliche Unterschied zwischen den Gruppen betrug 0,3°C. Die größte Differenz zwischen dem Zeitpunkt vor der Injektion und dem höchsten gemessenen Wert betrug 1,6°C bei einem ungeimpften Ferkel sowie 1,7°C bei einem geimpften Tier. Auch in der Packungsbeilage wird auf eine mögliche Erhöhung der Körpertemperatur (bis zu 1,9°C) hingewiesen. DAWSON et al. (2002) testeten ebenfalls eine One-Shot-Vakzine bei drei Wochen alten Tieren und stellten ebenso keinen Unterschied zwischen der durchschnittlichen Rektaltemperatur von geimpften und Placebotieren fest.

5.2 Serologie

Innerhalb den ersten sechs Stunden postnatal erhalten Ferkel über das Kolostrum Antikörper gegen *M. hyopneumoniae*, vorausgesetzt, die Mutter ist seropositiv für den Erreger (BANDRICK et al., 2011). So sind auch bei dieser Studie die erhöhten Antikörpertiter am Tag 0 als maternale Antikörper zu erklären. Bis Tag 56 der Studie fielen die maternalen Antikörpertiter im Blut der Ferkel beider Gruppen langsam ab. LILLIE (2004) und STRAUß (2007) konnten diese Entwicklung der Antikörpertiter im Blut von Ferkeln aus seropositiven Muttersauen ebenfalls feststellen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen wurde an Tag 28 gemessen. Zu diesem Zeitpunkt waren die Ferkel seit ungefähr einer Woche abgesetzt. Die höheren durchschnittlichen Werte in der Impfgruppe sind mit der Impfung zu

erklären. Die Werte beider Gruppen fielen allerdings in den folgenden vier Wochen weiter ab, wobei die Vakzinegruppe grundsätzlich höhere Werte behielt. Auch bei Betrachtung der Serokonversion fällt auf, dass in dieser frühen Lebensphase stets mehr Tiere aus der Impfgruppe seropositiv waren. Zwischen Tag 56 und Tag 70 begannen sowohl die mittleren Werte der Antikörpertiter als auch die Rate der Serokonversion beider Gruppen anzusteigen. Deshalb ist der Infektionszeitpunkt für einen großen Teil der Tiergruppe um den Tag 30 bis Tag 40 zu sehen, also zu Beginn der Aufzuchtphase. Als Zeitspanne zwischen Infektion und Beginn des Antikörperanstiegs sind bei dieser Altersgruppe und bei diesem Impfstatus drei Wochen anzunehmen (VILLARREAL et al., 2012). In den folgenden sechs Wochen von Tag 84 bis Tag 126 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Höhe der Antikörpertiter und der Serokonversionsrate bei beiden Gruppen. Die Antikörpertiter und auch die Serokonversionsrate der Impfgruppe begannen ungefähr 3 Wochen früher anzusteigen als die Werte der Placebogruppe. Die Höchstwerte dieser beiden Parameter lagen sogar zwölf Wochen auseinander (Vakzinegruppe: Tag 112; Placebogruppe: Tag 182). Das Immunsystem der geimpften Tiere reagiert deutlich früher auf den in der Zwischenzeit erreichten hohen Infektionsdruck durch *M. hyopneumoniae* als das der ungeimpften Tiere. Auch SIEGRIST (2001) beurteilte das immunologische Priming von Neonaten als effizient, obwohl keine schnelle und starke Antikörperantwort auf die Immunisierung besteht, denn vor allem die Ausbildung der T-Zell-Antwort bleibt unbeeinflusst von passiv transferierten Antikörpern. Trotzdem wird eine gute Basis für zukünftige Immunantworten geschaffen. HODGINS et al. (2004) betrachteten das Impfalter beziehungsweise die noch unreife Immunfunktion als unerheblich für den Impferfolg. Sie sehen vielmehr hohe maternale Antikörpertiter bei den Ferkeln als Ursache für deren schwächere Immunantwort auf die frühe Impfung. Ebenso sahen GROSSE BEILAGE und SCHREIBER (2005) bei einer Impfung von Ferkeln geimpfter Muttertiere im Alter von einer und vier Wochen deutliche Interferenzen der Immunreaktion der Ferkel mit maternalen Antikörpern. So war in ihrer Studie eine Immunreaktion auf die Vakzination erst im Alter von acht Wochen sichtbar. STRAUß (2007) fand in seiner Studie keinen signifikanten Unterschied zwischen der Immunreaktion One-Shot und Two-Shot geimpfter Ferkel. Außerdem zeigte sich auch kein Unterschied zwischen der Immunreaktion von Ferkeln mit hohen maternalen Antikörperwerten, die er durch die Impfung von Sauen induzierte, oder von Ferkeln ohne maternale Antikörper.

