

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Thomas Göbel
Angefertigt am Lehrstuhl für Physiologie, Wissenschaftszentrum
Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen
Universität München in Freising
(Prof. Dr. Michael Pfaffl, kommissarische Leitung)

Vergleich der Immunkompetenz, Mastleistung und
Fleischqualität der Rassen Turopolje, Hybridschweine
(Deutsche Landrasse x Pietrain) und der Kreuzungsrasse
Deutsche Landrasse x Turopolje

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

von Ines Carolina Ballweg
aus Aschaffenburg

München 2013

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Thomas Göbel

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Tag der Promotion: 20. Juli 2013

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT.....	3
1.	Schweinerassen.....	3
1.1.	Turopolje	3
1.2.	Klassische Schweinerassen	4
1.2.1.	Deutsche Landrasse	4
1.2.2.	Pietrain.....	5
1.3.	Hybridschweinerasse (Deutsche Landrasse x Pietrain)	5
1.4.	Deutsche Landrasse x Turopolje	6
2.	Immunität.....	7
2.1.	Das angeborene Immunsystem	7
2.2.	Das adaptive Immunsystem.....	8
2.2.1.	Die zellvermittelte Immunantwort.....	9
2.2.2.	Die humorale Immunantwort.....	10
2.2.3.	Zytokine	11
2.3.	Immunglobulintransfer	14
2.3.1.	Immunglobulin M (IgM)	15
2.3.2.	Immunglobulin G (IgG).....	15
2.3.3.	Gehalt der Immunglobuline im Kolostrum.....	16
2.3.4.	Gehalt der Immunglobuline im Serum der Ferkel	16
3.	Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus (PRRSV)	18
3.1.	Aufbau PRRSV	18
3.2.	Replikationszyklus der Arteriviridae	19
3.3.	Immunologische Reaktion auf PRRSV	20
3.3.1.	Zelluläre und humerale Immunreaktion	20
3.3.2.	Übertragung und Bildung von Antikörpern.....	21
3.3.3.	Aktivierung des TLR-Signalweges	22
3.3.4.	Immunreaktion verschiedener Schweinerassen	23
3.4.	Nachweis von PRRSV	25
4.	Stress	26
5.	Fleischqualität.....	30

III.	MATERIAL UND METHODEN	32
1.	Versuchsaufbau und Probenentnahme	32
1.1.	Versuchsübersicht	32
1.2.	Verwendete Tiere.....	32
1.3.	Immunglobulinkonzentration in Kolostrum, in reifer Milch und im Serum der Ferkel.....	37
1.3.1.	Kolostrum- und Milchentnahme und Aufbereitung.....	37
1.3.2.	Serumentnahme der 14 Tage alten Ferkel	37
1.4.	Probenentnahme der mit PRRS MLV immunisierten Tiere	37
1.5.	Probenentnahme der nicht immunisierten Tiere	38
1.6.	Mastleistung und Fleischqualität.....	39
1.6.1.	Futterzusammensetzung	39
2.	Analyse	40
2.1.	Übersicht über durchgeführten Methoden	40
2.2.	Methodenbeschreibung	40
2.2.1	Serum	40
2.2.2.	Entrahmen der Milch.....	40
2.2.3.	Blutausstrich	41
2.2.4.	Plasma	41
2.2.5.	Leukozytenseparation.....	42
2.2.6.	Gewebe.....	42
2.2.7.	RNA Extraktion aus Leukozyten	42
2.2.8.	Quantitäts- und Qualitätsüberprüfung der RNA	43
2.2.9.	Reverse Transkription (RT).....	44
2.2.10.	Primerdesign und -optimierung.....	45
2.2.11.	Quantitative Revers Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR).....	45
2.2.12.	Housekeeping Gene (HKG)	48
2.2.13.	Gelelektrophorese.....	48
2.2.14.	Verwendete Primer	50
2.2.15.	Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay (ELISA) von IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12/IL-23 im Plasma	51

2.2.16.	Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay (ELISA) von Immunglobulin G (IgG) und Immunglobulin M (IgM)	54
2.2.17.	Extraktion der RNA-Fragmente des PRRS MLV	55
2.2.18.	Antikörpernachweis gegen PRRSV am Tag 16 und 32 post injectionem	55
2.2.19.	Lymphozytenseparation und Kryokonservierung	55
2.2.20.	Mitogeninduzierte Lymphozytenproliferation	57
2.2.21.	RNA Extraktion aus kryokonservierten Lymphozyten	58
2.3.	Mastleistungserfassung und Fleischqualität	58
IV.	ERGEBNISSE	61
1.	Immunglobulingehalt im Kolostrum, in der reifen Milch und im Serum der 14 Tage alten Ferkel.....	61
1.1.	Immunglobulin G (IgG).....	61
1.2.	Immunglobulin M (IgM)	63
2.	Immunreaktion der mit PRRSV MLV geimpften Tiere	64
2.1.	PRRS MLV-Fragment-Nachweis im Serum.....	64
2.2.	PRRS MLV-Fragment-Nachweis im Gewebe und Leukozyten.....	65
2.3.	Antikörpernachweis im Serum	65
2.4.	Messung der Gesamtimmunglobulinkonzentration	67
2.5.	Lymphozytenanzahl	77
2.6.	Monozytenanzahl.....	77
2.7.	Analyse der Expression von Genen des TLR-Signalweges	78
2.7.1.	Rezeptoren für PRRSV	78
2.7.2.	Toll-Like-Rezeptor-Signalweg.....	82
2.7.3.	Zytokine	86
2.8.	ELISA der Interleukine	95
3.	Nicht geimpfte Tiere	99
3.1.	Proliferation der Lymphozyten	99
3.2.	Differentialblutbild	100
3.3.	Genexpression der Interleukine, welche an der Stressregulation beteiligt sind	101
3.4.	ELISA der Interleukine	105
3.5.	Messung der Immunglobuline.....	108
4.	Mastleistung, Futtermittelverwertung und Fleischuntersuchung	110
4.1.	Wurfgrößen und Wurfeigenschaften	110
4.2.	Lebendgewicht.....	111

4.3.	Schlachtkörpergewicht.....	112
4.4.	Intramuskuläres Fett (IMF).....	112
4.5.	Flächenanteil des Fettes und des Muskels.....	113
4.6.	Klassifizierung der Schlachtkörper nach SEUROP.....	115
V.	DISKUSSION.....	117
1.	Immunglobulingehalt in Kolostrum, in der reifen Milch und Serum der 14 Tage alten Ferkel.....	117
2.	Immunreaktion der mit PRRS MLV geimpften Tiere.....	118
3.	Beeinflussung der Immunregulation durch Stress bei nicht geimpften Schweinen.....	126
4.	Wurfparameter und Fleischqualität.....	131
VI.	SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK.....	135
VII.	ZUSAMMENFASSUNG.....	136
VIII.	SUMMARY.....	138
IX.	LITERATUR.....	140
X.	DANKSAGUNG.....	157

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
APP	Akut-Phase-Protein
APZ	Antigenpräsentierende Zelle
ATP	Adenosin Triphosphat
bzw.	beziehungsweise
Ca	Kalzium
CD4	Cluster of Differentiation 4
CD8	Cluster of Differentiation 8
CD163	Cluster of Differentiation 163
cDNA	komplementäre Desoxynukleinsäure
Cq	Quantifizierungszyklus
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CTL	zytotoxische T-Zellen
CXCL12	CXC-Motiv-Chemokin 12
DC	Dendritische Zellen
d.h.	Das heißt
DL	Deutsche Landrasse
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylen-diamin-tetra-acetat
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay
FKS	Fetales Kälberserum
GAPDH	Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
h	Stunde/n
Histon	Histon
HP-Soja	Hochprotein-Soja
HPA	Hypothalamus-Hypophysen- Nebennierenrinden-Achse
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G

IgM	Immunglobulin M
IMF	Intramuskuläres Fett
IL	Interleukin (Gen)
IL-	Interleukin (Protein)
L	Liter
LxT	Deutsche Landrasse x Turopolje
LxP	Deutsche Landrasse x Pietrain
ME	Metabolische Energie
mg	Milligramm
MHC	Hapthistokompatibilitätskomplex
MJ	Megajoule
ml	Milliliter
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
mS	Millisievert
Mx1	Myxovirus Resistenz Protein 1
NCBI	National Center of Biotechnology Information
NK	Natürliche Killerzelle
ORF	offene Leserahmen
P	Phosphor
p.i.	post injectionem
p.m.	post mortem
p.n.	post natum
p.p.	post partum
PAMP	pathogen-associated-molecular-patterns
PBS	Phosphat-Puffer-Lösung
PRRSV	Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus
PRRS MLV	Lebend-attenuiertes PRRS Virus
PrV	Pseudorabies Virus
qPCR	quantitative Polymerase Kettenreaktion
RNA	Ribonukleinsäure
Rnase	Ribonuklease
Rfa	Rohfaser
RP	Rohprotein
RT	Reverse Transkription
s.	Siehe
SAM	Sympatho-adrenomedulläres System

SEM	Standardfehler
SIGLEC1	Sialic Acid Binding Ig-like Lectin 1
SLA	Swine Leukozyt Antigen
SRCR	Scavenger-receptor-cysteine-rich Superfamilie
T	Trockenmasse
Th-Zelle	T-Helfer-Zelle
TxT	Turopolje x Turopolje
Tabl.	Tabelle
TAE-Puffer	Tris Base / Acetic Acid / EDTA Puffer
TAP 1	Antigen Peptid Transporter 1
TGF β	Tumor Wachstumsfaktor beta
TLR	Toll Like Rezeptor
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
x g	Erdbeschleunigung
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentralnervöses System
Δ cq	delta Quantifizierungszyklus
β -Aktin	Beta-Aktin

I. EINLEITUNG

Im Jahr 2010 wurden in Deutschland 55,1 kg Schweinefleisch pro Kopf konsumiert (BMELV 2010). Somit ist dies das meist verzehrte Fleisch in Deutschland. Im Hinblick auf die Ökonomie der Fleischproduktion, sind Schweinemastbetriebe bestrebt, Schweine zu züchten, die möglichst schnell an Muskelmasse gewinnen. Erkrankungen der Schweine werden mit den gleichen Antibiotika behandelt wie Menschen. Die antibiotische Gabe an Schweinen steht jedoch im Verdacht, Resistenzen humanpathogener Bakterien auszulösen (WHO 2013, Plumb 1999). Um den Verbrauch der Medikamente in der Tiermedizin zu minimieren, rückt die Widerstandsfähigkeit gegenüber Pathogenen in den Mittelpunkt der Züchtung. So wurde eine Resistenz bei Hühnern gegen die Aviäre Leukose und Mark'sche Krankheit (Cole 1968) entdeckt. Bei Schafen fand man eine Widerstandsfähigkeit gegenüber Darmnematoden (Stear und Wakelin 1998). Bei Schweinen werden zum Beispiel in Kanada nur Eber zur Zucht eingesetzt, welche gegenüber E. coli (F18) resistent sind (Reiner 2012, in press). Auch wurde bei Meishan-Schweinen eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Pseudorabies Virus (PrV) im Vergleich zu Pietrain festgestellt (Reiner 2012, in press).

In der Literatur gelten die alten, bodenständigen Schweinerassen als widerstandsfähig gegenüber verschiedenen Krankheitserregern und auch als robust, da diese Schweine meist in einem Outdoor-System gehalten werden (Reiner et al. 2010). Als Beispiel werden Bunte Bentheimer, Wiesenauer Minischweine, Mangaliza und Turopolje, aber auch das Bentheimer Sattelschwein genannt. Als bereits ausgestorben gelten die Rassen Deutsches Weideschwein, Cornwall, Berkshire und Rotbuntes Schwein (Kräusslich und Brem 1997).

In dieser Studie sollte untersucht werden, ob sich moderne und alte Schweinerassen in ihrer Immunkompetenz bei konventioneller Stallhaltung unterscheiden. Untersucht wurden, als Stellvertreter der alten Rasse, Turopolje, eine aus Kroatien stammende, kaum domestizierte, in Wäldern lebende Schweinerasse. Als Vergleich wurde die klassische Nutzungsrasse Hybridschwein (Deutsches Landschwein x Pietrain) ausgewählt, außerdem wurde die Kreuzung Deutsches Landschwein x Turopolje untersucht.

Die Immunkompetenz wurde näher betrachtet. Differentialblutbilder wurden angefertigt und ausgewertet. Messungen verschiedener Zytokine wurden durchgeführt. Weiterhin wurden zum einen die Konzentration von Immunglobulinen im Kolostrum und reifer Milch der Sauen und zum anderen der Immunglobulingehalt im Serum der Ferkel bestimmt. Das Immunsystem wurde anhand einer Stimulierung durch einen attenuierten Lebendimpfstoff gegen das Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV) untersucht. Ferner wurde die immunologische Reaktion auf Stress, ausgelöst durch das Absetzen der Ferkel und das Umstallen im Verlauf der Mastperiode, betrachtet. In diesem Zusammenhang wurden bei allen Schweinen Muskelfleischproben entnommen, um die Fleischqualität vergleichen zu können.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Schweinerassen

1.1. Turopolje

Diese Rasse ist laut der Liste der FAO eine bedrohte Nutzungsrasse (Dikic et al. 2008, Loftus 1993). Das Turopolje-Schwein hat seinen Urstamm in Kroatien, südlich von Zagreb, in der gleichnamigen Region. Die Rasse wird nach einigen Veredelungen mit moderneren Schweinerassen immer noch in den Wäldern und Moorlandschaften ausschließlich in Outdoor-Systemen gehalten (Dikic et al. 2008). Sie gilt als ausgesprochenes Weideschwein. Der Rassestandard besitzt im Exterieur blonde, teils gekrauste Borsten. Das Schwein hat eine grau-weiße Grundfarbe mit unterschiedlich großen, meist rundlichen, über den ganzen Körper verteilten schwarzen Flecken. Nicht zur Zucht zugelassen sind Schweine mit wenigen, beziehungsweise keinen Flecken, wobei die Schwarte weiß bis grau sein sollte (Ivankovic et al. 2000). Der Körperbau ist mittelrahmig, mit starkem Kopf, breiter Stirn, die Profillinie ist gerade und der Rüssel halblang. Die Ohren sind lang und halbhängend. Der Rumpf gekennzeichnet sich durch eine gerade Rückenlinie aus; er ist gestreckt und rund, Brust und Rücken sind dabei breit und die Hinterhand ist abgerundet. Die Extremitäten sind kurz und stark, wobei die Afterklaue weit distal reicht (Druml 2011). Der Schwanz weist eine schwache Ringelung auf, der Ansatz ist tief. Das Temperament wird als lebhaft, aber gutmütig beschrieben (Druml 2011). Die Sauen haben fünf bis sieben Zitzen pro Gesäugeleiste. Die mittlere Wurfgröße liegt bei etwa sechs bis acht Ferkeln mit ein bis zwei Würfen im Jahr (Dikic et al. 1999). Die Eber werden ca. 74 cm hoch und 264 kg schwer. Die Sauen liegen bei 69 cm und 240 kg. In einer extensiven Haltungsforn nehmen sie ca. 550 g/Tag zu (Kralik und Margeta 2004). Turopolje gelten als robust und kälteresistent. Das Fleisch ist sehr schmackhaft und gilt als qualitativ hochwertig. Durch die guten Muttereigenschaften und ihrer Umgänglichkeit hat sich die Schweinrasse in kleinstrukturierten Landschaften als Nutztierasse unter anderem in Österreich durchgesetzt. Zwischen 2007 und 2010 haben sich die Betriebe von 32 auf 62 nahezu verdoppelt. Durch die geringe Ausgangspopulation wurde in der österreichischen Zucht auf ein Geschlechterverhältnis von 2,8:1 (Sau : Eber) geachtet. Somit ist versucht worden, die genetische Diversität in einem möglichst hohen Niveau anzusiedeln. In Österreich sind als Zuchtziele die Erhaltung von Mütterlichkeit und

Rassentypus, die Förderung der Fruchtbarkeit, die Wurfgröße, ein unproblematischer Geburtsverlauf und eine hohe Lebensleistung definiert. Durch den Typ des klassischen Fettschweines soll die Fleischqualität beibehalten werden, sowie die Leichtfüttrigkeit, aber auch die Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheitserregern und die minimale Stressanfälligkeit (Dikic et al. 1999). Die Leistungsprüfung findet in Österreich zurzeit im Feld statt, mit den Parametern: Deckdatum, Wurfdatum, Geburtsverlauf, lebendgeborene beziehungsweise totgeborene Ferkel innerhalb der ersten 24 Stunden und lebende Ferkel nach 21 Tagen (Arche 2010).

1.2. Klassische Schweinerassen

Die klassischen Hausschweinerassen werden als domestizierte Form des Wildschweines bezeichnet. Durch die Einkreuzung von Hausschweinen in die wilde Form entstand in den letzten zwei Jahrhunderten eine Vielzahl von Schweinerassen mit unterschiedlichem Nutzungsschwerpunkt, unter anderem die Rasse Pietrain und die Deutsche Landrasse.

1.2.1. Deutsche Landrasse

Die Deutsche Landrasse gilt als die am häufigsten genutzte Rasse in Deutschland (Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung 2012). Kennzeichen dieser Rasse ist ein langer Körper mit weißen Borsten auf weißer Haut. Charakteristisch sind die Schlappohren und die leicht konvexe Nasenlinie. Ausgewachsene Tiere können im Mittel eine Schulterhöhe von 80-90 cm mit einem Gewicht von 250-300 kg erreichen. Die Schlachtreife wird im Durchschnitt mit 170 Tagen erreicht. Man nannte diese Rasse bis 1968 auch das Deutsche veredelte Landschwein. Einheitliche Zuchtziele des Landschweines wurden Anfang des 20. Jahrhunderts formuliert. Die Urform, Deutsches Landschwein, gilt als fette Rasse mit hohem intramuskulärem Fettanteil. Durch das Einkreuzen von mageren Schweinerassen, wie zum Beispiel Landrasse aus dänischer Herkunft, entstand eine Rasse mit einer Mastleistung von ca. 1 kg/Tag. Außerdem weist die heutige Deutsche Landrasse eine Rippe mehr auf als die Urform, somit erreicht die Rasse einen deutlich längeren Körperbau, dies ist wiederum vorteilhaft für eine hohe Ferkelanzahl pro Wurf (Vogt 1997). Bis 1986 waren 80-90 % aller in Deutschland gezüchteten Landschweine stresslabil, daher wurde das Zuchtziel auf Stresstabilität umformuliert (Sambraus 2001). Durch ihre hohe Fruchtbarkeit und Milchleistung sind sie gut als Mutterlinie für die Erzeugung von Mastschweinen (Hybridschweinen) geeignet (Vogt 1997).

1.2.2. Pietrain

Die Rasse Pietrain stammt ursprünglich aus dem gleichnamigen Ort in Belgien. Nach dem zweiten Weltkrieg wurde diese Rasse nur noch in einem einzigen großen Bestand gezüchtet. Zu dieser Zeit war der Schwerpunkt der allgemeinen Schweinezucht auf Speckschweine ausgerichtet. Erst ab 1950 gewann das Pietrainschwein wieder an Bedeutung durch das vermehrte Verlangen des Verbrauchers nach fettarmem Fleisch (Sambraus 2010). Das Exterieur ist charakterisiert durch einen mittelrahmigen, kurzen, breiten und tiefrumpfigen Körperbau. Pietrain ist rein weiß bis hellgrau in der Grundfarbe mit unregelmäßig verteilten großen schwarzen bis dunkelbraunen Flecken. Die Rasse hat kurze Stehohren. Die Leistung liegt in der außergewöhnlichen Fleischfülle mit enormer Schinken- und Schulterfleischausprägung (Vier-Schinken-Schwein) (Sambraus 2001). Der hohe muskuläre Anteil und der geringe Fettanteil führen zu einem Fleisch-Fett-Verhältnis von 0,32 (Volk et al. 2004). Diese Eigenschaften werden intermediär auf die Endstufenprodukte übertragen (Kräusslich und Brem 1997). Allerdings haben sie eine geringe Futterverwertung und gelten als stresslabil. Im Mittel erreichen die Eber ein Stockmaß von 65 cm und ein Gewicht von 300 kg. Die Sauen sind um ca. 10 cm kleiner und wiegen im Durchschnitt um die 260 kg (Sambraus 2001). Die Fruchtbarkeit und Aufzuchtleistung der Rasse Pietrain sind geringer im Vergleich zur Deutschen Landrasse, womit sie weniger als Mutterlinie geeignet sind. Durch die Einkreuzung in die Deutsche Landrasse wurde deren Fett-Fleisch-Verhältnis verbessert. 60 % aller Masthybride haben Pietrain als Vaterlinie (Kräusslich und Brem 1997).

1.3. Hybridschweinerasse (Deutsche Landrasse x Pietrain)

Die Züchtung dieser Schweine wird allein für die Produktion von Mastschweinen genutzt. Die positiven Eigenschaften verschiedener Rassen sollten sich innerhalb einer Schweinerasse vereinen. Nur selten wird mit Hybridschweinen gezüchtet, da sich die positiven Eigenschaften dieser Kreuzungen verlieren würden. Im Allgemeinen wird Kreuzungszucht betrieben, um unterschiedliche genetische Potentiale von Tieren aus verschiedenen Populationen durch deren Kreuzung auszunutzen. Die Endprodukte werden ausschließlich als Nutz- und nicht als Zuchttiere gehalten (Kräusslich 1994). Das Zuchtziel wurde in den letzten Jahren nicht auf die Fitness und Widerstandsfähigkeit der einzelnen Tiere gelegt, sondern auf die Produktion von Fleischmasse und größtmöglicher Ferkelanzahl pro Wurf. Dadurch ist eine ausreichende Aufnahme an Kolostrum durch die Ferkel nicht mehr zwingend gewährleistet. Somit ist die Immunkompetenz der konventionell gehaltenen Schweine zurückgegangen (Straw et al. 2006).

In dieser Kreuzung von Deutsche Landrasse mit Pietrain wird die Fruchtbarkeit und Frohwüchsigkeit der Landrasse kombiniert mit dem großen Fleischanteil der Pietrain.

1.4. Deutsche Landrasse x Turopolje

Von einer Kreuzung zwischen einer alten, als robust und widerstandsfähig gegenüber Krankheiten geltende Schweinerasse, mit einer Rasse, die als sehr fruchtbar gilt und auch als Mutterlinie der Mastschweine in Deutschland eingesetzt wird, erhofft man sich, ähnlich wie die Kreuzung Landrasse x Duroc (Lapp 2009), stressstabile, gesunde, robuste Tiere mit guter Fleischbeschaffenheit und ebenso zufriedenstellender Mastleistung zu erhalten. Bis jetzt gibt es in der Literatur keine Hinweise auf ein ähnliches diskontinuierliches Zwei-Rassen-Kreuzungsverfahren wie in dieser Studie.

2. Immunität

Das Immunsystem schützt den Organismus vor in den Körper eingedrungene Fremdstoffen wie Toxine und Krankheitserreger und hilft ihm, infizierte, beziehungsweise entartete Zellen aufzuspüren und zu eliminieren. Es wird zwischen zwei Systemen unterschieden: dem angeborenen und dem erworbenen Immunsystem. Für eine erfolgreiche Immunabwehr sollten beide Systeme aktiv werden und ineinander übergehen.

2.1. Das angeborene Immunsystem

Die angeborene Immunreaktion findet man in unterschiedlicher Form und Ausprägung bei allen Tieren und Pflanzen.

Vor dem angeborenem Immunsystem stehen die Haut- und Schleimhautbarrieren. Das System soll den Organismus vor eindringenden Fremdstoffen schützen. Eine wesentliche Voraussetzung dafür ist es, Kommensale von Pathogenen unterscheiden zu können. Eine weitere Eigenschaft ist, dass es immer bereit ist (nicht-selektiv) alle in den Körper eingedrungene Pathogene zu bekämpfen. Durch die Unspezifität ist es weniger effizient als das erworbene Immunsystem, dafür ist es aber deutlich schneller, wodurch sich der Organismus Zeit verschafft, die adaptive Immunantwort zu entwickeln (Murphy et al. 2009).

Im Genom sind alle Informationen der am angeborenen Immunsystem beteiligten Faktoren codiert, weshalb dieses Abwehrsystem bereits ab der Geburt funktioniert (Murphy et al. 2009). Somit ist es nicht veränderbar und immer gleichen Abläufen unterworfen (Göbel und Kaspers 2010).

Ein Bestandteil ist das Komplementsystem, welches aus unterschiedlichen Plasmaproteinen besteht. Dieses System kann Fremdstoffe opsonieren und schädigen, Entzündungsreaktionen hervorrufen und somit Immunzellen anlocken und aktivieren (Aderem und Underhill 1999, Underhill et al. 1999). Zu den zellulären Bestandteilen zählen Makrophagen, neutrophile Granulozyten und natürliche Killer (NK)-Zellen (Murphy et al. 2009). Die Zellen erkennen molekulare Muster (PAMP = pathogen-associated-molekular-pattern). PAMPs stellen unter anderem Strukturen der mikrobiellen Membran oder Zellwand dar und werden durch Toll-like-Rezeptor (TLR) erkannt. Auch das Fehlen von Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)-Molekülen an der Zelloberfläche kann zu einer Elimination des Pathogens führen. Sobald die Immunzellen aktiviert werden, sekretieren sie Effektormoleküle wie zum Beispiel Interleukin (IL)-1, IL-8, IL-12, und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α). Durch die

Konzentrationsveränderung der Interleukine wird die Entzündungsreaktion ausgelöst und weitere Zellen des angeborenen und erworbenen Immunsystems angelockt (Abbas und Lichtman 2003).

Die NK-Zellen können Tumorzellen oder viral infizierte Zellen durch Veränderungen an der Zelloberfläche erkennen. NK-Zellen lagern sich an die entartete Zelle an und rufen eine Apoptose hervor. Somit wird dem Virus die Vermehrungsmöglichkeit entzogen und die Viruspartikel werden angreifbar für das Abwehrsystem (Silbernagl und Despopoulos 1991, Murphy et al. 2009).

2.2. Das adaptive Immunsystem

Das adaptive oder erworbene Immunsystem findet man bei Vertebraten. Es ist vor allem wirksam gegen Pathogene, die das angeborene System umgehen können, wie zum Beispiel Fremdstoffe, welche nicht phagozytiert werden oder die vertebralen Zellen zerstören können. Die Reaktion richtet sich demnach spezifisch gegen Merkmale der eindringenden Fremdstoffe. Im Gegensatz zum angeborenen Immunsystem weist jede Zelle des adaptiven Systems individuelle antigenspezifische Rezeptoren auf, welche durch ein „Gen-Rearrangement“ entstehen. Somit wird es möglich, Antigene von Pathogenen identifizieren zu können. Aktiviert ein Antigen einen Lymphozyten, beginnt er sich zu proliferieren („klonale Expansion“). Daraufhin bilden sich die Tochterzellen zu Effektorzellen aus. Manche Zellen differenzieren sich zu Gedächtniszellen. Dadurch wird eine Art Gedächtnis gegen schon bereits im Körper vorhandene Fremdstoffe entwickelt, sodass bei einem erneuten Auftreten des bereits bekannten Pathogens innerhalb kürzester Zeit reagiert werden kann (Palm und Medzhitov 2009).

Die erworbene Immunantwort lässt sich in zellvermittelte (Typ-1) und in humorale (Typ-2) Reaktionen einteilen (Salgame et al. 1991, Gemmell und Seymour 1994, Carter und Dutton 1996). Zur Elimination der Erreger sind meist beide Mechanismen erforderlich (Hernandez-Pando und Rook 1994).

2.2.1. Die zellvermittelte Immunantwort

Die Typ-1-Immunantwort zeichnet sich durch die Aktivierung von T-Helfer (Th)-Zellen, NK-Zellen und zytotoxischen T-Lymphozyten aus.

Zu einer Aktivierung einer T-Zelle muss das Antigen an den spezifischen Rezeptor der antigenpräsentierenden Zelle (APZ) gebunden sein, sodass diese Zelle das Antigen dem T-Lymphozyt präsentieren kann. APZ können dendritische Zellen (DC), Monozyten bzw. Makrophagen, B-Zellen und Epithelzellen des Thymus sein (Jensen 2007). T-Zellen können nur kurze Proteinfragmente erkennen. Weiterhin müssen diese an MHC der Wirtszelle gebunden sein (Babbitt et al. 1985, Goldrath und Bevan 1999, Jensen 2007). Bei Schweinen werden die Gene der MHC-Moleküle als Swine Leukozyt Antigen (SLA) bezeichnet (Lunney et al. 2009). Die T-Zelle bindet mit Hilfe des Cluster of Differentiation (CD)4 bzw. CD8 an die nichtpolymorphe Region der MHC-I-Moleküle (CD8) oder MHC-II-Moleküle (CD4) (Morrison et al. 1986, Doyle und Strominger 1987, Chapman 1998) an. Die Aufgabe der CD besteht sowohl in der Transduktion von Aktivierungssignalen als auch in der Vermittlung der interzellulären Adhäsion (Zuckermann 1999). Bei der Präsentation der Antigene zwischen den beiden MHC-Molekülen gibt es fundamentale Unterschiede. MHC-I findet man fast auf allen kernhaltigen Zellen. Das Molekül dient hauptsächlich zur Präsentation von intrazellulären Bestandteilen (zelleigene Proteine, Viren). Diese Bestandteile werden aus dem Zytosol durch multikatalytische Proteasomen abgebaut und als MHC-I-Komplex gebunden. Dieser Komplex wird dann den CD8-Zellen präsentiert. MHC-II-Moleküle befinden sich fast ausschließlich auf APZ. Extrazelluläre Pathogene oder deren Toxine werden endo- oder phagozytotisch von APZ aufgenommen. In den Vesikeln findet ein Abbau von sauren Proteasen zu Peptiden statt. Die entstandenen Peptide werden mittels eines MHC-II-Komplexes den CD4⁺-Zellen präsentiert (Goldberg und Rock 1992, Chapman 1998, van Endert 1999, Jensen 2007). Durch weitere (hier nicht näher erläuterte) Ko-Simulationen wird die naive T-Zelle effektiv stimuliert, sodass sie sich in verschiedene T-Zell-Untergruppen differenzieren und letztendlich proliferieren kann. Diese Aktivierung führt zur Expression weiterer effektorfunktionsassoziiierter Oberflächenmoleküle auf der T-Zelle und die Sekretion verschiedener Zytokine (Murphy et al. 2009). CD8⁺ T-Zellen differenzieren sich zu aktiven zytotoxische T-Zellen (cytotoxic T cells, CTL), welche unter anderem virusinfizierte Zellen abtöten (Lanzavecchia und Sallusto 2000). CD4⁺ T-Zellen differenzieren sich zu Effektor-T-Zellen (T-helper-cells, Th-Zellen). Aufgrund der Zytokinsekretion der APZ wird die funktionelle Untergruppe der Th-Zellen maßgeblich beeinflusst. Als Beispiel seien

hier Th1- und Th2-Zellen aufgeführt. Th1-Zellen produzieren vor allem Interferon gamma (IFN- γ) und IL-2, Th2-Zellen hauptsächlich IL-4 und IL-10, wobei IFN- γ und IL-4 die Entwicklung des jeweilig anderen Systems negativ beeinflussen (Bonilla und Oettgen 2010). Damit verhindert IL-4 die Entstehung von IFN- γ , und IFN- γ inhibiert seinerseits die Proliferation der Th2-Zellen (Fernandez-Botran 1988). IL-2 agiert als T-Zell-Wachstumsfaktor, stimuliert aber auch andere Interleukine, Interferone und TNF. Bei Makrophagen stimuliert dieses Interleukin die Zytotoxizität (Bachmann und Oxenius 2007).

2.2.2. Die humorale Immunantwort

Die Typ-2 Antwort ist charakterisiert durch die Produktion von Antikörpern, wobei B-Lymphozyten bei diesem Typ eine zentrale Stellung einnehmen (Murphy et al. 2009). Die Aktivierung findet sowohl durch die antigenpräsentierenden T-Zellen als auch durch Makrophagen statt. Nach der Aktivierung der B-Zellen und Differenzierung zur Plasmazelle werden spezifische Antikörper gegen zuvor präsentierte Antigene produziert. Dabei werden, je nach Immunantwort und Antigen, verschiedene Isotypen von Immunglobulinen (Ig) synthetisiert. So nimmt der IgM-Titer im Blut in der frühen Phase einer Infektion schnell ab. IgG wird bei Antigenen (Viren, Bakterien und Toxinen), die im Serum oder Lymphe zirkulieren, aktiviert. Es ist in der Lage das Komplementsystem zu aktivieren. IgA verhindert das Anheften von Pathogen an die Oberfläche der Epithelzellen. Man findet es auf sämtlichen Schleimhäuten und in den unterschiedlichsten Körpersekreten. IgE richten sich vor allem gegen Wurmparasiten. Dieses Immunglobulin bildet die kleinste Fraktion aller Immunglobuline. IgD ist an der Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen beteiligt (Murphy et al. 2009). Durch Wiederholung der Antigen-Peptid-Präsentation wird die Affinität der Antikörper erhöht. So werden Erreger mit spezifischen Antikörpern eliminiert.

Diese Art der Immunreaktion richtet sich gegen extrazelluläre Pathogene und ist aktiv bei einem immunpathologischen Geschehen während einer allergischen Erkrankung.

2.2.3. Zytokine

Zytokine umfassen eine Gruppe der löslichen Proteine. Sie spielen, wie schon kurz angesprochen, eine Schlüsselrolle im Immunsystem. Die Mehrheit der Zytokine wird in immunologisch aktiven Zellen gebildet und von ihnen sezerniert. Ein Charakteristikum ist die pleiotropische Wirkung. So kann ein und dasselbe Zytokin auf zwei unterschiedliche Zelltypen unterschiedliche Reaktionen auslösen. Weiterhin haben diese Proteine die Fähigkeit der „zytokinen Redundanz“, d.h. unterschiedliche Zytokine weisen die Fähigkeit auf, dieselben Effekte in einer Zelle zu aktivieren. Zu den Zytokinen zählen mittlerweile über 150 Proteine; hierzu gehören INF, Interleukine, Transforming Growth Factors (TGF) und TNF (Loppnow 2001, Balkwill und Burke 1989, Murphy et al. 2009). Im Folgenden werden die Zytokine mit den Wirkungen kurz besprochen, die in dieser Studie näher untersucht worden sind.

Interleukin-1(IL-1)

IL-1 ist ein proinflammatorisches Interleukin. IL-1 α wird hauptsächlich von Makrophagen und Monozyten sezerniert. IL-1 β wird vorwiegend von Monozyten ausgeschüttet. Zum einen wirkt IL-1 β als endogenes Pyrogen auf die Zellen des Hypothalamus. Das Interleukin induziert die Expression von Cyclooxygenase-2, somit wird die Konzentration von Prostaglandin E2 erhöht. Prostaglandin E2 wirkt induzierend auf die Zellen des Hypothalamus. Somit werden die braunen Fettzellen aktiviert. Dadurch kommt es zu einer Vasokonstriktion, die entwickelte Wärme kann so nicht abgeführt werden und eine Hyperthermie entsteht. Andere Wirkungen des Interleukins sind die Mobilisierung der neutrophilen Granulozyten, das Induzieren der Akut-Phase-Proteine und das Stimulieren des IL-6. Ferner kann es die Epithelzellen der Gefäße so verändern, dass Lymphozyten aus der Blutbahn in die umliegenden Gewebe eindringen können (Murphy et al. 2009).

Interleukin-2 (IL-2)

IL-2 hat eine zentrale Bedeutung in der T-Zellaktivierung (siehe 2.2.1). Das Interleukin kann seine eigenen Rezeptoren, welche unter anderem auf T-Zellen expremiert werden, induzieren und so seine Wirkung selbst verstärken (Minami et al. 1993). Ferner bewirkt es indirekt die Sekretion von IL-12, indem es APZ intensiviert (Bönig et al. 1999, Körholz et al. 1997).

Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 ist ein proinflammatorisches Zytokin, welches in der frühen Phase der Immunantwort aktiviert wird. Hauptsächlich wird es von Makrophagen, T-Zellen, DC und Endothelzellen freigesetzt. Durch die erhöhte Konzentration können neutrophile Granulozyten aus dem Knochenmark aktiviert werden. Das Interleukin hat sowohl auf T- als auch auf B-Zellen eine proliferierende und differenzierende Wirkung. Zusammen mit TGF- α werden CD4⁺ T-Zellen zu Th17-Zellen ausgebildet. Diese setzen wiederum IL-6 frei. Somit wird das Signal zur Mobilisierung der neutrophilen Granulozyten verstärkt. Außerdem hat es wie auch IL-1 eine konzentrationssteigernde Wirkung auf die Akut-Phase-Proteine. Ferner kann es die Körpertemperatur zusammen mit IL-1 steigern (Murphy et al. 2009).

Interleukin-8 (IL-8)

IL-8 wird den chemotaktischen Interleukinen zu geordnet. Die Funktion ist vorwiegend proinflammatorischer Natur. Das Interleukin wird unter anderem von Epithelzellen und aktiven Monozyten in der frühen Phase der Entzündungsreaktion sekretiert (Baggiolini et al. 1989). Die Stimuli sind vielfältig; unter anderem sind TNF- α und IL-1 β für die Freisetzung von IL-8 verantwortlich (Hack et al. 1992). Das Interleukin wirkt im Knochenmark granulopoetisch (Göbel und Kaspers 2010). Durch chemotaktische Signale werden Immunzellen, wie neutrophile Granulozyten an den Entzündungsort gelockt.

Interleukin-10 (IL-10)

IL-10 ist vorherrschend ein antiinflammatorisches / immunsuppressives Zytokin. Es wirkt vor allem von Monozyten und Th2-Zellen produziert. Das Interleukin vermindert die Differenzierung der DC, somit wird die Freisetzung von proinflammatorischen Interleukinen (unter anderem IL-12) unterdrückt. So findet keine T-Zellaktivierung und Bildung von Th1-Zellen stattfinden. Durch das Verhindern der Expression der MHC-II und deren ko-stimulierenden Molekülen wird sowohl die Antigenpräsentation als auch die Anzahl der T-Zellen gehemmt. Damit kommt es zu einer Verminderung der Konzentration diverser Zytokine (Murphy et al. 2009).

IL-10 hat weiterhin eine proinflammatorische Wirkung. So verbessert es zum einen das Heranreifen der B-Zellen zu Plasmazellen, zum anderen kann es die CD8-Zellen aktivieren (Murphy et al. 2009).

Interleukin-12 (IL12)

IL-12 ist ein proinflammatorisches Zytokin, welches vor allem von DC und Makrophagen sezerniert wird. Das von den Makrophagen freigesetzte IL-12 aktiviert die NK-Zellen der angeborenen Immunantwort, sodass deren Aktivität um das 20- bis 100-fache verstärkt wird. Die aktivierten NK-Zellen dämmen die Infektion ein, bis die adaptive Immunantwort spezifische zytotoxische T-Zellen hervorbringt. Zusammen mit TNF- α bewirkt IL-12 die Freisetzung von IFN- γ durch die NK-Zellen. Zusammen mit IFN- γ fördert IL-12 die Differenzierung von CD4-T-Zellen zu Th1-Zellen. Die Th1-Zellen produzieren Zytokine, die Makrophagen aktivieren, sodass diese intrazelluläre Mikroorganismen effektiver zerstören können. Weiterhin regen sie B-Zellen an stark opsonierende Antikörper zu bilden (Murphy et al. 2009). Zusammen mit IL-10 kann IL-12 eine Inhibition der IL-2 induzierten Zytokinproduktion vollständig und die durch TGF- β induzierte Suppression partiell blockieren (Bönig et al. 1999, Körholz et al. 1997).

Tumor-Nekrosis-Faktor alpha (TNF- α)

TNF- α ist ein proinflammatorisches, multifunktionales Zytokin. Es hat eine zentrale Rolle in der Entzündungsreaktion bei der viralen, bakteriellen und parasitären Immunabwehr (Abbas und Lichtman 2003). Des Weiteren hat es eine entscheidende Funktion in der Kommunikation zwischen dem zentralen Nervensystem (ZNS) und dem Immunsystem. Es wird sowohl von Immunzellen (v.a. Makrophagen, unter pathologischen Bedingungen: infiltrierte Lymphozyten) als auch von Nervenzellen (Astroglia, Mikroglia und Neuronen) exprimiert (Lee et al. 1993, Hopkins und Rothwell 1995). TNF- α reguliert zum einen die Proliferation der Lymphozyten, zum anderen kann es die Apoptose einer Zelle auslösen (Vassalli 1992, Ware et al. 1995). Ferner wirkt es auch direkt auf das ZNS, z.B. neurotoxisch (Taupin et al. 1997) oder neuroprotektiv (Cheng et al. 1994). Als Mediator der beiden Systeme kann es die Expression an den Epithelzellen bestimmter Moleküle verstärken, sodass die aktivierten T-Lymphozyten an diese binden können und ein Influx von Immunzellen in das ZNS stattfinden kann (Liebert 2001, Nottet 2005).

Tumor Wachstumsfaktor beta (TGF- β)

In der frühen Phase einer Infektion wird das Zytokin zusammen mit IL-6 vermehrt von DC sezerniert. Begünstigt durch das Fehlen der Antagonisten (IL-4, IL-12) findet vermehrt die Differenzierung der naiven CD4-Zellen zu Th17-Zellen statt. Ohne eine Infektion produzieren DC weniger IL-6, wobei die Konzentration von TGF- β unverändert ist. Zusammen mit IL-10 differenzieren sich dann naive

CD4-T-Zellen zu regulatorischen T-Zellen und wirkt so auf die Immunantwort hemmen, indem sie die T-Zellproliferation inhibieren. Weiterhin hat es die Möglichkeit Makrophagen in ihrer Aktivität zu minimieren, gleichzeitig wirkt das Zytokin bei der Aktivierung der neutrophilen Granulozyten mit. In einem Experiment mit Mauszellen fand man heraus, dass TGF- β hemmend auf IgM und IgG3, aber gleichzeitig aktivierend auf IgG2b und IgA wirkt (Murphy et al. 2009).

2.3. Immunglobulintransfer

Man kennt in der Biologie verschiedene Typen der Plazenta. Anders als beim Menschen, hat die Gattung Schwein einen Plazentatyp, der es nicht zulässt, dass größere Bestandteile, wie zum Beispiel Immunglobuline, vom Blut des Muttertieres zum Fötus transferiert werden können. Die Plazenta des Typs epitheliochorialis besteht aus sechs Schichten (Abb. 1), welche den Übertritt verhindern (Kruse 1983). Ein weiterer Grund könnte die Abwesenheit des Fc-Rezeptors in der porzinen Plazenta sein (Shah et al. 2003). Dieser Rezeptor bindet die Fc-Region von Immunglobulinen (Murphy et al. 2009). Beim Menschen wurde dieser Rezeptor in der Plazenta nachgewiesen und mit der Übertragung des Immunglobulins (Ig) G während der fetalen Phase in Verbindung gebracht. Somit ist sichergestellt, dass eine Übertragung von der Amnionflüssigkeit in den fetalen Blutkreislauf stattfindet (Shah et al. 2003).

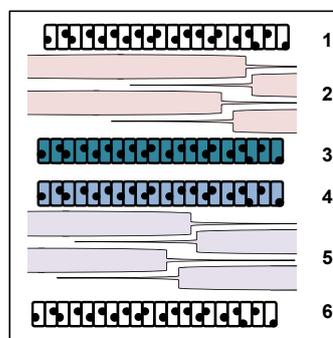


Abb. 1: Aufbau der Plazenta des Typs epitheliochorialis. 1) fetales Gefäßepithel, 2) fetales Bindegewebe, 3) Zytotrophoblasten, 4) uterines Schleimhautgewebe, 5) maternales Bindegewebe, 6) maternales Gefäßendothel.

Folglich werden Ferkel mit einer Agammaglobulinämie (Sterzl et al. 1966, Brambell 1969, Frenyo et al. 1981, Salmon et al. 2009) bzw. mit einer Hypoimmunglobulinämie geboren (Gaskins 1998, King'ori 2012). Es werden alle Antikörper in den ersten 12-72 Stunden post partum (Lecce und Morgan 1962, Staley et al. 1968, Bush und Staley 1980, Rooke und Bland 2002) durch die kolostrale Milch auf das Ferkel übertragen. Die Immunglobuline treten dann im Darm mit Hilfe des neonatalen Fc-Rezeptors (FcRn) (Schnulle und Hurley 2003,

Stirling et al. 2005, Cabrera et al. 2013) über die Lymphflüssigkeit in den Blutkreislauf ein (Bush und Staley 1980, Straw et al. 2006). Die Absorption findet vor allem im Jejunum und Ileum statt (Lustermann und Günther 1977, Murata und Namioka 1977). Nach einer gewissen Zeit schließt sich die Darmschranke (Klobasa et al. 1991, De Passille et al. 1988, Nielsen et al. 2004, Straw et al. 2006). Ist die Aufnahme des Kolostrums in den ersten 12 Stunden den Ferkeln nicht möglich, liegt die Mortalitätsrate bei ca. 50 % (King'ori 2012).

2.3.1. Immunglobulin M (IgM)

Im Serum hat IgM eine Konzentration von 100 bis 500 mg/ml (Tizard 2000). Die hauptsächliche Aufgabe von IgM ist die Agglutination und die Komplementaktivierung nach Antigenbindung. Durch die Disulfidbrücken ist die Struktur des Immunglobulins ringförmig (Trautwein 1990). Mit einem Molekulargewicht von 900 kDa stellt es das größte Immunglobulin dar. Im Kolostrum hat es eine Konzentration von 9,1 mg/ml (Klobasa et al. 1981), welche bereits nach dem ersten Laktationstag um 75 % abfällt (Curtis und Bourne 1973, Klobasa und Werhahn 1984).

2.3.2. Immunglobulin G (IgG)

Es ist das meistverbreitete Immunglobulin im Serum (Tizard 2000). Durch die monomere Struktur ist der Austritt aus Blutgefäßen einfach; so ist IgG sowohl in intra- als auch in extrazellulären Bereichen zu finden (Tizard 1981, Tizard 2000). Außerdem ist es widerstandsfähig gegenüber proteolytischen Verdauungsenzymen (Franek 1987). IgG hat einen Einfluss in der Neutralisierung von Toxinen und Viren im extrazellulären Raum. Aufgrund einer initialen Komplementaktivierung durch IgM kann IgG aktiviert werden (Klobasa et al. 1985).

IgG kann in verschiedene Isotypen eingeteilt werden. Die Einteilung findet anhand der schweren Kette (H-Kette) statt. Bei der Maus gibt es IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 (Murphy et al. 2009). Beim Schwein sind mehr Subtypen bekannt: IgG1a, Ig1b, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4, IgG5 und IgG6 (Butler und Brown 1994, Kacskovics et al. 1994, Butler et al. 2006, Butler und Wertz 2006). Alle Subtypen zeigen unterschiedliche biologische Aktivitäten.

Hier nur ein Beispiel: Die Zytokine, IL-12 und INF- γ , induzieren die IgG-Isotypen, welche wiederum das Komplementsystem und die Phagozytose aktivieren. Bei Mensch und Maus ist dieser Mechanismus im Detail bekannt. Danach steuern die CD4⁺-Th1-Zellen über IL-2, IFN- γ und TNF- α die Entstehung und Vermehrung von IgG2. IgG1 wird über CD4⁺-Th2-Zellen mit Hilfe von IL-4, IL-5,

IL-10 und IL-13 stimuliert (Constant und Bottomly 1997; Romagnani 1997). Beim Schwein könnte ein Klassenwechsel zu IgG2 durch rekombinante IL-12 und IFN- γ induziert werden mit Hilfe von IL-10 einen Wechsel zu IgG1 (Crawley et al. 2003). Dadurch ist ersichtlich, dass die Subklasse IgG1 als ein Antikörper der Typ-2-Immunreaktion und IgG2 der Antwort des Typ-1 zugeordnet werden kann.

2.3.3. Gehalt der Immunglobuline im Kolostrum

Durch das Kolostrum wird die maternale humerale Immunität auf die Ferkel übertragen (Shah et al. 2003). Die Qualität des Kolostrums kann anhand des IgG-Gehaltes ermittelt werden (Milon et al. 1983). Die Menge des Kolostrums steht mit dem Immunglobulingehalt nicht in Korrelation (Foisnet et al. 2010).

Trotz hoher individueller Unterschiede (Klobasa und Butler 1987, Bland et al. 1999) ist bei IgG mit einer anfänglichen Maximalkonzentration von 48,25 mg/ml (Frenyo 1981) bis 85 mg/ml (Milon et al. 1983) zu rechnen. Im zeitlichen Verlauf nimmt der Gehalt an IgG im Kolostrum bzw. in der reifen Milch ab.

IgM ist mit 9,1 mg/ml in seiner Konzentration nicht so hoch wie IgG, fällt aber ebenfalls im Verlauf der Zeit ab (Klobasa et al. 1981). Das Minimum ist zwischen dem Tag 21 und 28 der Laktation erreicht. Nach 12 Stunden p.p. ist nur noch ein Drittel der anfänglichen Immunglobulinkonzentration vorhanden. Einflüsse, die den Gehalt der Immunglobuline im Serum der Sauen und im Kolostrum beziehungsweise in der reifen Milch beeinflussen können, sind Fütterung, Laktationsstadium, Anzahl der Laktationen, Alter, Rückenspeckdicke bzw. Körpergewicht (Farmer und Quesnel 2009) und die Rasse (Klobasa et al. 1985). So steigt IgM nach der dritten und IgG nach der vierten Laktation stark an (Klobasa et al. 1985).

2.3.4. Gehalt der Immunglobuline im Serum der Ferkel

In der Literatur gibt es divergierende Studien, ob maternale Immunglobuline im pränatalen Stadium auf den Schweinefötus übertragen werden können. Einige Autoren fanden kleinste Mengen an maternalen Immunglobulinen im Serum neugeborener Ferkel vor der Aufnahme des Kolostrums (Frenyo 1981; Klobasa et al. 1981).

Es wurden bei 44 Tage alten gnotobiotischen Schweinefeten Serumimmunglobuline, vor allem IgM, nachgewiesen (Cukrowska et al. 1996).

Bland et al. (1999) erforschten, dass IgG vier Stunden nach dem Saugakt im Serum der Ferkel messbar ist. In der kolostralen Phase beträgt die maximale Konzentration 20 mg/ml IgG im Serum, in der vierten Lebenswoche sinkt die Konzentration auf ca. 10 mg/ml IgG im Serum ab (Frenyo et al.1981). Laut Rooke und Bland (2002) ist der IgG-Gehalt im Plasma zwischen dem 14. und 21. Lebenstag nicht mehr maternaler Natur.

3. Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus (PRRSV)

Das PRRSV wurde erstmalig 1987 in den USA erwähnt. 1990 brach die Erkrankung in Europa aus. Das PRRS-Virus ist der Familie der Arteriviridae der Ordnung Nidovirales (Wang et al. 2011, Chung et al. 2004, Park et al. 2008) zugewiesen. Die Erkrankung nannte man den seuchenhaften Spätabort der Schweine (Ohlinger et al. 1991) beziehungsweise blue-eared pig disease (Gomez-Laguna et al. 2010). Die typischen Symptome sind sowohl Reproduktionsstörungen als auch respiratorische Veränderungen. Durch die massenhafte Zerstörung der alveolaren Makrophagen treten vermehrt Sekundärinfektionen auf (Done und Paton 1995).

3.1. Aufbau PRRSV

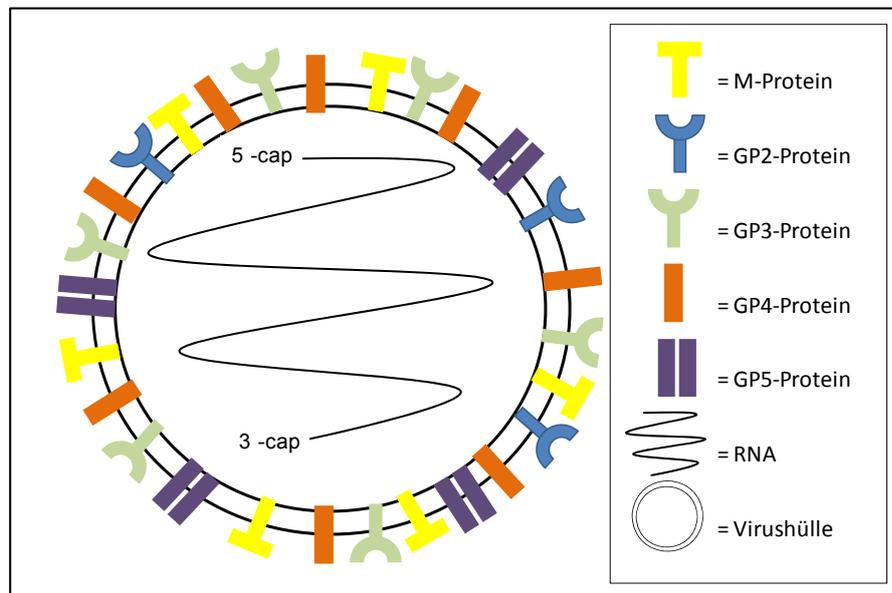


Abb. 2: Schematische Darstellung des PRRS-Virus (nach Modrow et al. 2003). GP 2-5 = Glykoproteine, weiteres Membranprotein ist M. In der Hülle befindet sich das Nucleokapsid mit der darin gelagerten RNA mit Poly-A-Schwanz.

PRRSV ist ein behülltes Virus mit einem nicht-segmentierten, positiv-strangorientiertem single strand (ss) RNA-Genom mit einer Länge von 15 kb (Chung und Chae 2003, Gass-Cofre 2007). Das komplette Virion besitzt einen Durchmesser von 50-65 nm, das zentrale Nucleokapsid, in dem sich die RNA befindet, nimmt innerhalb der Hülle einen Durchmesser von 30-35 nm ein (Suarez 2000). Das Genom ist am 3'-Ende polyadenyliert (Chung und Chae 2003) und weist acht offene Leseraster (open reading frames, ORF) auf (Suarez 2000). ORF 7 codiert für das Nucleokapsid-Protein, ORF 2 - 6 codieren

für die Proteine der Hülle (Suarez 2000). Glykoprotein 5 (Gp 5) stellt einen der Hauptbestandteile der viralen Hülle dar. Gegen dieses Protein können spezifische Antikörper gebildet werden. Damit wird deutlich, dass die humorale Immunantwort induziert wird. Gilbert et al. (1997) isolierten das Gp 5 aus nordamerikanischen und europäischen PRRSV. Es konnte durch rapid multiplex Polymerase Kettenreaktion (PCR) gezeigt werden, dass sich die Genotypen der nordamerikanischen und europäischen PRRSV unterscheiden. Der nordamerikanische Stamm ist vom Typ VR-2332, der europäische nennt sich Lelystad Virus. Die verschiedenen Stämme weisen außerdem unterschiedliche Virulenzen auf (Gomez-Laguna et al. 2010).

3.2. Replikationszyklus der Arteriviridae

PRRSV ähnelt im Mechanismus der Replikation der anderen Arteriviridae (Snijder und Meulenberg 1998, Meulenberg et al. 1997). Das Virus vermehrt sich im Zytoplasma der Makrophagen, dabei überwiegend in alveolaren und, in kleinerem Umfang, in Monozyten und dendritischen Zellen (Gass-Cofre 2007). Die Replikation des Virus führt zu einer lytischen Infektion der Wirtszellen und weiterhin zur Apoptose der Nachbarzellen, wodurch die häufig auftretenden und charakteristischen Lungenläsionen zu erklären sind. Nach Infektion der alveolaren Makrophagen kann sich das Virus systematisch auf benachbarte Makrophagen ausbreiten (Gass-Cofre 2007). Die Makrophagen weisen auf ihrer Oberfläche Rezeptoren auf, die vom PRRS-Virus erkannt werden. Für das Uncoating, sowie für das Vermehren des Virus benötigt die Zelle zwei Rezeptoren, CD163 und als Kofaktor SIGLEC1. Exprimiert die Zelle nur einen der beiden Rezeptoren findet eine 75 % Eliminierung des Virus statt. Bei einem Fehlen des CD163 findet eine Initialisierung des Virus statt, aber kein Uncoating (Van Grop et al. 2008). Durch die Bindung an den Zellrezeptor werden Viruspartikel durch einen mikrofiliament-abhängigen Prozess, mithilfe von Clathrin-ähnlichen Molekülen beschichteten Vesikeln, verinnerlicht. Um die Fusion zwischen viraler Hülle und endosomaler Membran zu ermöglichen, benötigt man einen niedrigen pH-Wert. Dadurch gelangen die Virusfragmente in das Zytoplasma. Folglich tritt das Virus durch eine rezeptorvermittelte Endozytose in seine Wirtszelle ein. Aufgrund des viralen Eintretens geschehen in der Zelle einige, bis dato noch weitestgehend unbekannte Veränderungen (Chung et al. 2004). Man konnte herausfinden, dass sechs Stunden nach der Infektion virale Antigene im Zytoplasma und das Nukleokapsid im endoplasmatischen Retikulum nachweisbar sind. Virus enthaltende Vesikel gelangen in den Golgi-Apparat und werden durch Exozytose oder Zellyse

freigesetzt. Zu Beginn des Zyklus steigt die Translation der Replikasegene, die sowohl in ORF 1a als auch in ORF 1b lokalisiert sind. Der gesamte Plusstrang (RNA) wird von der Polymerase zu einem komplementären Minusstrang transkribiert. Somit entstehen drei nested sets, die alle das gleiche 3'-Ende und zu Beginn eine Leitsequenz von ca. 200 Basen aufweisen. Die Viren werden durch Exozytose, durchgeführt vom Golgi-Apparat, aus der Zelle transportiert oder durch Zellyse freigesetzt (Suarez 2000). Das Virus kann Apoptose auslösen, wobei an Tag 7 und an Tag 25 nach der Infektion jeweils ein Maximum erreicht wird. Das Virus produziert ein zytotoxisches Protein, das als Auslöser der Apoptose gilt. Möglich ist aber auch, dass die Apoptose durch, von der Zelle selbst als Antwort auf die Virusinfektion ausgeschüttete, Zytokine ausgelöst wird (Suarez 2000).

Da die virale Transkriptase von RNA-Viren keine Fehlerkorrektur besitzt, kommt es häufig zu Mutationen des Genoms, wie zum Beispiel zu Punktmutationen, Deletionen und Insertionen von Basen (Chang et al. 2002). Somit wird die Bildung von Quasispezies begünstigt (Rowland et al. 1999, Goldberg et al. 2003, Biebricher und Eigen 2006). Die PRRS Virusisolate unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer Virulenz, sondern auch durch ihre klinische Symptomatik (Benfield et al. 1999).

3.3. Immunologische Reaktion auf PRRSV

3.3.1. Zelluläre und humerale Immunreaktion

Durch das PRRSV wird sowohl die humerale als auch die zelluläre Immunreaktion induziert. Infizierte Schweine entwickeln eine PRRSV-spezifische zellvermittelte Immunantwort (Osorio et al. 2002). Die T-zellvermittelte Antwort gegen das Virus beginnt etwa vier Wochen p.i. und besteht 9 bis 14 Wochen (Murtaugh et al. 2002). In verschiedenen Studien stellte man fest, dass die Immunantwort auf PRRSV, im Gegensatz zu anderen Viren, wie zum Beispiel Aujeszky'sche Krankheit, deutlich verzögert beginnt und auch signifikant schwächer ausfällt (Meier et al. 2003, Royae et al. 2004). Diese Verzögerung könnte ein Grund sein, dass PRRSV erst nach Monaten eliminiert wird (Allende et al. 2000). Eine zentrale Bedeutung der humeralen Immunantwort hatten bisher die neutralisierenden Antikörper (nAk) (Lopez und Osorio 2004). Am Tag 7 p.i. ist ein Anstieg der ersten nicht nAk festzustellen (Nelson et al. 1994). Das Maximum des Titers der nAk ist in der 6. Woche p.i. erreicht und ab dem 9. bis 12. Tag p.i. im Serum nachweisbar (Yoon et al. 1997). Dennoch ist festzuhalten, dass nicht immer eine ausreichende Immunreaktion zu

beobachtet ist und es somit zu einer persistierenden Infektion mit Virusausscheidung und folglich zu einer Reinfektion kommt (Murtaugh et al. 2002). Die Besonderheit des Virus liegt darin, dass es zu einer gleichzeitigen Zirkulation von Antikörpern und Virus im Blut kommen kann (Rossow 1998). Damit ist ersichtlich, dass der Anstieg der im Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay (ELISA) nachweisbaren Antikörper nicht mit der Elimination des Virus in der Blutbahn einhergeht (Bilodeau et al. 1994). Dadurch kann ein hoher Titer an nAk nicht mit einem erhöhten Schutz gegen das Virus in Verbindung gebracht werden (Nelson et al. 1994, Saalmüller 2006). Dieses Phänomen kann wie folgt erklärt werden: Die Antikörper können sehr wohl das Virus im Blut eliminieren, allerdings nicht in den Lymphknoten, in denen das PRRSV persistiert. Die Infektion dauert meist länger als 60 Tage. Die Interferonkonzentration ist am Infektionsort gering und die Persistenz des Virus, meist im Lymphgewebe, zeigt, dass die frühe Immunreaktion das PRRSV nicht vollends eliminieren kann (Bautista et al. 1993, Lager et al. 1997, Murtaugh et al. 2002).

In einer weiteren Studie wurden Schweine mit PRRSV infiziert. Man teilte die Tiere in zwei Gruppen ein. Der einen Gruppe wurde ein subneutralisierender PRRSV-Antikörper injiziert, der anderen Gruppe injizierte man unspezifisches IgG vor der experimentellen Infektion mit PRRSV. Bei der Gruppe mit der virusspezifischen IgG-Injektion sind eine längere Dauer der Virämie und eine erhöhte Schädigung der alveolaren Makrophagen nachweisbar. Diese Erscheinung wurde anschließend *in vitro* überprüft und bestätigt (Yoon et al. 1997). Auch Shibata et al. (1998) konnten eine ähnliche Reaktion nach Infektion mit PRRSV nachweisen. Demzufolge wird dem PRRSV eine antikörperabhängige Steigerung der Infektion nachgewiesen.

3.3.2. Übertragung und Bildung von Antikörpern

Durch das Kolostrum infizierter Sauen können Antikörper an die Ferkel übertragen werden. Nach einem Belastungstest stellte man fest, dass Ferkel, welche durch das Kolostrum immunisiert wurden, einen höheren Schutz aufwiesen als Ferkel, die durch die Gabe eines PRRSV-Antikörperpräparates behandelt wurden (Molitor et al. 1997). Ein korrelierender Zusammenhang besteht, laut Eichorn und Forst (1997), zwischen dem Antikörpergehalt im Kolostrum und im Blutserum. Maternale Antikörper werden nach zwei bis vier Wochen post natum (p.n.) abgebaut (Joisel et al. 2001), die körpereigenen haben ihren Normalwert noch nicht erreicht. So kommt es, dass an diesem Zeitpunkt die Infektionsrate der Ferkel wieder ansteigt. Dennoch hat Rossow (1998) im ELISA

maternale Antikörper bis zur Woche 10 p.n. nachweisen können. Nach einer Erstinfektion mit einem PRRS-Feldvirus steigt IgM bis Tag 14 nach der Infektion an, IgG weist einen deutlich späteren Anstieg auf (Joo et al. 1997).

Durch die schon genannten Phänomene der Konzentration der Antikörper im Blut kann auch der Antikörperspiegel nach einer Impfung gegen PRRSV keine definitive Aussage über den wahrhaftigen Schutz gegen die Krankheit geben. Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass Koinfektionen mit anderen Viren eine interferierende Immunantwort auslösen und sogar immunsuppressiv wirken können (Leibold 2003). Durch eine Impfung mit einem attenuierten Impfstoff werden vor allem Antikörper gegen das Strukturprotein Gp5 gebildet. Weiterhin haben auch bei einer Impfung mit attenuierten Vakzinen die nAk eine herausragende Bedeutung, obgleich ungeklärt ist, ob sie zur Elimination des Virus beitragen (Nilubol et al. 2002). Nach einer Vakzinierung mit inaktivierten PRRSV bei PRRSV-negativen Schweinen konnte kein Anstieg der nAk festgestellt werden (Nilubol et al. 2004). Ein Anstieg konnte nur bei den Schweinen festgestellt werden, die zuvor an einer Infektion durch einen Feldvirus erkrankt waren. Eine ähnliche Reaktion wurde bei Schweinen beobachtet, die zuerst eine attenuierte Impfung erhielten und zu einem späteren Zeitpunkt eine Vakzination mittels eines inaktivierten Impfstoffes erhielten (Baker et al. 1999). Bei den Tieren, die nur mit dem attenuierten Impfstoff behandelt worden waren, wurde kein oder nur ein minimaler Anstieg der nAk nachgewiesen. Bei der Abwehr von intrazellulären Erregern, seien es Viren oder deren attenuierte Vakzine, wird eine zellvermittelnde Immunantwort durch zytotoxische T-Lymphozyten (CD8⁺) hervorgerufen (Thacker 2003). Es wird davon ausgegangen, dass eine vom Virus infizierte Zelle zuerst die frühen Interleukine wie IL-1, IL-6, IL-12 und IFN- α synthetisiert. Dennoch ist der genaue zelluläre und subzelluläre Mechanismus noch nicht gänzlich geklärt (Liu et al. 2010).

3.3.3. Aktivierung des TLR-Signalweges

Ein Signalweg des TLR7 bzw. TLR8 für ssRNA-Viren ist in Abbildung 3 gezeigt. Es kommt bei einer Infektion zu einer Erhöhung der Konzentrationen von IL-4, IL-10 und IL-12 und zu einer Verringerung der zytotoxischen T-Zellen (Dwivedi et al. 2012). Gomez-Laguna et al. (2010) fanden heraus, dass PRRSV die Sezernierung von IFN- α durch Makrophagen fördert, aber trotz der höheren Konzentration von proinflammatorischen Zytokinen wurde die Replikation des Virus nicht minimiert. Auch wird diskutiert, dass IL-10, als antiinflammatorisches Zytokin, vermehrt produziert wird, um entzündungsfördernde Zytokine, wie zum Beispiel IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α und IFN- γ , zu inhibieren, um die virale Abwehr

zu unterdrücken (Chung und Chae 2003, Liu et al. 2010, Gomez-Laguna et al. 2010). Auch TGF- β soll nach einer Infektion im Serum ansteigen (Chareerntantanakul et al. 2006). TGF- β gilt als multifunktional; es ist beteiligt an einer inflammatorischen Wirkung und stimuliert die Zellproliferation. Dieser Mechanismus könnte mit der jeweiligen Virulenz des PRRSV-Stammes zusammenhängen (Subramaniama et al. 2011).

Für die Erkrankung an PRRSV werden CD163 und SIGLEC1, beides Rezeptoren, in Zusammenhang gebracht (van Gorp et al. 2010, Das et al. 2010). CD163 gehört zur Scavenger-receptor-cysteine-rich Superfamilie (SRCR) (Calvert et al. 2007). Gp5 des Virus bindet an CD163 und kann somit ins Zytoplasma eindringen.

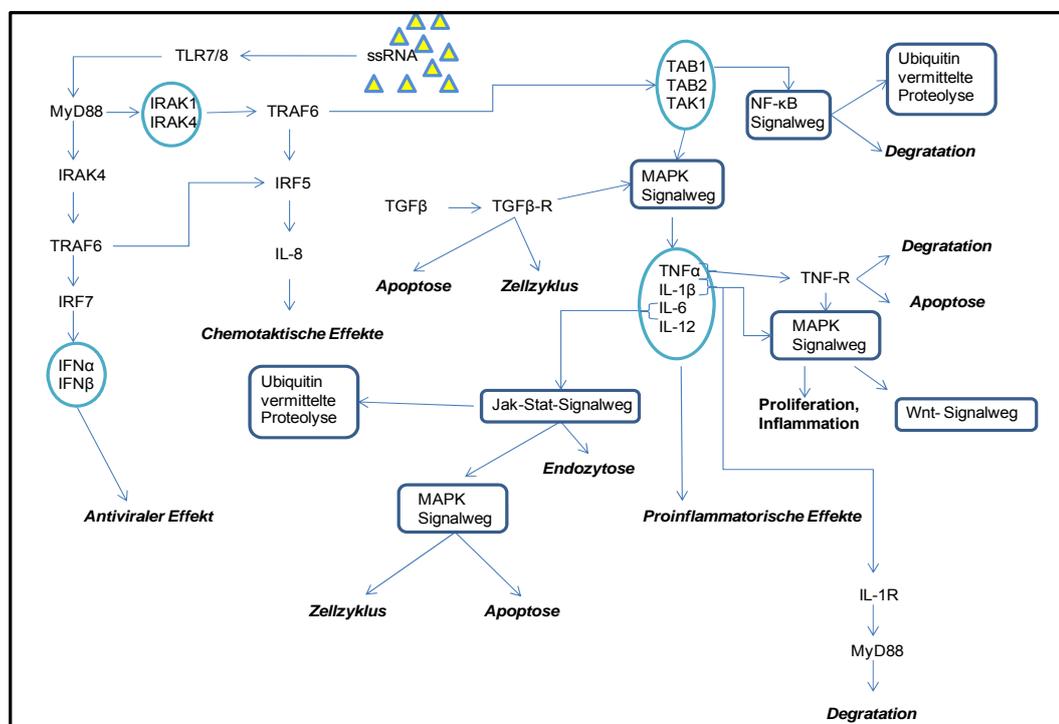


Abb. 3: Intrazellulärer Signalweg bei einer Infektion eines ssRNA-Virus. Stark vereinfacht dargestellt (modifiziert nach Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)).

3.3.4. Immunreaktion verschiedener Schweinerassen

Es konnte gezeigt werden, dass bei einer Impfung mit einem attenuierten Impfstoff die alte Schweinerasse „Wiesenaauer Minischweine“ eine effizient höhere Konzentration an Antikörper gegenüber dem PRRSV aufwies als die moderne Schweinerasse Pietrain. Die Minischweine bauten PRRSV zugleich schneller ab als Pietrain (Reiner et al. 2010). Halbur et al. (2011) konnten bei einer Kreuzung von Large White x Duroc ähnliche Phänomene entdecken. Auch werden single

nucleotid polymorphism (SNP) an CXC-Motiv-Chemokin (CXCL) -12, Myxovirus resistance protein 1 (Mx1), TNF- α und IL-10 diskutiert und untersucht (Joisel et al. 2001). Das Mx1 steht mit der Resistenz gegen positive Strang-RNA-Viren, wie zum Beispiel PRRSV, aber auch gegen das Vesikuläre Stomatitis Virus, in engem Zusammenhang (Wang et al. 2012a). Es ist ein antivirales Protein, welches bei Säugern, Fischen und Vögeln nachweisbar ist (Horisberger 1992, Bernasconi et al. 1995, Chesters et al. 1997, Ellinwood et al. 1998, Jensen und Robertsen 2000, Asano et al. 2002). Es gehört zur Superfamilie der Dynamin hochmolekularen GTPasen (Nakayama et al. 1991, Pavlovic et al. 1993, Horisberger 1995, Arnheiter et al. 1996, Asano et al. 2002). In der Literatur wird diskutiert, ob alle großen dynamischen GTPasen sich schraubenförmig um helikale Abschnitte schlingen können. Somit könnte Mx1 sich um die helikale Struktur des Virus schlingen und es inaktivieren (Kelley 1995, Arnheiter et al. 1996). Im Widerspruch zu dieser Theorie steht, dass sich das Protein im Zellkern befindet, sich aber PRRS im Zytoplasma aufhält und repliziert (Cheon et al. 1997, Cheon und Chae 1999). Nach einer Infektion mit PRRS-Viren wurde entdeckt, dass sich die Antikörperkonzentration durch einen Austausch der Aminosäuren Glycin und Valin unterscheidet (Wang et al. 2012a).

CXCL12, oder auch SDF-1 genannt, ist ein Zytokin, welches bei Entzündungen der Lunge freigesetzt wird. Ferner hat es noch eine chemotaktische Wirkung auf Lymphozyten, welche mit dem proteinspezifischen Rezeptor ausgestattet sind (Wang et al. 2012b). Sowohl das Protein als auch der Rezeptor besitzen eine wichtige Funktion in der Regulierung der Adhäsion und der transendothelialen Migration der Leukozyten, Lymphozyten, und der Monozyten. Demzufolge werden auch die Expressionen von IL-1, IL-8 und IL-10 beeinflusst (Oh et al 2001). So fanden Wang et al. (2012b) heraus, dass je nach Lage des SNP eine Veränderung der Leukozytenanzahl im Blut und eine Konzentrationsveränderung der Antikörper nach Infektion von PRRSV zu erkennen sind.

3.4. Nachweis von PRRSV

Auf Grund der unspezifischen und heterogenen klinischen Symptomatik kann meist nur eine Verdachtsdiagnose gestellt werden. Die histologischen Befunde sind bei einer Monoinfektion mit PRRSV deutlich hinweisend (Done und Paton 1995). Eine ätiologische Diagnose kann mittels eines serologischen Nachweises spezifischer Antikörper oder eines Virusantigennachweises (Mengeling et al. 1995) gestellt werden. Geeignete Verfahren für den Antigennachweis sind z.B. immunhistochemische Untersuchungen oder PCR, insbesondere von Serum, Lungengewebe, Tonsillen oder Alveolarmakrophagen (Pol et al. 1991; Wills et al. 1997). Aufgrund der Sensitivität und der Spezifität ist der ELISA den anderen Untersuchungsmethoden überlegen (Houben et al. 1995, Cho et al. 1996).

4. Stress

Stress wird in der Medizin definiert als Reaktion des Körpers auf ihm unbekannte Faktoren, seien sie biologischer oder abiologischer Art, seien sie körpereigen oder körperfremd. Eins ist allen gemein: sie stören das physiologische Gleichgewicht (Sommer 1991). Der betroffene Körper kann in gewissen Grenzen die Störungen des Gleichgewichtes durch neuronale, neuro-endokrine und neuro-endokrin-immunologische Mechanismen bewältigen. Dies nennt man Allostase (Sterling 1988). Reagieren diese Systeme nicht korrekt oder sie sind überlastet, kommt es zur „allostatischen Last“. Wenn die Stressoren über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben, können sie das Immunsystem auf mannigfaltige Weise supprimieren und schließlich den Organismus erkranken lassen (McEwen 1998).

Nutztiere, explizit Schweine, werden im Laufe eines Mastdurchganges sehr oft mit Stressoren konfrontiert. So sind durch das Aufgliedern der Schweinebetriebe in Zucht- und Mastbetriebe häufiges Umstallen und das Zusammenstallen mit fremden Schweinen, verbunden mit dem Transport nicht vermeidbar (Parrott und Misson 1989, McGlone et al. 1993, Dalin et al. 1993, Wallgren et al. 1994, Witek et al. 1996, Grandin 1997). Nicht zuletzt der Transport zum Schlachthof kann die Anpassungsfähigkeit des Organismus überfordern, sodass die Fleischqualität vermindert ist oder sogar der Tod die Folge der Stressoren sein kann (Dantzer und Mormede 1983, Wimmers et al. 2002).

In Abb. 4 wird ein Überblick über Reaktionen des Organismus auf Stressoren gezeigt. Hier wird deutlich, dass nicht nur die klassischen Hormone in der Regulation eine Rolle spielen, sondern auch Interleukine, wie IL-1 (insbesondere IL-1 β), IL-6 und das Zytokin TNF- α . Aus dieser Graphik wird ersichtlich, dass es Regulationen zwischen dem zentralnervösen, dem hormonellen und dem immunologischen System gibt (Tuchscherer und Manteuffel 2000).

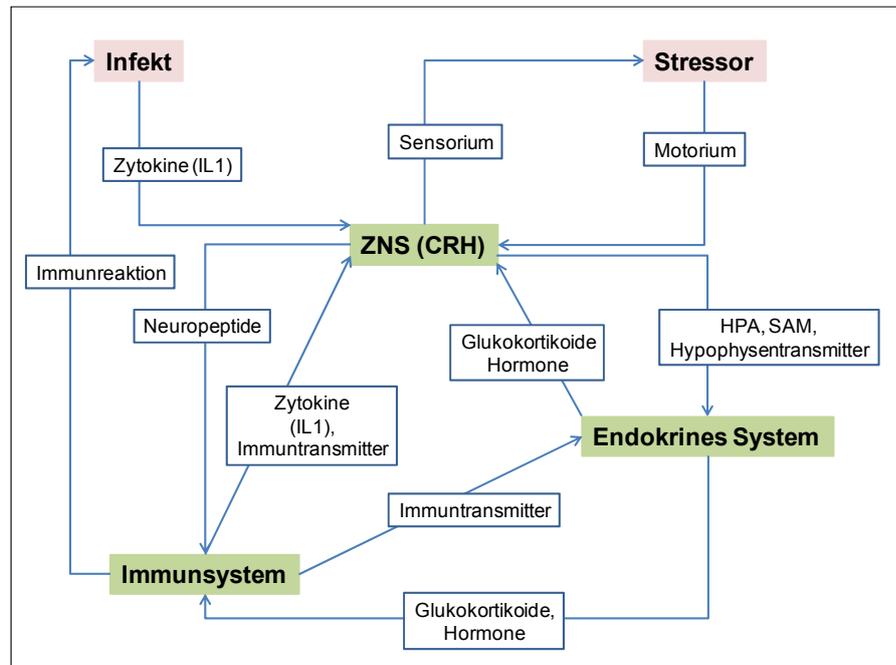


Abb. 4: Schematische Darstellung der für die Stressreaktion bedeutsamen Wechselwirkungen zwischen Zentralnervensystem (ZNS), Hormon- und Immunsystem (nach Tuchscherer und Manteuffel 2000, von Borell 2000).
 CRH = Corticotropin Releasing Hormon, IL = Interleukin,
 HPA = Hypothalamo-hypophysär-adrenales System, SAM = Sympatho-adrenomedulläres System

Zwischen Immunsystem und ZNS treten Interaktionen auf. Die Grundlagen seitens des Immunsystems liegen im Knochenmark und Thymus (primäre Organe) sowie in Milz und Lymphknoten (sekundäre Organe). Die Innervation findet durch noradrenerge Nervenfasern, entspringend aus dem sympathischen Nervensystem, statt (Felten et al. 1985). Auf den Zellen des Immunsystems findet man Rezeptoren für zahlreiche Neuropeptide, Neurotransmitter und Hormone, wodurch der Kreis der Immunreaktionen auf Signale des zentralnervösen Systems geschlossen wird (Athreya et al. 1993).

Eine zentrale Rolle spielen die schon erwähnten Interleukine. Sie werden meist durch Leukozyten, vor allem durch Makrophagen des Blutes und Gewebes freigesetzt (Krüger et al. 1995). Sie sind Überträger zwischen Immunsystem und dem zentralnervösen System. IL-1 β , IL-6 und TNF- α werden von aktivierten Makrophagen und Monozyten synthetisiert. IL-1 β kann über den Nervus vagus oder indirekt über die Endothelzellen der Blutgefäße im Gehirn das zentrale Nervensystem beeinflussen. Interleukine werden auch in Mikroglia, Astrozyten und Neuronen gebildet (Fabry et al. 1994).

Infolge der der Aktivierung der Monozyten und Makrophagen, durch antigene Faktoren, kann das Immunsystem über afferente Signale (IL-1, TNF- α) auch das Hypothalamo-Hypophysen-Nebennierenrinden-System (engl.: Pituitary-Adrenocortical-Axis [HPA]) beeinflussen (Tuchscherer und Manteuffel 2000). Intrazerebroventrikuläre Injektionen von IL-1 und TNF- α verringern die Mobilität und fördern die Schläfrigkeit der Schweine (Warren 1997); somit kann bewiesen werden, dass diese beiden Interleukine eine wesentliche Rolle im Krankheitsverhalten spielen (Kent et al. 1992). IL-1 kann direkt über Endothelzellen der Gehirngefäße oder indirekt über Nervenbahnen (Vagus) auf Nervenzellen des Gehirns Einfluss nehmen (Tuchscherer und Manteuffel 2000). Es kann Fieber auslösen und die Futteraufnahme heruntersetzen (Danzer und Kelly 1989).

Das Immunsystem kann an verschiedenen Stellen durch Zytokine beeinflusst werden. Unter anderem die Induktion der Akut-Phase-Proteine (Heinrich et al. 1990). Die Akut-Phase-Reaktion ist eine nicht spezifische Reaktion des Körpers auf eine pathologische Entwicklung oder einen Stressor. So wird mit Hilfe der APP eine weitere Zerstörung des Gewebes, ein Ausmerzen und Isolieren der Pathogene/Stressoren bewirkt. Es folgt die Wiederherstellung des physiologischen Zustandes (Ecksall und Conner 1990; Gruys et al. 1994; Krüger et al. 1995).

Zu den Akut-Phase-Proteinen gehören (Einteilung und Beschreibung nach Tirziu 2009):

- **Serum Amyloid A** führt mit Hilfe von IL-1 und IL-6 zu einer Hyperthermie, außerdem verhindert es die Thrombozyten Aggregation und die oxidative Reaktion in den neutrophilen Granulozyten
- **C-reaktives Protein** wird von Hepatozyten synthetisiert, ist beteiligt bei Entzündungen, akuten Infektionen und Neoplasien.
- **α_1 Acidglocoprotein** ist an der Antikörpersynthese beteiligt
- **β_2 Makroglobulin** inhibiert Proteasen
- **Ceruloplasmin** eliminiert die Superoxidation der neutrophilen Granulozyten
- **Fibrinogen** impliziert die Koagulation und Wundheilung
- **Haptoglobulin** unterdrückt die bakterielle Entwicklung

Im Allgemeinen ist zu erkennen, dass APP durch IL-1 und TNF- α inhibiert werden, durch IL-6 wird die Synthese der Proteine angeregt (Tirziu 2009).

IL-6 reguliert neben Fibrinogen und Serum Amyloid A auch die Komponente C3 des Komplementärsystems (Tirziu 2009).

Eine stark vereinfachte Einteilung besagt, laut Tuchscherer und Manteuffel (2000), dass eine kurzzeitige Einwirkung eines Stressors eine Verbesserung/Aktivierung des Immunsystems zur Folge hat, eine langandauernde Stressbelastung hingegen bewirkt eine Suppression der Immunreaktion.

5. Fleischqualität

Hoffmann (1993) definiert die Qualität des Fleisches wie folgt: „Fleischqualität ist die Gesamtheit aller Merkmale des Fleisches, die für seinen Nährwert, Genusswert, die Gesundheit des Menschen und die Verwertung des Fleisches bedeutend sind“. Faktoren, welche die Schweinefleischqualität beeinflussen können, sind Alter des Tieres, Genetik, Haltung, Fütterung und der Umgang mit den Tieren. Nach der Schlachtung ist die Qualität beeinflussbar durch die Schlachttechnik, Fleischreifung beziehungsweise das Kühlen und die Handhabung (Zerlegen, Transportieren) des Schlachtkörpers (Schmitt et al. 1986). Des Weiteren sind postmortale biochemische Prozesse entscheidend für die Qualität des Fleisches, z.B. enzymatische Fleischreifung und ATP-Abbau (Laube et al. 2000).