Er schloß daraus, dass hohe maternale Antikörpertiter die Bildung der Serumantikörper im Blut der Ferkel nicht beeinflussen. MARTELLI et al. (2006) sahen in ihrer Studie keine Wechselwirkung der maternalen Antikörper mit der Lymphozyten-Stimulation durch die Impfung bei in der ersten Lebenswoche geimpften Ferkeln von serologisch positiven Muttertieren. Außerdem scheinen neben Antikörpern vor allem *M. hyopneumoniae*-spezifische T-Lymphozyten sehr wichtig für eine schützende Immunantwort zu sein (THACKER et al., 2000). Diese werden von immunisierten Sauen auch auf ihre Nachkommen übertragen und nehmen nach Stimulation ebenfalls an der neonatalen Immunantwort teil (BANDRICK et al., 2008). Es müsste also trotz maternaler Antikörper eine ausreichende Immunreaktion bestehen, die sich schließlich auch in den Gewichtszunahmen und Lungenscores der Tiere entsprechend widerspiegelt. Diese Annahmen können in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Die fünf Messwerte der Antikörperkonzentrationen zwischen Tag 140 und Tag 196 zeigten sich schließlich nicht mehr signifikant unterschiedlich, da die Placebogruppe inzwischen auch in entsprechendem Maße auf die Infektion reagiert. Das Absinken der Antikörpertiter und auch der Serokonversionsrate zum Schlachtermin hin lassen sich durch das Nachlassen des Infektionsdruckes und die überstandene akute Phase der Infektion bei einem Teil der Tiere erklären. Eine möglichst frühe Impfung in der ersten Lebenswoche soll zu einer Serokonversion und einem Immunschutz früh im Leben führen, vor allem zum Zeitpunkt des Absetzens, wenn die Ferkel verschiedener Sauen zusammengestellt werden und mit diversen Krankheitserregern und nachlassender maternaler Immunität konfrontiert sind. In dieser Studie war die wenig ausgeprägte Interferenz der Immunreaktion der Ferkel mit maternalen Antikörpern zu beobachten, so dass eine frühe Impfung durchaus als wirkungsvoll zur Bekämpfung von *M. hyopneumoniae* eingestuft werden kann.

5.3 Gewichtsentwicklung

Alle 240 Schweine wurden zu fünf Zeitpunkten, an Tag 0, Tag 28, Tag 84, Tag 140 und Tag 168 gewogen. Die Zeitpunkte verteilen sich ungleichmäßig über den Mastdurchgang, da sie den Lebensabschnitten der Tiere entsprechen. Das erste Wiegen fand beim Einschluss der Tiere am 4. beziehungsweise 5. Lebenstag statt, das Zweite nach vier Wochen. Dies sollte den Zeitraum der Unterbringung im Abferkelstall widerspiegeln. Die nächste Phase erstreckte sich über acht Wochen

und repräsentiert somit den Aufzuchtbereich. Während der Mast wurde zwei Mal gewogen, wobei der erste Termin acht Wochen nach dem Einstellen in die Mast angesetzt war. Zum letzten Termin ergaben sich nur noch vier Wochen Abstand, denn nur so konnte gewährleistet werden, dass in den letzten Wiegetermin noch alle Tiere eingehen, da die Ersten bereits kurz darauf geschlachtet wurden. Bis zum Ende der Flatdeckphase, also an Tag 0, Tag 28 und Tag 84 unterschied sich das Gewicht der Tiere nicht signifikant. Beim Wiegen an Tag 84 war bei der Vakzinegruppe bereits eine Tendenz zu einem höheren durchschnittlichen Gewicht erkennbar. Dieser Trend ist allerdings noch nicht signifikant. Bei der Betrachtung der Höhe der Antikörpertiter und der Serokonversionsrate der beiden Gruppen fiel ein signifikanter Unterschied von Tag 84 bis Tag 126 auf. Dieser Unterschied in der Immunantwort der Tiere spiegelte sich auch in der Gewichtsentwicklung wider. An Tag 140 war ein signifikanter Unterschied von 4kg zwischen den Gruppen vorhanden. Beim abschließenden Wiegen an Tag 168 stieg der Unterschied auf 4,5kg an. Die täglichen Zunahmen unterschieden sich ebenfalls zwischen Tag 84 und Tag 140 signifikant. In diesem Zeitraum konnte die Vakzinegruppe signifikant größere durchschnittliche Tageszunahmen von 50g aufweisen. Auch TZIVARA et al. (2007) stellten in einer Studie in zwei Betrieben im Durchschnitt 6kg und 4kg höhere Schlachtgewichte bei vakzinierten im Gegensatz zu nicht vakzinierten Tieren fest. Auch die durchschnittlichen Tageszunahmen waren hier höher. Bei METTLER (2009) zeigten die geimpften Tiere signifikant höhere durchschnittliche Tageszunahmen in der Mastphase vier Wochen nach der Einstellung in die Mast und somit später als in dieser Untersuchung. Zwischen Tag 140 und 168 waren bei den Zunahmen keine signifikanten Unterschiede mehr erkennbar, da sich auch die ungeimpften Tiere in dieser Phase mit der Infektion auseinandergesetzt hatten. Die Placebogruppe konnte den Gewichtsvorteil nicht mehr aufholen, auch wenn sich die durchschnittlichen Tageszunahmen wieder angleichen. Das Immunsystem der geimpften Tiere, welches offensichtlich ungefähr drei Wochen vor dem der Placebogruppe auf den Infektionsdruck reagieren kann, ist also scheinbar in der Lage den Tieren in dem sensiblen Zeitfenster von Tag 84 bis Tag 140 einen Entwicklungsfortschritt zu gewährleisten, den die Placebogruppe bis zur Schlachtung nicht mehr einholt. So zeigten sich zusammenfassend die durchschnittlichen Tageszunahmen über den gesamten Untersuchungszeitraum von Tag 0 bis Tag 168 bei den vakzinierten Tieren signifikant um 30g höher. Ebenso erreichten die im Alter

von drei Wochen mit einem One-Shot-*M. hyopneumoniae*-Impfstoff geimpften Tiere in einer Studie von DAWSON et al. (2002) durch die Impfung signifikant bessere Tageszunahmen (23g) in einem Betrieb in Deutschland. In einem Betrieb in England konnten allerdings keine signifikanten Unterschiede bei den durchschnittlichen täglichen Zunahmen festgestellt werden. SIUGZDAITE et al. (2003) wiederum erreichten bei vakzinierten Tieren signifikant höhere Tageszunahmen (30g) und ein höheres Schlachtgewicht (6,04kg) im Vergleich zu nicht vakzinierten Schweinen. Bei allen Studien muss beachtet werden, dass der Impferfolg stark vom Management im Betrieb abhängig ist und die Wirkung der Impfung durch die Haltung und den Infektionsdruck beeinflusst wird, denn bei einer Vakzination gegen *M. hyopneumoniae* ist keine Elimination des Erregers möglich.