Im Jahr 2010 wurden in Deutschland 55,1 kg Schweinefleisch pro Kopf konsumiert (BMELV 2010). So ist es nicht verwunderlich, dass bei der Produktion die Quantität auf Kosten der Qualität in den Vordergrund gerückt ist. In Deutschland wird das fettarme Schweinefleisch vom Verbraucher favorisiert; somit geht die Textur, die Schmackhaftigkeit und die Saftigkeit des Fleisches verloren (Edwards 2005, Fortin et al. 2005). Chemische und physikalische Messgrößen zur Beurteilung des Fleisches stellen der Gehalt an intramuskulärem Fett (IMF), der Tropfsaftverlust und die elektrische Leitfähigkeit dar. IMF sollte einen höheren Gehalt als 1,5 % aufweisen, damit das Fleisch als qualitativ hochwertig gilt (Fortin et al. 2005). Der Tropfsaftverlust steht im Zusammenhang mit Stresslabilität. Ist der Verlust hoch, so war das Schwein stresslabil (Dudenhoff et al. 2011). Im Allgemeinen ist dieser Parameter über die Fähigkeit des Fleisches, Wasser, sei es eigen oder zugesetzt, ganz oder teilweise zu halten, definiert (Honikel 1987). Das Wasser befindet sich, mit fließenden Grenzen, zum einen im sarkoplasmatischen Raum der Zelle und zum anderen im extrazellulären Raum. Durch Läsionen der Zellmembran nach der Schlachtung kann es aus dem Zellinneren austreten, wodurch die Zelle selbst schrumpft und der extrazelluläre Raum an Volumen zunimmt. So kann das Wasser verdunsten oder am Schlachtkörper herabtropfen. Die Läsionen nehmen in Abhängigkeit von der Zeit nach der Schlachtung zu. Bedingt durch die anaerobe Glykolyse sinkt der pH-Wert. Der pH-Wert fällt auch durch die Entwicklung des Rigor mortis (Gregory 1996). Der Saftaustritt bei der Fleischzubereitung und die Schmackhaftigkeit stehen in direkter Abhängigkeit vom IMF, Tropfsaftverlust und pH-Wert (Hamm et al. 1980). Die elektrische Leitfähigkeit gibt Auskunft über den Gesamtgehalt an Mineralstoffen von

Flüssigkeiten. So kann die Qualität des Fleisches bestimmt werden (Hütter 1988). Durch Denaturierungsprozesse der Membranstrukturen, die einen Austausch von inter- und intrazellulären Flüssigkeiten ermöglichen, nehmen die freien Ladungsträger in der Flüssigkeit zu. Bei guter Fleischqualität ist der Anstieg des Wertes langsam, wobei der absolute Endwert sehr gering ist. Steigt er nach der Schlachtung rasch an, so liegt der Verdacht auf PSE-Fleisch nahe. Weitere Möglichkeiten der Fleischqualitätsüberprüfung ist, neben dem Erfassen des pH-Wertes, die Farbe des Fleisches (Schwängele 1993, Schmidtke 2002).

Als Qualitätsabweichungen gelten das PSE- und das DFD-Fleisch. PSE-Fleisch zeichnet sich durch Wässrigkeit, Blassheit und hohen Tropfsaftverlust aus. DFD-Fleisch ist charakterisiert durch eine dunkle Farbe des Fleisches und einer trockenen bis harten Konsistenz (Deiss-Hemmeter 2005).

Lapp (2009) konnte zeigen, dass sich durch das Einkreuzen von Duroc in Deutsche Landrasse die physikalische und chemische Qualität umso mehr verbessert, je höher der Duroc Anteil ist.

In Europa werden alle Schlachtkörperhälften nach der SEUROP-Klassifizierung bewertet. Anhand dieses Verfahrens wird der Muskelfleischanteil bestimmt und in die Handelsklassen S,E,U,R,O und P eingeteilt. Nach diesen Klassen wird der Handelspreis bestimmt, wobei S den größten Muskelfleischanteil und die beste physikochemische Qualität besitzt (orientiert an der Nachfrage des Endverbrauchers), P die schlechteste Bewertung innehat. Diese Einteilung findet mit einer Sonde statt, die zwischen zweit- und drittletzter Rippe durch die Schwarte Richtung Kotelett geschoben wird (ZDS 2007).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchsaufbau und Probenentnahme

1.1. Versuchsübersicht

In dieser Studie wurden sowohl das Immunsystem als auch die Stressanfälligkeit in Verbindung mit der Fleischqualität der Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Deutsche Landrasse x Pietrain (LxP) untersucht.

Die Versuchsdauer erstreckte sich von der Geburt der Ferkel bis zur 20. bzw. 25. Lebenswoche (LW).

Für die Untersuchung der Übertragung von maternalen IgG und IgM über Kolostrum oder reife Milch der Sauen wurden diese bis Tag 10 p.p. mittels ELISA untersucht. Um den Immunstatus der Ferkel untersuchen zu können wurde den Versuchstieren ab dem 14. Lebenstag Blut entnommen und die Konzentration von IgG und IgM ermittelt.

Nach dem Absetzen wurden die Ferkel in zwei Gruppen eingeteilt. In beiden Gruppen befanden sich jeweils zehn Ferkel pro Rasse: Die erste Gruppe wurde in der 7. LW gegen PRRSV immunisiert und in der 20. LW geschlachtet. Die zweite Gruppe erhielt keine Immunisierung und wurde in der 25. LW geschlachtet. Beide Gruppen wurden jeweils zur gleichen Zeit umgestallt und erhielten die identische Futtermischung. In beiden Gruppen wurden ab der vierten Lebenswoche immunologische Parameter mittels Genexpressionsanalysen und Proteinnachweisen bestimmt. In der ersten Gruppe wurde außerdem Fragmente des PRRS MLV in Serum, in Leukozyten und im Gewebe nachgewiesen. In beiden Gruppen wurde nach Schlachtung die Fleischqualität ermittelt.

1.2. Verwendete Tiere

Die Anzeige (Az. 55.2-1-54-2532.3-68-11 vom 20.10.11) zur Durchführung der Tierstudie wurde von der Regierung von Oberbayern bewilligt. Die Schweine der Rasse Turopolje wurden vom Tierpark Arche Wader, Zentrum für seltene Nutztierassen e.V. in Wader, Deutschland, ausgeliehen. Es handelte sich hierbei um drei Eber unterschiedlichen Alters und sechs Sauen, welche mindestens einmal in der Arche abgeferkelt hatten. Alle Schweine der Rasse Turopolje

wurden nach sechswöchiger Quarantäne in die Versuchsstation Thalhausen, Kranzberg, Deutschland, überführt und in die bestehende Herde integriert. Die Sauen der Deutschen Landrasse wurden von der Versuchsstation Thalhausen gestellt. Auch diese hatten zwei- bis dreimal abgeferkelt. Das Sperma des Pietrain-Ebers wurde von einer Samenstation gekauft.

Alle Tiere der F0-Generation wurden vor Versuchsbeginn auf PRRSV-Antikörper getestet, um zu gewährleisten, dass alle Tiere PRRSV-negativ waren (Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH [IVD GmbH], Hannover, Deutschland).

Ferkelerzeugung:

In der Versuchsstation Thalhausen, Kranzberg, Deutschland wurden neun Sauen zur Erzeugung von 60 Ferkeln belegt. Alle Sauen wurden synchronisiert (2 ml i.m. PGF Veyx forte, Veyx, Schwarzenberg, Deutschland). Zwei verschiedene Turopolje Eber wurden für die Belegung von jeweils drei Turopolje Sauen (TxT) und drei Deutsche Landrasse Sauen (LxT) verwendet. Beide Rassen wurden durch einen Natursprung belegt. Weitere drei Deutsche Landrasse Sauen wurden durch Insemination mit einem Pietrain Eber (LxP) belegt. Die Insemination wurde in Kastenständen von einem Tierpfleger der Versuchsstation durchgeführt. Nach drei Wochen und einer positiven Trächtigkeitskontrolle wurden die Sauen in einen Laufstall verbracht. Während dieser Zeit lebten sie in einem Herdenverband mit Krafftutterautomat. Die Sauen wurden eine Woche vor dem errechneten Geburtszeitpunkt aus der Herde der tragenden Sauen herausgenommen, gewaschen und in den Abferkelstall verbracht. Die Abteile waren in acht Abferkelbuchten eingeteilt. Jede Bucht war mit einem variablen Stand, einer Nippeltränke und automatischer Fütterungsanlage für die Sau sowie einem Ferkelnest mit Rotlicht (30 °C) ausgestattet. Bei Bedarf konnte man mit Hilfe einer Futterschale den Ferkeln Milchaustauscher anbieten. Für die Gewöhnung an das Futter waren in den Buchten Krafftutterspender für die Ferkel vorhanden.

Trotz Synchronisation wurden nicht alle Sauen zum selben Zeitpunkt tragend. So ergaben sich folgende Geburtstermine: 22.09.2011, 12.10.2011 und 3.11.2011. Bei Geburtsbeginn wurde eine Hafermatte hinter den Sauen ausgebreitet, um die Ferkel vor Auskühlung zu schützen, aber auch um das Ausrutschen der Neugeborenen zu verhindern.

Die Geburten wurden überwacht, sodass gewährleistet werden konnte, dass kein Ferkel vor Beendigung des Geburtsvorganges Kolostrum aufnehmen konnte. Das Kolostrum wurde kurz vor dem Ansetzen der Ferkel an der Gesäugeleiste entnommen. Die Ferkel wurden sofort post natum gewogen und mit Ohrmarken markiert. Am dritten Lebenstag erhielten alle Ferkel Eisen-Dextran (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland), die männlichen Tiere wurden am selben Tag kastriert und mit Antiphlogistikum nachbehandelt (0,4 mg/kg Metacam, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Deutschland).

Flatdeck:

In der vierten Lebenswoche wurden die Ferkel abgesetzt. Sie wurden zu jeweils acht Ferkeln, nach Rasse sortiert, in den Flatdeckstall eingestallt. Hierbei wurde eine räumliche Trennung der Gruppe mit anschließender PRRS MLV Immunisierung und der Gruppe ohne Immunisierung vorgenommen. Da es keine Quarantäneplätze im Versuchsbetrieb Thalhausen gab, war es nicht möglich, den Tieren ein aktives PRRS Virus zu injizieren; so musste dieser Fall anders simuliert werden. Dazu wurde den Ferkeln der lebend-attenuierte Impfstoff (Ingelvac PRRS MLV; Boehringer Ingelheim, Deutschland) verabreicht. Dieses attenuierte Virus ist identisch mit dem aktiven Virus und ebenfalls im Blut nachweisbar, verursacht aber keine pathologischen Veränderungen (Reiner et al. 2010). Der Impfstoff wurde den Ferkeln am 50. Lebenstag intramuskulär injiziert. Die Injektionsstelle befand sich circa zweifingerbreit hinter dem Ohr, am Übergang der behaarten und nicht behaarten Haut.

In diesem Experiment sollte herausgefunden werden, wie schnell und effizient die verschiedenen Schweinerassen dieses Virus abbauen können und wie die verschiedenen Rassen auf die Immunisierung reagieren.

Da Turopoljewürfe maximal acht Ferkel hatten, wurden bei der alten Rasse zwischen zwei bis vier Ferkel pro Gruppe eingestallt. Die Flatdecks wurden immer zwischen 23 °C und 28 °C belüftet.

Probemast:

Im Alter von zwölf Wochen wurde den Schweinen ein Transponder (Compident Tiris AF-Ohrchip Typ Light, Schauer, Pocking, Deutschland) zur Futteraufnahme in ein Ohr eingezogen. Die Gruppenzusammenstellung wurde auch nach dem Umstallen beibehalten. In der Probemast wurde ein Ad-Libidum-Fütterungssystem (Compident Station CID98-MLP, Schauer, Pocking, Deutschland) gefahren. Mit Hilfe der Transponder an den Ohren konnte Futter von der Station abgeholt werden. Die abgeholte Menge wurde dabei automatisch erfasst.



Abb. 5: Futterautomat der Firma Schauer (Pocking, Deutschland). Die Fütterungsklappe ist geöffnet, nach Verlassen des Futterplatzes wird die Klappe sofort wieder geschlossen. Am Boden der Futterluke befindet sich die Waage zur automatischen Mengenerfassung. Durch Bewegungen des Schweines wird Futter nachgefüllt, sodass eine Ad-Libidum-Fütterung besteht.

1.3. Immunglobulinkonzentration in Kolostrum, in reifer Milch und im Serum der Ferkel

1.3.1. Kolostrum- und Milchentnahme und Aufbereitung

Die Ferkel wurden erst nach Beendigung des Geburtsvorganges an die Gesäugeleiste gelassen, um das erste Kolostrum entnehmen zu können. Das Kolostrum und später die reife Milch wurden bei jeder Sau an der vorletzten Zitze der rechten Gesäugeleiste entnommen. Weitere Milchproben wurden am Tag 3, 7 und 10 p.p. entnommen. Das Kolostrum wurde manuell gemolken. Zur Gewinnung der reifen Milch wurden die Ferkel angesetzt. Sobald der Milcheinschuss erfolgte war, wurden die Ferkel entfernt und die Milch per Hand gewonnen.

1.3.2. Serumentnahme der 14 Tage alten Ferkel

Am 14. Lebenstag wurde allen Ferkeln 2 ml Blut mit einem Primavette Blutentnahmesystem und Pipetten der Firma KABE (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) entnommen. Die Ferkel wurden auf dem Rücken fixiert, wobei der Kopf überstreckt wurde. Die Blutentnahme fand an der Vena cava cranialis statt. Alle Proben wurden auf Eis gelagert und, eine bis zwei Stunden später, im Labor weiter bearbeitet.

1.4. Probenentnahme der mit PRRS MLV immunisierten Tiere

In Abb. 7 ist das Schema zur Blutprobenentnahme in Bezug auf die Immunisierung am Tag 0 gezeigt. An jedem Termin wurden jeweils 8 ml Blut mit EDTA- und / oder Serum Primavetten entnommen. Die EDTA-Röhrchen (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) wurden mit 10 µl / 10 ml Blut EDTA (Merck, Darmstadt, Deutschland) ergänzt, um eine Gerinnung des Blutes zu verhindern. Die Schweine wurden mit Hilfe einer Oberkieferschlinge fixiert. Die Lagerung der Blutproben erfolgte auf Eis bis zur weiteren Verarbeitung im Labor.

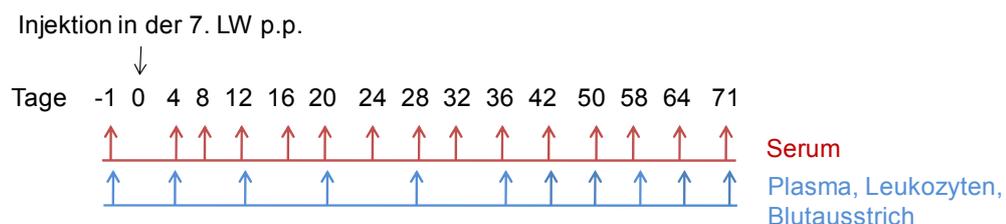


Abb. 7: Blutprobenentnahmeschema der mit attenuiertem Ingelvac PRRS MLV - Impfstoff immunisierten Schweine. (LW = Lebenswoche)

Serum wurde an allen hier gezeigten Tagen entnommen, EDTA-Blut nur an Tag-1 vor der Injektion, weiterhin an Tag 4, 12, 20, 28, 36, 43, 50, 57, 64, 71 post Injektion. Die Versuchstiere wurden in der 20. Lebenswoche im Schlachthof Grub (LfL, Poing, Deutschland) geschlachtet. Alle Tiere wurden nach SEUROP-Klassifizierung untersucht. Die Lymphonodus pharingius und Lymphonodus tracheobronchiales wurden entnommen.

1.5. Probenentnahme der nicht immunisierten Tiere

Die Schweine wurden drei bis fünf Tage nach jeder Umstallung sowie in der Mitte der Mast und 3-5 Tage vor der Schlachtung beprobt.

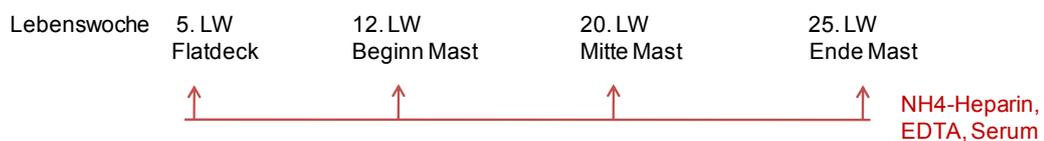


Abb. 8: Beprobung der nicht immunisierten Tiere mit der Angabe der Blutprobenzusätze (Serum, EDTA; NH₄-Heparin). (LW = Lebenswoche)

Dabei wurden Serum-, EDTA- und NH₄-Heparinblut mit Hilfe der Oberkieferschlinge entnommen. Die Blutproben wurden bis zur Weiterverarbeitung im Labor auf Eis gelagert. Die Tiere wurden in der 25. LW im Schlachthof Grub (LfL, Poing, Deutschland) geschlachtet. Alle Schlachtkörper wurden nach SEUROP-Klassifizierung bewertet. Außerdem wurden Tropfsaftverlust und intramuskuläres Fett bestimmt.

1.6. Mastleistung und Fleischqualität

1.6.1. Futterzusammensetzung

Ferkelfutter Einzelfuttermittel/ Komponente	Inhaltsstoffe je kg Einzelfuttermittel							Anteil [%]	Inhaltsstoffe anteilig in der Futtermischung						
	T [g]	ME [MJ]	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]		T [g]	ME [g]	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]
Wintergerste	880,0	13,1	114,0	3,9	48,0	0,7	3,4	36,0	316,8	4,7	41,0	1,4	17,3	0,3	1,2
Winterweizen	880,0	13,8	120,0	3,4	25,0	0,6	3,3	38,0	334,4	5,2	45,6	1,3	9,5	0,2	1,3
HP-Soja	880,0	14,1	476,0	29,8	34,0	1,8	6,6	21,0	184,8	3,0	100,0	6,3	7,1	0,4	1,4
Mineralfutter	950,0	0,0	0,0	95,0	0,0	170,0	35,0	4,0	38,0	0,0	0,0	3,8	0,0	6,8	1,4
Sojaöl	999,0	37,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	10,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Gesamtmischung								100,0	884,0	13,3	186,6	12,8	33,9	7,7	5,3

Tabl. 1a)

Vormast Einzelfuttermittel/ Komponente	Inhaltsstoffe je kg Einzelfuttermittel							Anteil %	Inhaltsstoffe anteilig in der Futtermischung						
	T [g]	ME MJ	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]		T [g]	ME MJ	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]
Wintergerste	880,0	13,1	114,0	3,9	48,0	0,7	3,4	25,0	220,0	3,3	28,5	1,0	12,0	0,2	0,9
Winterweizen	880,0	13,8	120,0	3,4	25,0	0,6	3,3	51,0	448,8	7,0	61,2	1,7	12,8	0,3	1,7
HP-Soja	880,0	14,1	476,0	29,8	34,0	1,8	6,6	20,0	176,0	2,8	95,2	6,0	6,8	0,4	1,3
Mineralfutter	950,0	0,0	0,0	80,0	0,0	220,0	25,0	3,0	28,5	0,0	0,0	2,4	0,0	6,6	0,8
Sojaöl	999,0	37,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	10,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Gesamtmischung								100,0	883,3	13,5	184,9	11,1	31,6	7,4	4,6

b)

Endmast Einzelfuttermittel/ Komponente	Inhaltsstoffe je kg Einzelfuttermittel							Anteil %	Inhaltsstoffe anteilig in der Futtermischung						
	T [g]	ME MJ	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]		T [g]	ME [g]	RP [g]	Lysin [g]	Rfa [g]	Ca [g]	P [g]
Wintergerste	880,0	13,1	114,0	3,9	48,0	0,7	3,4	25,3	222,2	3,3	28,8	1,0	12,1	0,2	0,9
Winterweizen	880,0	13,8	120,0	3,4	25,0	0,6	3,3	56,5	497,2	7,8	67,8	1,9	14,1	0,3	1,9
HP-Soja	880,0	14,1	476,0	29,8	34,0	1,8	6,6	15,0	132,0	2,1	71,4	4,5	5,1	0,3	1,0
Mineralfutter	950,0	0,0	0,0	80,0	0,0	220,0	25,0	2,8	26,1	0,0	0,0	2,2	0,0	6,1	0,7
Sojaöl	999,0	37,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	5,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Gesamtmischung								100,0	882,5	13,4	168,0	9,6	31,3	6,8	4,4

c)

Tabl. 1 a-c: zeigt die Futtermittelzusammensetzung während der Ferkelaufzucht (a), der Vormast (b) und der Endmast ab 60 kg Lebendgewicht (c) an. (T= Trockenmasse, ME= metabolische Energie, RP= Rohproteine. Rfa= Rohfaser, Ca= Kalzium, P= Phosphat, HP-Soja= Hochprotein-Soja, g= Gramm, MJ= Megajoule, kg= Kilogramm)

2. Analyse

2.1. Übersicht über durchgeführten Methoden

Analysen	Gruppeneinteilung der Tiere			
	Kolostrum/Milch	14. LT Ferkel	immunisierte Tiere	nicht immunisierte Tiere
ELISA IgG/M	x	x	x	x
ELISA IL-1			x	x
ELISA IL-6			x	
ELISA IL-10			x	x
ELISA IL-12			x	x
qRT-PCR Leukozyten			x	x
Virusnachweis PRRS MLV			x	
Differentialblutbild			x	x
Lymphozyten Proliferation				x
Serum/Plasma			x	x
Tonsillen/Lymphknoten			x	x
Lymphozyten Separation				x
Antikörpernachweis (PRRS MLV)			x	

Tabl. 2: Übersicht über durchgeführten Methoden innerhalb dieser Studie. „x“ markiert, in welcher Gruppe der Versuchstiere die jeweilige Analyse durchgeführt wurde. IgG/M= Immunglobulin G/M, ELISA = Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay, IL= Interleukin, qRT-PCR= quantitative Polymerase Kettenreaktion, PRRS MLV= attenuierter Lebendimpfstoff des Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus

2.2. Methodenbeschreibung

2.2.1 Serum

Das Serum wurde bei 4500 x g, 15 min bei 4°C zentrifugiert, danach in 1,5 ml Tubes (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) aliquotiert und bei -80 °C für weitere Untersuchungen gelagert.

2.2.2. Entrahmen der Milch

Die Milchproben wurden sofort nach der Entnahme durch Zentrifugieren bei 4500 x g, 15 min und bei Raumtemperatur entrahmt, aliquotiert und bei -20 °C gelagert.

2.2.3. Blutausstrich

Verwendete Materialien:

- Objektträger (VWR, Ismaning, Deutschland)
- Diff Quik (Medion Diagnostics, Düringen, Schweiz)
- Immersionsöl (Merck, Grafing, Deutschland)
- Entsalztes Wasser

Mit Hilfe des EDTA-Blutes wurden die Blutausstriche zur Bestimmung des Differentialblutbildes angefertigt. Es wurde 1 µl Blut auf einen Objektträger (VWR, Ismaning, Deutschland) gebracht. Der Tropfen wurde mit Hilfe eines weiteren Objektträgers auf dem ersten Objektträger ausgestrichen, sodass eine möglichst lange und dünn-schichtige Fahne entstand.

Die Blutaustriebe wurden nach dem Trocknen einer Färbung mit Diff-Quik (Medion Diagnostics, Düringen, Schweiz) nach Herstelleranweisung unterzogen. Die Objektträger wurden nach der Färbereihe mit entsalztem Wasser abgewaschen und 12 Stunden getrocknet.

Die Auswertung fand unter dem Mikroskop mit einer 400-fachen Vergrößerung und Immersionsöl (Merck, Grafing, Deutschland) statt. Es wurden in der Mitte der Fahne 100 Blutzellen bestimmt, dabei wurden die Zellen nach Erythrozyten, Lymphozyten, Monozyten, stabkernige und segmentkernige, neutrophile, eosinophile und basophile Granozyten eingeteilt.

2.2.4. Plasma

Aus dem EDTA-Blut wurde sowohl Plasma gewonnen als auch Leukozyten extrahiert (siehe Punkt 2.2.5.). Für die Plasmagewinnung wurde das Blut bei 4500 x g, 15 min, 4°C zentrifugiert, anschließend aliquotiert und bei -20 °C gelagert.

2.2.5. Leukozytenseparation

Verwendete Materialien:

- Lysepuffer pro Liter bidest Wasser:
 - o 8,3 g NH₄Cl (AppliChem GmbH Darmstadt, Deutschland)
 - o 0,08 g Na-EDTA (AppliChem GmbH Darmstadt, Deutschland)
 - o 1 g KCl (AppliChem GmbH Darmstadt, Deutschland)

Pro EDTA-Röhrchen wurde 2 ml Blut entnommen und mit der gleichen Menge an Lyse-Puffer vermengt und bei 500 x g, 4 °C, 10 min. lang zentrifugiert. Den Überstand nahm man ab. Mit halber Menge an Puffer wurde das Zellpellet vermengt und wiederum unter denselben Bedingungen zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut abgenommen. Der vorherige Schritt wurde wiederholt, der Überstand abgenommen und das Zellpellet mit Puffer RA1 aus dem NucleoSpin RNA II (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) versetzt, um die Zellen bei -80 °C zu lagern.

2.2.6. Gewebe

Die Tonsillen und Lymphknoten wurden in 1 mm x 1 mm große Stücke geschnitten, in flüssigem Stickstoff fixiert und zur Aufbewahrung in Cryo-Tubes (Almeco, Esbjerg, Dänemark) verbracht. Die Tubes wurden für den Transport in Trockeneis gelagert und anschließend bei -80 °C eingefroren.

2.2.7. RNA Extraktion aus Leukozyten

Die RNA aus den bei -80 °C gelagerten Leukozyten wurde mit Hilfe des NucleoSpin RNA II (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland), nach Herstelleranweisung extrahiert und bei -80 °C gelagert.

2.2.8. Quantitäts- und Qualitätsüberprüfung der RNA

Quantitätsprüfung der RNA

Verwendete Materialien:

- NanoDrop, Spectrophotometer, ND-1000 (peQLab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland)
- RNA-Extraktionsprobe

NanoDrop ist ein UV-Vis (270-750) Spektralphotometer. 1 µl der unverdünnten Probe wird zwischen zwei optischen Glasfaserkabelenden aufgebracht. Durch die Oberflächenspannung bildet die Probe eine Flüssigkeitssäule zwischen den beiden Enden. Die Länge der Säule wird exakt auf 0,2 mm eingestellt. Als Lichtquelle wird eine Xenonlampe verwendet. Das durchtretende Licht wird auf einem linearen CCD-Chip aufgenommen und anschließend mittels einer bestimmten Software ausgewertet. Die RNA-Konzentration wird in ng/µl angegeben. Die Reinheit wird bei 230 nm und der Gradient bei 230/280 nm bestimmt. Durch die graphische Darstellung des Absorptionsspektrums in dem genannten Wellenbereich können Lösungsmittel- und Proteinverunreinigungen detektiert werden. Der Absorptionsquotient A_{260}/A_{280} sollte für eine reine RNA zwischen 1,9 - 2,1 liegen (Schilffarth 2009).

Am NanoDrop wurden nur die Proben untersucht, die nicht mit Hilfe einer Carrier-RNA extrahiert wurden. Durch die Anwesenheit der Carrier-RNA waren die Verunreinigungen zu hoch, um eine aussagefähige Messung durchführen zu können.

Qualitätskontrolle der RNA

Der Grad der Degeneration und des Abbaus kann mit Hilfe des Bioanalyzers 2100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) ermittelt werden. Gemessen werden hierbei die elektrophoretische Trennung der RNA und die anschließende Erkennung über laserinduzierte Fluoreszenzstrahlung. Die Qualität wird zum einen durch die RNA Integrity Number (RIN) und zum anderen durch das Verhältnis der Menge an 28 S rRNA zu 18 S rRNA berechnet (beste Qualität bei einem Wert von 2). Die RIN wird von der zugehörigen Software berechnet, wobei Werte zwischen 1 (stark degenerierte Qualität) und 10 (sehr gute Qualität) entstehen (Schilffarth 2009).

Durch das Vorhandensein der Carrier RNA in den Extraktionsproben wurde auf eine Messung der RNA-Qualität verzichtet, da angenommen wurde, dass der RIN nicht der realen Qualität entsprechen würde.

2.2.9. Reverse Transkription (RT)

Verwendete Materialien:

DEPC-Wasser:

- 1 µl DEPC (Aldrich, Darmstadt, Deutschland) auf 1 l H₂O

Pro RT-Ansatz in µl:

- DEPC Wasser (Aldrich, Darmstadt, Deutschland)	26
- 5xPuffer (Progema, Mannheim, Deutschland)	12
- Hexamere ([50µM] Invitrogen, Carlsbad, USA)	3
- dNTP's ([10 µM] Fermentas, St.-Leon-Rot, Deutschland)	3
- RT Enzym (m-MVLRT RNase H (-) Point Mutante, Progema, Mannheim, Deutschland)	1

Durch RNase kann RNA schnell abgebaut werden, des Weiteren wird sie schlecht von der Taq-Polymerase als Matrize erkannt. Mit Hilfe der reversen Transkriptase, einem viralen Enzym, können aus einem Einzelstrang der RNA komplementäre cDNA-Stränge (complementary DNA) produziert werden. Dieses Produkt ist wesentlich stabiler als RNA.

Die RNA aus den Leukozyten (siehe Punkt 2.2.7.), wie auch die virale RNA aus dem Serum (siehe Punkt 2.2.1.), Tonsillen und Lungenlymphknoten (siehe Punkt 2.2.6.) wurde mit Hilfe der RT in cDNA umgeschrieben.

Die Leukozyten RNA wurde auf 500 ng/µl mit DEPC-H₂O verdünnt. Die virale RNA Konzentration konnte durch die im Extraktionskit enthaltene Carrier-RNA nicht mittels NanoDrop (peQLab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) bestimmt werden. Deshalb wurde immer dasselbe Volumen aus jeder Probe für die RT verwendet (5 µl/Extraktionsprobe + 10 µl DEPC). Alle Proben wurden bei 65 °C für 5 min lang in einem Wärmeblock (Thermomixer Compact, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) denaturiert und auf Eis gestellt. Anschließend wurden 45 µl Mastermix auf die Proben gegeben, gevortext und in den vorgeheizten Cycler (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) gegeben.

Programm des Cyclers (Mastercycler gradient, Eppendorf, Hamburg):

- 21 °C 10 min
- 48 °C 50 min
- 90 °C 2 min
- 5 min Pause

Die cDNA wurde bis zur Genexpressionsmessung bei -20 °C gelagert.

2.2.10. Primerdesign und -optimierung

Die Primersequenzen wurden alle mit Hilfe von National Centre for Biotechnology Information (NCBI) Primer-Blast erstellt. Das PCR-Produkt sollte zwischen 100-400 bp lang sein. Die Primer an sich sollten einen Umfang zwischen 18 und 25 bp aufweisen. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass keine Komplementarität zwischen den Primern vorhanden ist, um Primer-Dimere zu verhindern. Auch ein Self-Annealing, d.h. Bilden von Sekundärstrukturen, wurde versucht zu vermeiden. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass alle Primerpaare eine Schmelztemperatur von 60 °C aufwiesen.

Alle Primer wurden bei Metabion (München, Deutschland) synthetisiert und im lyophilisierten Zustand ungekühlt versandt. Im Labor wurden sie auf 200 pmol/µl verdünnt (Stocklösung). Daraus wurde eine Arbeitslösung (1:5 Verdünnung) mit RNase-freiem Wasser (Invitrogen, Carlsbad, USA) hergestellt. Die Primer wurden mit Positivkontrollen getestet, welche dann mit der Gelelektrophorese auf ihre Reinheit und Basen Länge überprüft wurden. Das spezifische Produkt wurde durch Sequenzierung (Labor 4baseLab, Reutlingen, Deutschland) überprüft.

2.2.11. Quantitative Revers Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR)

Durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird ein DNA-Bereich, welcher zwischen zwei Primern liegt, mit Hilfe eines thermostabilen Enzyms vervielfältigt. Im Grundsatz besteht jede PCR aus folgenden Schritten:

Bei 94 °C wird der DNA-Doppelstrang in Einzelstränge aufgetrennt (Denaturierung). Bei Temperaturen zwischen 55 und 68 °C lagern sich die Primer an die DNA an (Primer-Annealing); daran schließt sich die Aktivierung der DNA-Polymerase an, bei einem Temperaturoptimum zwischen 72 °C und 75 °C, wodurch die Primerextension durch Einbau von Nucleotiden am 3'-Ende ermöglicht wird (Elongation).

Bei der quantitativen RT-PCR werden Fluoreszenzfarbstoffe verwendet (SsoFast EvaGreen Supermix, BioRad, USA), die sich zwischen die beiden Stränge der doppelsträngige DNA einlagern und bei einer bestimmten Wellenlänge sichtbar gemacht werden. Durch die Vervielfältigung der DNA in jedem Zyklus wird auch das Lichtsignal immer stärker; dies kann für jede Probe einzeln im Verlauf des Reaktionsvorganges beobachtet werden.

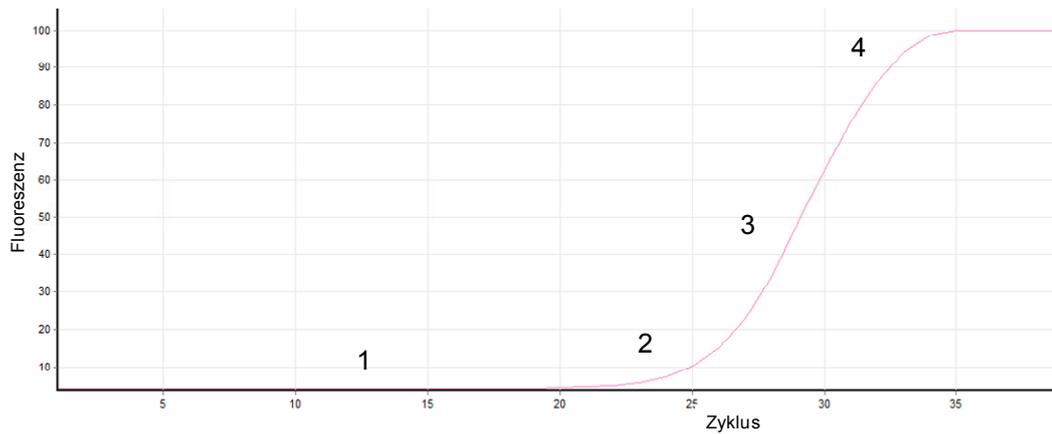


Abb. 9: Zeigt eine sigmoidale Amplifikationskurve einer qRT-PCR Messung des Genes *Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)* bei einem Versuchstier. GAPDH wurde in dieser Studie unter anderem als Housekeeping Gen verwendet.

1.: Hintergrundfluoreszenz („Grundrauschen“)

2.: exponentielle Amplifikationsphase

3.: linearer Bereich der exponentiellen Anstiegsphase

4.: Plateauphase

Am Beginn der exponentiellen Amplifikation liegt der Messbereich des fluoreszierenden Signals noch unter dem Messbereich des Gerätes, also im Hintergrundrauschen. In der zweiten Phase ist es eine exponentielle Amplifikation, in der dritten Phase hat die Kurve einen linearen Charakter. In diesem Abschnitt verliert die PCR an Effizienz. Als Folge stellt die vierte Phase ein Plateau dar. In der zweiten Phase ist also die Beschleunigung des Fluoreszenzanstiegs am höchsten, das Maximum der Kurve ist in diesem Abschnitt erreicht, dies bezeichnet man als „Cycle of Quantification“ (Cq). Dieser Punkt gibt somit eine relative Mengenangabe der vorhandenen DNA an. Umso niedriger der Cq ist, desto höher der Gehalt an DNA.

Anschließend wird die Temperatur langsam von 60 °C auf 99 °C erhöht, diesen Schritt bezeichnet man als Schmelzphase. Das entstandene doppelsträngige Produkt wird in dieser Phase aufgetrennt, wobei die Fluoreszenz sukzessiv abnimmt. Die Temperatur der vollständigen Auftrennung ist produktspezifisch (Schmelzpunkt), da sie sowohl mit der Anzahl der Basenpaare als auch mit der Guanin und Cytosin Menge korreliert. Die vollständige Auftrennung wird als Peak dargestellt (Schilffarth 2009).

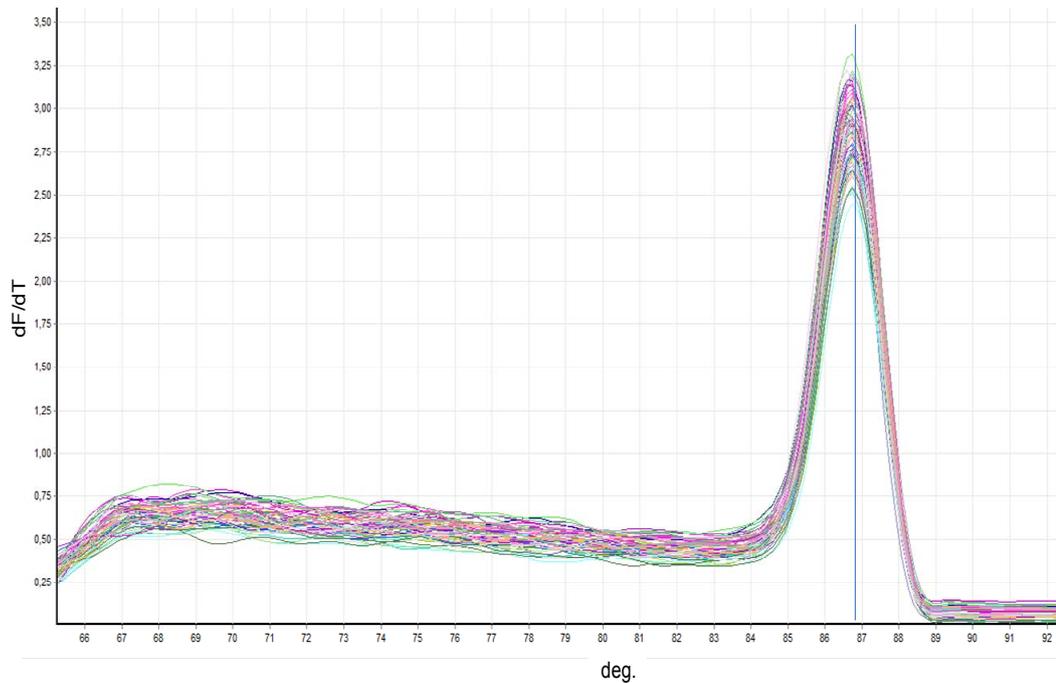


Abb. 10: Schmelzkurve, deren Schmelzpunkt, hier etwa bei 86,9 °C, dem eines spezifischen Produktes entspricht. Hier ist die Schmelzkurve des Genes Histon gezeigt, welches in dieser Studie unter anderem als Housekeeping Gen verwendet wurde.

Die Messung der Genexpression wurde mit dem Rotor-Gene 3000 (Corbett Research, Sydney, Australien) gemessen. Der qRT-PCR Ansatz für eine Probe lautet wie folgt:

Mastermix:

- SsoFast EvaGreen Supermix (BioRad, München, Deutschland) 5 µl
- Primer forward 20 nM 0,2 µl
- Primer reverse 20 nM 0,2 µl
- cDNA 1 µl
- PCR-Wasser (Invitrogen, Carlsbad, Deutschland) 3,6 µl

Der SsoFast EvaGreen Supermix wurde nach Herstelleranweisung behandelt. Es wurden 9 µl Mastermix zu 1 µl cDNA pipettiert.

qRT-PCR Programm:

- Enzymaktivierung 98 °C 30 sec
- Denaturierung 95 °C 5 sec
- Annealing 60 °C 20 sec

Schmelzphase (Melt):

- Anstieg von 65 °C bis 95 °C mit 0,5 °C pro Schritt
- 90 sec warten auf pre-Melt vor dem ersten Schritt

2.2.12. Housekeeping Gene (HKG)

Housekeeping Gene (HKG) sind Gene, welche dauerhaft auf dem gleichen Level expremiert werden, um die Funktion der Zelle aufrecht erhalten zu können. Zu diesen Genen zählen Ubiquitin, β -Aktin, Histon und Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH).

In dieser Studie wurden β -Aktin, Histon und GAPDH als HKG gemessen und der Mittelwert aller Gene ermittelt. Bei keiner Rasse und keinem Gewebe wurde eine Regulation der Expression festgestellt, somit galten alle als brauchbar.

Die Normalisierung der zu messenden Gene wird als ΔCq bezeichnet. ΔCq lässt sich wie folgt ermitteln (Schiffarth 2009):

$$\Delta Cq = Cq_{Zx} - Cq_{\text{Mittelwert HKG}}$$

ΔCq = normalisierter Cycle of Quantification

Cq_{Zx} = Crossing Point des Zielgenes (Z) der Probe x

$Cq_{\text{Mittelwert HKG}}$ = Mittelwert der Crossing Point der HKG

Um die graphische Darstellung zu verbessern, wurden $40^{-\Delta Cq}$ ermittelt.

2.2.13. Gelelektrophorese

Verwendete Materialien:

- 1,18 g Agarose (Amresco, Ohio, USA)
- 60 ml TAE-Puffer
 - o 242 g/l TriBase (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
 - o 57,1 g/l Eisessig (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
 - o 18,6 g/l $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
- GelRedTM (Biotum, Hayward, CA)
- Loading Dye (Invitrogen, Carlsbad, USA)
- 100 bp Ladder (Invitrogen, Carlsbad, USA)

Zur Kontrolle der PCR-Produkte auf Reinheit und für die Richtigkeit der Basenpaarlänge wurde ein Agarose-Gel hergestellt. Das Gel wurde mit 3,34 g Agarose und 90 ml TAE-Puffer unter Zugabe von 0,2 µl/10 ml GelRed™ hergestellt. GelRed™ ist ein mit doppelsträngiger DNA interkalierender Farbstoff, der durch UV-Strahlung sichtbar gemacht wird. Nach dem Aushärten des Gels wurden in die Taschen 5 µl Probe und 2 µl Loading Dye (Invitrogen, Carlsbad, USA) mit 3 µl TAE-Puffer gegeben. Zur Überprüfung der Produktlänge wurde in den beiden äußeren Taschen ein 100 bp Ladder (Invitrogen, Carlsbad, USA) aufgetragen. Die Elektrophoresekammer (Agagel Mini, Biometra, Göttingen, Deutschland) lief bei 70 Volt für 1,5 h.

Alle benutzten Primer wurden mit Hilfe eines Kits (Wizard SV Gel und PCR clean up System, Promega, Madison, USA) aus dem Gel extrahiert, aufgereinigt und bei 4baseLab (Reutlingen, Deutschland) sequenziert. Die Sequenz wurde anschließend mit der Sequenz aus der Datenbank von NCBI verglichen.

2.2.14. Verwendete Primer

Primer	Temperatur [°C]	Produkt- länge [bp]	Sequenz in 5' -----> 3' Richtung		Referenzen
			rev Primer	for Primer	
CD 163	60	209	TAGCCCATCCAGTGGCTTTG	CAGTGCCTGCTTGGTCACTA	NM_213976.1
CXCL 12	60	223	CCGTGCCACGATCTGAAGGGC	GTGTCAGGCCTCCGTCGGCT	NM_001009580.1
IL 1 α	60	397	AGCAACACGGGTTTCGTCTTCGT	TGATGGCAGCAGCCAACGGG	NM_214029.1
IL 1 β	60	205	GCTGGGTGCCAAGGACAGAGG	CGATGCCAGCTGTCTTCCCT	NM_214055.1
IL 2	60	179	TTCTGTAGCCTGCTTGGGCATGT	CCCTTGCACTCATGGCAAACGG	NM_213861.1
IL 6	60	110	TGGCCCTCAGGCTGAACTGC	TGCCGGCTGTGGATAAGC	NM_001252429.1
IL 8	60	153	CAGTGGGTCCACTCTCAAT	GGCAGTTTTCTGCTTTCTGC	XM_003361958.1
IL 10	60	151	GGCTTGGAACCTCAGGTAACCT	CTTCCAACCAGCCTGCCCC	NM_214041.1
IL 12	60	167	AGACCACCGTGCCACCAGAGA	GGCGAGGGGTTGACCCAGA	NM_001145986.1
Mx1	60	288	CCGGTAACTGACTTTGCCCT	CACAAAACAGGGCCTGAGAAC	NM_214061.1
Myd88	60	234	GCCAGGCAGGACATCTCGGT	CAGCAGGAGGCAGCTGAGAAGC	NM_001099923.1
PRRSV	60	289	TGGGGAACCAAGACCGCCT	TTCCGCCATCGCCAACCGGA	PRU87392
Siglec 1	60	385	ACCTTCATGCGGTGGAACA	TGATGCCTGACACCCGTTTT	NM_214346.1
TGF β	60	155	TCTGCCCGAGAGAGCAATACA	TACTACGCCAAGGAGGTCAC	NM_214015.1
TLR 7	60	252	AGGGGGCTGGAGTGATGCTC	TGGTTTTCCAGTGTGGACGTTGA	NM_001097434.1
TLR 8	60	257	TAGAAGTCCCTGGCCGCCCC	AGGAGATGGGACGCAACACGA	NM_629165.1
TNF α	60	256	TTGGCCCTGAAGAGGAC	CCCCAGAAGGAAGAGTTTC	NM_214022.1
TRAF 6	60	181	TGCACTGCTTCCCGTAACGCC	TGGCTGCCAGCTCCTGTGGT	NM_001105286.1
Housekeeping Gene					
Histon	60	232	ACTTGCCCTCCTGCAAAGCAC	ACTGGCTACAAAAGCCGCTC	NM_213930.1
β -Actin	60	234	GATCCACATCTGCGTGAAGG	AACTCCATCATCAATGTGACG	XM_003354356.1
GAPDH	60	187	AAGCAGGGATGATGTTCTGG	GGCAATGCCTCCTGTACCAC	NM_001206359.1

Tabl. 3: Verwendete Primer mit Annealing Temperatur, spezifischer Produktlänge, forward und reverse Primer Sequenz und NCBI Referenzen.

2.2.15. Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay (ELISA) von IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12/IL-23 im Plasma

Verwendete Materialien:

ELISA Set	Hersteller	Artikel Nr.	Lot. Nr.
Pig IgM ELISA Quantitation Set	Bethyl Laboratories, Inc. (Montgomery, Texas, USA)	E100-100	E100-100-19
Pig IgG ELISA Quantitation Set	Bethyl Laboratories, Inc. (Montgomery, Texas, USA)	E100-100	E100-100-19
Duo Set Porcine IL- 1 β /IL-1F2	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	DY 681	1267081
Duo Set Porcine IL -6	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	DY 686	1274765
Duo Set Porcine IL 10	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	DY 693B	1274763
Duo Set Porcine IL -12/IL-23 p40	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	DY 912	1278700

Tabl. 4 : Übersicht über die verwendeten Kits mit Angabe der Firma, Artikel-Nummer (Artikel Nr.) und Chargennummer (Lot Nr.)

Verbrauchsmaterial	Hersteller	Artikel Nr.
Immunoplatte Maxi Sorp	Nunc A/S, Roskilde, Dänemark	439454

Tabl. 5: Daten zur den verwendeten 96-Well-Platte mit Angabe der Firma, Artikel-Nummer (Artikel Nr.)

Verwendete Substanzen	Firma	Artikel Nr.	Lot. Nr.
BSA (Albumin bovin Fraktion V pH 7,0)	SERVA (Heidelberg, Deutschland)	11930.03	120991
DMSO (Dimethylsulfoxid)	SIGMA-ALDRICH (St. Louis, USA)	D5879 – 1L	SZBB2720V
HCl (Salzsäure – 5N)	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A2668, 1000	2B001198
CH ₄ N ₂ O x H ₂ O ₂ (Wasserstoffperoxid-Harnstoff)	Merck (Darmstadt, Deutschland)	8183560100	S4386456541
H ₂ SO ₄ (Schwefelsäure 95-97%)	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A0655, 0500	2P003344
Kathon CG	SIGMA-ALDRICH (St. Louis, USA)	5-00127	LB82236
KCl (Kaliumchlorid)	Merck (Darmstadt, Deutschland)	1049330500	103933942
KH ₂ PO ₄ (Kaliumdihydrogenphosphat)	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A3620, 1000	1A007333
NaCl (Natriumchlorid)	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A3597, 1000	2R002930
NaHCO ₃ (Natriumhydrogencarbonat)	Merck (Darmstadt, Deutschland)	1063290500	214K16289329
NaOH (Natronlauge – 5N)	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A2517, 1000	10000587
Na ₂ CO ₃ (Natriumcarbonat) x 10 H ₂ O	Merck (Darmstadt, Deutschland)	63911000	027A517591
Na ₂ HPO ₄ (Natriumhydrogenphosphat) x 2 H ₂ O	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A3567, 1000	2S003997
NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃ (TrisBase)	Mallinckrodt Baker (Deventer, Niederlande)	1414	708801023
TMB (3,3',5,5' Tetramethylbenzidin)	SIGMA-ALDRICH (St. Louis, USA)	T 2885-5G	021M1532
Tween20	Merck (Darmstadt, Deutschland)	8221841000	S5302484911
Zitronensäure x 1 H ₂ O	AppliChem (Darmstadt, Deutschland)	A2337, 0500	2V002102
H ₂ O bidest.	Hergestellt mit Millipore-Milli-Q-PLUS-Reinstwassersystem (siehe Geräte)		

Tabl. 6: Übersicht über die verwendeten Substanzen mit Angabe der Firma, Artikel-Nummer (Artikel Nr.) und Chargennummer (Lot Nr.)

Zusammensetzung der Puffer- und Substratlösungen	
Basis Puffer	6,07 g/l TrisBase; 8,18 g/l NaCl; H ₂ O bidest.
Blocking Puffer	6,07 g/l TrisBase; 8,18 g/l NaCl; H ₂ O bidest.; 1% BSA
Coating Puffer	4,29 g/l Na ₂ CO ₃ x 10 H ₂ O; 2,93 g/l NaHCO ₃ ; H ₂ O bidest.
PBST-Waschpuffer	8 g/l NaCl; 1,42 g/l Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O; 0,2 g/l KH ₂ PO ₄ ; 0,2 g/l KCl; 1 g/l Tween 20; H ₂ O bidest.
Sample Puffer	6,07 g/l TrisBase; 8,18 g/l NaCl; H ₂ O bidest.; 1% BSA; 0,05% Tween 20
Substratlösung A	1 g/l CH ₄ N ₂ O x H ₂ O ₂ ; 18 g/l Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O; 10,3 g/l Zitronensäure x 1 H ₂ O; 100µl Kathon CG; H ₂ O bidest.
Substratlösung B	500 mg/l TMB; 10 ml DMSO; 10,3 g/l Zitronensäure x 1 H ₂ O; 960 ml H ₂ O bidest.

Tabl. 7: Übersicht über die Zusammensetzung der verwendeten Puffer- und Substratlösungen

Gerät	Produkt	Firma
Feinwaage	SBC 31	Scaltec (Göttingen, Deutschland)
Kleinschüttler	VXR basic Vibrax®	IKA Labortechnik (Staufen, Deutschland)
Kühlschrank	CUP 3503	Liebherr (Bulle, Schweiz)
Magnetrührer	IKAMAG® RET-G	IKA Labortechnik (Staufen, Deutschland)
Photometer	Sunrise™	Tecan (Männedorf, Schweiz)
Schüttelwasserbad	1083	GFL (Burgwedel, Deutschland)
Vortex	Vortex-Genie® 2	Scientific Industries, Inc. (New York, USA)
Wärmeschrank	FOC 225E	VELP (Usmate, Italien)
Waschstation	Hydroflex™	Tecan (Männedorf, Schweiz)
Wasseraufbereiter	Milli Q Plus	Millipore (Schwalbach, Deutschland)
Einkanal-Pipetten	Eppendorf Research® (2,5 bis 1000µl)	Eppendorf (Hamburg, Deutschland)
Einkanal-Pipette	Finnpipette DH06792 (5ml)	Thermo Scientific (Waltham, Massachusetts, USA)
Achtkanal-Pipette	Proline 50-1200µl	Biohit (Helsinki, Finnland)

Tabl. 8: Übersicht über die benutzten Geräte

Im Plasma der Schweineblutproben wurden die IL-1 β , 6, 10 und 12 mittels Sandwich-ELISA bestimmt (Abb. 11).

Die Tests wurden laut Herstelleranweisung den jeweiligen Duo Sets von R&D Systems (Minneapolis, USA) bis auf das Blocken und Waschen der Platten, welches mit 280 µl Reagent Diluent und mit 280 µl Waschpuffer geschah, durchgeführt. Gewaschen wurde mit Hilfe eines Waschautomaten (Hydroflex, TECAN, Männedorf, Schweiz). Standardmäßig wurde der Horseradishperoxidase (HRP) -Detektion Antikörper im Dunkeln inkubiert (bei Raumtemperatur, 60 min). Für eine Platte wurden je 8 ml Substrat A und B miteinander im Dunkeln vermischt, auf Zimmertemperatur gebracht und 150 µl/well 40 min im Dunkeln inkubiert. Nach dem Aufbringen der Stoppsolution erkannte man den

Farbumschlag (Abb.11). Die entstandene Farbe wurde mit Magellan-Software (Magellan V 6.1., Dortmund, Deutschland) ausgewertet. So werden dem Benutzer eine Standardkurve, optische Dichte (OD)-Werte und Konzentration (ng/ml) der Probe angegeben.

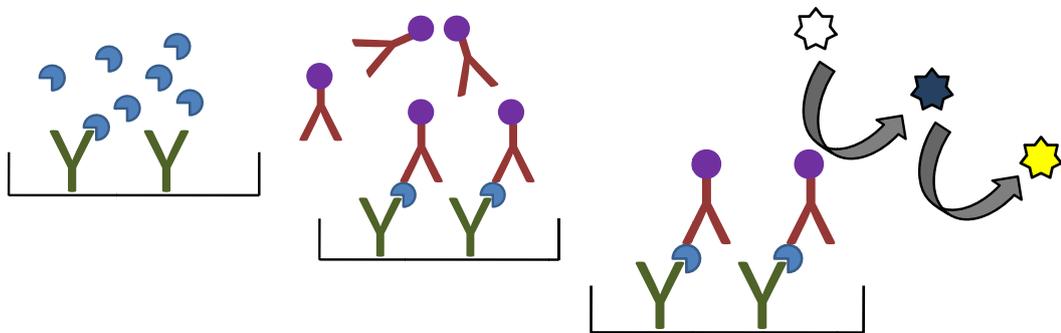


Abb. 11: Allgemeines Beispiel eines Sandwich ELISA: Coating- Antikörper (Y) werden an die Platte gebunden, danach wird das zu untersuchende Protein (●) dazugegeben. Anschließend reagieren Antikörper (Y), an denen Horseradishperoxidase (HRP) (●) gebunden ist, mit dem Protein. Durch die Zugabe des Substrates A und B (☆) wird ein blauer Farbstoff gebildet. Durch die Zugabe von Schwefelsäure (Stopsolution) wird die Reaktion beendet und die Lösung erscheint gelb. Die Auswertung anhand einer Standardkurve erfolgt photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm.

ELISA IL-1 β , IL-6, IL-10

Die ELISAs der einzelnen Interleukine wurden ohne Abweichungen der Herstelleranweisungen verwendet. Die Plasmaproben wurden unverdünnt verwendet.

ELISA IL-12/IL-23

Das verwendete Kit zur Detektion von IL-12 (Duo Set Porzine IL-12/ IL-23 p 40, R&D System, Minneapolis, USA) weist die Untereinheit p40 des Zytokins nach. Diese Untereinheit wird auch bei IL-23 nachgewiesen. Bei diesem Test wird demzufolge nur die im Plasma vorhandene Menge an p40 gemessen. Eine Unterscheidung in IL-12 und IL-23 ist deshalb nicht möglich. Die Verdünnungen der Antikörper wurden nach Herstellerangaben durchgeführt. Die Plasmaproben wurden unverdünnt gemessen.

2.2.16. Enzyme-Linked-Immunsorbent Assay (ELISA) von Immunglobulin G (IgG) und Immunglobulin M (IgM)

Für diesen ELISA Test wurde das Pig IgG ELISA Quantitation Kit (Bethyl Laboratories, Inc., Montgomery, USA) verwendet. Die Messung wurde laut Herstellerangaben in Glasröhrchen durchgeführt. Laut Herstelleranweisung kann man die Platten entweder über Nacht oder für drei Stunden blocken. In dieser Studie wurden die Platten nicht über Nacht geblockt. Coating-, Blocking-, Sample- und Wasch-Puffer wurden gemäß der Anleitung hergestellt. Die Proben wurden maschinell gewaschen (Hydroflex, Tecan, Männedorf, Schweiz). Die Verdünnungen der AK wurden nach Vorgaben der Herstelleranweisung durchgeführt. Der HRP Detektion Antikörper wurde nur im Dunkeln behandelt und auch nach der Substratzugabe wurde die Platte im Dunkeln auf dem Schüttler (IKA Labortechnik, Staufen, Deutschland) inkubiert. Das Substrat wurde mit jeweils 8 ml von Substrat A und B gemischt und im Dunkeln vor Gebrauch auf Raumtemperatur aufgewärmt. Danach wurden 150 µl/well Substrat zugegeben. Nach der Zugabe von Stoppsolution, wurde ein Farbumschlag von Blau zu Gelb beobachtet. Diese Platten wurden mit Hilfe des Magellan Programms computergestützt ausgewertet. Nachfolgend erhielt man die Standardkurve, sowie die OD Werte jeder Probe als auch die jeweilige Konzentration (in ng/ml) der einzelnen Wells und Mittelwerte der Duplikate. Die Kolostrumproben wurden jeweils in Duplikaten mit einer Verdünnung von 1:100.000 und 1:10⁶ aufgetragen. Die Milchproben ab Tag 3 p.p. wurden 1:1.000 und 1:10.000 verdünnt. Als Kontrollprobe wurde immer die gleiche Milchprobe auf jede Platte aufgetragen. Die Ergebnisse wurden anschließend, je nach Verdünnung, auf die initiale Konzentration hochgerechnet. Über den Kontrollwert wurden Schwankungen zwischen verschiedenen Platten verrechnet. Die Verdünnung der Serumproben war 1:10.000.

Die IgM Bestimmung erfolgte im Kolostrum, reifer Milch und Serum mit Pig IgM Quantitative ELISA (Bethyl Laboratories, Montgomery, USA). Der ELISA wurde wie oben beschrieben durchgeführt. Die Verdünnung des Kolostrums, Milch und Serums betrug 1:10.000, wobei das Kolostrum und die Milch auch unverdünnt gemessen wurden. Die Antikörperverdünnungen wurden nach Herstelleranweisungen hergestellt.

2.2.17. Extraktion der RNA-Fragmente des PRRS MLV

Die virale RNA wurde aus dem Serum und den Geweben gewonnen. Das Serum wurde nach Herstelleranweisung mit QIAamp MinElute Virus Spin (Qiagen, Hilden, Deutschland) extrahiert. Die RNA wurde aus den Tonsillen und Lymphonodus tracheobroncheale gewonnen. Dazu wurden die gefrorenen Proben in einen, durch flüssigen Stickstoff gekühlten Mörser verbracht, um sie zu homogenisieren. Anschließend wurde die RNA mit RNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) extrahiert. Die virale RNA wurde bei -80 °C gelagert.

2.2.18. Antikörpernachweis gegen PRRSV am Tag 16 und 32 post injectionem

Die Serumproben der geimpften Schweine wurden am Tag 16 und 32 p.inj. ungekühlt an die Gesellschaft der Innovativen Veterinärdiagnostik GmbH (IVD GmbH, Hannover, Deutschland) gesendet. Die Bestimmung der Antikörper (Ak) gegen den Impfstoff PRRS MLV (Boehringer-Ingelheim, Ingelheim, Deutschland) wurde mit „IDEXX PRRS X3 Ab Test“ (IDEXX, Ludwigsburg, Deutschland) durchgeführt.

2.2.19. Lymphozytenseparation und Kryokonservierung

Verwendete Materialien:

- NH₄-Heparin-Blut (NH₄-Heparin Primavetten, KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland)
- PBS (autoklaviert):
 - o 0,24 g KH₂PO₄ (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland)
 - o 8,0 NaCl (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland)
 - o 0,29 g KCl (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland)
 - o 1,44 g Na₂HPO₄ (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland)
 - o ad 1 l mit H₂O bidest pH 7,4
- Separating Solution (Bicoll, Biochrom, Berlin, Deutschland)
- Trypanblau (Invitrogen, Carlsbad, USA)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM HAM F12) (Sigma, St. Luis, USA)
- Fetales Kälber Serum (FKS) (Invitrogen, Carlsbad, USA)
- Dimethylsulfoxid (DMSO) (Sigma, St. Luis, USA)

Das Blut wird 1:2 mit PBS bei 4 °C vermischt. Anschließend werden 30 ml dieser Verdünnung vorsichtig über 15 ml Separating Solution in ein 50 ml Falcon-Tube überschichtet (Bicoll mit der Pipette vorsichtig zum Rand des Tubes führen und dann langsam das Blut an dem Rinnsal darauf pipettieren). Für das Separieren der Schichten muss das Gemisch zentrifugiert werden (30 min, 1100 x g, 4 °C). Für ein optimales Schichtungsergebnis ist es wichtig, dass die Bremse der Zentrifuge deaktiviert ist (Noble und Cutts 1967).

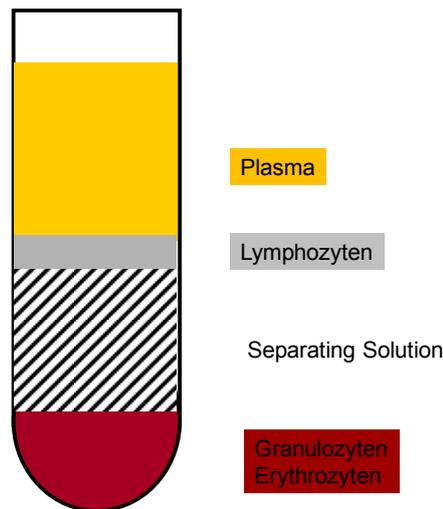


Abb. 12: Darstellung des 50 ml Tubes bei der Lymphezytenextraktion. Gezeigt sind die unterschiedlichen Phasen nach der Zentrifugation.

Das Plasma wird abpipettiert und verworfen, ohne dabei die Interphase zu zerstören. Die Interphase wird geerntet und mit 25 ml vorgelegtem PBS vermischt. Danach wird die Waschung wie folgt durchgeführt: Die Suspension wird auf 50 ml aufgefüllt und 10 min bei 500 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Tube wird wieder mit 50 ml PBS aufgefüllt. Die Waschung wird dreimal wiederholt.

Die Zellen werden mit einer Neubauer-Zellzählkammer (Assistent, Sondheim, Deutschland) gezählt und durch die Tot-Lebendfärbung in ihrer Vitalität beurteilt. Hierfür werden 10 µl Trypanblau (Invitrogen, Carlsbad, USA) mit 10 µl Zellsuspension vermischt. Im Mikroskop werden die Zellen gezählt. Dunkelblau gefärbte Zellen gelten als tote Zellen. Der Farbstoff dringt durch die nicht intakte Zellwand in das Zellinnere ein. Weiße, nicht gefärbte Zellen gelten als lebend.

Die Zellkonzentration wurde mit der Formel berechnet:

$$\text{Mittelwert der 4 Großquadrate} \cdot \text{Verdünnungsfaktor} \cdot 10.000 = \text{Zellzahl/ml}$$

Pro Kryo-Tube (Almece, Stadt, Dänemark), welche in Stickstoff gelagert werden sollen, werden 10^6 Zellen/ml in einem Medium mit 70% DMEM HAM F12 (Sigma, St. Luis, USA), 20% FKS (Invitrogen, Carlsbad, USA) und 10% DMSO (Sigma, St. Luis, USA) suspensiert. Die Tubes werden mit der Einfrierhilfe Mr. Frosty (Nalgene, VWR, Ismaning, Deutschland) für 24 Stunden bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren und anschließend in flüssigem Stickstoff gelagert.

2.2.20. Mitogeninduzierte Lymphozytenproliferation

Verwendete Materialien:

- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM HAM F12, Sigma, St. Luis, USA)
- Fetales Kälberserum (FKS, Invitrogen, Carlsbad, USA)
- Pythämagglutinin L (PHA L, Biochrom, Berlin, Deutschland)
- Adenosine 5'-triphosphate (ATP) disodium salthydrat (Sigma, St. Luis, USA)
- CellTiter-Glo Substrat (Promega, Madison, USA)
- Multilable Counter (Victor 2, 1420 Multilabel Counter, Wallac, Perkin Elmer, Waltham, USA)

Es wurden 10.000 Lymphozyten in $100\text{ }\mu\text{l}$ pro Well in eine 96-Well-Platte (Lumiplatte) (Clear Plate, white 96-well, Greiner Bio-one, Kremsmünster, Österreich) pipettiert. Das Medium bestand aus DMEM HAM F12 mit 40 % FKS und $0,1\text{ ml}$ PHA-L/ 10 ml Medium. Es wurden Tripletproben angesetzt, als negative Kontrolle wurde das Medium aufgetragen. Als positive Probe wurde Medium mit ATP versetzt. Außerdem wurden 10.000 Lymphozyten ohne PHA-L gemessen. Die Zellen wurden 72 h bei 5 % CO_2 und $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubiert.

Die Anwendung von CellTiter-Glo (Promega, Madison, USA) wurde nach Herstelleranweisung durchgeführt. Durch das Substrat wird die Zellwand zerstört, wodurch ATP frei wird und sich mit Luziferin verbindet. Eine rekombinante Luziferase wandelt diese Verbindung in Oxyluziferin um (Abb. 12), das luminometrisch mit einem Multilable Counter (Victor 2, 1420 Multilabel Counter, Wallac, Perkin Elmer, Waltham, USA) erfasst wurde.

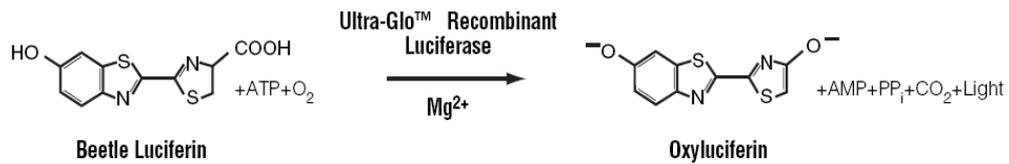


Abb. 13: Zeigt die Reaktion des Beetle Luziferin mit ATP der Zelle zu Oxyluciferin (Protokoll des Herstellers, Progenia, Medison, USA).

2.2.21. RNA Extraktion aus kryokonservierten Lymphozyten

Die Lymphozyten wurden in Flüssigstickstoff gelagert. Die Extraktion wurde mit Hilfe von RNeasy Kit XS (Qiagen, Hilden, Deutschland) durchgeführt. Da das Kit Carrier-RNA beinhaltet, konnte man keine photometrische Messung durch den NanoDrop (peQLab Biotechnologie GmbH, Wilmington, US) durchführen.

2.3. Mastleistungserfassung und Fleischqualität

Die Fett- und Muskeldicke in Millimeter wurde mit Hilfe des vor Ort vorhandenen Choiriometer ermittelt (Hennessy GP4-Sonde, Hennessy Grading Systems LTD, Auckland, Neuseeland). Nach den Richtlinien für die Mastleistung, den Schlachtkörperwert und die Fleischbeschaffenheit beim Schwein vom 08.11.2000 wurde der Muskelfleischanteil berechnet:

Der Fleischanteil (in Prozent) wird nach folgender Formel (Bonner Formel) berechnet, bei der die gemessenen Werte von einem vorgegebenen Wert (Basis) subtrahiert werden.

Mutterlinien (DE / DL) und Hybriden / Kreuzungen:

Basis 59,704

- 0,147 x Fettfläche, cm²
- 0,222 x Fleischfläche, cm²
- 1,744 x Rückenspeck, Lende, cm
- 1,175 x Rückenspeck, Mitte, cm
- 0,809 x Rückenspeck, Widerrist, cm
- 0,378 x Seitenspeckdicke, cm
- 1,801 x Speckmasse über Rückenmuskelfläche, cm

Vaterlinien (Pi):

Basis 56,848

- 0,161 x Ausschlagung, %
- 0,174 x Fettfläche, cm²
- 0,048 x Fleischfläche, cm²
- 1,240 x Rückenspeck, Mitte, cm
- 0,711 x Rückenspeck, Widerrist, cm
- 0,295 x Seitenspeckdicke, cm
- 1,330 x Speckmasse über Rückenmuskelfläche, cm

Bei der Fett- und Fleischfläche sind die unkorrigierten Maße zu verwenden (ZDS 2007).

Mit dieser Sonde wurden auch alle anderen Daten zur Erhebung der SEUROP-Klassifizierung erhoben.

Der pH-Wert wurde mit einer pH-Sonde gemessen, welche sowohl in den Musculus longissimus dorsi (MLD) als auch zwischen dem 13. und 14. Processus spinosus der Vertebrae thoracis vier Zentimeter tief eingesteckt wurde. Der zweite Messpunkt befand sich 2 -3 cm lateral des Os pelvis. Da die Temperatur in direktem Zusammenhang mit dem pH-Wert steht, wurde auch diese immer ermittelt. Die Zeitpunkte waren 45 min und 24 h nach Schlachtung (pH-Star, Matthäus, Pöttmes, Deutschland).

Die Leitfähigkeit in Milli-Sievert wurde zwischen dem 14. und 15. Processus spinosus der Brustwirbel in einer Tiefe von 6 cm ermittelt.

Das intramuskuläre Fett (IMF) und die Wasserhaltekapazität wurden in der Landesanstalt für Landwirtschaft, Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen, Zentrallabor Grub, Futtermittelanalytik und Qualität tierischer Produkte, Poing, Deutschland untersucht. Für die Messung wurde die Probe vermust und homogenisiert. Weiterhin wurde sie unter Erwärmung mit Salzsäure aufgeschlossen. Das so entstandene Liquid wurde gefiltert (Faltdfilter Nr. 597,5, Schleicher & Schüll, Dassel, Deutschland). Der Filtratrückstand wurde getrocknet und mittels Rückfluss von Petrolbenzin mindestens fünf Stunden extrahiert. Das Lösungsmittel wurde abzentrifugiert, der verbleibende Rückstand wurde bei 103 °C unter Atmosphärendruck getrocknet, später gekühlt und gewogen. Der Fettgehalt wurde dann mittels einer Formel errechnet.

$$\% \text{ Fett} = \frac{(\text{Rückwaage Gesamtgewicht} - \text{Kolbenleergewicht}) * 100}{\text{Proteineinwaage}}$$

Der Analysenspielraum zwischen Doppelbestimmungen beträgt 0,20 % (LMG).

Der Tropfsaftverlust wurde mit Hilfe einer Absorptionsspektrummessung in der infra-red-spectral region (NIRSystem 6500, Foss, Hamburg, Deutschland) gemessen.

Außerdem wurde noch die Fläche des Fettes dorsal des Musculus longissimus dorsi (MLD) und dessen Fleischfläche ermittelt. Ein planer vertikaler Schnitt wurde am hängenden Schlachtkörper zwischen den Wirbelfortsätzen des 13. und 14. Brustwirbels vorgenommen. Das Teilstück wurde mit Hilfe eines Statives und einem, hier nicht näher erläuterten, Raster abfotografiert. Das Raster fungiert als eine Art Skala, an der die jeweiligen Flächen ablesbar sind. Die Messung basierte auf Planimetrie.

2.4. Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mittels der statistischen Analyse unter Verwendung von REML in der MIXED Model Prozedur in SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) ausgewertet. Als wiederholende Variable gilt die Zeit, als Konstante gelten die Individuen (Ferkel). Das Signifikanzniveau liegt bei $p < 0,05$.

```
libname Ines "C:\Dokumente und Einstellungen\SIG\Desktop\heike\Ines";
```

```
procimport datafile="C:\Dokumente und Einstellungen\SIG\Desktop\heike\Ines\i\IL.csv"
out=ines.gout4;
dbms=csv;
replace;
getnames=yes;
run;
```

```
%macro heike (response=);
```

```
proc mixed data=ines.gout4;
class FERKEL RASSE ZEIT;
Model &response = RASSE ZEIT RASSE*ZEIT;
repeated ZEIT / subject=FERKEL;
lsmeans RASSE ZEIT RASSE*ZEIT/pdiff=all;
RUN;
ods rtf close;
```

```
%mend heike;
```

```
%heike (response=IL6);
```

IV. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden im Folgenden mit Hilfe von Säulendiagrammen dargestellt. Wenn Unterschiede im Text als signifikant bezeichnet werden, liegt ein p-Wert von $< 0,05$ zugrunde. In allen Balkendiagrammen wurde die Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) angegeben.

1. Immunglobulingehalt im Kolostrum, in der reifen Milch und im Serum der 14 Tage alten Ferkel

1.1. Immunglobulin G (IgG)

Der Immunglobulin G Gehalt im Kolostrum (Tag 0) und in der reifen Milch ist in Abb. 14 dargestellt. Man erkennt sehr deutlich, dass die Konzentration an IgG im zeitlichen Verlauf absinkt. Der IgG-Gehalt im Kolostrum ist bei beiden Rassen nahezu gleich. Am Tag 3 post partum (p.p.) ist bei Turopolje (T) ein leichter, aber nicht signifikanter Anstieg des Gehaltes zu erkennen, dennoch ist der Fehlerbalken sehr hoch. An diesem Tag ist ein signifikanter Unterschied zwischen der alten (Turopolje (T)) und der modernen Rasse (Deutsche Landrasse (DL)) zu erkennen. An Tag 7 und 10 sind keine signifikanten Unterschiede aufgetreten.

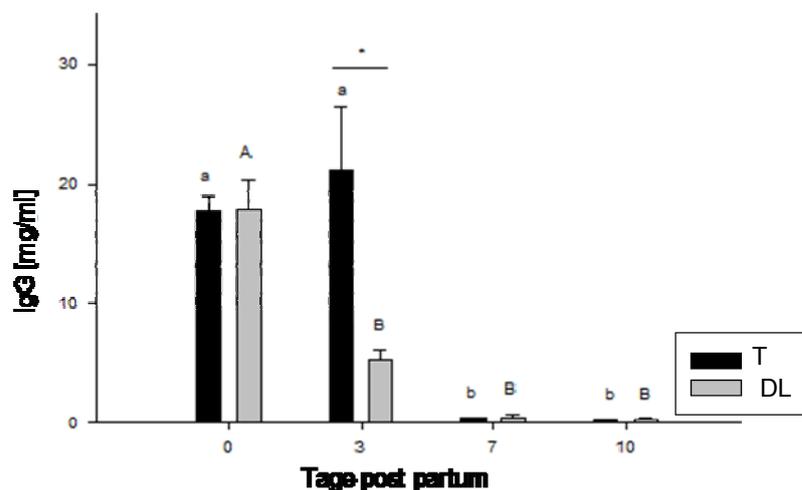


Abb. 14: Vergleich der IgG Konzentration in Kolostrum und reifer Milch 0, 3, 7 und 10 Tage post partum von Deutscher Landrasse und Turopolje-Sauen. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen in einer Rasse dar. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages sind mit einem Stern gekennzeichnet.

Der Gehalt an IgG des Kolostrums weist bei allen Sauen keine signifikanten Unterschiede auf. Allerdings fällt die IgG Konzentration im Serum der Ferkel bei einem Wurf (DL31) deutlich sichtbar ab, während er bei einem T Wurf (T278) deutlich höher ist.

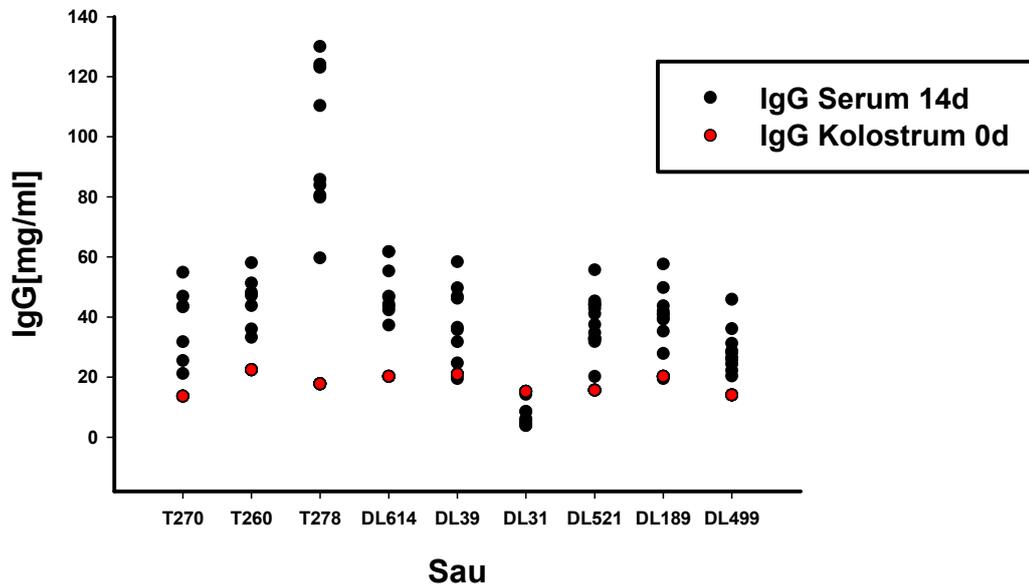


Abb. 15: IgG Konzentration im Serum der Ferkel am Tag 14 p.p. bezogen auf die IgG Konzentration des Kolostrums der Rassen Turopolje (T) und der Deutschen Landrasse (DL).

Das Serum der Ferkel am 14. Lebenstag zeigt in Abb. 16 einen signifikanten Unterschied zwischen der modernen und alten Rasse. Dennoch ist zu erkennen, dass weder das Geburtsgewicht, vor der ersten Aufnahme des Kolostrums, noch das Kolostrum selbst, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen zeigt.

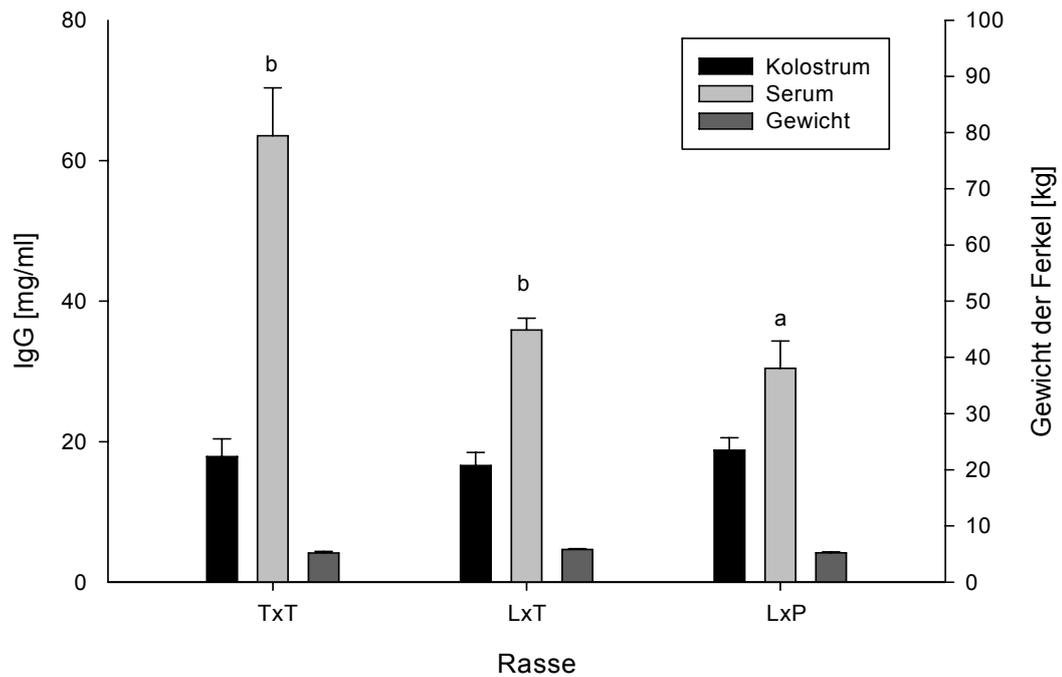


Abb. 16: Korrelation der IgG Konzentration im Serum der Ferkel bezogen auf die IgG Konzentration des Kolostrums und des Gewichtes der Ferkel im Vergleich zwischen den Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und der Deutschen Landrasse x Pietrain (LxP). Verschiedene Buchstaben geben signifikanten Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen an.

1.2. Immunglobulin M (IgM)

Die Konzentration wurde im Kolostrum und in der reifen Milch der Sauen gemessen. Hier sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Rassen zu verzeichnen (Daten nicht gezeigt).

Es sind keine signifikanten Differenzen zwischen den Rassen im Serum der 14 Tage alten Ferkel zu erkennen. Tendenziell weisen die Tiere der Rasse Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) eine leicht höhere Konzentration an IgM auf (Daten nicht gezeigt).

2. Immunreaktion der mit PRRSV MLV geimpften Tiere

Die verschiedenen Rassen wurden mit einem attenuierten Lebendimpfstoff (PRRS MLV) in der siebten Lebenswoche vakziniert. Im Folgenden wurden Fragmente des PRRS MLV im Serum, in den Tonsillen und im Lymphonodus tracheobronchiale nachgewiesen.

2.1. PRRS MLV-Fragment-Nachweis im Serum

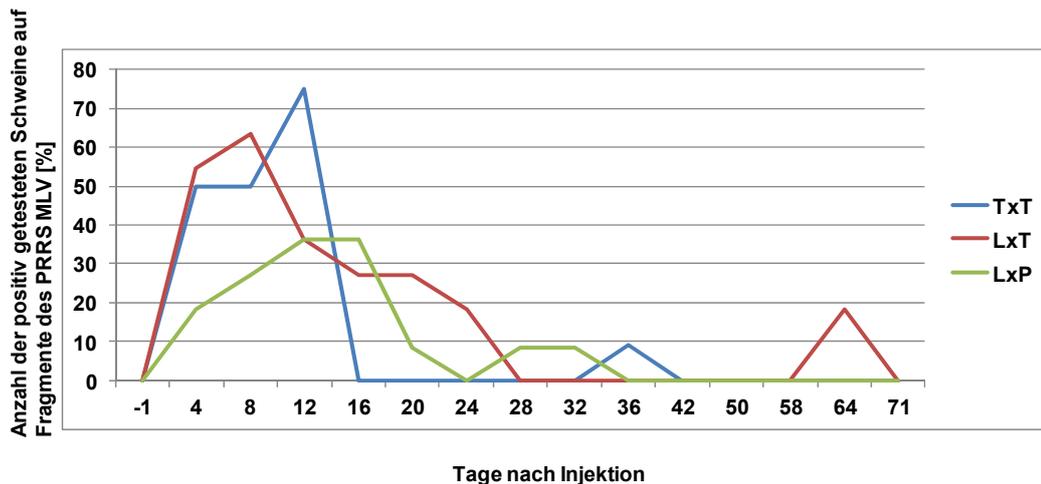


Abb. 17: Vergleich der Anzahl der positiv getesteten Schweine auf Fragmente des PRRS MLV im Serum zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Turopolje x Deutsche Landrasse (LxT) und Hybridschwein (LxP).

In Abb. 17 ist deutlich sichtbar, dass zwischen Tag 4 und 12 im Serum der meisten Schweine der verschiedenen Rassen Fragmente des PRRS MLV nachgewiesen werden konnten. Wobei sowohl TxT als auch LxT einen sehr deutlichen Anstieg bis Tag 8 (LxT) beziehungsweise Tag 12 (TxT) nach Injektion zeigen. Die beiden Rassen weisen einen sehr steilen Anstieg zwischen Tag -1 und 4 post infectionem (p.i.) auf. TxT eliminiert die Fragmente des Virus im Serum in vier Tagen. Im Gegensatz dazu eliminieren die Tiere der Rasse LxT bis Tag 28 p.i. das Virus. Bei der modernen Rasse (LxP) zeigen nur 35 % der Schweine Fragmente des Virus zwischen Tag 12 und 16 p.i. im Serum, weiterhin ist auch der schwache Peak zeitlich zu den beiden anderen Rassen verzögert.