5.4 Lungenbefunde am Schlachthof

Am deutlichsten zeigten sich die Unterschiede bei den Lungenläsionen im Bereich von 0%-5% Lungenveränderungen, worin sich 52,3% der geimpften Tiere und 36,5% der Tiere der Placebogruppe befanden. Im Gegensatz dazu stand der Bereich mit Lungenveränderungen >20%, in dem nur 5,4% der geimpften Tiere, aber 18,3% der Placebogruppe einzuordnen sind. Dies zeigt deutlich, dass durch die Impfung deutlich weniger Tiere schwere Veränderungen an der Lunge aufwiesen. Zusätzlich wurde aus den individuellen Lungenscores ein Wert für die Gesamtheit der durchschnittlichen Lungenveränderungen errechnet. Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. In der Placebogruppe waren im Durchschnitt 9% des Lungengewebes verändert, wohingegen in der Vakzinegruppe nur 5% Veränderungen aufwiesen. Diese Ergebnisse deuten ebenso wie verschiedene weitere Untersuchungen auf einen Schutz durch die Impfung bis zum Schlachten hin. VILLARREAL et al. (2011) stellten reduzierte makroskopische Läsionen durch die Vakzine sowohl bei der Infektion mit hoch- als auch niedrigvirulenten Stämmen von *M. hyopneumoniae* fest. In einer Studie von SIUGZDAITE et al. (2003) zeigten sich 3,27% der Lungenoberfläche geimpfter und 9,04% der Lungenoberfläche ungeimpfter Tiere verändert. MERIALDI et al. (2011) untersuchten 4889 Lungen aus 48 Betrieben am Schlachthof und fanden ebenfalls niedrigere durchschnittliche Werte an EP-typischen Veränderungen bei Schweinen, die aus infizierten aber impfenden Betrieben stammen im Gegensatz zu infizierten

nicht-impfenden Betrieben. Auch die Kombination des Impfstoffs gegen *M. hyopneumoniae* mit einem PCV2-Impfstoff reduzierte das Ausmaß der Lungenläsionen (KIM et al., 2011). KYRIAKIS et al. (2001) konnten bei verschiedenen Impfzeitpunkten keine Unterschiede in der Reduktion der Lungenläsionen feststellen. LILLIE (2004) fand keine Korrelation der Höhe der maternalen Antikörpertiter mit dem Score der Schlachtlungen. Die hier durchgeführte Studie unterstützt die Ergebnisse der genannten Autoren, so dass abschließend festgehalten werden kann, dass durch die frühe Impfung in der ersten Lebenswoche mit einem One-Shot-Impfstoff eine deutliche Verbesserung der Lungenqualität und somit auch des Gesundheitszustandes und des Wohlbefindens der Tiere hervorgerufen werden kann.

5.5 Mortalität

In der Vakzine- und in der Placebogruppe verendeten jeweils fünf Tiere. In jeder Gruppe wurden außerdem jeweils zwei Tiere aus Tierschutzgründen euthanasiert. In der Placebogruppe verendeten mehr Tiere im Abferkelbereich, dagegen verendete dort kein Tier aus der Vakzinegruppe, so dass festgestellt werden kann, dass durch die Impfung keine Todesfälle durch einen anaphylaktischen Schock oder ähnliches ausgelöst werden. Der Großteil der Todesfälle der Vakzinegruppe war im Mastbereich angesiedelt. Aus den entsprechenden pathologischen Gutachten lies sich für alle Todesfälle kein negativer Einfluss der Vakzine ableiten. Die in den Gutachten der Pathologie beschriebenen Diagnosen, Traumata, Arthritis, Enteritis oder Gelenkschwellungen sind Erkrankungen, die im Verlauf der Mast auftreten können. Somit ist kein Einfluss der Vakzine auf die Mortalität der Tiere zu erkennen.

5.6 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Wirksamkeit und Sicherheit des Inaktivat-Impfstoffes Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) bei Ferkeln in der ersten Lebenswoche im Rahmen einer Feldstudie überprüft. Die Impfung von 4-5 Tage alten Ferkeln führt zu einer signifikanten Reduktion der Lungenläsionen im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p=0,0001$). Des Weiteren sind die durchschnittlichen täglichen Zunahmen der geimpften Tiere im gesamten Untersuchungszeitraum mit 30g signifikant höher als die der ungeimpften Tiere ($p=0,007$). Das Gewicht zum Ende der Mast unterscheidet sich mit 4,5kg ebenfalls signifikant zu Gunsten der Impfgruppe ($p=0,0073$). Es werden keine lokalen oder systemischen Reaktionen auf die intramuskuläre Injektion am 4. beziehungsweise 5. Lebenstag diagnostiziert. Im Verlauf von 14 Tagen nach der Impfung können ebenfalls keine nachteiligen Beeinflussungen der Ferkel durch die Impfung festgestellt werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Einsatz des One-Shot-Impfstoffs Suvaxyn[®] MH-One bei Anwendung am 4. beziehungsweise 5. Lebenstag von Ferkeln sicher und wirksam ist.