2.2. PRRS MLV-Fragment-Nachweis im Gewebe und Leukozyten

Alle Tiere wurden in der 13. Woche p.i. (20.LW) geschlachtet, dabei wurden Tonsillen und Lnn. tracheobronchiales entnommen. Des Weiteren wurde an den Tagen 4, 20, 42, 56 und 71 p.i. Leukozyten gewonnen und auf Fragmente des PRRS MLV untersucht. Weder in Lnn. tracheobronchiales noch zu den verschiedenen Zeitpunkten der Gewinnung der Leukozyten wurden Fragmente nachgewiesen (Daten nicht gezeigt). In den Tonsillen wird deutlich, dass keine signifikanten Differenzen bestehen. Es ist zu erkennen, dass bei LxP bei 26 % der Schweine Fragmente des PRRS MLV nachgewiesen werden konnten. Es folgt die Rasse LxT mit 16 % und TxT mit 9 % positivem Nachweis.

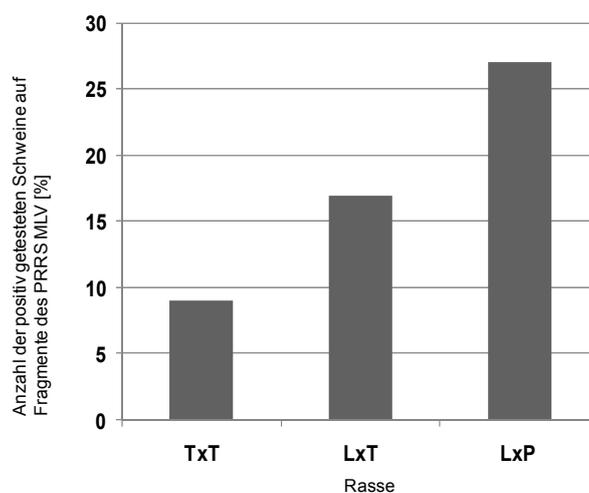


Abb. 18: Vergleich der Konzentration der Fragmente des PRRS MLV in den Tonsillen der 20. Lebenswoche nach Infektion zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Turopolje x Deutsche Landrasse (LxT) und Hybridschwein (LxP).

2.3. Antikörpernachweis im Serum

Im Antikörpernachweis (Ak) an Tag 16 und 32 gelten alle Proben als positiv, die ein, von IDEXX HerdChekk PRRSV X3 festgelegtes, Konzentrationslevel übersteigen. Dieser Level ist in Abb. 19 mit einer blauen Geraden gekennzeichnet. Es ist eine Beziehung zwischen der Konzentration der Antikörper und dem Nachweis der Virusfragmente zu erkennen. So haben LxP am Tag 32 p.i. eine signifikant höherer Ak Level im Vergleich zu TxT, genauso wie an Tag 16 p.i.. Virusfragmente wurden bei LxP sowohl am Tag 16 als auch am Tag 32 p.i. im Serum nachgewiesen. An Tag 32 p.i. konnte man bei TxT und LxT keine Fragmente finden. Obwohl die Rasse TxT den höchsten Prozentsatz an positiven Schweinen aufwies, steigen die Ak von Tag 16 zu Tag 32 p.i. nicht signifikant an. Sie sind außerdem signifikant niedriger als bei LxT und LxP. Auch die Antikörper der Rasse LxT steigen nur tendenziell im zeitlichen Verlauf an.

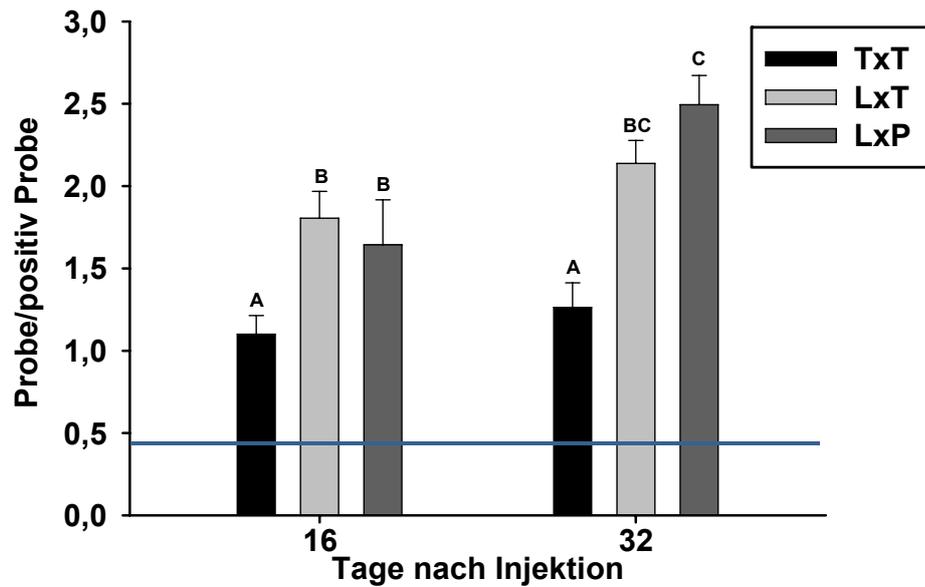


Abb. 19: Vergleich der spezifischen Antikörperkonzentration (Ak) im Serum gegen Fragmente des attenuierten PRRS MLV an Tag 16 und 32 nach Injektion zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Rassen und Tagen dar.

2.4. Messung der Gesamtimmunglobulinkonzentration

Die Messungen der Isotypen Immunglobulin (Ig) M und G dienen zur Untersuchung der rassebedingten Unterschiede, nicht der Darstellung der immunologischen Reaktion auf die Immunisierung mit PRRS MLV.

Immunglobulin M

Es ist deutlich zu erkennen, dass sich der Level der IgM zwischen den Rassen bis zum 20 Tag p.i. einpendelt und darauf hin keine deutlichen Schwankungen mehr erkennbar sind. Hier weist LxT die höchste Konzentration auf.

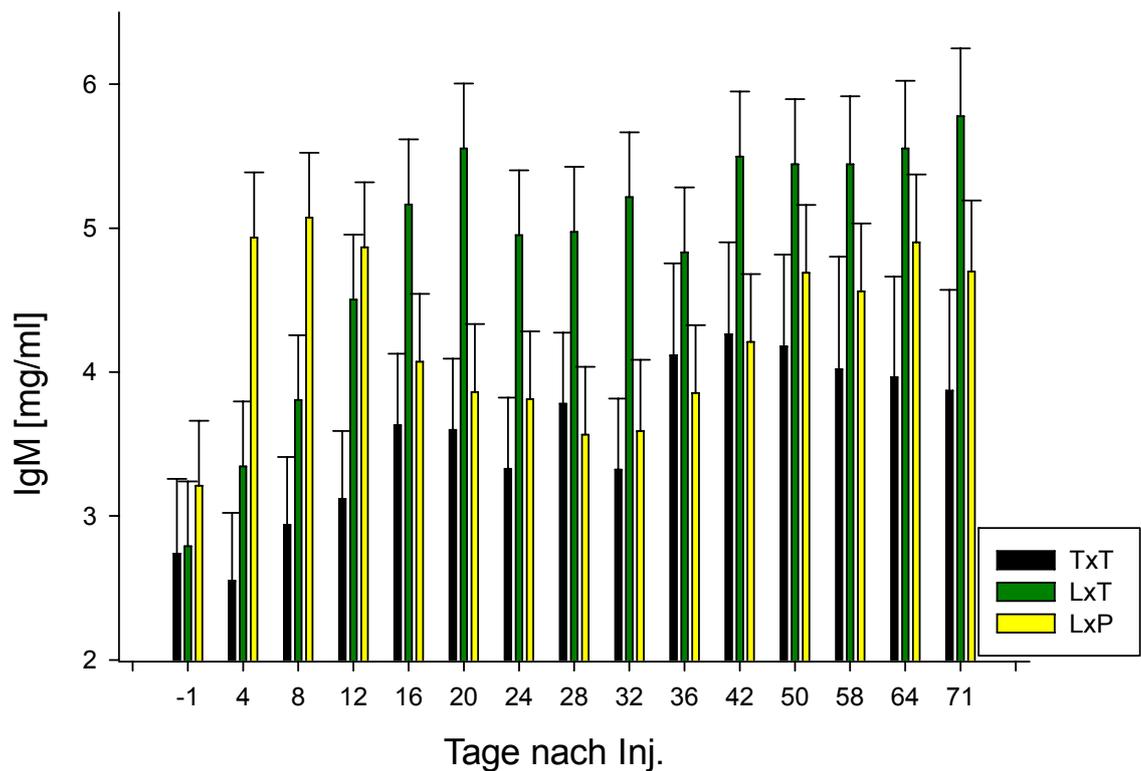


Abb. 20 a)

Tag p. i.	Signifikante Unterschiede zwischen den F1- Generationen (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001)		
	TxT vs. LxT	TxT vs. LxP	LxT vs. LxP
-1			
4		**	*
8		**	
12	*	**	
16	*		
20	**		**
24	*		
28			*
32	**		*
36			
42			*
50			
58			
64			
71	*		

b)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für TxT															
(Signifikanzniveau: * < 0,05, **< 0,01, ***<0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1									*	*	*	*		*	*
4									*		*	*		*	*
8									*	*	*	*		*	*
12														*	
16															
20															
24															
28															
32	*	*	*												
36	*		*												
42	*	*	*												
50	*	*	*												
58															
64	*	*	*	*											
71	*	*	*												

c)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für LxT (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1						**	***	***	***	***	***	***	***	***	***
4						*	*	***	***	***	***	***	***	***	***
8						*	*	**	***	***	***	***	***	***	***
12								**	**	***	***	***	***	***	***
16								*	**	***	***	***	***	***	**
20	**	*	*							**	***	**	*	**	
24	***	*	*							*	***	**	*	**	
28	***	***	**	**	*						**	*			
32	***	***	***	**	**						**				
36	***	***	***	***	***	**	*								
42	***	***	***	***	***	***	***	**	**						
50	***	***	***	***	***	**	**	*							
58	***	***	***	***	***	*	*								
64	***	***	***	***	***	**	**								
71	***	***	***	***	**										

d)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für LxP (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1				*		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
4						**	**	***	***	***	***	***	***	***	***
8						*	*	***	***	**	***	***	***	***	***
12	*							**	*	*	**	***	***	***	**
16								**	**	*	***	***	***	***	***
20	***	**	*								*	*	*	**	*
24	***	**	*								*	*	*	**	
28	***	***	***	**	**										
32	***	***	***	*	**										
36	***	***	**	*	*									*	
42	***	***	***	**	***	*	*								
50	***	***	***	***	***	*	*								
58	***	***	***	***	***	*	*								
64	***	***	***	***	***	**	**			*					
71	***	***	***	**	***	*									

e)

Abb. 20 a-e): Vergleich der Konzentration von Immunglobulin M (IgM) im Serum nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). In den Abbildungen b-e stellen Sterne signifikante Unterschiede (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages (b) bzw. zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse (c-e) dar.

Immunglobulin G

TxT hat an allen Tagen im Vergleich zu den anderen Rassen eine deutliche teils signifikant geringere Konzentration an IgG. Ab dem 28. Tag p.i. ist eine Plateauphase erreicht. LxT erreicht die Plateauphase nach dem 43. Tag p.inj. Im gesamten Verlauf liegt die Konzentration bei LxT zwischen TxT und LxP, mit Ausnahme der Tage 36 und 43 p.i.. LxP weist die höchste Konzentration an IgG auf, wobei eine Plateauphase ab Tag 28 p.i. zu erkennen ist.

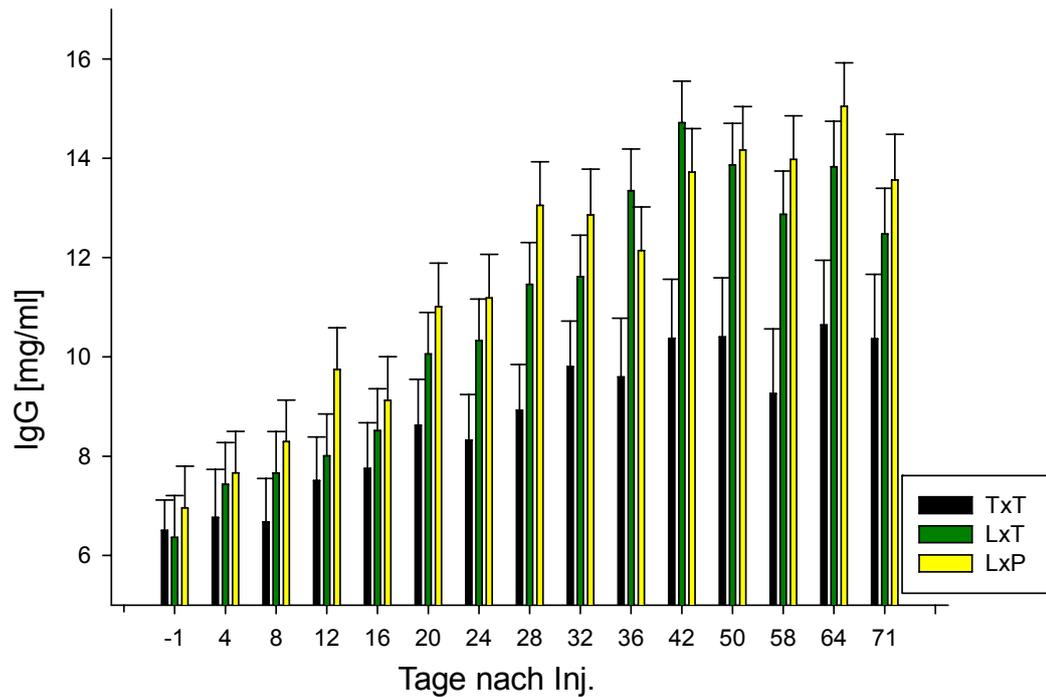


Abb.21 a)

Tag p.i.	Signifikante Unterschiede zwischen den Rassen (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, ***<0,001)		
	TxT vs. LxT	TxT vs. LxP	LxT vs. LxP
-1			
4			
8			
12			
16			
20			
24		*	
28	*	**	
32		*	
36	*		
42	**	*	
50	*	*	
58	*	**	
64	*	**	
71		*	

b)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für TxT															
(Signifikanzniveau: * < 0,05, **< 0,01, ***<0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1	■														
4		■								*	*	*			
8			■												
12				■											
16					■										
20						■									
24							■								
28								■							
32									■						
36			*							■					
42			*								■				
50			*									■			
58													■		
64														■	
71															■

c)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für LxT (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1				**	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***	***
4					**	***	*	*	**	*	***	**	**	***	***
8					*	**			*		**	*	*	**	**
12	**														
16	***	**	*												
20	***		**												
24	***	*													
28	***	*													
32	***	**	*												
36	**	*													
42	***	***	**												
50	***	**	*												
58	***	**	*												
64	***	***	**												
71	***	***	**												

d)

Signifikante Effekte zwischen den verschiedenen Tagen p.i. für LxP (Signifikanzniveau: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001)															
Tag p.i.	-1	4	8	12	16	20	24	28	32	36	42	50	58	64	71
-1		**	**	*								*	*	**	*
4	**							*	*						
8	**							*	*						
12	*														
16															
20															
24															
28														*	
32		*	*												
36		*	*												
42															
50	*														
58	*														
64	**							*							
71	*														

e)

Abb. 21 a-e: Vergleich der Konzentration von Immunglobulin G (IgG) im Serum nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). In den Abbildungen b-e stellen Sterne signifikante Unterschiede (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages (b) bzw. zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse (c-e) dar.

2.5. Lymphozytenanzahl

An den Tagen 8 und 12 p.i. sowie an 24, 28, und 32 p.i. ist eine signifikante Erhöhung der Konzentration der Lymphozyten der TxT sowohl im Vergleich zum Basalwert als auch zu den anderen Rassen erkennbar. Die höhere Konzentration tritt an denselben Tagen auf an denen auch bei den meisten Schweinen der Rasse TxT Fragmente des Virus gefunden wurden.

Die anderen Rassen haben eine Konzentrationsverminderung zwischen Tag 12 und 32 p.i..

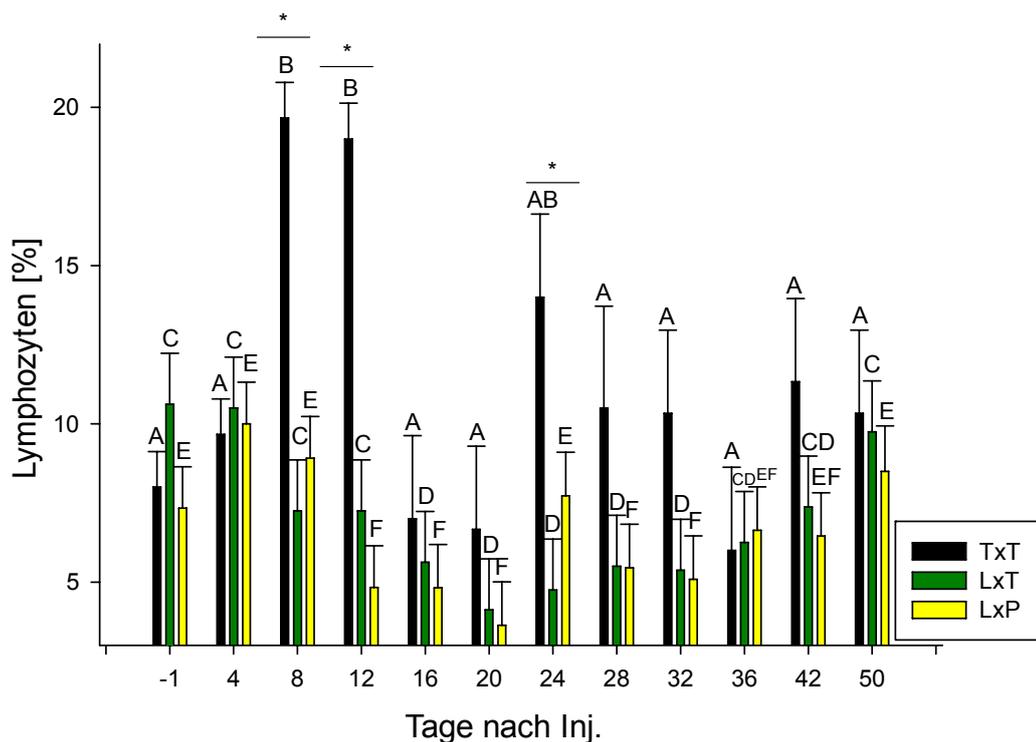


Abb. 22: Vergleich des prozentualen Anteils der Lymphozyten an der Gesamtleukozytenzahl nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tage innerhalb einer Rasse da. Der Stern kennzeichnet signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages.

2.6. Monozytenanzahl

Es wurden keine signifikanten Unterschiede, weder im zeitlichen Verlauf einer Rasse noch an einem Zeitpunkt zwischen den Rassen festgestellt.

2.7. Analyse der Expression von Genen des TLR-Signalweges

Die Ergebnisse des TLR-Signalweges wurden mit Hilfe der Genexpression durch qRT-PCR ermittelt. Die Ergebnisse werden im Folgenden mit Hilfe von Säulendiagrammen dargestellt. Wenn Unterschiede im Text als signifikant bezeichnet werden, liegt ein p-Wert von $p < 0,05$ zugrunde. In allen Balkendiagrammen wurde die Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) angegeben.

Die Housekeeping Gene wiesen keine Regulation im zeitlichen Verlauf auf.

2.7.1. Rezeptoren für PRRSV

Cluster of Differentiation (CD163)

Das PRRS Virus ist ein positives Einzelstrang-RNA Virus und wird durch den Rezeptor CD163 vermutlich in das Zytoplasma der Makrophagen aufgenommen. In der Abbildung 23 wird deutlich, dass am Tag 20 p.i. eine signifikante Abregulierung bei TxT im Vergleich zu den anderen Tagen gezeigt wird. LxT und LxP zeigen über den gesamten Zeitraum keine signifikanten Unterschiede. Auch gibt es keine Signifikanzen zwischen den einzelnen Rassen.

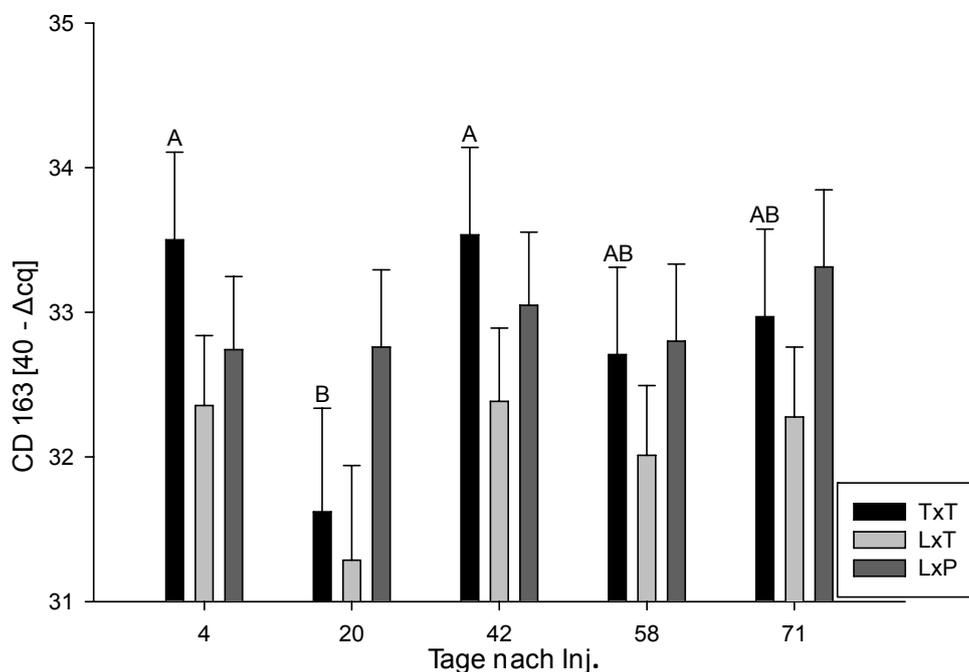


Abb. 23: Vergleich der Genexpression des Rezeptors CD163 in Leukozyten nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar.

Sialoadhesin (SIGLEC1)

SIGLEC1 ist ein weiterer Rezeptor, der für das Eindringen des PRRS Virus eine Rolle spielt. Es wird deutlich, dass sowohl bei LxT als auch bei TxT die Genexpression am Tag 4 p.i. im Vergleich zu den anderen Tagen signifikant höher ist. Die Expression am Tag 20 p.i. ist tendenziell geringer als an den drei folgenden Zeitpunkten. LxT haben einen ähnlichen Verlauf wie die anderen Rassen, dennoch ist die Expression am Tag 20 p.i. signifikant geringer im Vergleich zu TxT und LxP.

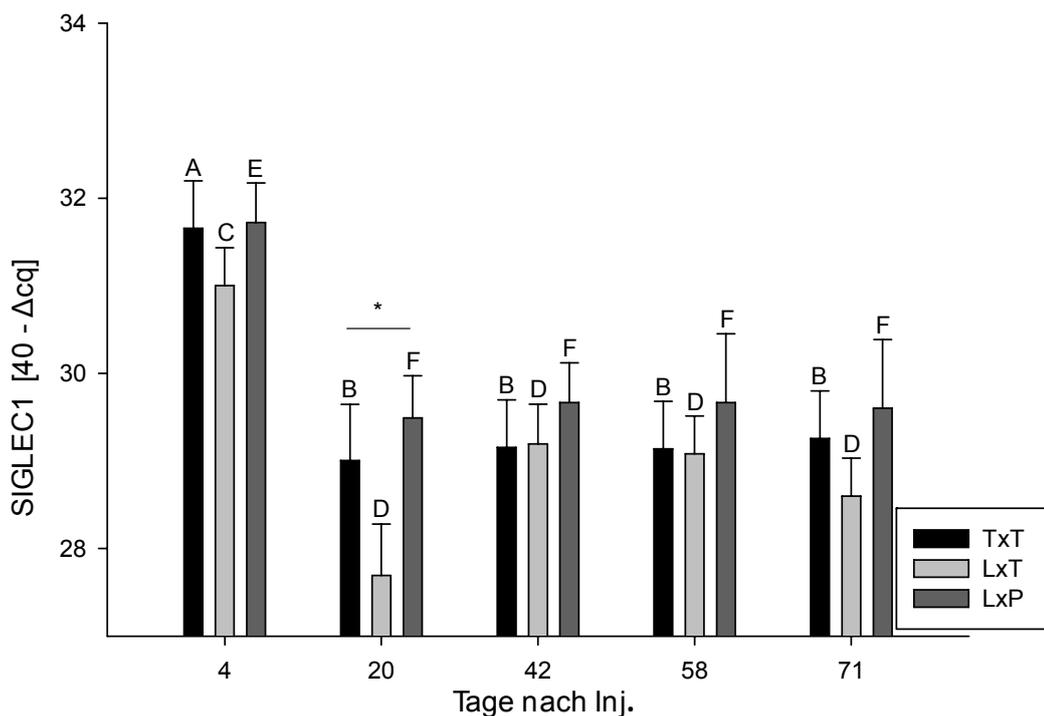


Abb. 24: Vergleich der Genexpression des Rezeptors SIGLEC1 in Leukozyten nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

Myxovirus Resistance Protein 1 (Mx1)

Bei allen Rassen liegt ein kontinuierlicher Abwärtstrend im zeitlichen Verlauf vor. Dieser Unterschied ist signifikant bei TxT zwischen Tag 4 und Tag 71 p.i.. Mx1 wird am geringsten von LxT expremiert, wobei die Expression an Tag 20 und 71 p.i. signifikant niedriger zu Tag 4 p.i. ist. Außerdem ist an Tag 20 und 71 p.i. ein signifikanter Unterschied zwischen LxT und LxP zu erkennen. LxP weist keine signifikanten Unterschiede während des zeitlichen Verlaufes auf.

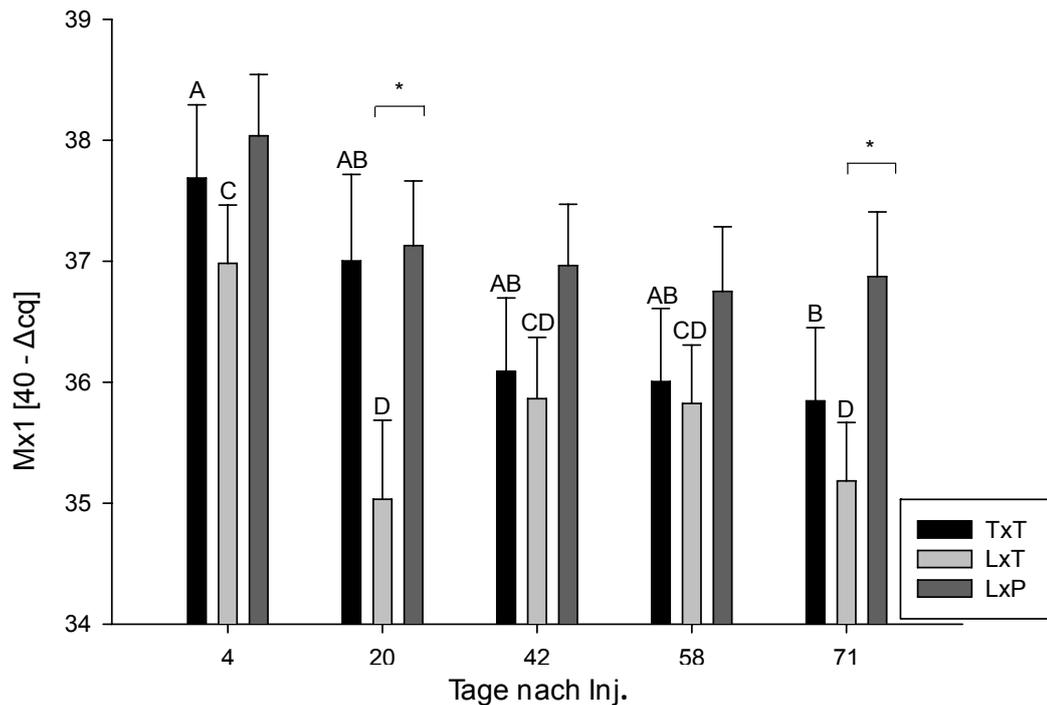


Abb. 25: Vergleich der Genexpression des Rezeptors Mx1 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

CXC-Motiv-Chemokin 12 (CXCL12)

Es sind keine signifikanten Differenzen in der Genexpression von CXCL12 bei allen Rassen zu erkennen. Dies ist zurückzuführen auf die hohen Standardabweichungen.

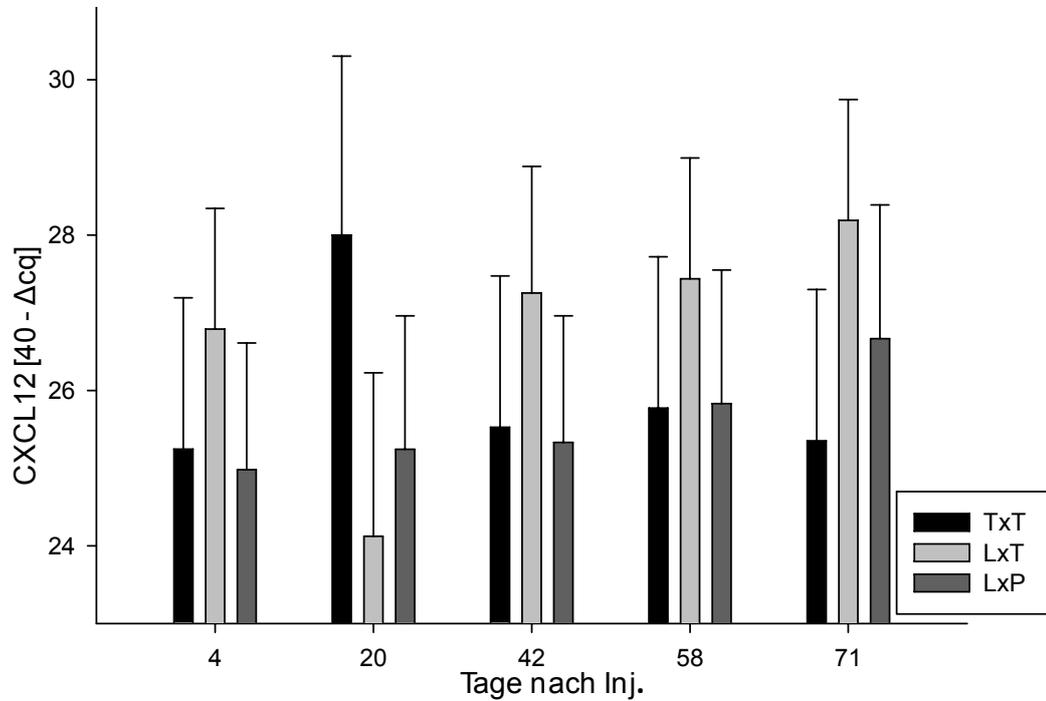


Abb. 26: Vergleich der Genexpression von CXCL12 in Leukozyten nach Immunsierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP).

2.7.2. Toll-Like-Rezeptor-Signalweg

Toll-Like-Rezeptor 7 (TLR7)

Der TLR7 ist in LxT am stärksten an Tag 4 p.i. expremiert, am geringsten am Tag 20 p.i.. Bei allen Rassen gibt es keine sichtbaren Unterschiede innerhalb der Genexpression an den verschiedenen Zeitpunkten. An Tag 20 p.i. sind sowohl TxT als auch LxP signifikant höher expremiert als LxT.

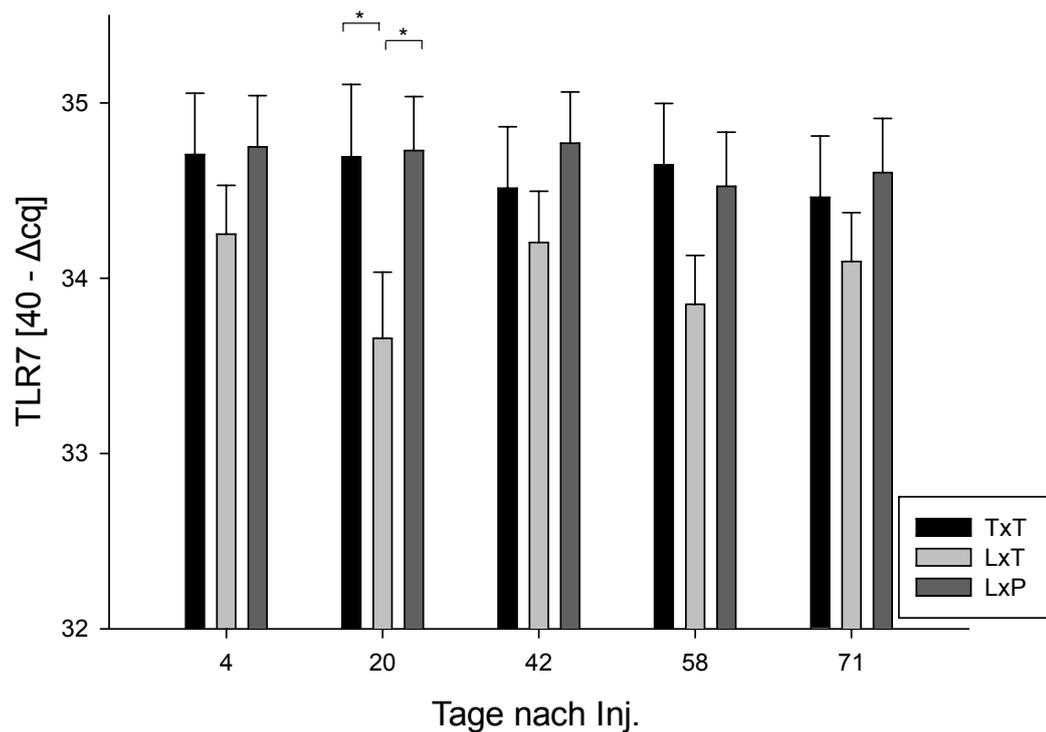


Abb. 27: Vergleich der Genexpression des Rezeptors TLR 7 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Toll-Like-Rezeptors 8 (TLR8)

Die Genexpression des TLR8 ist in allen Rassen im Mittel niedriger expremiert als TLR7. Dennoch sieht man bei TLR8 deutliche Regulationsmechanismen. So zeigt die Expressionsmessung, dass der Rezeptor bei TxT und LxP im zeitlichen Verlauf höher expremiert ist als bei LxT. Die Expression bei LxT ist an den Tagen 20 und 42 p.i. signifikant niedriger expremiert als bei den beiden anderen Rassen. TxT und LxP zeigen keine signifikanten Unterschiede im genannten Zeitraum.

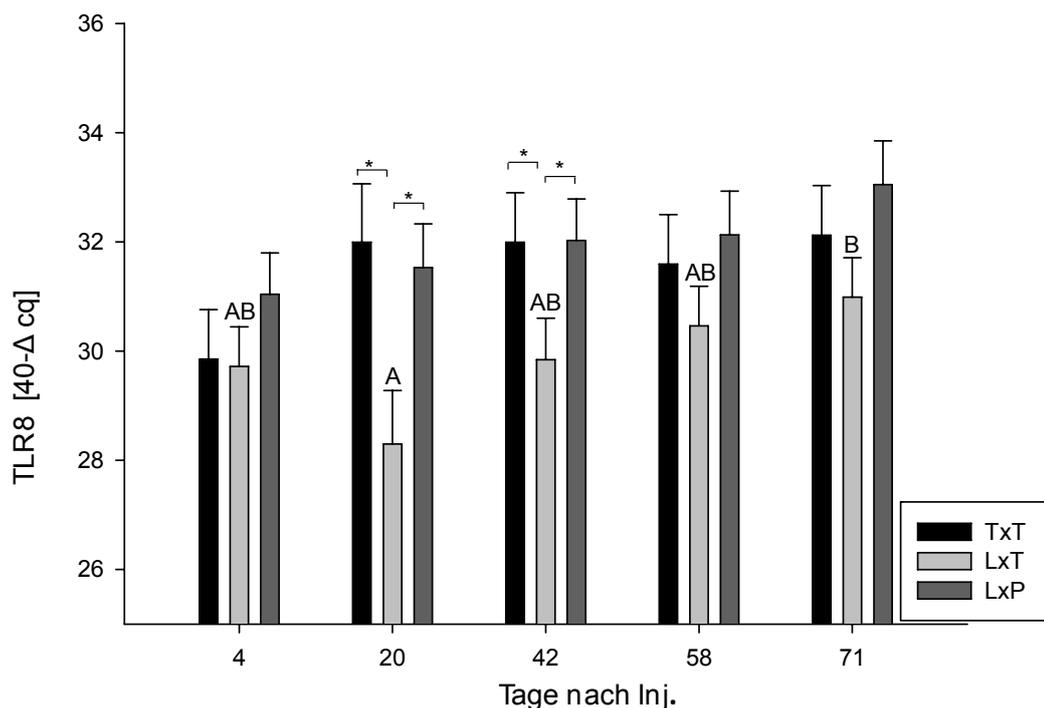


Abb. 28: Vergleich der Genexpression des Rezeptors TLR 8 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Myeloid Differentiation Primary Response 88 (MyD88)

Die Expression bei TxT an Tag 20 p.i. ist signifikant niedriger als die anderen Werte. LxP und LxT haben keine signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf. Im Vergleich zwischen den Rassen exprimiert LxP an Tag 20 p.i. signifikant höher als die anderen Rassen.

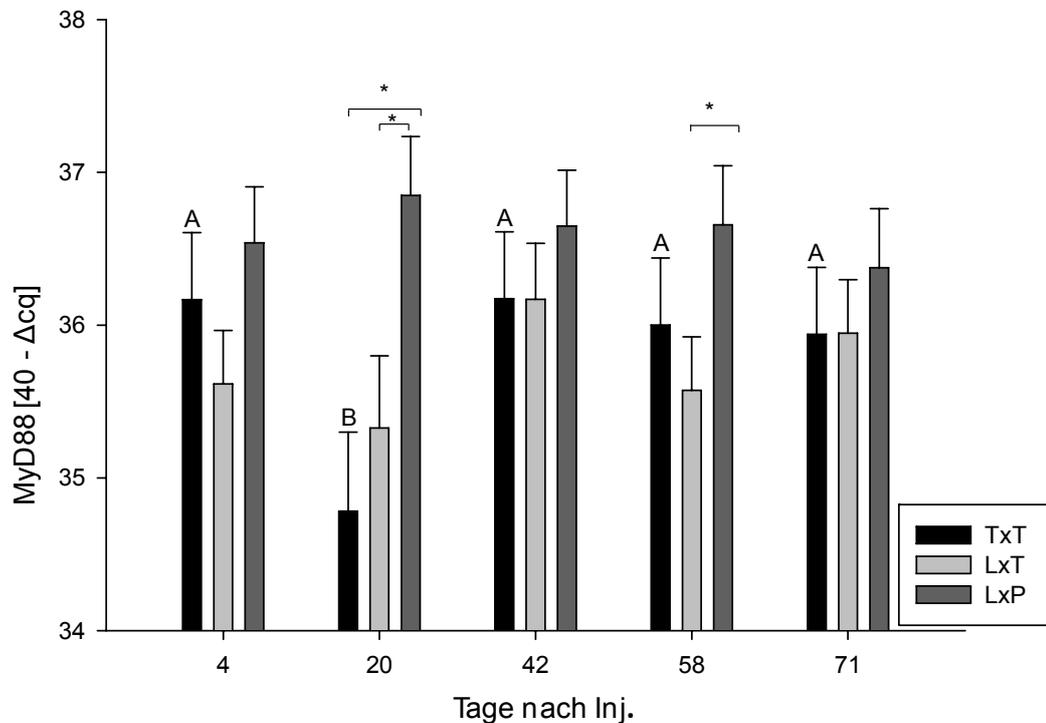


Abb. 29: Vergleich der Genexpression des Proteins Myd88 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Tumor necrosis factor receptor associated factors 6 (TRAF6)

TxT zeigt im zeitlichen Verlauf eine signifikante Aufregulierung der Expression an Tag 20 p.i.. Die beiden anderen Rassen weisen keine signifikanten Unterschiede auf. Am Tag 4 p.i. ist die Expression bei LxP signifikant aufreguliert im Gegensatz zu den anderen Rassen. TxT exprimiert das Gen signifikant höher im Vergleich zu LxT und LxP an Tag 20 p.i..

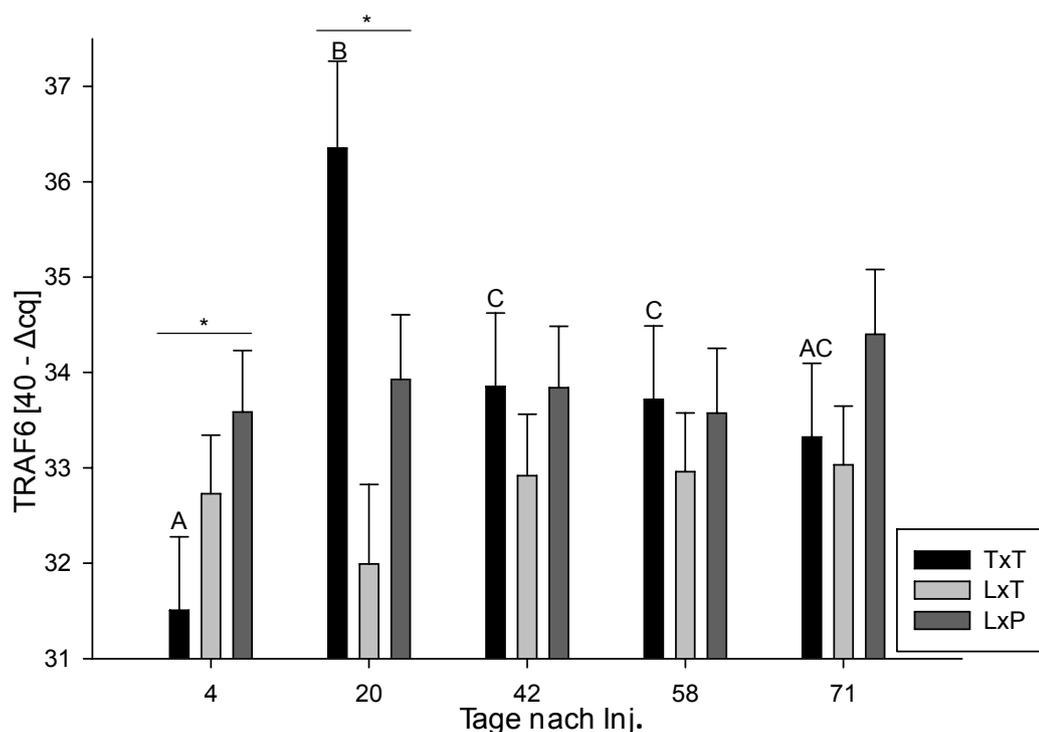


Abb. 30: Vergleich der Genexpression von TRAF6 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

2.7.3. Zytokine

Interleukin 1 α (IL1 α)

TxT zeigt einen signifikanten Anstieg ab Tag 20 p.i., welcher bis zum Ende des Probezeitraumes bestehen bleibt. Im zeitlichen Verlauf betrachtet sind LxT und LxP nicht signifikant reguliert. Die Regulation von IL1 α der Rasse LxT liegt an Tag 4 p.i. signifikant über TxT.