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Untersuchungen war es Wirksamkeit sowie Sicherheit des One-Shot-Impfstoffs Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) gegen *M. hyopneumoniae* für die Anwendung bei Ferkeln in der ersten Lebenswoche in einer Feldstudie zu beurteilen. Zu diesem Zweck wurde ein geschlossener Betrieb in Süddeutschland mit Nachweis von *M. hyopneumoniae* mittels PCR- und ELISA- und entsprechender Klinik ohne bisherige Impfung gegen den Erreger ausgewählt. 240 Ferkel im Alter von 4-5 Tagen wurden nach Gewicht randomisiert in die Studie eingeschlossen und einer Impf- sowie einer Kontrollgruppe zugeteilt. Den Tieren der Impfgruppe wurden je 2ml des Impfstoffs intramuskulär in die Nackenmuskulatur injiziert. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten in gleicher Weise 2ml 0,9%ige sterile Kochsalzlösung. Zur Überprüfung der Wirksamkeit des Impfstoffs wurden die Tiere an Studientag 0, 28, 84, 140 und 168 gewogen sowie die durchschnittlichen täglichen Zunahmen und ein Lungenscore am Schlachthof bewertet. Außerdem wurde die Entwicklung der Antikörper nach Impfung im Blut beurteilt. 25% der Tiere der Impfgruppe sowie 25% der Tiere der Kontrollgruppe wurden nach einem Randomisierungsplan einer Safety-Group zugeteilt. Diese Tiere wurden vor und nach der Injektion, und anschließend 14 Tage lang täglich klinisch untersucht und die Injektionsstelle bewertet.

Zu Beginn der Endmast und beim abschließenden Wiegen an Tag 168 ist ein signifikanter Gewichtsunterschied zwischen Impf- und Kontrollgruppe von 4kg ($p=0,0034$) beziehungsweise 4,5kg ($p=0,0073$) meßbar. Die durchschnittlichen täglichen Zunahmen beider Gruppen unterscheiden sich zwischen Tag 84 und Tag 140 um 50g ($p=0,0039$). Über den gesamten Untersuchungszeitraum sind die durchschnittlichen Tageszunahmen bei den vakzinierten Tieren um 30g höher ($p=0,007$). Zwischen Tag 84 und Tag 126 zeigt das Serum der Tiere der Impfgruppe signifikant höhere Antikörpertiter als das der Kontrollgruppe ($p=0,0072$). Ebenso zeigt sich bei der Beurteilung der Lungen am Schlachthof im Durchschnitt 9% des Lungengewebes der Placebogruppe verändert, wohingegen 5% des Lungengewebes der Vakzinegruppe verändert sind ($p=0,0001$).

Die Sicherheit des Impfstoffs kann durch die klinische Untersuchung der Tiere und die Bewertung der Injektionsstelle der Impf- und der Kontrollgruppe beurteilt werden. Hierbei werden keine Zeichen abnormaler Gesundheit, keine Erhöhung der

durchschnittlichen Körpertemperatur über den Referenzbereich und keine Reaktionen an der Injektionsstelle festgestellt. Zusammenfassend kann die Anwendung des Inaktivat-Impfstoffs Suvaxyn[®] MH-One bei Ferkeln in der ersten Lebenswoche als sicher und wirksam bezeichnet werden.

7 Summary

Aim of this study was to evaluate the safety and efficacy of Suvaxyn[®] MH-One (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland), an inactivated *M. hyopneumoniae*-vaccine administered to piglets aged one week under field conditions. For this reason a farrow to finish farm in southern Germany with evidence of *M. hyopneumoniae* in PCR and ELISA and accordant clinical findings without a recent *M. hyopneumoniae*-vaccination was selected. 240 piglets aged 4 to 5 days were enrolled in the study according to a random treatment allocation plan and assigned to one vaccine group and one control group. Each piglet of the vaccine group received an injection with 2ml of the vaccine intramuscular in the neck. The control group received 2ml 0.9% saline the same way as the vaccine group. To evaluate the efficacy of the vaccine the bodyweight was monitored on study day 0, 28, 84, 140 and 168 and the average daily weight gain was calculated. Furthermore a lung score at abattoir as well as the development of the antibodies in the blood after the vaccination was measured. 25% of the vaccine group and 25% of the control group were assigned to a safety group based on a randomisation plan. Animals in the safety group obtained clinical observations and the injection site was observed regarding reactions before and after the injection. This procedure was performed on a daily basis for 14 days.

A significant difference in bodyweight of 4kg ($p=0.0034$), 4.5kg respectively ($p=0.0073$) is measured at onset of the final fattening phase and on day 168, the last time bodyweight was taken. The average daily weight gain of both groups is 50g higher in the vaccine group between day 84 and day 140 ($p=0.0039$). During the hole trial period with 30g the average daily weight gain of the vaccine group is significantly higher ($p=0.007$). Between day 84 and 140 the development of the antibodies in the serum of the animals shows a significant difference in favour of the vaccine group ($p=0.0072$). At abattoir 9% of the lung in the control group shows lesions compared to 5% of the lung in the vaccine group ($p=0.0001$).