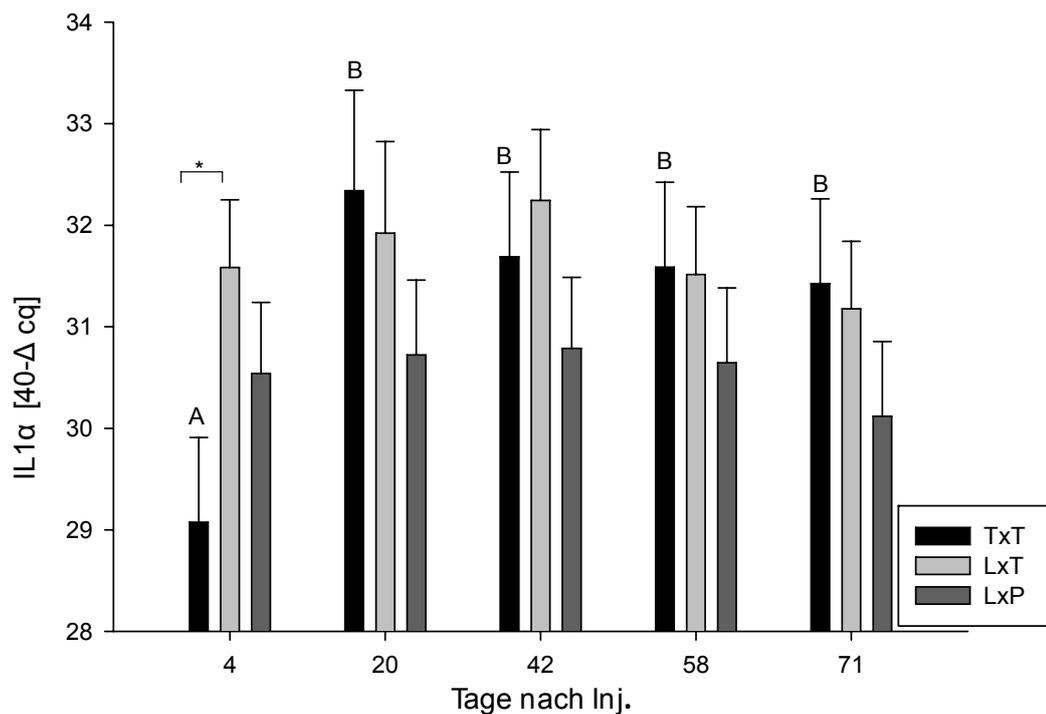


Abb. 31: Vergleich der Genexpression des von IL1 α in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Interleukin 1 β (IL1 β)

Bei LxT ist IL1 β an Tag 20 p.i. signifikant herabreguliert, bei LxP ist das Gen an den Tagen 58 und 71 p.i. signifikant hochreguliert im Vergleich zu den anderen Tagen. Die Expression ist bei TxT im zeitlichen Verlauf nicht signifikant verändert. Alle Rassen sind an Tag 20 p.i. zueinander signifikant unterschiedlich. An Tag 71 p.i. ist die Expression bei LxP höher als bei TxT.

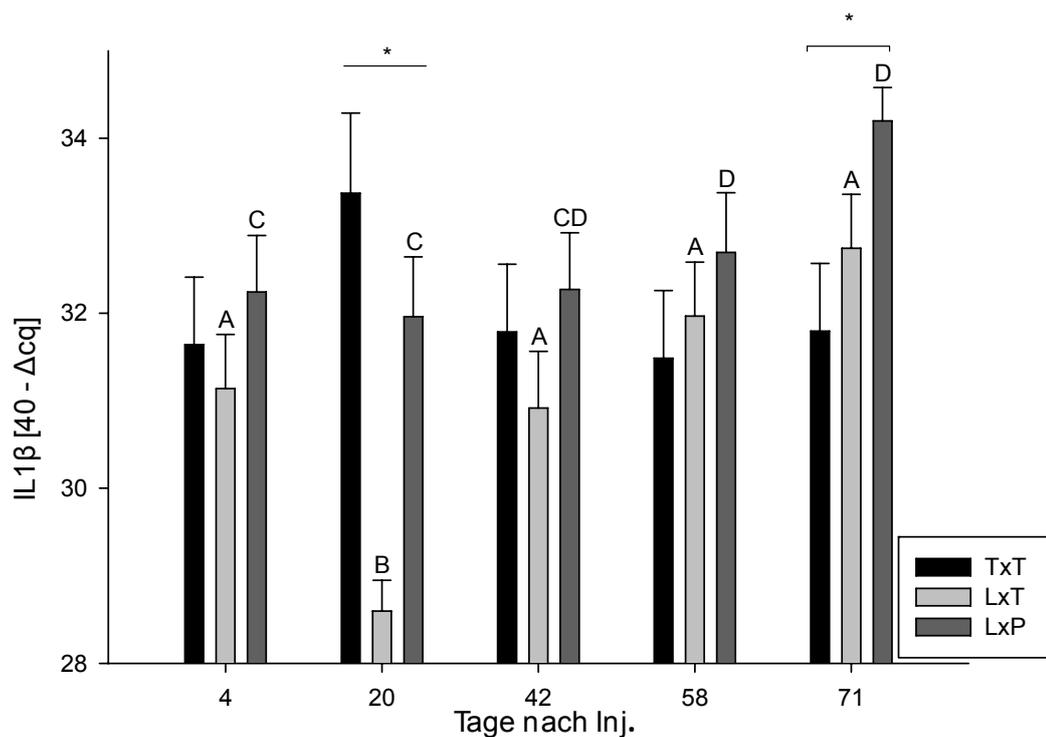


Abb. 32: Vergleich der Genexpression von IL1 β in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Interleukin 2 (IL2)

Bei TxT steigt die Genexpression an Tag 20 p.i. im Vergleich zu den anderen Zeitpunkten signifikant an. LxT und LxP sind im zeitlichen Verlauf nicht signifikant reguliert. An Tag 20. p.i. zeigt TxT eine signifikante Aufregulierung im Vergleich zu den beiden anderen Rassen. An Tag 42 und 71 p.i. weist TxT eine signifikant niedrigere Expression auf als LxP.

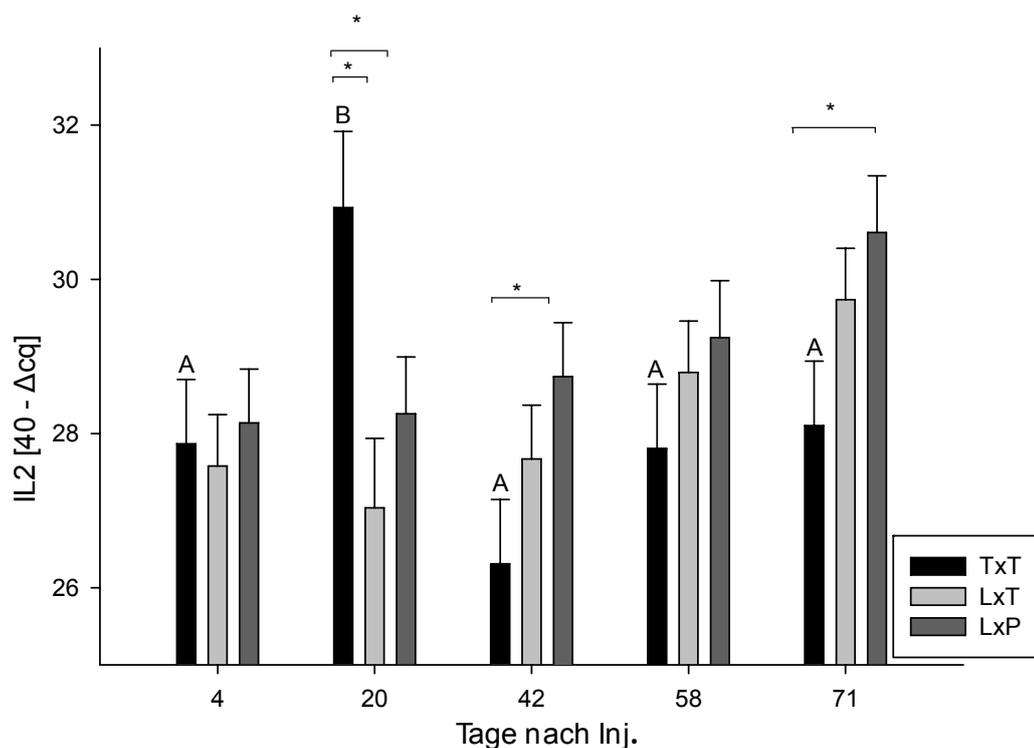


Abb. 33: Vergleich der Genexpression von IL2 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Interleukin 6 (IL6)

Sowohl LxT als auch LxP zeigen eine signifikante Erhöhung der Expression von IL6 ab dem Tag 71 p.i.. TxT ist im zeitlichen Verlauf nicht signifikant reguliert. Innerhalb der Rassen gibt es am Tag 71 p.i. einen signifikanten Unterschied.

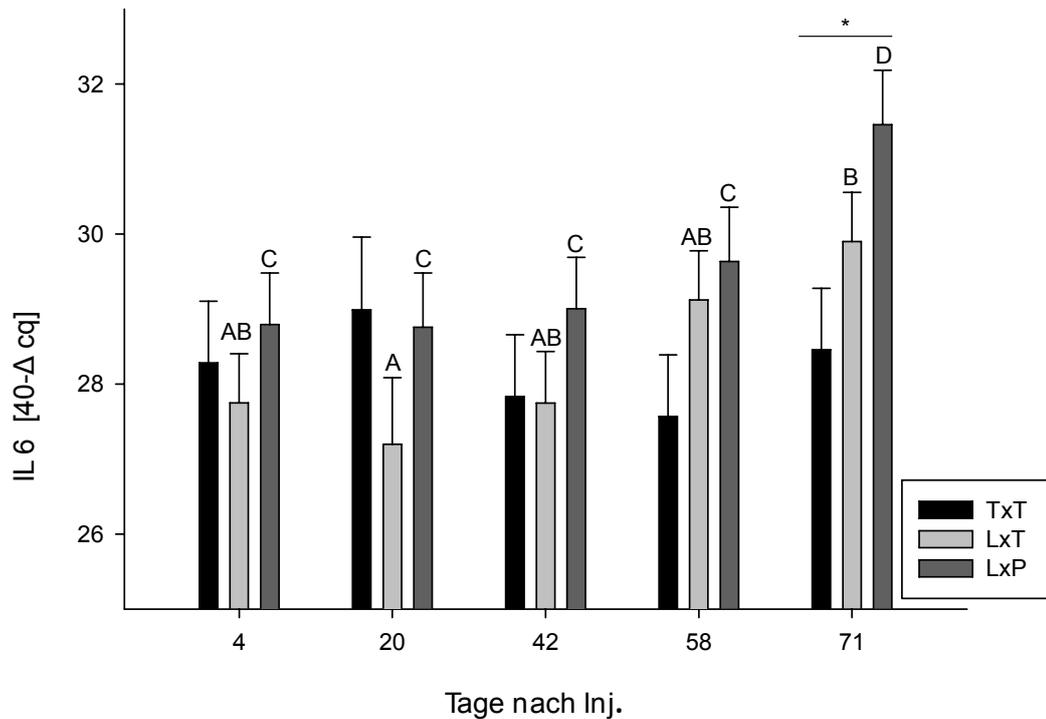


Abb. 34: Vergleich der Genexpression von IL6 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 8 (IL8)

Innerhalb aller Rassen zeigen sich zwischen den verschiedenen Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede. An Tag 20 und 42 p.i. ist LxT signifikant niedriger reguliert als TxT und LxP.

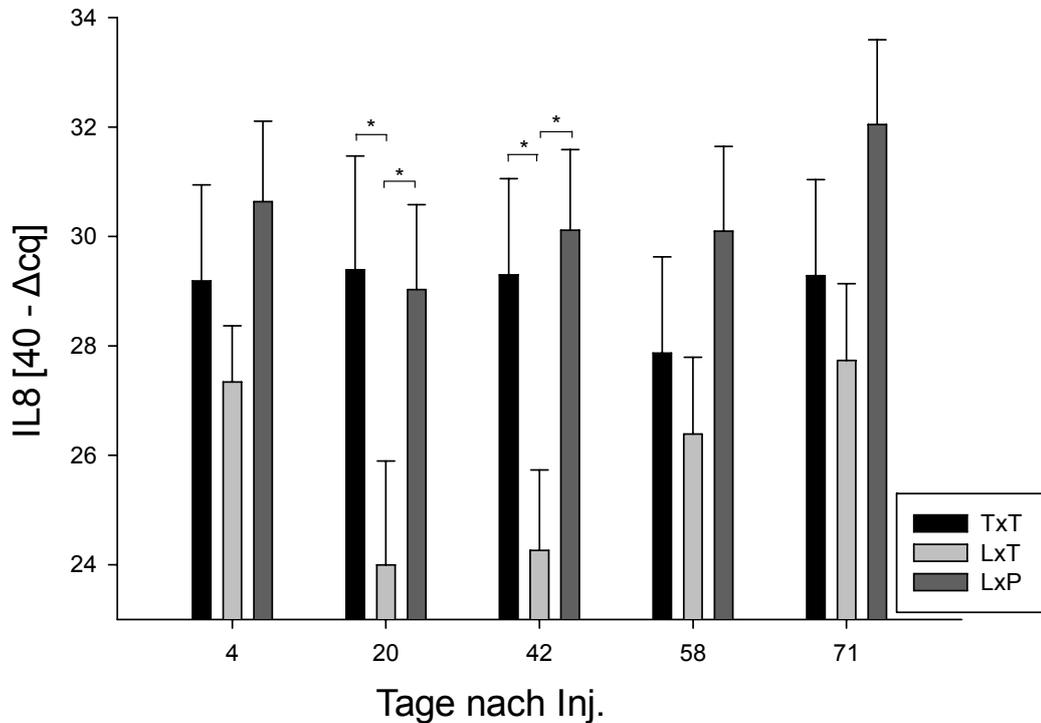


Abb. 35: Vergleich der Genexpression von IL8 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Interleukin 10 (IL10)

Im zeitlichen Verlauf ist LxT an Tag 4 p.i. signifikant aufreguliert. LxP ist an Tag 4 p.i. signifikant auf- und am Tag 58 p.i. herabreguliert. TxT zeigt keine signifikante Regulation. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen.

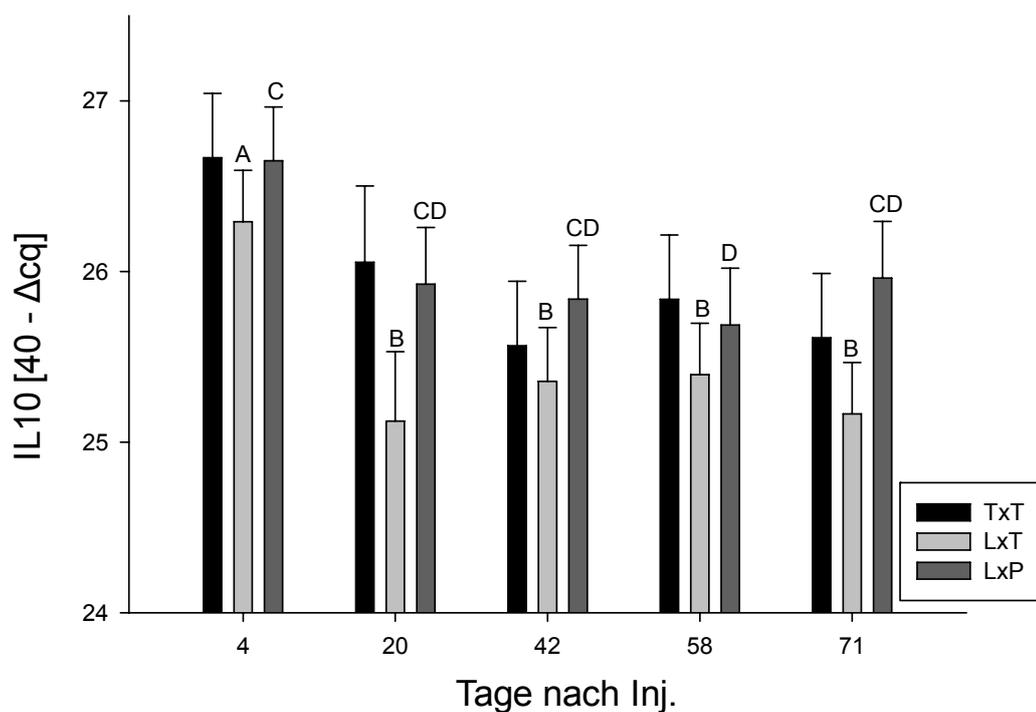


Abb. 36: Vergleich der Genexpression von IL10 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar.

Interleukin 12 (IL12)

Im zeitlichen Verlauf weist die Expression von IL12 in keiner Rasse signifikante Unterschiede auf. Die Regulierung des Genes ist bei LxT im Vergleich zu den anderen Rassen am niedrigsten exprimiert. Am Tag 20 p.i. zeigt LxT eine signifikant geringere Expression als die beiden anderen Rassen. Am Tag 71 p.i. zeigen LxP im Vergleich zu LxT eine signifikante höhere Expression des Genes auf.

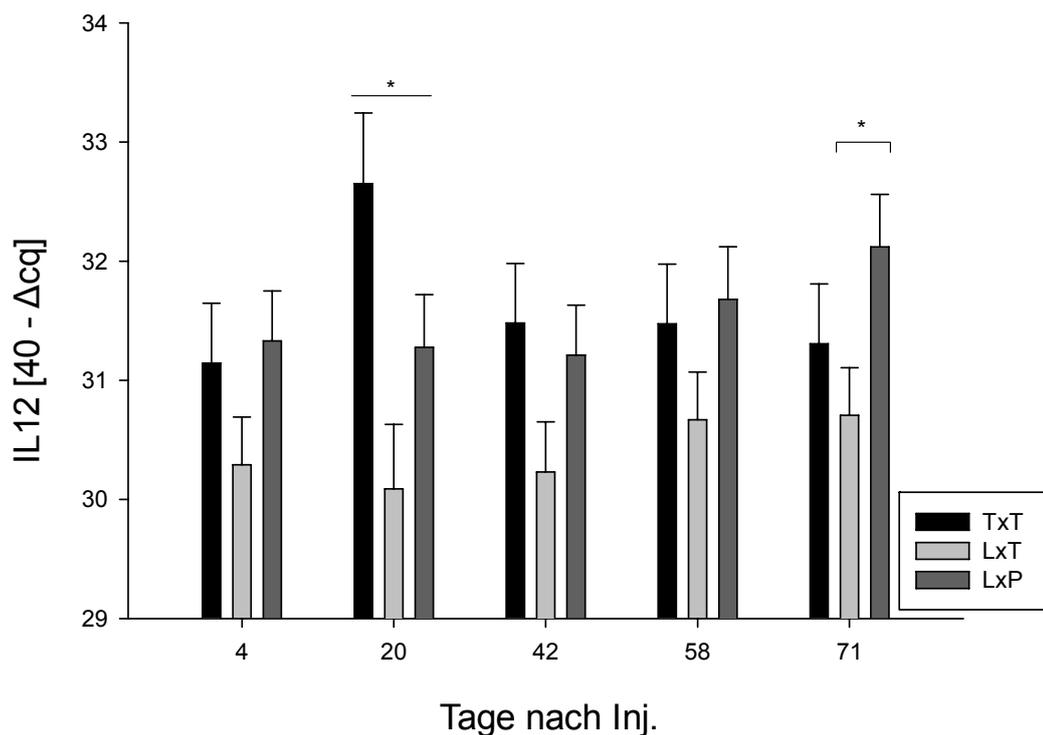


Abb. 37: Vergleich der Genexpression von IL 12 in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar. „—“ kennzeichnet Signifikanzen innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Transforming Growth Factor β (TGF β)

TxT ist an Tag 20 p.i. signifikant niedriger reguliert als an den anderen Tagen. LxT und LxP weisen keine signifikanten Regulationen im zeitlichen Verlauf auf. Am Tag 20 p.i. ist die Expression bei TxT signifikant niedriger reguliert als bei LxP.

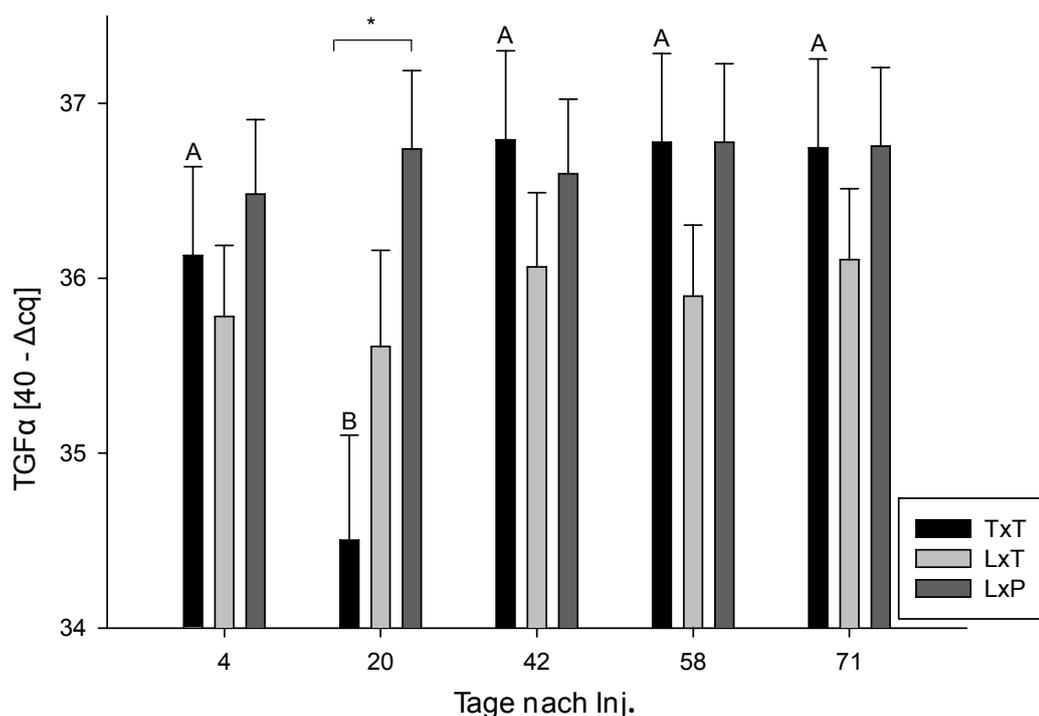


Abb. 38: Vergleich der Genexpression von TGF β in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und „—“ kennzeichnet Signifikanzen ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes zwischen zwei Rassen.

Tumor Nekrose Faktor α (TNF α)

Im zeitlichen Verlauf gesehen ist TNF α bei TxT an Tag 20 p.i. signifikant hochreguliert. LxT und LxP zeigen keine signifikanten Unterschiede während des gesamten Zeitraumes. An Tag 20. p.i. sind alle Rassen untereinander signifikant unterschiedlich reguliert.

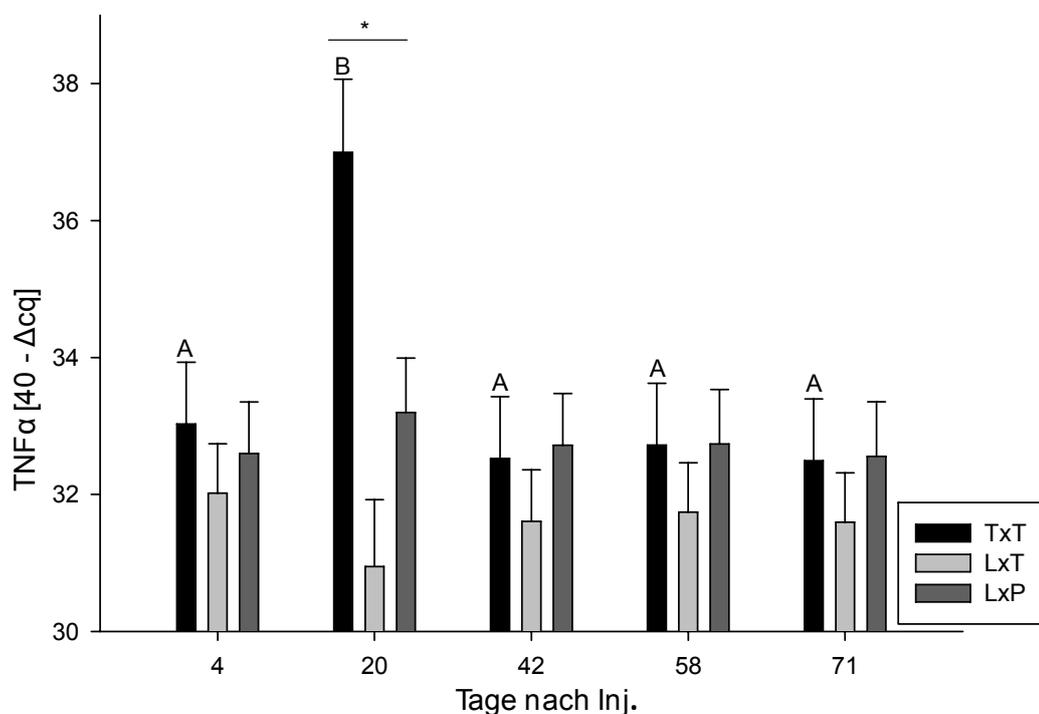


Abb. 39: Vergleich der Genexpression von TNF α in Leukozyten nach Immunisierung mit Ingelvac PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse dar. Der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

2.8. ELISA der Interleukine

Interleukin-1 β (IL-1 β)

TxT weist keine signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf auf. Die Konzentration ist während der gesamten Zeit stabil zwischen 7-15 pg/ml. Das gleiche Bild zeigt sich bei LxP, allerdings schwankt die Konzentration hier zwischen 40 und 80 pg/ml. Die Konzentration des IL-1 β innerhalb LxT ist am Tag -1 signifikant am höchsten (440 pg/ml). Der Level fällt kontinuierlich im zeitlichen Verlauf ab, um sich ab Tag 28 p.i. auf eine Konzentration (70-80 pg/ml) einzupendeln. Zusammenfassend kann man sagen, dass TxT die geringste Konzentration an IL-1 β aufweist, LxT weist die höchste Konzentration auf. Im Mittelfeld findet sich LxP wieder. LxT ist an den Tagen -1, 4, 12, 20 p.i. zu beiden anderen Rassen signifikant erhöht ($p < 0,005$), weiterhin an Tag 28 p.i. signifikant erhöht zu TxT und LxP ($p < 0,05$).

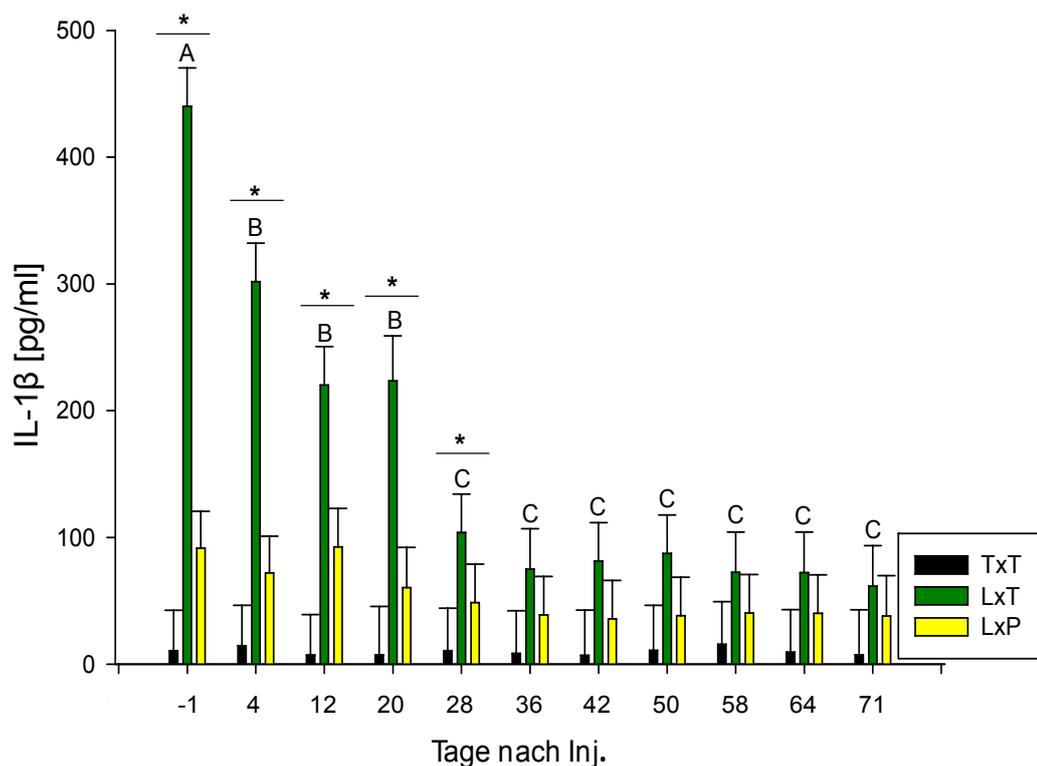


Abb. 40: Vergleich der Konzentration von Interleukin-1 β (IL-1 β) im Plasma nach Immunisierung mit PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 6 (IL-6)

Bei IL-6 ist der Verlauf ähnlich wie bei IL-1 β . Die Konzentrationen innerhalb der TxT sind nicht signifikant unterschiedlich, der Gehalt ist nahezu stabil. LxP liegt wiederum tendenziell über der alten Rasse. Lediglich an Tag 12 p.i. ist eine signifikante Erhöhung der Konzentration im Vergleich zu TxT erkennbar ($p < 0,05$). Signifikant hohe Werte verglichen mit beiden anderen Rassen, weist LxT an Tag -1, 4, 12 und 20 p.i. auf. Eine abfallende Tendenz innerhalb des zeitlichen Verlaufs ist erkennbar. An Tag -1 bis 20 p.i. ist der Level von IL-6 bei LxT signifikant höher als an den anderen Zeitpunkten.

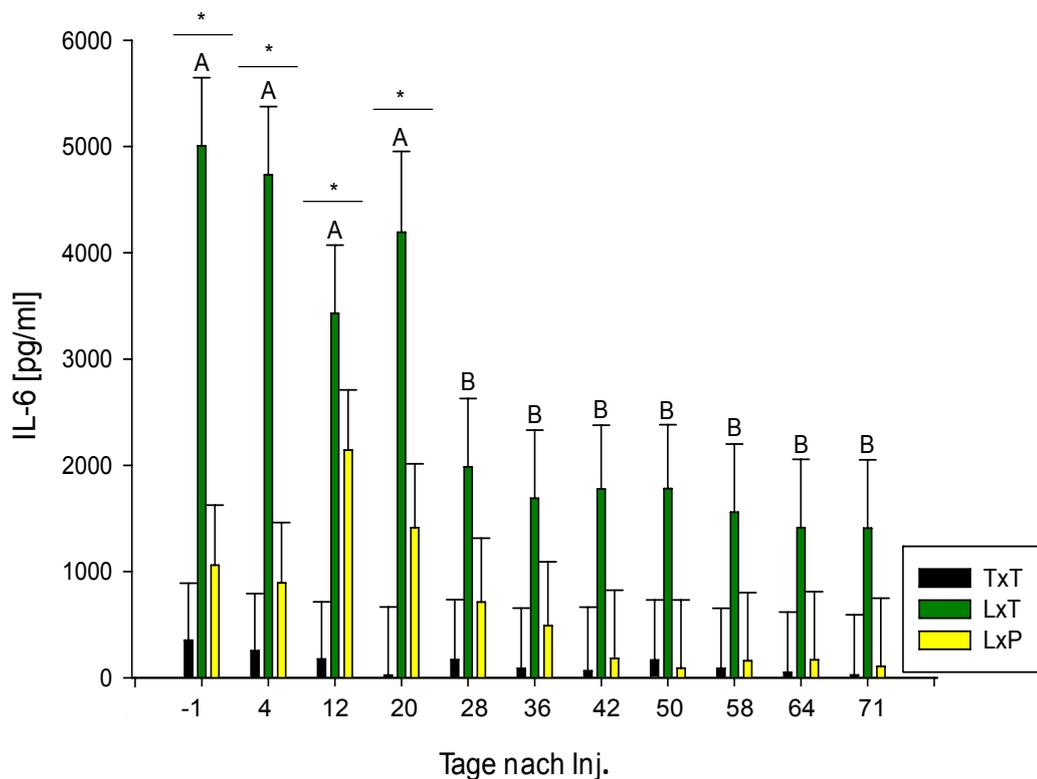


Abb. 41: Vergleich der Konzentration von Interleukin-6 (IL-6) im Plasma nach Immunisierung mit PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 10 (IL-10)

TxT zeigt im zeitlichen Verlauf eine signifikant niedrigere Konzentration von IL-10 an den Tagen 64 und 71 p.i.. Dagegen ist die Konzentration bei LxT an den Tagen 20, 28, 36 und 43 p.i. signifikant am niedrigsten. Bis Tag 71 p.i. erfolgt ein kontinuierlich signifikanter Anstieg der Konzentration. LxP zeigt am Tag -1, 4 und 12 p.i. das signifikant höchste Niveau, gefolgt von einem Abfall bis Tag 71 p.i.. Im Vergleich zwischen den Rassen weist LxT signifikant höhere Konzentrationen am Tag -1, 57, 64 und 71 p.i. auf.

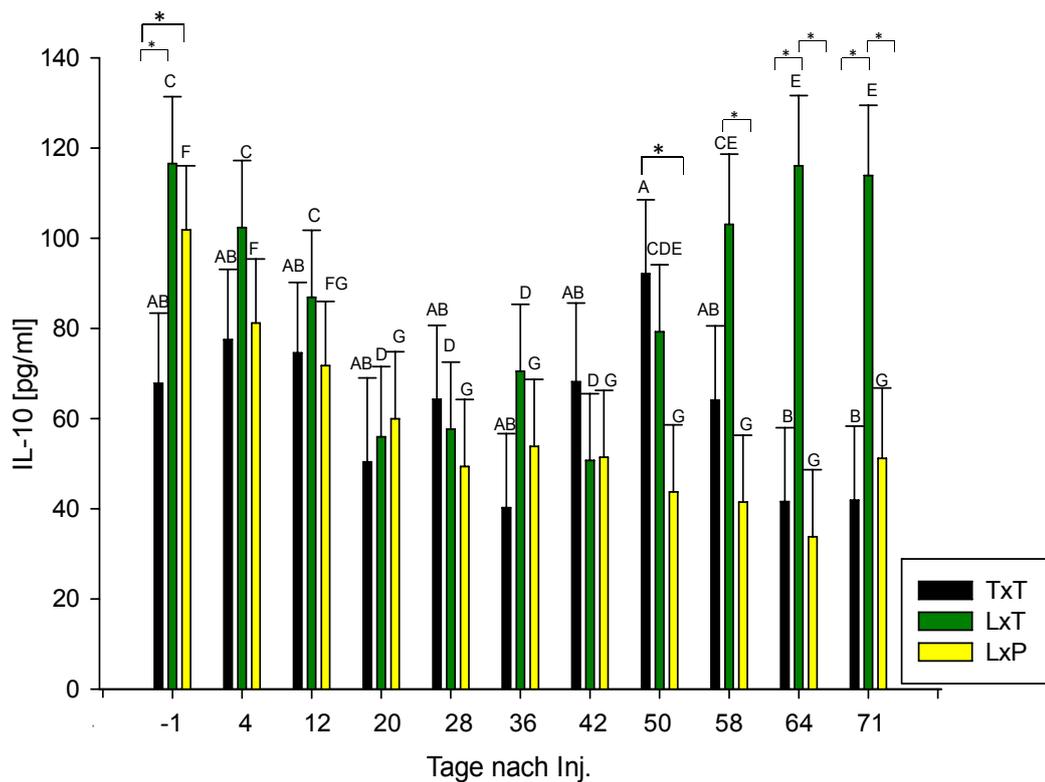


Abb. 42: Vergleich der Konzentration von Interleukin-10 (IL-10) im Plasma nach Immunisierung mit PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 12 (IL-12)

Die Konzentration von IL-12 verändert sich weder bei LxP noch bei TxT im zeitlichen Verlauf signifikant. Im Versuchszeitraum ist die Konzentration bei LxT ab Tag 50 p.i. signifikant höher als an den vorherigen Tagen. An den letzten vier Zeitpunkten ist LxT in der Konzentration signifikant höher als die anderen Rassen.

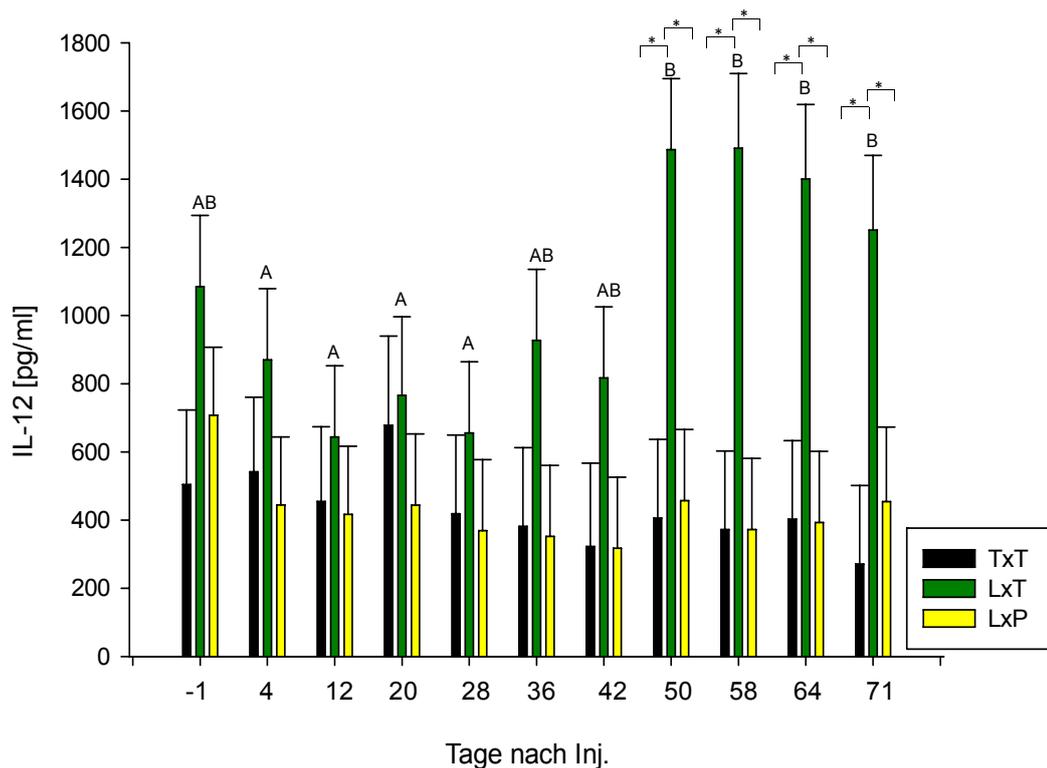


Abb. 43: Vergleich der Konzentration von Interleukin-12 (IL-12) im Plasma nach Immunisierung mit PRRS MLV zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Tages dar.

3. Nicht geimpfte Tiere

Die Ergebnisse werden im Folgenden mit Hilfe von Säulendiagrammen dargestellt. Wenn Unterschiede im Text als signifikant bezeichnet werden, liegt ein p -Wert von $p < 0,05$ zugrunde. In allen Balkendiagrammen wurde die Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) angegeben.

3.1. Proliferation der Lymphozyten

Die Proben wurden bei allen Tieren 2-4 Tage nach Umstallen vom Flatdeck in den Probemaststall (I), in der Mitte des Maststallaufenthaltes (II) und 2-4 Tage vor der Schlachtung in der 25. Lebenswoche (III) gemessen. Am Beginn der Mastdauer ist ein signifikanter Unterschied zwischen TxT und den beiden anderen Rassen erkennbar, wobei TxT die geringste Proliferation zeigt. Die Tendenz der unterschiedlichen Proliferationsbereitschaft bleibt auch bei den beiden weiteren Zeitpunkten zu sehen. In der Mitte der Mast ist eine Abnahme bei allen Rassen zu erkennen, die sich allerdings wieder am Ende aufhebt. LxP zeigt die höchste Proliferation mit einer Signifikanz zu TxT.