The safety of the vaccine can be evaluated by clinical observations and injection site observations. No signs of abnormal health, no increase of average rectal temperature over physiological ranges and no injection site reactions are observed. It can be concluded, that the application of Suvaxyn[®] MH-One on one week old piglets can be stated as save and efficient.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Durchschnittliche Körpertemperatur der Vakzine- im Vergleich zur Placebo-Gruppe	34
Abbildung 2: Mittelwerte der Antikörpertiter von Vakzine- und der Placebogruppe im Verlauf der Untersuchungen im Vergleich.....	35
Abbildung 3: Serokonversionsrate der Tiere der Impf- und der Placebogruppe in Prozent im Vergleich	36
Abbildung 4: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich	37
Abbildung 5: Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich	38
Abbildung 6: Kategorisierung der Lungenläsionen der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich	39
Abbildung 7: Vergleich der durchschnittlichen Lungenveränderungen der Tiere der Placebo- und der Vakzinegruppe in Prozent.....	40

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Score der Lokalreaktionen an der Injektionsstelle.....	27
Tabelle 2: Auswertung der Allgemeinuntersuchung der Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich	33
Tabelle 3: Verendete und euthanasierte Tiere der Vakzine- und der Placebogruppe im Vergleich	41

10 Literaturverzeichnis

ALEXANDER, T. J., et al. (1980)

Medicated early weaning to obtain pigs free from pathogens endemic in the herd of origin. *Vet Rec* 106(6), Seiten 114-9.

ALMOND, G., et al. (2010)

Evaluation of peripheral lymphocytes after Weaning and vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae*. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 635.

AMASS, S. F., et al. (1994)

Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida* infections in swine. *J Am Vet Med Assoc* 204(1), Seiten 102-7.

AMERI, M., E. M. ZHOU, and W. H. HSU (2006)

Western blot immunoassay as a confirmatory test for the presence of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies in swine serum. *J Vet Diagn Invest* 18(2), Seiten 198-201.

ANDREASEN, M., J. MOUSING, and L. KROGSGAARD THOMSEN (2001)

No simple association between time elapsed from seroconversion until slaughter and the extent of lung lesions in Danish swine. *Prev Vet Med* 52(2), Seiten 147-61.

ARTIUSHIN, S., and F. C. MINION (1996)

Arbitrarily primed PCR analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates demonstrates genetic heterogeneity. *Int J Syst Bacteriol* 46(1), Seiten 324-8.

BANDRICK, M., et al. (2011)

Effect of cross-fostering on transfer of maternal immunity to *Mycoplasma hyopneumoniae* to piglets. *Vet Rec* 168(4), Seite 100.

BANDRICK, M., et al. (2008)

Passive transfer of maternal *Mycoplasma hyopneumoniae*-specific cellular immunity to piglets. *Clin Vaccine Immunol* 15(3), Seiten 540-3.

BILIC, B. N., and G. BILKEI (2006)

Effect of outdoor pig production on the seroprevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* and lung lesions. *Vet Rec* 158(9), Seiten 303-5.

CALSAMIGLIA, M., C. PIJOAN, and A. TRIGO (1999)

Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* from nasal swabs. *J Vet Diagn Invest* 11(3), Seiten 246-51.

CHOI, C., et al. (2006)

Expression of inflammatory cytokines in pigs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J Comp Pathol* 134(1), Seiten 40-6.

CIPRIAN, A., T. A. CRUZ, and M. DE LA GARZA (1994)

Mycoplasma hyopneumoniae: interaction with other agents in pigs, and evaluation of immunogens. *Arch Med Res* 25(2), Seiten 235-9.

DAWSON, A., et al. (2002)

Studies of the field efficacy and safety of a single-dose *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine for pigs. *Vet Rec* 151(18), Seiten 535-8.

DEBEY, M. C., C. D. JACOBSON, and R. F. ROSS (1992)

Histochemical and morphologic changes of porcine airway epithelial cells in response to infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Am J Vet Res* 53(9), Seiten 1705-10.

DEBEY, M. C., and R. F. ROSS (1994)

Ciliostasis and loss of cilia induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine tracheal organ cultures. *Infect Immun* 62(12), Seiten 5312-8.

DIFRANCO, E., et al. (1989)

Enzootic pneumonia in feeder pigs: Observations on causal factors. *Can Vet J* 30(3), Seiten 241-5.

ELICKER, S., and W. SIPOS (2009)

The tissue compatibility of different *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines is mainly dependent upon their adjuvants. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 122(9-10), Seiten 348-53.

FABLET, C., et al. (2010)

Assessment of four sampling methods to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* in live pigs. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 660.

FABLET, C., et al. (2011)

Longitudinal study of respiratory infection patterns of breeding sows in five farrow-to-finish herds. *Vet Microbiol* 147(3-4), Seiten 329-39.

FREY, J., A. HALDIMANN, and J. NICOLET (1992)

Chromosomal heterogeneity of various *Mycoplasma hyopneumoniae* field strains. *Int J Syst Bacteriol* 42(2), Seiten 275-80.

FRIIS, N. F. (1975)

[*Mycoplasmas of the swine-A review*]. *Nord Vet Med* 27(6), Seiten 329-36.

GEIGER, J., and D. GROTH (2010)

Mycoplasma hyopneumoniae elimination in a 3800 sow, multi-site system. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 640.

GINDELE, H. R. (2006)

Tierärztliche Bestandsbetreuung. *In Schweinekrankheiten*. K. Heinritzi, H.R. Gindele, G. Reiner, and U. Schnurrbusch, (Hrsg.). Seiten 353-87. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.

GOODWIN, R., F., W. (1985)

Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: saerch for possible causes. *Vet. Rec.* 116, Seiten 690-94.

GROSSE BEILAGE, E., N. ROHDE, and J. KRIETER (2009)

Seroprevalence and risk factors associated with seropositivity in sows from 67 herds in north-west Germany infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Prev Vet Med* 88(4), Seiten 255-63.