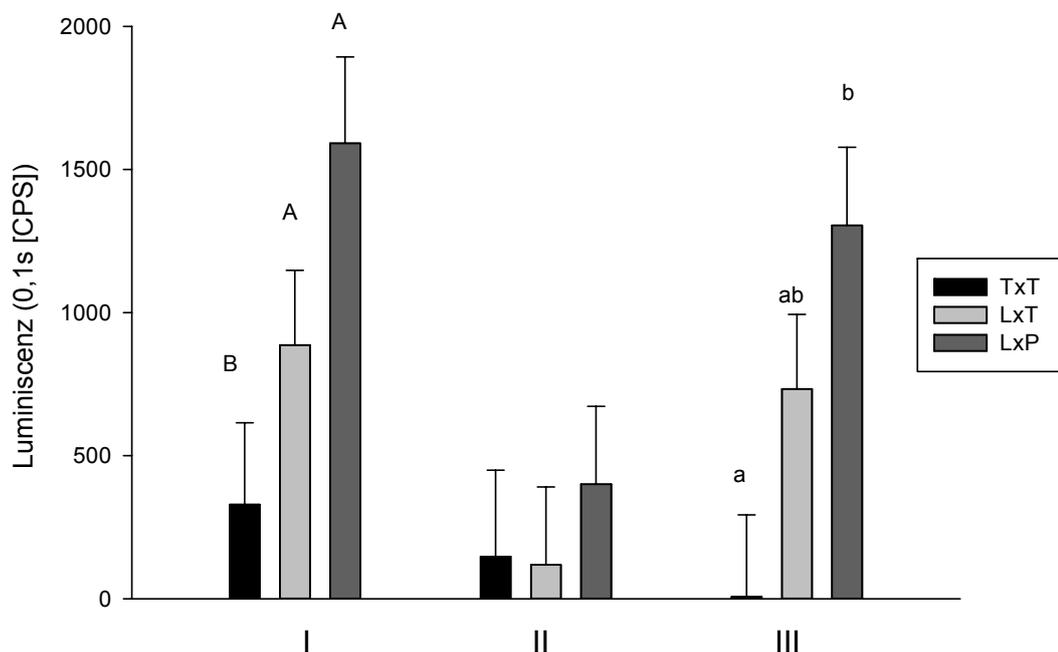


Abb. 44: Vergleich der Proliferation von 10.000 Lymphozyten nach Stimulation mit Pythämagglutinin L der Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschweine (LxP). Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb eines Zeitpunktes werden mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet.

3.2. Differentialblutbild

Die Blutentnahme fand nach Absetzen und Umstallen der Ferkel (1), nach Umstallen von Flatdeck in den Mastprobestall mit Gewöhnung an eine transpondergesteuerte Fütterung (2), in der Mitte des Maststallaufenthaltes (3) und vor der Schlachtung der Tiere (4) statt. An den letzten beiden Zeitpunkten wurden keine Stressoren bewusst induziert.

Lymphozyten

Alle Rassen zeigen im zeitlichen Verlauf bei der vierten Blutentnahme eine signifikant höhere Anzahl an Lymphozyten. Am ersten Zeitpunkt hat TxT signifikant mehr Lymphozyten als LxT.

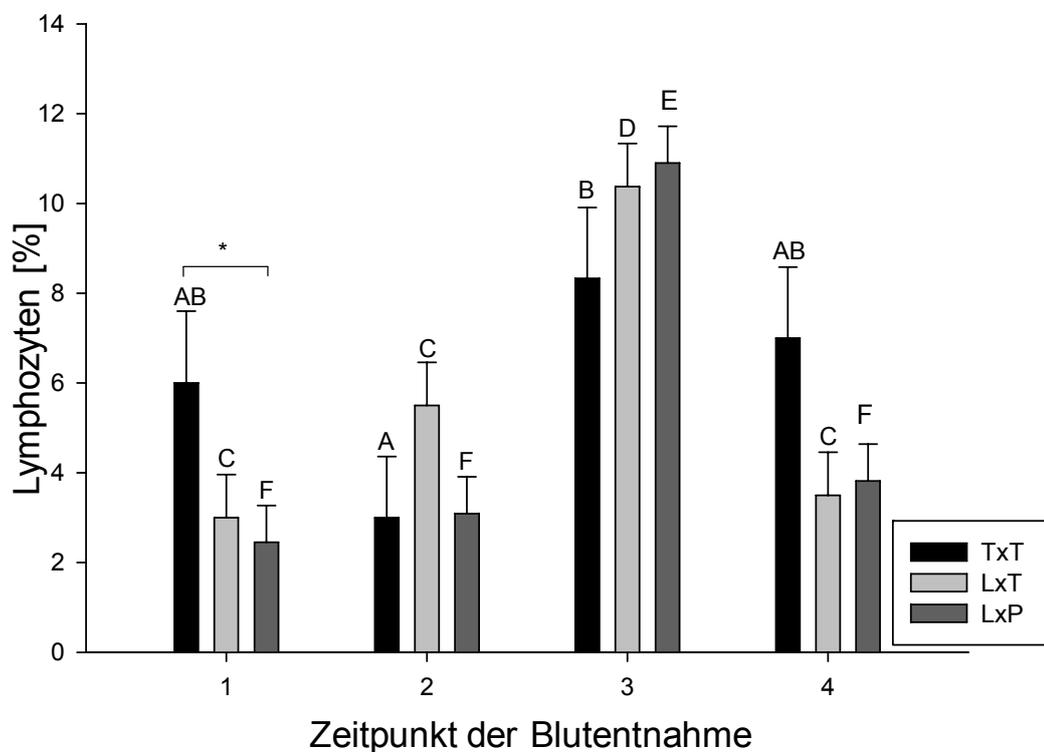


Abb. 45: Vergleich der der Lymphozytenanzahl im Blutausstrich der Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschweine (LxP). Zeitpunkt 1 = drei Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 = drei Tage nach Umstallen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb einer Blutentnahme werden mit Stern gekennzeichnet, im zeitlichen Verlauf innerhalb einer Rasse mit Buchstaben.

3.3. Genexpression der Interleukine, welche an der Stressregulation beteiligt sind

Die Ergebnisse der für die Stressregulation relevanten Immunfaktoren wurden mit Hilfe der Genexpression durch qRT-PCR ermittelt. Die Blutentnahme fand nach Absetzen der Ferkel (Zeitpunkt 1), nach Umstallen von Flatdeck in den Mastprobestall (Zeitpunkt 2), in der Mitte des Maststallaufenthaltes (Zeitpunkt 3) und vor der Schlachtung der Tiere (Zeitpunkt 4) statt. Die Ergebnisse werden im Folgenden mit Hilfe von Säulendiagrammen dargestellt. Wenn Unterschiede im Text als signifikant bezeichnet werden, liegt ein p-Wert von $p < 0,05$ zugrunde. Es war keine Regulation der Housekeeping Gene zu erkennen.

Interleukin 1 α (IL1 α)

Bei allen Rassen ist eine signifikante Verringerung der Genexpression von IL1 α sichtbar. TxT ist am dritten Zeitpunkt eine signifikante Erhöhung zu LxT.

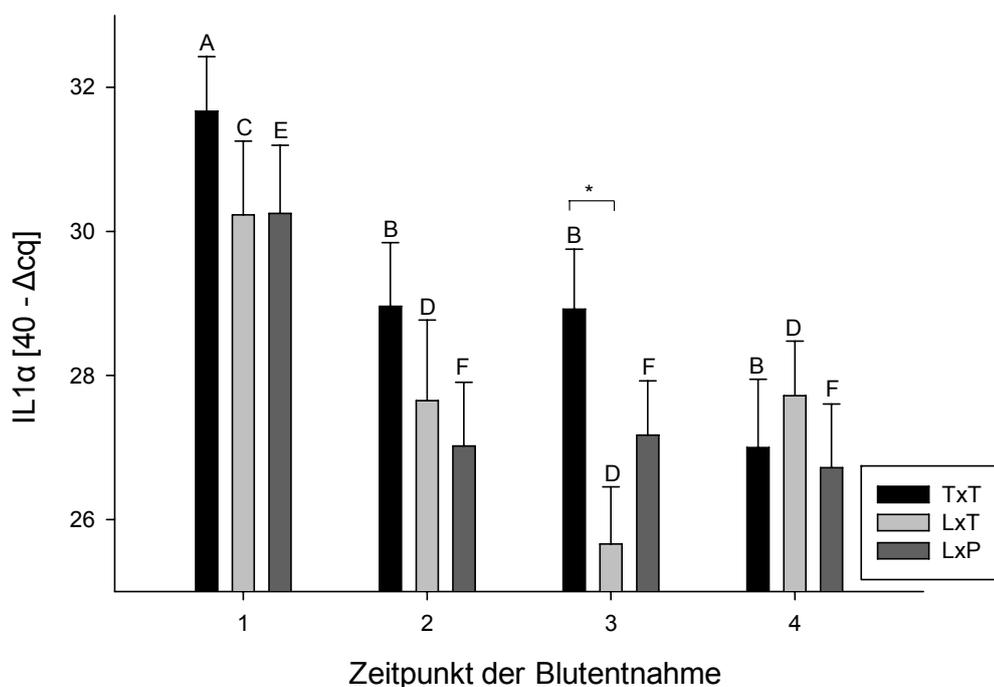


Abb. 46: Vergleich der Genexpression von IL1 α in Lymphozyten zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Turopolje x Deutsche Landrasse (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 = drei Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 = drei Tage nach Umstallen vom Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 1 β (IL1 β)

Interleukin 1 β weist bei TxT an den ersten beiden Zeitpunkten eine signifikant höhere Expression auf als zu den beiden letzten Zeitpunkten. LxP zeigt keine signifikanten Regulationen während der Versuchsdauer. LxT reguliert das Gen am dritten Zeitpunkt signifikant höher als zum letzten Messpunkt. Ein signifikanter Unterschied in der Expression ist zum Zeitpunkt 3 zwischen TxT und LxT zu erkennen.

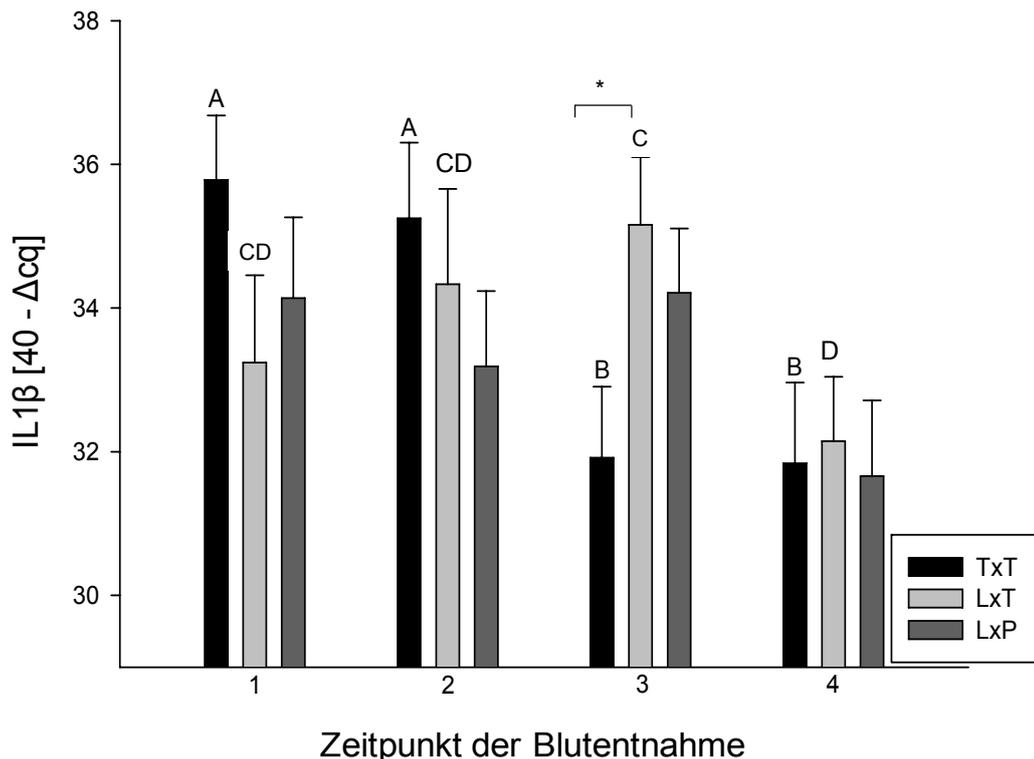


Abb. 47: Vergleich der Genexpression von Interleukin 1 β in Lymphozyten zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstallen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF α)

Es gibt weder im zeitlichen Verlauf innerhalb der Rassen noch innerhalb der Zeitpunkte zwischen den Rassen signifikante Unterschiede in der Regulierung.

Interleukin 6 (IL6)

IL6 wird bei TxT und LxP zu allen Zeitpunkten auf dem gleichen Level expremiert. LxT zeigt eine signifikante Erhöhung am zweiten Zeitpunkt im zeitlichen Verlauf und im Vergleich zu LxP.

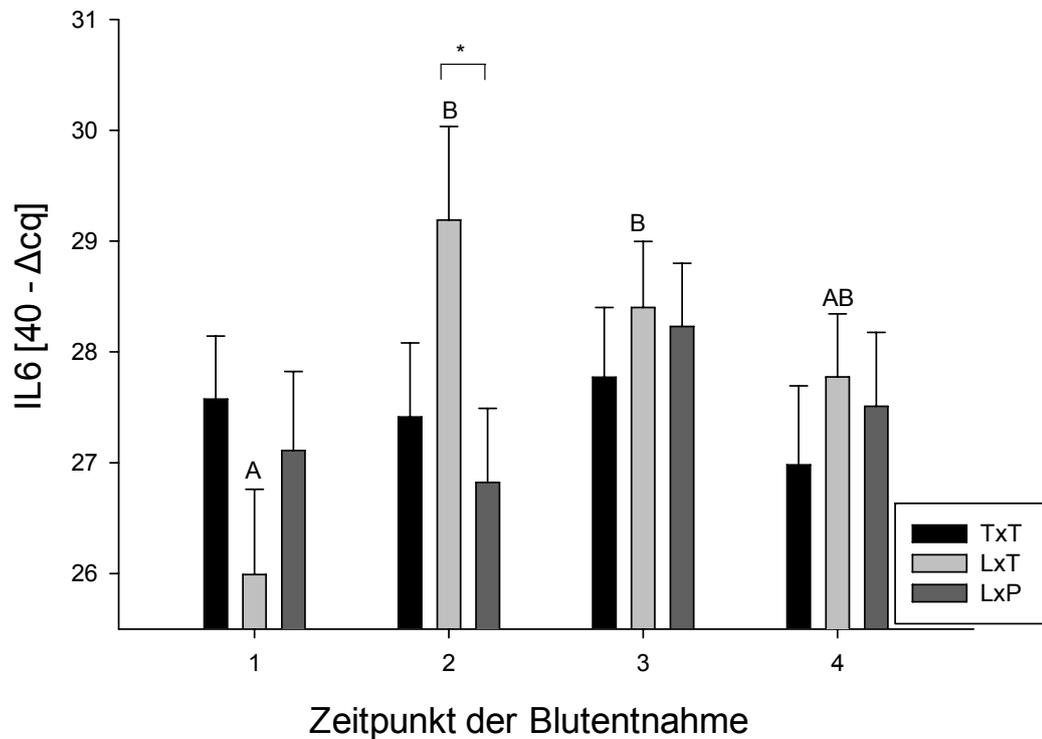


Abb. 48: Vergleich der Genexpression von Interleukin 6 in Lymphozyten zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstallen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 10 (IL10)

IL10 ist am ersten Zeitpunkt bei TxT und LxT im Vergleich zu allen anderen Zeitpunkten signifikant aufreguliert. Bei LxP zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen Zeitpunkt 1 und 4. Zwischen den Rassen bestehen keine signifikanten Unterschiede.

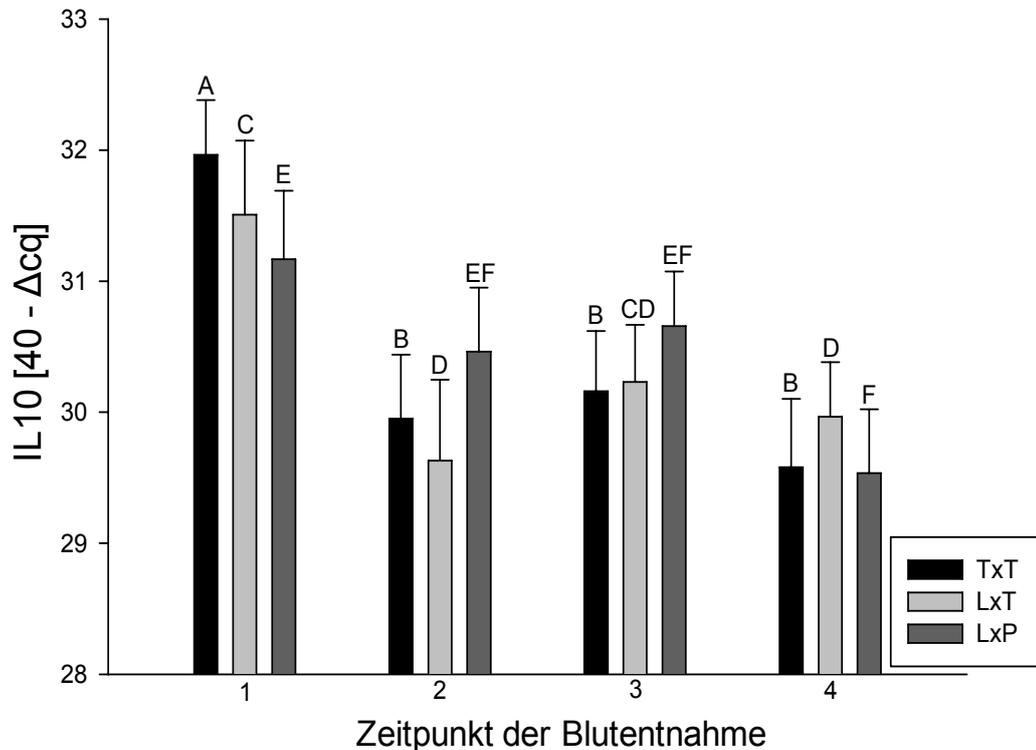


Abb. 49: Vergleich der Genexpression von Interleukin 10 in Lymphozyten zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstallen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin 12 (IL12)

Es bestehen weder signifikanten Regulationen zwischen den Zeitpunkten noch zwischen den Rassen.

3.4. ELISA der Interleukine

Interleukin-6 (IL-6)

Die Konzentrationsunterschiede von IL-6 sind am ersten Zeitpunkt signifikant zwischen allen Rassen. Wobei LxT einen signifikant höheren IL-6 Gehalt aufweist als die beiden anderen Rassen. Bei LxT fällt die Konzentration im Laufe der Zeit wieder ab. TxT ist an allen Zeitpunkten an der unteren Nachweisgrenze des ELISAs. LxP weist eine signifikante Erhöhung der Konzentration am Zeitpunkt 4 gegenüber den anderen Zeitpunkten auf.

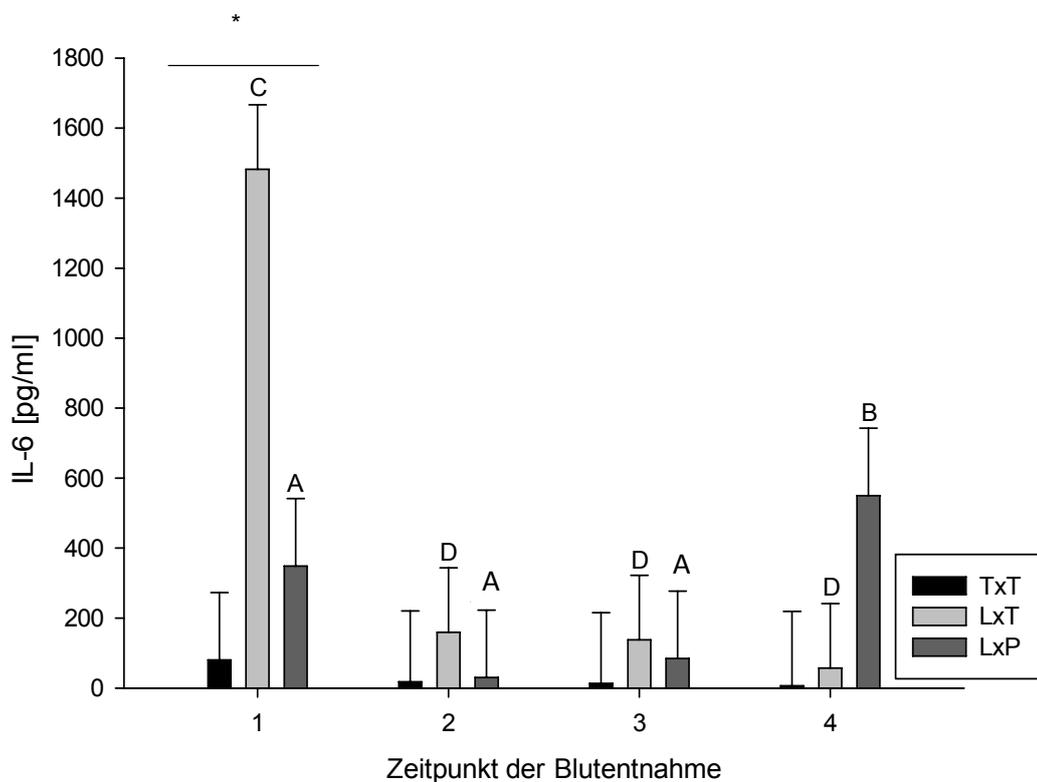


Abb. 50: Vergleich der Konzentration von Interleukin-6 in Plasma zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstellen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin-10 (IL-10)

Die Konzentration von IL-10 ist am Zeitpunkt 1 bei LxT am höchsten und zeigt einen signifikanten Abfall im zeitlichen Verlauf. TxT und LxP zeigen keine signifikanten Regulationen. An keinem Zeitpunkt gibt es Signifikanzen zwischen den Rassen.

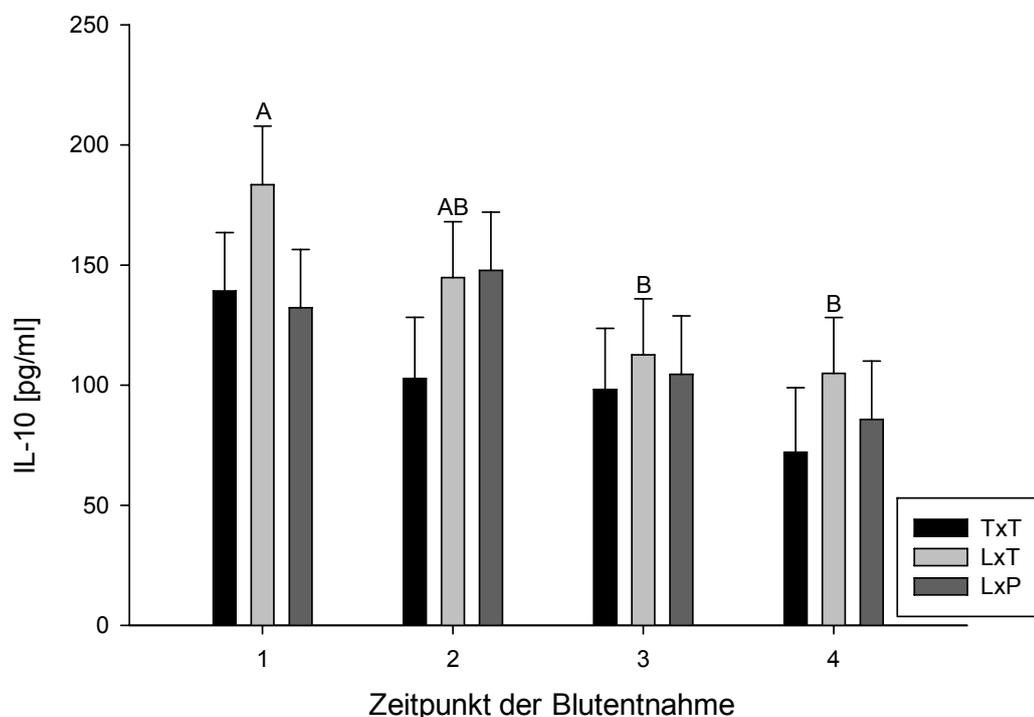


Abb. 51: Vergleich der Konzentration von Interleukin 10 in Plasma zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstellen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Interleukin-12 (IL-12)

LxT zeigt den höchsten Gehalt an IL-12 am Zeitpunkt 1 mit anschließendem signifikantem Abfall zu den weiteren Zeitpunkten. TxT ist konstant auf einem Niveau. Auch bei LxP ist die Konzentration am Zeitpunkt 1 am höchsten mit einem signifikanten Abfall zu Zeitpunkt 2, um dann auf diesem Niveau zu bleiben. Am Zeitpunkt 1 ist LxT signifikant zu den beiden anderen Rassen, am Zeitpunkt 2 nur zu TxT und am Zeitpunkt 3 nur zu LxP (Abb. 53).

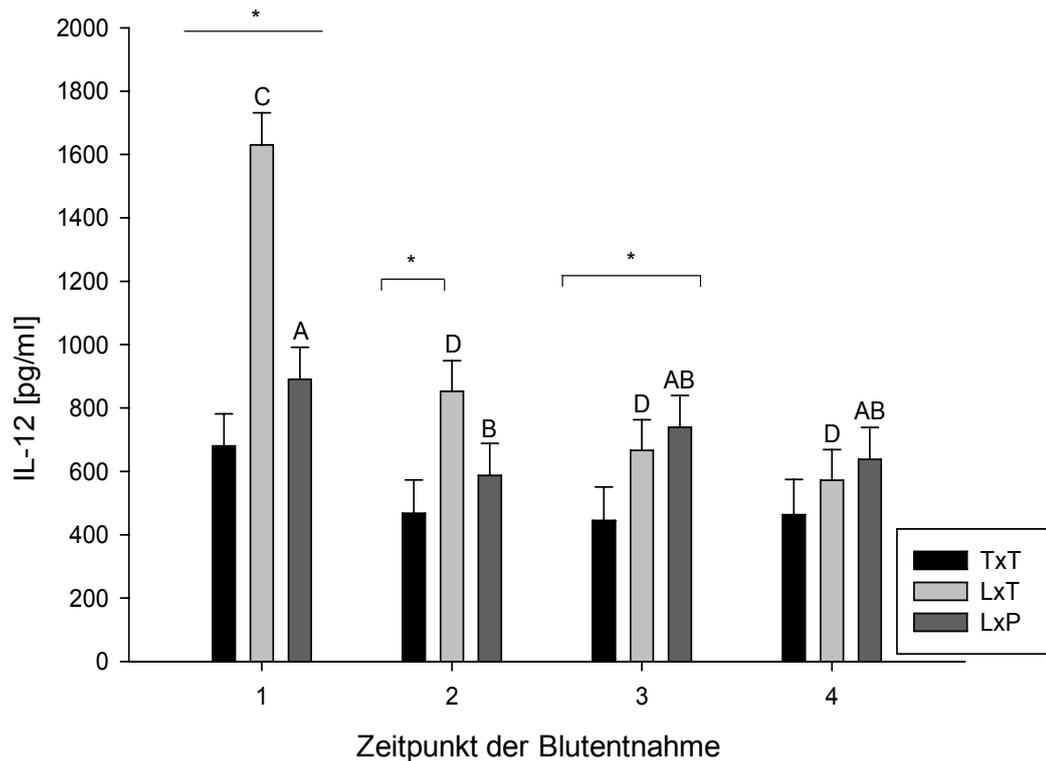


Abb. 52: Vergleich der Konzentration von Interleukin 12 in Plasma zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstellen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

3.5. Messung der Immunglobuline

Immunglobulin M

Es ist ein signifikanter Anstieg der Konzentration im zeitlichen Verlauf bei allen Rassen zu erkennen. LxT und LxP weisen die höchsten Anstiege an den beiden letzten Zeitpunkten auf. TxT steigt nur leicht an und hat an den letzten drei Zeitpunkten signifikant niedrigere IgM Konzentrationen als die anderen Rassen.

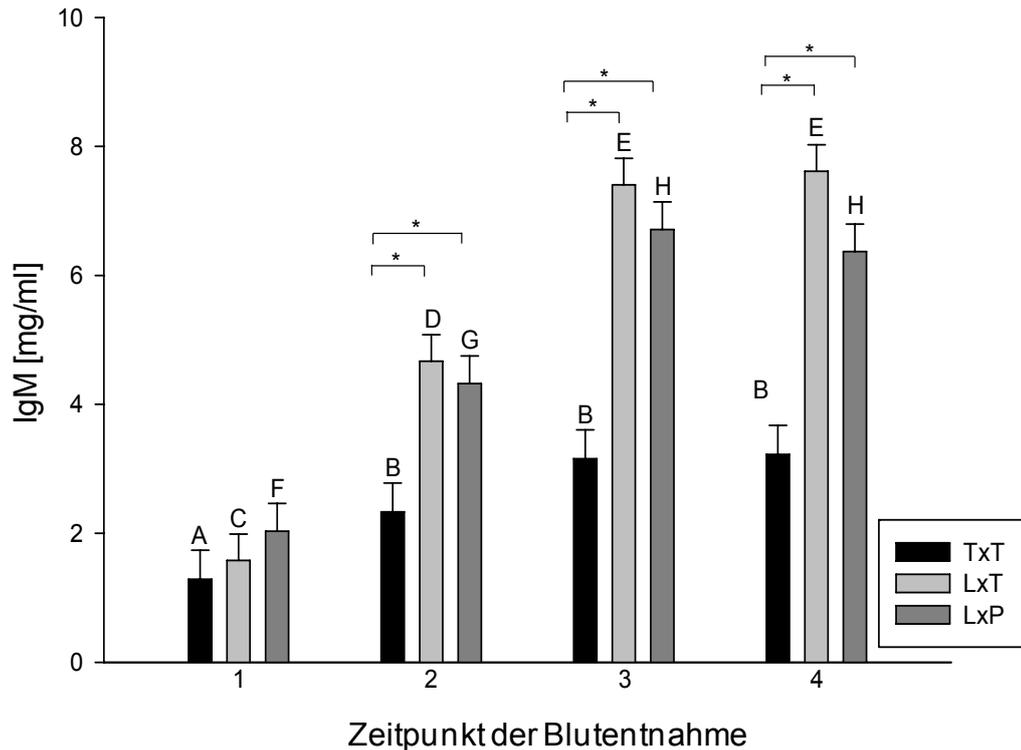


Abb. 53: Vergleich der Konzentration von Immunglobulin M im Serum zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstellen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

Immunglobulin G (IgG)

Bei allen Rassen ist eine signifikante Erhöhung der Konzentration von IgG im zeitlichen Verlauf sichtbar, wobei LxP und TxT die höchsten Konzentrationen an den drei letzten Terminen aufweisen. Bei LxT ist die Konzentration erst an den letzten beiden Zeitpunkten signifikant erhöht. An den letzten drei Zeitpunkten gibt es signifikante Unterschiede zwischen LxP und den beiden anderen Rassen.

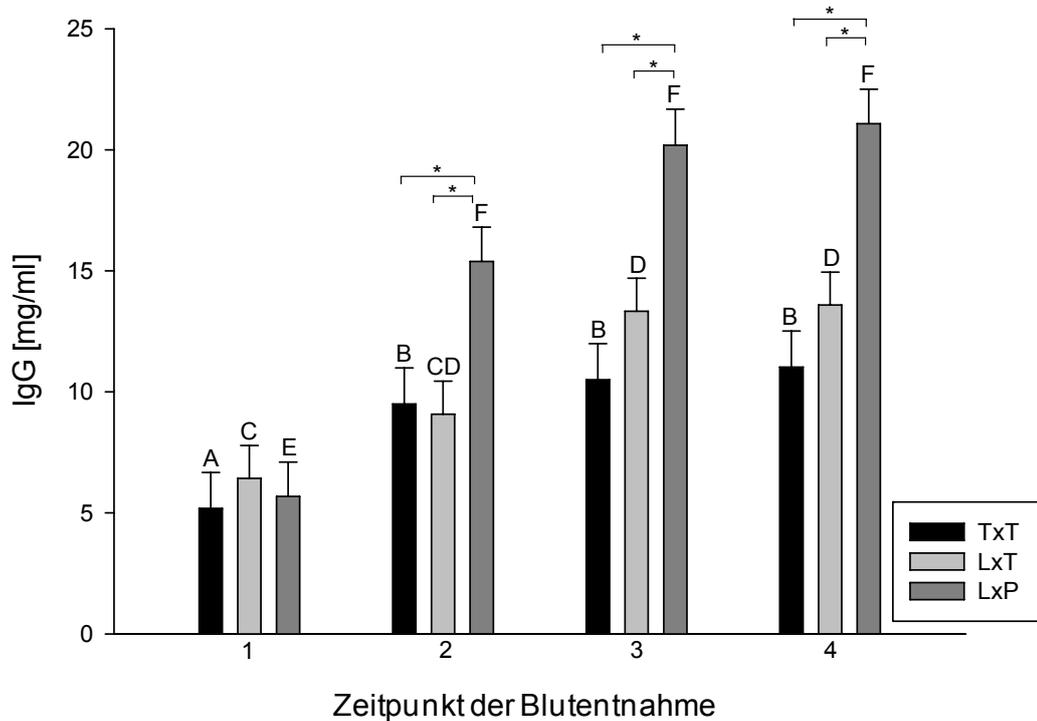


Abb. 54: Vergleich der Konzentration von Immunglobulin G im Serum zwischen der Rasse Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Zeitpunkt 1 ist 3 Tage nach Absetzen der Ferkel, Zeitpunkt 2 ist 3 Tage nach Umstallen von Flatdeck in Endmaststall (Gewöhnung an Transponderfütterung), Zeitpunkt 3 und 4 sind ohne vorangegangene Stressoren. Unterschiedliche Buchstaben stellen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den verschiedenen Tagen innerhalb einer Rasse und der Stern stellt signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen zwei Rassen innerhalb eines Tages dar.

4. Mastleistung, Futtermittelnutzung und Fleischuntersuchung

4.1. Wurfgrößen und Wurfcharakteristika

Die Wurfgröße der Turopolje ist für die wirtschaftliche Mast indiskutabel, dennoch ist zu beachten, dass es bei den drei Sauen insgesamt nur 4,3 % Verluste innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt gab. Die alte Rasse hat im Durchschnitt acht Ferkel pro Wurf mit einem gemittelten Gewicht von 1,3052 kg ($\pm 0,0937$ SEM). Allerdings sind die durchschnittlichen Gewichte zwischen den Würfen der reinrassigen Turopolje-Sauen signifikant unterschiedlich (siehe Tabl. 9). Die Gesamtsterblichkeit der Ferkel über die gesamte Mastdauer beträgt 14,3 %. Die größte Anzahl an Ferkel pro Wurf hat die Kreuzungsrasse LxT. Die Sterblichkeitsrate liegt hier bei insgesamt 23,9 %, dennoch ist auch zu sehen, dass eine Sau 18 Ferkel gebar, dabei hatte sie 6 Totgeburten bzw. nicht lebensfähige Ferkel. Bei LxP liegt die Sterblichkeit bei 21,6 %, die Wurfgröße beträgt zwischen 12 und 13 Ferkel. Die durchschnittlichen Geburtsgewichte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Rassen.

Sau-Identität	Rasse der Ferkel	Anzahl der Ferkel pro Wurf	Totgeburten	Sterberate zwischen der 1. und 20./25. Lebenswoche	Mortalitätsrate [%]	durchschnittl. Geburtsgewicht	SEM
1	TxT	7	0	0	0	1,3907 ^A	0,0505
2	TxT	9	0	0	0	0,8517 ^B	0,0786
3	TxT	7	0	1	14,3	1,8029 ^C	0,0785
Total		23	0	1	4,3	1,3052	0,0937
4	LxT	15	1	0	6,7	1,1723 ^B	0,0836
5	LxT	13	2	0	15,4	1,6246 ^A	0,0449
6	LxT	18	6	2	44,4	1,1928 ^B	0,0654
Total		46	9	2	23,9	1,3335	0,0509
7	LxP	12	1	1	16,7	1,4717	0,0668
8	LxP	12	0	3	25	1,2467	0,0923
9	LxP	13	3	0	23,1	1,2618	0,0503
Total		37	4	4	21,6	1,3286	0,0446

Tabl. 9: Vergleich der Wurfparameter der Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschweinen (LxP). Unterschiedliche Buchstaben beschreiben signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb eines Parameters.

4.2. Lebendgewicht

Die Rassen unterscheiden sich signifikant im Lebendgewicht in der 20. Lebenswoche (LW). Wobei TxT signifikant niedrigere Gewichte vorweist als LxT und LxP. Die Gewichte in der 25. LW sind sowohl zwischen TxT und LxP als auch zwischen TxT und LxT signifikant unterschiedlich. Die Tendenz zwischen den Gewichten ähnelt der 20. LW, d.h. TxT hat das geringste Gewicht.

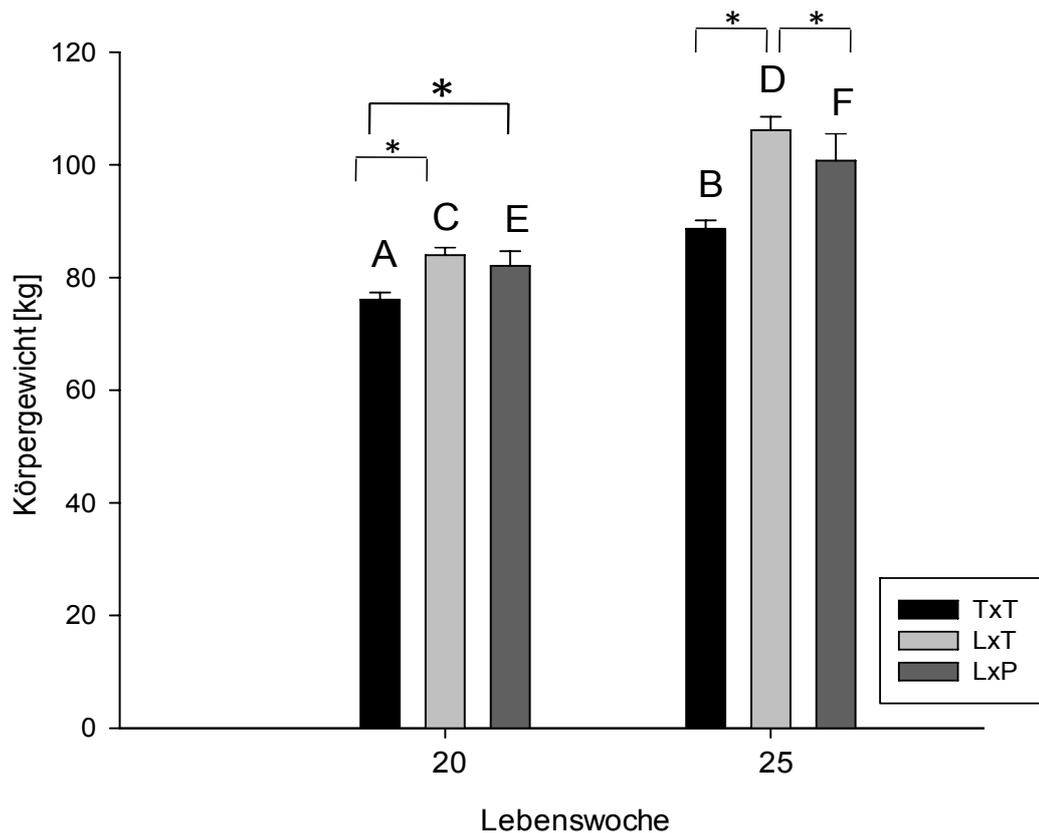


Abb. 55: Körpergewicht in Kilogramm der Rassen Turopolje (TxT), Hybridschweine (LxP) und Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) in der 20. und 25. Lebenswoche. Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb einer Rasse im zeitlichen Verlauf, der Stern weist auf Signifikanzen ($p < 0,05$) zwischen den Rassen innerhalb eines Zeitpunktes hin.

4.3. Schlachtkörpergewicht

Ähnlich wie beim Lebendgewicht ist eine Tendenz am späteren Zeitpunkt der Schlachtung zu erkennen, LxT sind etwas schwerer als LxP. Dies ist allerdings nach der Schlachtung in der 20. LW nicht zu erkennen. TxT gewinnt zwar signifikant an Gewicht zwischen den beiden Zeitpunkten, allerdings nicht so stark wie die beiden anderen Rassen.

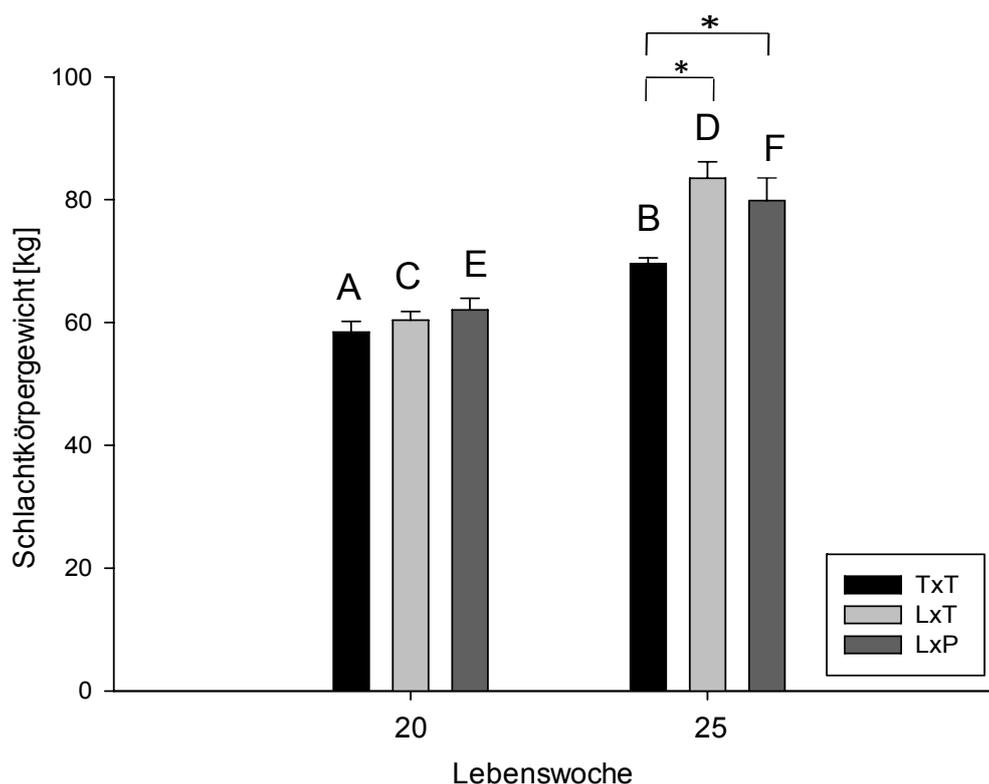


Abb. 56: Vergleich der Schlachtkörpergewichte in der Lebenswoche (LW) 20 und 25 der Rassen Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschwein (LxP). Signifikante Unterschiede zwischen den Rassen innerhalb eines Zeitraumes zeigen unterschiedliche Buchstaben an. Signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten innerhalb einer Rasse sind durch einen Stern gekennzeichnet.