GROSSE BEILAGE, E., and A. SCHREIBER (2005)

[Vaccination of sows against *Mycoplasma hyopneumoniae* with Hyoresp]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 112(7), Seiten 256-61.

GUILMOTO, H. (2010)

Porcine respiratory disease complex, from diagnosis to efficient prevention: the role of infection dynamics and the quality of vaccination. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 682.

HAMMER, J., et al. (2010)

Efficacy of Denagard 10 (tiamulin hydrogen fumerate) in-feed antibiotic in a *Mycoplasma hyopneumoniae* infection model study. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 639.

HEINONEN, M., et al. (2011)

Eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine finishing herd without total depopulation. *Vet J* 188(1), Seiten 110-4.

HEINRITZI, K. (2006)

Pneumonie. *In* Schweinekrankheiten. K. Heinritzi, H.R. Gindele, G. Reiner, and U. Schnurrbusch, (Hrsg.). Seiten 137-46. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.

HEINRITZI, K., et al. (2003)

Untersuchungen zur ultraschallgeführten Lungenbiopsie beim Schwein. *Tierärztl Prax* 30, Seiten 264-72.

HENNIG-PAUKA, I., et al. (2007)

Comparison of three common methods of lung lavage in healthy pigs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 54(8), Seiten 428-33.

HILTERMANN-LINDEN, E. (2004)

Vergleich von Methoden zum Nachweis von *Mycoplasma hyopneumoniae*-Infektionen beim Schwein sowie epidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung der Enzootischen Pneumonie im Weser-Ems Gebiet im Jahre 1996, Diss med vet Hannover.

HODGINS, C., P. SHEWEN, and C. DEWEY (2004)

Influence of age and maternal antibodies on antibody responses of neonatal piglets vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Swine Health Prod* 12, Seiten 10-16.

JOHNSON, J., and T. C. HOOVER (2010)

Health and performance improvements in pigs treated with Draxxin Injectable Solution (tulathromycin) for swine respiratory disease (SRD). 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 665.

KIM, D., et al. (2011)

Comparative efficacy of commercial *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus 2 (PCV2) vaccines in pigs experimentally infected with *M. hyopneumoniae* and PCV2. *Vaccine* 29(17), Seiten 3206-12.

KOBISCH, M., and N. F. FRIIS (1996)

Swine mycoplasmoses. *Rev Sci Tech* 15(4), Seiten 1569-605.

KOKOTOVIC, B., et al. (1999)

Amplified-fragment length polymorphism fingerprinting of *Mycoplasma* species. *J Clin Microbiol* 37(10), Seiten 3300-7.

KRÜGER, M., and T. SEIDLER (2007)

Allgemeine Bakteriologie. *In* Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. A. Mayr, (Hrsg.). Seiten 344-91. Stuttgart: Enke Verlag.

KYRIAKIS, S. C., et al. (2001)

Field study on the efficacy of two different vaccination schedules with HYORESP in a *Mycoplasma hyopneumoniae*-infected commercial pig unit. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 48(9), Seiten 675-84.

LE CARROU, J., et al. (2006)

Persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in experimentally infected pigs after marbofloxacin treatment and detection of mutations in the *parC* gene. *Antimicrob Agents Chemother* 50(6), Seiten 1959-66.

LILLIE, K. (2004)

Untersuchungen zur Wirkung und Verträglichkeit eines inaktivierten *Mycoplasma hyopneumoniae*-One-Shot-Impfstoffes (Stellamune One) bei unterschiedlichen Vakzinationszeitpunkten, Diss med vet München.

LIUM, B., A. JORGENSEN, and M. GJESTVANG (2010)

The Norwegian program for eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* is successfully completed. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 643.

MAES, D. (2010)

Mycoplasma hyopneumoniae infections in pigs: update on epidemiology and control. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seiten 30-33.

MAES, D., et al. (2008)

Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Vet Microbiol* 126(4), Seiten 297-309.

MAROIS, C., et al. (2009)

Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Microbiol* 135(3-4), Seiten 283-91.

MAROIS, C., et al. (2007)

Isolation of *Mycoplasma hyopneumoniae* from different sampling sites in experimentally infected and contact SPF piglets. *Vet Microbiol* 120(1-2), Seiten 96-104.

MARTELLI, P., et al. (2006)

Antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in vaccinated pigs with or without maternal antibodies induced by sow vaccination. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 53(5), Seiten 229-33.

MATEUSEN, B., et al. (2002)

Effectiveness of treatment with lincomycin hydrochloride and/or vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* for controlling chronic respiratory disease in a herd of pigs. *Vet Rec* 151(5), Seiten 135-40.

MERIALDI, G., et al. (2011)

Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22182431, abgerufen am 29.02.2012.

METTLER, S. (2009)

Untersuchungen zur Wirksamkeit zweier *Mycoplasma hyopneumoniae* Impfstoffe bei verschiedenen Haltungssystemen innerhalb eines Betriebs, *Diss vet med*, München.

MEYNS, T., et al. (2006)

Comparison of transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in vaccinated and non-vaccinated populations. *Vaccine* 24(49-50), Seiten 7081-6.

MEYNS, T., et al. (2011)

A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter. *Vet J* 187(3), Seiten 388-92.

MOORKAMP, L., E. GROSSE BEILAGE, and M. HEWICKER-TRAUTWEIN (2010)

Immunohistochemistry and polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in piglets. *Tierärztl Prax Großt* 6 (10), Seiten 357-62.

MUNETTA, Y., et al. (2003)

Porcine TLR2 and TLR6: identification and their involvement in *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. *J Interferon Cytokine Res* 23(10), Seiten 583-90.

NAKANISHI, N., et al. (2010)

Efficacy of Econor (valnemulin) for the treatment of mycoplasma pneumonia of swine under field conditions in Japan. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 637.

NANJIANI, I. A., et al. (2005)

Evaluation of the therapeutic activity of tulathromycin against swine respiratory disease on farms in Europe. *Vet Ther* 6(2), Seiten 203-13.

NATHUES, H., et al. (2010)

Occurrence of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling and nursery pigs in a region of high pig density. *Vet Rec* 166(7), Seiten 194-8.

NUTSCH, R. G., et al. (2005)

Efficacy of tulathromycin injectable solution for the treatment of naturally occurring Swine respiratory disease. *Vet Ther* 6(2), Seiten 214-24.

OPRIESSNIG, T., et al. (2004)

Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 41(6), Seiten 624-40.

PALZER, A., et al. (2008)

Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia. *Vet Rec* 162(9), Seiten 267-71.

PANAGIOTIS, T., et al. (2010)

Clinical evaluation of intradermal vaccination against porcine Enzootic Pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*). 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 634.

PIETERS, M., et al. (2010)

An experimental model to evaluate *Mycoplasma hyopneumoniae* transmission from asymptomatic carriers to unvaccinated and vaccinated sentinel pigs. *Can J Vet Res* 74(2), Seiten 157-60.

PLONAIT, H. (2004)

Fieberhafte Allgemeinerkrankungen. *In* Lehrbuch der Schweinekrankheiten. K.H. Waldmann and M. Wendt, (Hrsg.). Seiten 93-110. Stuttgart: Parey Verlag.

RAUTIAINEN, E., V. TUOVINEN, and K. LEVONEN (2000)

Monitoring antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* in sow colostrum—a tool to document freedom of infection. *Acta Vet Scand* 41(3), Seiten 213-25.

RAUTIAINEN, E., and P. WALLGREN (2001)

Aspects of the transmission of protection against *Mycoplasma hyopneumoniae* from sow to offspring. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 48(1), Seiten 55-65.

REDONDO, E., et al. (2009)

Histopathological and immunohistochemical findings in the lungs of pigs infected experimentally with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J Comp Pathol* 140(4), Seiten 260-70.

REYNOLDS, S. C., et al. (2009)

Reduced lung lesions in pigs challenged 25 weeks after the administration of a single dose of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine at approximately 1 week of age. *Vet J* 181(3), Seiten 312-20.

SARRADELL, J., et al. (2003)

A morphologic and immunohistochemical study of the bronchus-associated lymphoid tissue of pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Pathol* 40(4), Seiten 395-404.

SCARMAN, A. L., et al. (1997)

Identification of novel species-specific antigens of *Mycoplasma hyopneumoniae* by preparative SDS-PAGE ELISA profiling. *Microbiology* 143, Seiten 663-73.

SCHMIDT, J. A., G. F. BROWNING, and P. F. MARKHAM (2004)

Mycoplasma hyopneumoniae p65 surface lipoprotein is a lipolytic enzyme with a preference for shorter-chain fatty acids. *J Bacteriol* 186(17), Seiten 5790-8.

SEGALES, J., et al. (2011)

Exploratory study on the influence of climatological parameters on *Mycoplasma hyopneumoniae* infection dynamics. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=21904808, abgerufen am 29.02.1012.

SELBITZ, H.-J. (2007)

Infektionen und Krankheiten durch zellwandlose Bakterien der Klasse Mollicutes. *In* Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. A. Mayr, (Hrsg.). Seiten 536-46. Stuttgart: Enke Verlag.

SIBILA, M., et al. (2008)

Effect of sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter. *Vet Microbiol* 127(1-2), Seiten 165-70.

SIBILA, M., et al. (2004)

Dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in 12 farms with different production systems. *Can J Vet Res* 68(1), Seiten 12-8.

SIBILA, M., et al. (2009)

Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. *Vet J* 181(3), Seiten 221-31.

SIEGRIST, C. A. (2001)

Neonatal and early life vaccinology. *Vaccine* 19(25-26), Seiten 3331-46.

SIUGZDAITE, J., K. GARLAITE, and D. URBSIENE (2003)

Evaluation of antibody formation, daily weight gain and meat quality after vaccination of piglets against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Acta Vet Hung* 51(3), Seiten 273-81.

STAKENBORG, T., et al. (2005)

Characterization of In Vivo acquired resistance of *Mycoplasma hyopneumoniae* to macrolides and lincosamides. *Microb Drug Resist* 11(3), Seiten 290-4.

STEENHARD, N. R., et al. (2009)

Ascaris suum infection negatively affects the response to a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination and subsequent challenge infection in pigs. *Vaccine* 27(37), Seiten 5161-9.

STIPKOVITS, L., et al. (2001)

Treatment of pigs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, and *Actinobacillus pleuropneumoniae* with various antibiotics. *Can J Vet Res* 65(4), Seiten 213-22.

STRAUß, C (2007)

Einfluss der Mutterschutzimpfung gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* auf den Impfschutz der Ferkel, *Diss med vet Münche*

TAJIMA, M., and T. YAGIHASHI (1982)

Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* with the porcine respiratory epithelium as observed by electron microscopy. *Infect Immun* 37(3), Seiten 1162-9.

THACKER, E. L. (2001)

Immunology of the porcine respiratory disease complex. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 17(3), Seiten 551-65.

THACKER, E. L. (2004)

Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Anim Health Res Rev* 5(2), Seiten 317-20.

THACKER, E. L. (2006)

Mycoplasmal Diseases. *In Diseases of Swine*. B.E. Straw, J.J. Zimmerman, S. D'Allaire, and D.J. Taylor, (Hrsg.). Seiten 701-17. Iowa: Blackwell Publishing.

THACKER, E. L., et al. (1999)

Mycoplasma hyopneumoniae potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *J Clin Microbiol* 37(3), Seiten 620-7.

THACKER, E. L., et al. (2006)

Plasmid-mediated growth hormone-releasing hormone efficacy in reducing disease associated with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *J Anim Sci* 84(3), Seiten 733-42.

THACKER, E. L., et al. (2000)

Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin to pigs. *Am J Vet Res* 61(11), Seiten 1384-9.

THONGKAMKOON, P., et al. (2010)

In vitro susceptibility of Porcine *Mycoplasmas* to antimicrobial agents during 2008-2009. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 638.

TZIVARA, A., et al. (2007)

Efficacy of an inactivated aqueous vaccine for the control of enzootic pneumonia in pigs infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet Rec* 160(7), Seiten 225-9.

VETIDATA (2012)

VETIDATA; Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittel Anwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht. <http://www.vetidata.de/>, abgerufen am 22.02.2012.

VICCA, J., et al. (2005)

Efficacy of in-feed medication with tylosin for the treatment and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. *Vet Rec* 156(19), Seiten 606-10.

VICCA, J., et al. (2002)

Patterns of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in Belgian farrow-to-finish pig herds with diverging disease-course. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 49(7), Seiten 349-53.

VICCA, J., et al. (2003)

Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Vet Microbiol* 97(3-4), Seiten 177-90.

VILLARREAL, I., et al. (2010a)

Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on its transmission under field conditions. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010a, Seite 636.

VILLARREAL, I., et al. (2010b)

Prevalence and risk factors for early *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling piglets in different EU countries. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010b, Seite 137.

VILLARREAL, I., et al. (2011)

The effect of vaccination on the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs under field conditions. *Vet J* 188(1), Seiten 48-52.

VILLARREAL, I., et al. (2012)

Effect of challenge of pigs previously immunised with inactivated vaccines containing homologous and heterologous *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *BMC Vet Res* 8, Seite 2.

WALDERS, B., et al. (2005)

Blending of a conventional *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine with a positive marker: tracking of immunised pigs by peptide-specific antibodies raised to the marker component. *Res Vet Sci* 78(2), Seiten 135-41.

WALLGREN, P., G. BOLSKE, and C. FOSSUM (1992)

In vitro stimulation of antibody production to *Mycoplasma hyopneumoniae* by porcine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Microbiol* 32(3-4), Seiten 363-74.

YANG, W. J., et al. (2005)

Epitope mapping of *Mycoplasma hyopneumoniae* using phage displayed peptide libraries and the immune responses of the selected phagotopes. *J Immunol Methods* 304(1-2), Seiten 15-29.

YESKE, P. (2010)

Summary of *Mycoplasma Hyopneumoniae* eradication experiences completed in Upper Midwest USA. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 2010, Seite 141.

YOUNG, T. F., et al. (2000)

A tissue culture system to study respiratory ciliary epithelial adherence of selected swine mycoplasmas. *Vet Microbiol* 71(3-4), Seiten 269-79.

ZHANG, Q., T. F. YOUNG, and R. F. ROSS (1994)

Microtiter plate adherence assay and receptor analogs for *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Infect Immun* 62(5), Seiten 1616-22.

ZIELINSKI, G. C., and R. F. ROSS (1993)

Adherence of *Mycoplasma hyopneumoniae* to porcine ciliated respiratory tract cells. *Am J Vet Res* 54(8), Seiten 1262-9.

ZIMMERMANN, W., W. ODERMATT, and P. TSCHUDI (1989)

[Enzootic pneumonia (EP): the partial curing of EP-reinfected swine herds as an alternative to total cure]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 131(4), Seiten 179-86, 91.

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Professor Dr. Dr. K. Heinritzi für die Überlassung dieses spannenden und aktuellen Themas, sowie Professor Dr. M. Ritzmann für die Betreuung bis zur Fertigstellung und die uneingeschränkte Unterstützung beim Erstellen und der Korrektur dieser Arbeit.

Ebenfalls bedanke ich mich bei meinen Betreuern Dr. Matthias Eddicks und Dr. Susanne Zöls für die jederzeit gewährte Unterstützung und die wertvollen Inspirationen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für Schweine, auch den bereits ausgeschiedenen, insbesondere Dr. Benjamin Müller, Regina Uhl, Dr. Nicole Übel und Dr. Ute Halfmann danke ich sehr herzlich für die hilfsbereite und freundliche Unterstützung. Für ihre tatkräftige Hilfe bedanke ich mich außerdem bei den Studenten der Rotation.

Bei der Familie des untersuchten Bestandes bedanke ich mich herzlich für die Ermöglichung der Durchführung dieser Studie und die jederzeit freundliche Mithilfe, sowie beim Personal des Schlachthofs, welches uns hilfsbereit und tatkräftig unterstützte.

Bei der Firma Pfizer danke ich insbesondere Lucas Taylor für die statistische Auswertung und den Biobest Laboratories für die Durchführung der ELISAs.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Schwester für die lebenslange, großartige und liebevolle Unterstützung bedanken. Ohne euch wäre ich nie so weit gekommen.