4.4. Intramuskuläres Fett (IMF)

Das IMF ist bei TxT (2,15 % ± 0,03 SEM) signifikant höher ($p < 0,008$) als bei LxP (1,18 % ± 0,01 SEM), LxT (1,43 % ± 0,04 SEM) befindet sich im Mittelfeld.

4.5. Flächenanteil des Fettes und des Muskels

In der 20. Lebenswoche ist der Fettflächenanteil der TxT ($24,9 \text{ qcm} \pm 1,8$) die größte, die kleinste Fläche weist LxP mit $7,09 \text{ qcm} \pm 0,7$ auf, im Mittelfeld ($15,7 \text{ qcm} \pm 1,9$) steht LxT. Der Muskelflächenanteil der LxP ist die größte ($46,2 \text{ qcm} \pm 0,9$), direkt darauf folgt LxT ($35,0 \text{ qcm} \pm 1,8$), des Weiteren sind Turopolje ($21,7 \text{ qcm} \pm 1,8$) signifikant ($p < 0,001$) kleiner als die anderen Rassen.

In der 25. Lebenswoche ist der Fettflächenanteil ($28,6 \text{ qcm} \pm 1,9$) der TxT signifikant größer als die der anderen Rassen. Der Fettflächenanteil ist auch bei LxT ($15,5 \text{ qcm} \pm 1,6$) signifikant größer als bei LxP ($11,3 \text{ qcm} \pm 0,7$).

Die Muskelfläche der LxP stellt sich signifikant größter dar ($54,2 \text{ qcm} \pm 0,8$) als LxT ($41,4 \text{ qcm} \pm 0,9$) und TxT ($25,0 \text{ qcm} \pm 1,7$).



Abb. 57: Messung der Fett- und Fleischfläche der Rasse Turopolje (TxT) in der 25. LW aufgrund der Planimetrie. Deutlich ist zu erkennen, dass die Fettfläche größer ist als die Fleischfläche.

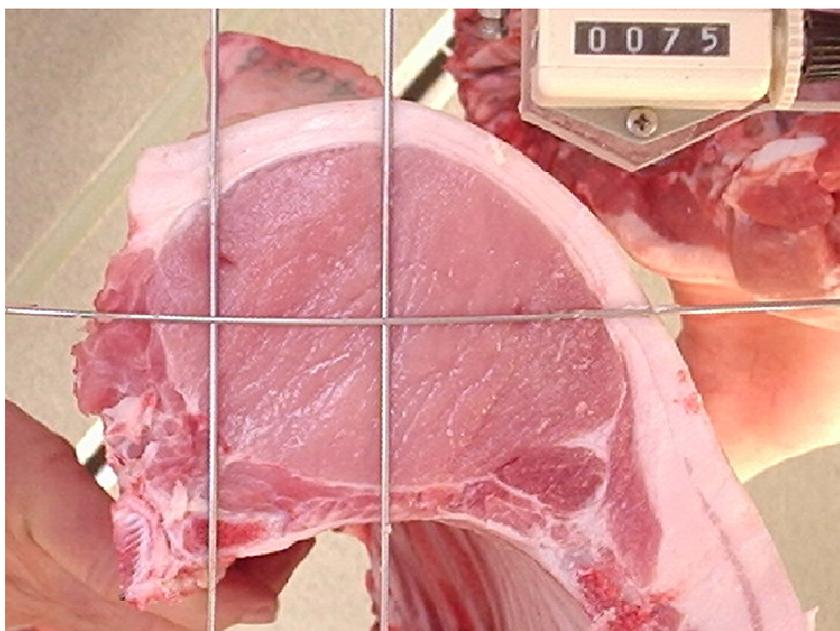


Abb. 58: Messung der Fett- und Fleischfläche der Rasse Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) in der 25. LW mittels der Planimetrie. Die Fettfläche ist deutlich zu erkennen, außerdem ist auch die Relation zwischen der größeren Fläche des Fleisches zu der Fläche des Fettes dargestellt.



Abb. 59: Messung der Fett- und Fleischfläche der Rasse Deutsche Landrasse x Pietrain (LxP) in der 25. LW mittels der Planimetrie. Die Fettfläche ist nur noch schwach ausgeprägt, außerdem ist auch die Relation zwischen der größeren Fläche des Fleisches zu der Fläche des Fettes dargestellt.

4.6. Klassifizierung der Schlachtkörper nach SEUROP

Klassifizierung der Schlachtkörper in der 20. Lebenswoche

	TxT	SEM	LxT	SEM	LxP	SEM
Muskeldicke [mm]	47,20 ^A	3,83	48,87 ^{AB}	2,08	58,08 ^B	1,03
Fettdicke [mm]	29,29 ^A	1,65	16,40 ^A	1,43	9,16 ^B	0,57
Muskelanteil [%]	43,60 ^A	1,13	54,94 ^B	1,52	62,69 ^C	0,54
Leitfähigkeit 24 h p.m. Schinken [mS]	6,67	0,74	5,46	0,73	5,51	0,81
pH 1 h p.m. Kotelett	6,10	0,12	6,13	0,06	6,11	0,06
pH 24 h p.m. Kotelett	5,47	0,01	5,41	0,00	5,48	0,02
pH 24 h p.m. Schinken	5,47	0,00	5,46	0,01	5,66	0,07
Schlachtkörperlänge [cm]	844,24 ^A	11,53	884,79 ^B	3,82	891,32 ^B	12,01
SEUROP Klasse	U-P		S-R		S	

Tabl. 10: Vergleich der durchschnittlichen Werte der Schlachtkörper in der 20. Lebenswoche von Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschweine (LxP). Unterschiedliche Buchstaben beschreiben signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb eines Parameter. (h = Stunde, p.m. = post mortem)

In der Untersuchung der Schlachtkörper in der 20. Lebenswoche zeigen sich Signifikanzen sowohl in der Muskeldicke als auch in der Fettdicke zwischen TxT und LxP und LxT und LxP. Der Muskelanteil steigt signifikant von TxT über LxT zu LxP an. Innerhalb der Schlachtkörperlänge ist TxT zu LxT und LxP signifikant kürzer.

Klassifizierung der Schlachtkörper in der 25. Lebenswoche

	TxT	SEM	LxT	SEM	LxP	SEM
Muskeldicke [mm]	46,00 ^A	2,08	57,17 ^B	3,63	64,69 ^B	2,27
Fettdicke [mm]	31,60 ^A	2,51	24,07 ^B	2,76	11,53 ^B	0,83
Muskelanteil [%]	41,44 ^A	2,18	49,73 ^A	2,90	61,73 ^B	0,69
Leitfähigkeit 24 h p.m. Schinken [mS]	5,19	0,65	5,56	0,70	6,30	0,50
pH 1 h p.m.	5,99	0,07	6,20	0,09	6,22	0,10
pH 24 h p.m. Kotelett	5,59	0,02	5,88	0,01	6,26	0,00
pH 24 h p.m. Schinken	5,79	0,04	6,04	0,02	6,24	0,02
Schlachtkörperlänge [cm]	884,53 ^A	6,54	959,80 ^B	8,95	950,25 ^B	18,48
Tropfsaftverlust [%]	4,62	0,47	4,54	0,44	4,04	0,41
SEUROP Klasse	R-O		S-U		S	
Futter/LM kg [g]	2018,78		1915,81		1617,87	

Tabl. 11: Vergleich der durchschnittlichen Werte der Schlachtkörper in der 25. Lebenswoche von Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) und Hybridschweinen (LxP). Unterschiedliche Buchstaben beschreiben signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb eines Parameter. (h = Stunde, p.m. = post mortem)

Bei der Schlachtung der Tiere in der 25. Lebenswoche ist zu erkennen, dass die Muskeldicke bei TxT geringer ist als bei den anderen beiden Rassen, welche sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Daraus ergibt, dass TxT ein signifikant größeren Fettflächenanteil besitzt als die anderen beiden Rassen. Die Schlachtkörperlänge ist signifikant kürzer bei TxT als bei LxT und LxP. Allerdings ist eine Tendenz zu erkennen, dass LxT einen längeren Schlachtkörper hat als LxP. Der Tropfsaftverlust weist keine signifikanten Unterschiede auf, allerdings ist ein tendenzieller Abfall von alter Rasse zu moderner Rasse erkennbar; im Mittelfeld befindet sich die Kreuzungsrasse.

V. DISKUSSION

1. Immunglobulingehalt in Kolostrum, in der reifen Milch und Serum der 14 Tage alten Ferkel

Der IgG und IgM Gehalt im Kolostrum unterscheidet sich nicht maßgeblich zwischen den Rassen. Dennoch ist die IgG-Konzentration im Serum der TxT Ferkel am Tag 14 p.n. signifikant gegenüber den LxP erhöht. Dieser Unterschied könnte an der kleinen Wurfgröße der Turopolje liegen. Nach einer Korrelation (Daten wurden nicht gezeigt) wurde ersichtlich, dass es keine Beziehung zwischen Wurfgröße und IgG-Gehalt im Serum der Ferkel gibt. Während der Geburtsüberwachung wurde allerdings beobachtet, dass bei den Turopoljesauen der Saugreiz eines Ferkels für die Milchejektion ausreichte. Des Weiteren wurde ersichtlich, dass sich die DL-Sauen nach der Säugezeit auf die Milchleisten legten und keine Ferkel mehr für 15-30 min saugen ließen. Dies wurde bei keiner Turopoljesau beobachtet. Somit konnten die TxT Ferkel wahrscheinlich mehr Kolostrum aufnehmen als die Ferkel der DL-Sauen. Der Anstieg der IgG-Konzentration am dritten Tag p.n. bei LxP ist durch eine DL-Sau zu erklären, welche eine sehr hohe Konzentration aufweist. Würde man sie als Ausreißer bezeichnen, dies ist statistisch fraglich, so wäre die Konzentration ähnlich wie bei den Turopoljesauen. Diese Erhöhung könnte auf eine subklinische Mastitis hinweisen oder es wurde eine cranial gelegene Zitze gemolken. Die IgG Konzentration ist an verschiedenen Milchdrüsenkomplexen unterschiedlich (Klobasa und Butler 1987). Der IgG Gehalt im Kolostrum ist weiterhin abhängig von der Anzahl der Abferkelungen (Klobasa et al. 1985), der Rasse und dem Genotyp (Farmer et al. 2007). Bei den Turopoljesauen war nur bekannt, dass sie mindestens einmal abgeferkelt hatten, sodass es hier Einflüsse auf den IgG-Gehalt geben könnte. Die DL-Sauen ferkelten das dritte bzw. das vierte Mal ab. Die Halbwertszeit der maternalen Antikörper nach Aufnahme über das Kolostrum liegt im Serum der Ferkel zwischen zwei und drei Wochen (Curtis und Bourne 1973). Zu diesem Zeitpunkt beginnt aber erst die körpereigene Immunglobulinproduktion, sodass eine immunologische Lücke (Porter 1969) entsteht. Am 14. Lebenstag ist zu erkennen, dass die IgG Konzentration bei TxT signifikant zu den anderen Rassen erhöht ist. Daraus lässt sich schließen, dass entweder die maternalen IgGs bei den TxT später abgebaut werden oder dass die körpereigene IgG Produktion früher beginnt. Dass die Lücke zeitlich verspätet

bei TxT auftritt bzw. sich schließt, kann aufgrund der Messungen, welche nach dem 14. Lebenstag der Ferkel folgten ausgeschlossen werden. Eine möglichst hohe Konzentration in der zweiten bis vierten Lebenswoche ist bedeutend für den restlichen Gesundheitsstatus der Ferkel. In der dritten bzw. vierten Lebenswoche werden routinemäßig die Ferkel abgesetzt und in das Flatdeck oder in einen Mastbetrieb verbracht. Durch diese Veränderungen wird das Immunsystem vermehrt aktiviert.

2. Immunreaktion der mit PRRS MLV geimpften Tiere

Reiner et al. (2010) untersuchten die Immunkompetenz zweier Rassen nach einer attenuierten Lebendimpfung mit einem PRRS MLV. Dabei stellte die Arbeitsgruppe fest, dass Wiesenauer Minischweine einen höheren Antikörperspiegel aufwiesen als Pietrain. Weiterhin eliminierten die Minischweine das Virus früher und wiesen eine verkürzte Persistenz auf. Das Ergebnis ist mit dieser aktuellen Studie nahezu konform. So eliminiert die alte Rasse (TxT) das Virus als erstes aus dem Serum (Tag 16. p.i.) mit Ausnahme eines Schweines, welches erst nach Tag 36 p.i. das Virus eliminierte. LxT vollendet die Elimination des Virus am 28. Tag p.i., allerdings konnte bei 20 % der Tiere am Tag 64 p.i. nochmals das Virus nachgewiesen werden. LxP eliminiert das Virus am 36. Tag p.i..

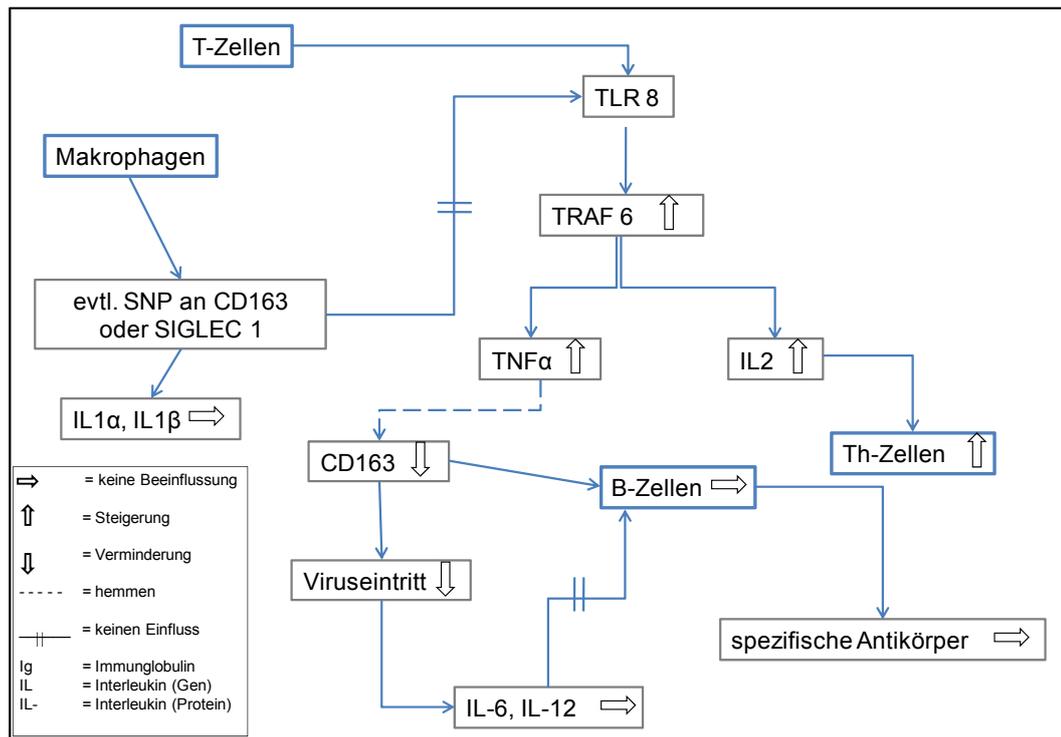
Aktivierung des Immunsystems durch PRRSV bei TxT

Abb. 60: Vereinfachte Darstellung der möglichen Wirkung von PRRS MLV bei TxT auf die Aktivierung des Immunsystems.

Allgemein ist zu sagen, dass das Eindringen des PRRSV für die weiteren Genregulationen von Interleukinen und Zytokinen entscheidend ist. So ist auffallend, dass am Tag 20 p.i. CD163 und SIGLEC1 bei TxT herabreguliert wird, wodurch es laut van Gorp et al. (2008) zu einer starken Reduktion der viralen Genexpression in den Makrophagen kommt. Grund dafür könnte ein single nucleotide polymorphism (SNP) innerhalb von CD163 oder SIGLEC1 beziehungsweise mit einer Mutation von beiden Rezeptoren sein, welche für das Eindringen des Virus in die Zellen verantwortlich sein könnten. SIGLEC1 wirkt als Kofaktor des CD163; beide sind wesentlich am Eindringen des Virus beteiligt (Vanderheijden et al. 2003, Dokland 2010). So entdeckten Ren et al. (2012) SNP auf SIGLEC1 und CD163, welche sie in Verbindung mit der Infektion von PRRSV bringen. Durch diese genomischen Veränderungen ist es möglich, dass es innerhalb derselben Rasse Individuen gibt, welche eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Virus besitzen könnten. In meiner Studie konnte allerdings nur die Expression der unterschiedlichen Rezeptoren gezeigt werden, nicht die Mutationen der jeweiligen Gene. Dies soll in einer weiteren Studie untersucht werden.

T-Zellen erkennen Fragmente des PRRSV über die TLR7/8 (Murphy et al. 2009). Am Tag 20 p.i. zeigte TxT eine deutlich erhöhte Expression gegenüber LxT für TLR8 und TRAF6, wodurch es zu einer gesteigerten Expression von TNF α und IL2 bei TxT kommt. Durch die Aufregulierung von IL2 können naive T-Zellen zu Th1-Zellen heran reifen. Durch die vermehrte Expression von TNF α findet eine Inhibition von CD163 statt (Onofre et al. 2009). Dadurch kommt es zu einem verminderten viralen Eintritt in die Zelle und die Konzentrationen von IL-6 und IL-12 im Plasma bleiben ohne signifikante Unterschiede. Liu et al. (2010) immunisierte Schweine mit PRRSV. Die Konzentration von IL-6 bei TxT entspricht den Werten der Kontrolltiere in dessen Studie. Die Genexpression von IL6 und IL12 weist keine signifikanten Regulationen auf. Eine Aufregulierung und erhöhte Konzentration von IL-6 induziert unter anderem das Wachstum und die Differenzierung von B-Zellen. Somit kommt es bei TxT nicht zu einer Aktivierung der Typ-2 Immunantwort. Daraus folgt, dass die Konzentration von spezifischen Antikörpern nicht ansteigt. Im Differentialblutbild ist zu erkennen, dass TxT die geringste Konzentration an Lymphozyten im Vergleich zu den anderen Rassen hat, wodurch diese Theorie gestützt werden könnte. Der Gesamtgehalt der Immunglobuline M und G wurden in dieser Studie gemessen um die Konzentrationsveränderungen im zeitlichen Verlauf zwischen den Rassen darzustellen. Es wurden keine Reaktionen auf die Immunsierung erwartet. Die Probenentnahme war bei der geimpften Gruppe in geringeren Abständen als bei der ungeimpften Gruppe. Um die Übersicht zu wahren, wurden die Ergebnisse in diesem Abschnitt dargestellt und diskutiert. LxT wiesen teilweise signifikant höhere Werte auf, als TxT und LxP.

Es ist bewiesen worden, dass die Mutation des Genes Mx1 zu Resistenzen gegenüber PRRSV bei infizierten Schweinen führen kann. Bei der Maus kann das Protein die Replikation der Influenzaviren minimieren (Stahli et al. 1985, Haller et al. 1998), nicht aber das Vesikuläres Stomatitis Virus (negativ single-strand-RNA) (Stahli et al.1985). Bei TxT findet eine signifikante Verringerung der Expression von Tag 4 auf Tag 71 p.i. statt. Chung et al. (2004) publizierten eine signifikante Erhöhung der Expression an Tag 7 nach Inokulation mit einer signifikanten Verringerung an Tag 10 nach Inokulation in der Zelllinie MARC-145. Dieser Zeitraum wurde in der aktuellen Studie nicht näher betrachtet, dennoch ist bei TxT zwischen Tag 4 und Tag 20 p.i. eine tendenzielle Abregulation zu erkennen. Einen noch schnelleren Anstieg der Expression berichteten Zhang et al. (1999). In der Zellkultur untersuchte Alveolarmakrophagen zeigten einen Anstieg der Expression von Mx1 schon 4 h nach PRRSV Infektion.

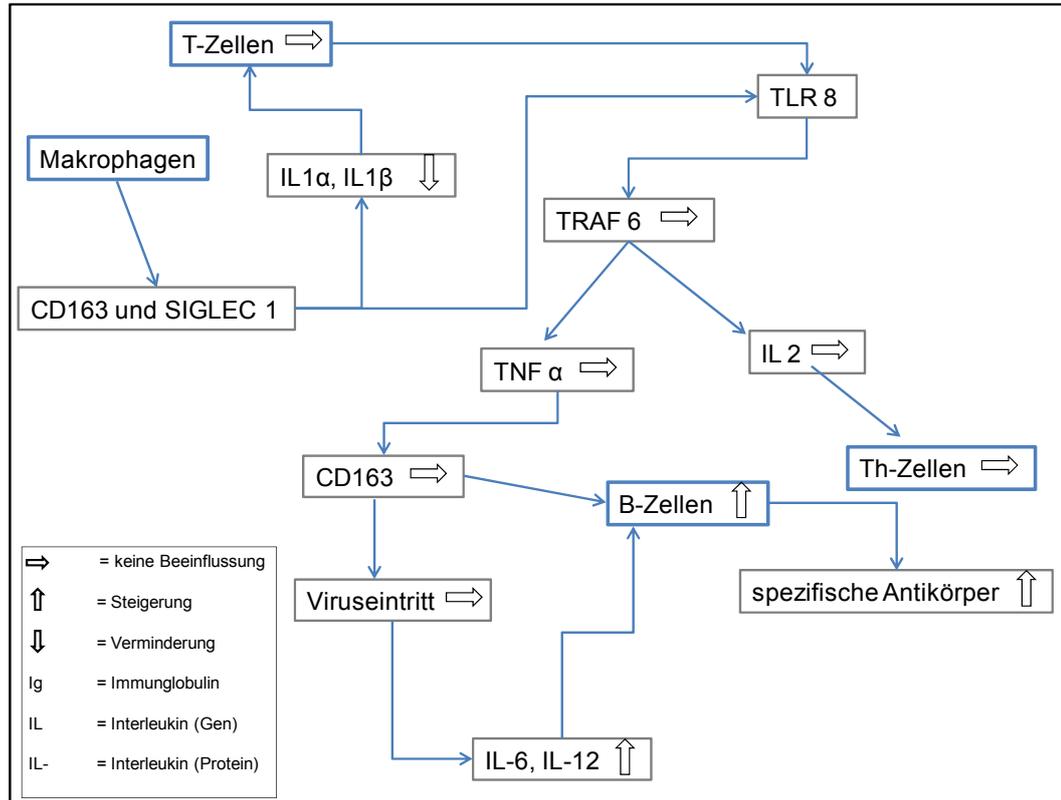
Aktivierung des Immunsystems durch PRRSV bei LxT und LxP

Abb. 61: Vereinfachte Darstellung der möglichen Wirkung von PRRS MLV bei LxT und LxP auf die Aktivierung des Immunsystems.

LxT zeigt nur eine verringerte Expression von SIGLEC1 mit gleichbleibender CD163 Expression. Dies könnte darauf hindeuten, dass die Vermehrung des Virus bei diesen Rassen nur unzureichend inhibiert wird. Vorab fällt auf, dass LxT bei allen hier untersuchten Interleukinkonzentrationen im Plasma einen höheren Basalwert aufweist, als die beiden anderen Rassen. Die Konzentration von IL-1β im Plasma fällt bis Tag 28 p.i. bei LxT deutlich ab. Die Genexpression an Tag 20 p.i. ist geringer als an den anderen Tagen. Die sukzessive Abnahme des Proteins und der Expression des Genes könnte auf die Apoptose der Makrophagen zurückgeführt werden, die durch ein virales zytotoxisches Protein oder durch ein zelleigenes Protein ausgelöst werden. Das Maximum der Apoptose wäre laut Suarez (2000) an Tag 25 p.i..

Ein stabiles Niveau ist ab dem 36. Tag p.i. bei LxT und LxP zu erkennen. Zu diesem Zeitpunkt sind auch bei beiden Rassen keine Virusfragmente mittels qRT-PCR nachweisbar. Dieser heftige Anstieg des IL-1β unterstützt die These eines frühen proinflammatorischen Parameters, welcher von Makrophagen freigesetzt wird (Holter und Neu 2006). Problematisch bleibt der gemessene Basalwert, welcher alle folgenden Werte übersteigt. Diese Tatsache könnte auf

eine inhibierende Wirkung des PRRS-Virus auf die proinflammatorischen Interleukine hindeuten. Indem das Virus an die Zelle andockt, könnte die Inhibierung für eine möglichst störungsfreie Replikation sorgen (Subramaniama et al. 2011). Die Werte, welche Liu et al. (2010) erfasst haben, liegen weit unter denen der beiden Rassen LxT und LxP. Der niedrigste Wert bei Liu et al. (2010) liegt bei 57 pg/ml, und die Peaks erreichen ca. 100 pg/ml. Die Arbeitsgruppe fand jeweils einen Peak an Tag 3 und 21 p.i., bei einem anderen viralen Stamm an Tag 7 p.i.. Diese Ergebnisse können nicht endgültig mit denen meiner Studie verglichen werden, da die Tage der Blutentnahme nach der Inokulation nicht übereinstimmen. Es wird in dieser Studie deutlich, dass keine Tendenz eines Peaks erkennbar ist. Die Reaktion der Interleukine ist wahrscheinlich nicht nur von der Rasse, sondern auch von der Virulenz des PRRSV-Stammes abhängig (Lowe et al. 2005, Petry et al. 2005, Vincent et al. 2006, Petry et al. 2007, Halbur et al. 2011, Lunney et al. 2011). Van Reeth und Nauwynck (2000) stellten in einer bronchoalveolären Lavage fest, dass die Konzentration an IL-1 fünf bis zehn Tage nach einer Immunisierung abnimmt. Auf Grund des geringen Wertes an IL-1 wird nur ein Anteil der T-Zellen aktiviert. Dies hätte zur Folge, dass es zu keiner vermehrten Expression von TRAF6 kommt. Dies ist deutlich bei LxT am 20. Tag p.i. zu erkennen. TRAF6 kann so TNF α nicht induzieren, welches für eine Inhibierung von CD163 verantwortlich ist (Onofre et al. 2009). Die Elimination findet in einem größeren Zeitraum statt als bei TxT.

Die geringere Genexpression von IL6 an Tag 4 und 20 p.i. und die hohe Konzentration im Plasma zwischen Tag -1 und 20 p.i. bei LxT lässt auf einen hohen Basalwert schließen. IL-6 ist im zeitlichen Verlauf dem zuvor beschriebenen Interleukin sehr ähnlich. Auch IL-6 ist ein früher proinflammatorischer Parameter. Liu et al. (2010) zeigten, dass IL-6 einen Peak im Blut an Tag 3 und 21 nach Inokulation aufweist. Die Konzentrationen des Interleukins decken sich mit den hier ermittelten Daten. In einer weiteren Studie (Gomez-Laguna et al. 2010) wurde gezeigt, dass Lungenmakrophagen den höchsten Peak an IL-6 an Tag 14 bis 24 p.i. hatten; dies könnte wiederum mit den LxT übereinstimmen. IL-6 induziert die B-Zelldifferenzierung, womit die höheren Konzentrationen spezifischen Antikörpern im Vergleich zu TxT erklären werden könnten.

Ein weiteres früh-proinflammatorisches Zytokin ist das IL-12. Eine Depression ist an Tag 4 p.i. zu erkennen, nach Tag 28 p.i. steigt die Konzentration wieder beträchtlich. Dies könnte durch Stressoren verursacht worden sein, da die

Schweine am Tag 32 p.i. vom Flatdeck innerbetrieblich in den Maststall umgestallt wurden (Tuchscherer und Manteuffel 2000). Danach fällt die Konzentration bis Tag 71 p.i. auf den Basalwert ab. Die Genexpression zeigt ähnliche Regulationen. Die Expremierung nimmt ab Tag 42 p.i. tendenziell zu. Die Erklärung könnte darauf beruhen, dass IL-12 zur Differenzierung der dendritischen Zellen hoch konzentriert sein muss, damit mehr Th1-Zellen gebildet werden können (Murphy et al. 2009).

Durch die Zytokine und an den Schwankungen im zeitlichen Verlauf ist zu erkennen, dass bei allen Tieren der attenuierte Virus in die Zellen eintreten und Reaktionen hervorrufen kann. Grundzüge der beschriebenen Interleukinexpression sind bei allen Versuchstieren ersichtlich, vor allem bei LxT. So wird am Tag 4 p.i. im Vergleich zu den folgenden Tagen IL10 hoch reguliert, dies wird in der Literatur bestätigt (Suradhat 2003a und b, Chung und Chae 2003). Eine erhöhte Expression zeigt auch Weesendrop et al. (2012, in press) sowohl an Tag 4 p.i. als auch in der zweiten Woche, welche weitaus stärker reguliert war. Die Genexpression deckt sich bis Tag 20 p.i. mit der Konzentration im Plasma. IL10 ist in der Lage die TLR, inklusive TLR7 und TLR8, zu inhibieren (Vicari und Trinchieri 2004). Dies ist deutlich bei LxT. So findet zwischen Tag 4 und Tag 20 p.i. eine tendenziell verringerte Expression von TLR7 und eine signifikant niedrigere Regulation von TLR8 statt.

Mx1 ist signifikant aufreguliert an Tag 4 p.i. im Gegensatz zu Tag 20 und 71 p.i.. Chung et al. (2004) stellten eine Regulation in der zweiten Woche nach Infektion mit PRRSV fest. Dieser Zeitraum wurde in meiner Studie nicht gemessen, dennoch ist eine Tendenz sichtbar.

LxP reagiert in der Viruselimination ähnlich wie LxT. Dennoch sind kleine Unterschiede angedeutet. Es sind keine Regulationen in der Genexpression von CD163 und SIGLEC1 sichtbar. Somit besteht der Verdacht, dass sich das Virus ungehindert in den Zellen vermehren kann. Weiterhin kommt es zu einer verringerten Expression von IL1 β , wenngleich nicht so deutlich wie bei LxT. Im Plasma fällt die Konzentration bis Tag 20 p.i. leicht ab. Dies könnte schon ausreichen, um T-Zellen zu aktivieren. Innerhalb des TLR8-Signalweges ist eine tendenzielle Aufregulierung von Tag 4 bis Tag 71 p.i. angedeutet. Durch den nahezu stabiler Konzentration des TNF α wird CD163 nicht inhibiert und PRRS MLV kann weiterhin in die Zelle eindringen. Die Expression von IL6 hat das Maximum an Tag 71 p.i. erreicht, wobei IL6 an diesem Tag signifikant höher reguliert ist als an Tag 4 p.i.. Eine Konzentrationserhöhung von IL-6 im Plasma

an Tag 12 p.i., mit einem darauf folgenden Abfall des Gehaltes bis an Tag 50 p.i., ist deutlich zu erkennen. Beachtet man die zeitliche Verzögerung zwischen Expression und Erscheinen des Proteins im Plasma, wird deutlich, dass die Messung der Genregulation zu große Abstände hat um eine definitive Aussagekraft aufzuweisen. Auf einen erhöhten Gehalt an IL-6 könnte eine Aktivierung der B-Zellen folgen. Dies wird mit zeitlicher Verzögerung durch hohe Konzentrationen von Immunglobulinen und spezifischen Antikörpern sichtbar. Einen tendenziell ähnlichen Verlauf findet man auch bei der Expression von IL12, wobei die Plasmakonzentration im Verlauf der Zeit stetig fällt. Chung und Chae (2003) fanden heraus, dass die Konzentration an IL-12 in Lungenmakrophagen vom Tag 5 bis Tag 15 p.i. abfällt. Dies könnte mit LxP übereinstimmen, da diese Rasse eine nicht signifikante Abnahme zwischen Tag 4 und 14 p.i. aufweist. Auch die Expression von IL2 ist nur tendenziell reguliert und erreicht das Maximum erst an Tag 71 p.i.. Das könnte zu einer späten Induktion der Th-Zellen führen. Dadurch ließe sich erklären, dass der Virus vermehrt in den Tonsillen bei LxP zu finden ist.

LxP zeigt keine signifikante Regulation der Genexpression von Mx1. Wie schon bei LxT und TxT erwähnt, ist ein signifikanter Anstieg oder eine Verringerung in diesen hier gewählten Zeitpunkten der Probenentnahme nur vage zu beurteilen. Der Einfluss auf die Resistenz oder Widerstandsfähigkeit gegenüber PRRSV ist in der Literatur sehr umstritten. Da sich das Protein im Zellkern der Makrophagen befindet, wird es als fraglich diskutiert, ob es die virale Replikation, welche im Zytoplasma stattfindet, inhibieren kann (Cheon et al. 1997, Cheon und Chae 1999). Daher wird angenommen, dass eventuell eine Inhibition der viralen mRNA oder die Synthese der viralen Proteine stattfindet (Pavlovic et al. 1992). Umstritten ist in der Literatur, ob Mx1 bei einer viralen Infektion nach oder gleichzeitig mit Interferon synthetisiert wird und so eine maßgebliche Rolle in der angeborenen Immunantwort innehat (Muller et al. 1994, Horisberger 1995, Chung et al. 2004, Wang et al. 2012b). Wang et al. (2012b) infizierten reinrassige Landrasse Ferkel mit PRRSV und wies im Serum die Antikörperkonzentration nach. Die Serumproben wurden am ersten Tag im Abstand von zwei Stunden entnommen. Weiterhin untersuchte er Polymorphismen in Mx1. Schweine mit TT oder CC Genotyp hatten am ersten Tag eine höhere Konzentration an Antikörpern als der Genotyp CT. Diese Mutation hat einen Wechsel der Aminosäuren Gly (Glycin) zu Val (Valin) zur Folge. Somit scheint nicht die signifikante Aufregulation der Genexpression von Mx1 für die Resistenz gegen ein Virus ausschlaggebend zu sein. Vielmehr

scheint die Konzentration der Antikörper von SNPs gesteuert zu werden. Daher ist es nicht verwunderlich, dass SNPs zwischen Landschwein und Yucatan Minischwein nachgewiesen werden konnten (Morozumi et al. 2001).

Für die genetisch veranlagte Resistenz spricht auch, dass Vincent et al. (2006) einen unterschiedlichen Virustiter bei White Large und bei Pietrain x Duroc in den Makrophagen gefunden haben. So war am Tag 10 nach der Injektion von PRRS-Viren der Titer der zweiten Rasse höher als bei Large White, allerdings an Tag 21 p. i. drehte sich das Verhältnis um. Ein Jahr früher publizierte Vincent et al. (2005) bei unterschiedlichen Rassen einen Unterschied zwischen Schweinerassen in der Aktivierung der Makrophagen. Dennoch scheint der Zeitpunkt der Aktivierung des Immunsystems für die weitere Virämie und auch für die Persistenz entscheidend zu sein (Duan et al. 1997a,b). Eine schnelle Elimination ist wichtig, da sich das Virus z.B. durch Verkauf persistent infizierter Schweine weiterverbreiten kann (Vincent et al. 2006).

Es gibt Hinweise, dass TxT widerstandsfähig gegen das PRRS MLV ist. Weiterhin ist die Persistenz bei dieser Rasse nur minimalistisch oder gar nicht ausgeprägt. LxT lässt den Verdacht aufkommen, dass die Rasse, zumindest im Vergleich zu LxP, eine gewisse Widerstandsfähigkeit besitzen. Bei 16 % der LxT und bei 26 % der LxP sind in der 20. LW noch Fragmente des Virus in den Tonsillen nachweisbar. Nicht abschließend geklärt werden konnte, ob Polymorphismen in den Rezeptoren CD163 oder SIGLEC1 für die unterschiedliche Immunreaktion der verschiedenen Rassen verantwortlich sind. Oft sind es nicht Mutationen an einzelnen Genen, welche zu Resistenzen verschiedener Rassen beitragen, sondern zahlreiche Polymorphismen der unterschiedlichen Gene. Allerdings hat Reiner (2012, in press) bei Meishanschweinen entdeckt, dass die Resistenz gegenüber PrV an einem einzelnen Gen manifestiert ist. Eine Vererbbarkeit und Selektierbarkeit der Widerstandsfähigkeit wurde in anderen Tierarten schon bewiesen, z.B. für die Aviäre Leukose oder die Mark'sche Krankheit beim Huhn (Cole 1968). Beim Schwein werden in Nordamerika nur noch nicht-F18-empfindliche Eber zur Zucht eingesetzt, welche eine Resistenz gegenüber E. coli des Filamenten-Typs 18 (Vögeli et al. 1997) aufweisen.

3. Beeinflussung der Immunregulation durch Stress bei nicht geimpften Schweinen

Stresseinfluß auf die Lymphozytenproliferation

In dieser Studie wurden Lymphozyten mittels Mitogen stimuliert, jeweils nach einer Stressphase und zweimal unabhängig von einem bewusst gesetzten Stressor. Zwei bis drei Tage nach dem Stressor zeigt TxT eine signifikant geringere Proliferationsbereitschaft als die beiden anderen Rassen. Auch bei der Probenentnahme ohne Stressor wird sichtbar, dass die Proliferationsbereitschaft von TxT deutlich geringer ist als bei den anderen Rassen. Als Stressor wurde in dieser Studie das Absetzen und das Umstallen der Tiere in einen anderen Stall mit anderer Fütterungstechnik genommen. Reed und McGlone (2000) verglichen die Lymphozytenproliferation der PIC Camborough-15 (C-15) mit C-15 mit 25 % Meishan Anteil. Lymphozyten von C-15 reagierten heftiger auf die Zugabe eines Mitogens als die Zellen der Tiere mit Meishan-Anteil. McGlone et al. (1993) untersuchten die immunologische Reaktion auf Transportstress. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass nach einem vierstündigen Transport Schweine mit niedrigem bzw. intermediärem Sozialstatus signifikant verringerte NK-Zytotoxizität aufwiesen. Diese Situation kann das Infektionsrisiko erhöhen. Der Stress durch den Transport führte auch zu einer Verringerung der Lymphozyten- und einem Anstieg der neutrophilen Granulozytenanzahl. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass die Lymphozytenproliferationsrate der Sauen nach Mitogenstimulierung trotz erhöhter Kortisolwerte unbeeinflusst blieb. Dieses Phänomen unterstützt die Diskussion der Steroidresistenz an den Lymphozyten der erwachsenen Sauen (Yang und Schultz 1986). Auch bei älteren Mastferkeln verändert sich die NK-Zytotoxizität nach peripherer Gabe von Kortisol oder ACTH nicht (Salak-Johnson et al. 1996). Bei Mastferkeln im Alter von 64 Tagen führt eine Stresssituation, hier in Form des Zusammenstallens sich untereinander unbekanntem Ferkeln, zu einer signifikanten Erhöhung der mitogeninduzierten Lymphozytenproliferation im Vergleich zu den Kontrolltieren vom dritten bis zum neunzehnten Tag nach dem Mischen der Ferkel (DeGuchi und Akuzawa 1998). In dieser Studie ist deutlich sichtbar, dass TxT in der induzierten Proliferation der Lymphozyten weniger heftig auf das Umstallen reagieren als die beiden anderen Rassen. Dieses Ergebnis könnte man demnach mit einer Widerstandsfähigkeit gegenüber Stress in Zusammenhang bringen.

Tuchscherer et al. (1998) fanden heraus, dass auch bei Schweinen im Alter von zwölf Wochen durch einen Stressor (Zusammenstallen fremder Tiere), je nach Hierarchiestatus des jeweiligen Schweines, die durch Mitogen stimulierte Lymphozytenproliferation unterschiedliche Ergebnisse aufwies. Dominante Tiere zeigten eine höhere Proliferationsfähigkeit als sozial niedrigstehende Schweine. Außerdem fand die Arbeitsgruppe heraus, dass die subdominanten Tiere nach verlorenem Rangordnungskampf an zellvermittelnder Immunkapazität verlieren, im Gegensatz zu den dominanten Schweinen, die an zellulärer Immunkompetenz gewinnen. So scheint die T-Zell-vermittelte Immunantwort enorm sensitiv gegenüber sozialen Stressoren zu sein. Eine Belastung auf sozialer Ebene kann diese Immunantwort entweder stimulieren oder minimieren. So reagieren dominante Schweine auf eine Infektion mit Aujeszky Virus widerstandsfähiger, ja sogar resistent, im Vergleich zu subdominanten Tieren (Hessing et al. 1994). Ist das Platzangebot (langanhaltender Stressor) innerhalb einer Gruppe zu gering, reagieren alle Tiere, unabhängig ihrer sozialen Stellung, mit einer T-Zell-vermittelten Immunsuppression (Barnett et al. 1992). So scheint es, dass ein langanhaltender Stressor immunsupprimierend wirkt. Ein weiteres Beispiel für einen solchen Stressor ist eine langanhaltende Temperaturerhöhung von 21 °C auf 32 °C (Becker und Misfeldt 1995). In dieser Studie ist zu berücksichtigen, dass die mitogeninduzierte Proliferation nur nach Umstallung und nicht nach Vermischen der Gruppen stattgefunden hat. Da kein Tier während des Umstellens und dem Aufenthalt im Probemaststall verstorben ist, kann man die Hierarchiekämpfe auf Grund neuer Gruppenbildung vernachlässigen. Dennoch steht im Maststall nur ein Futterplatz für neun Tiere zur Verfügung (LxT und LxP). So gibt es gerade am Anfang nach dem Umstallen Kämpfe zwischen den Schweinen um die Quantität der Futterabholung und -aufnahme. TxT waren, im Gegensatz zu den anderen Rassen, in zweier bis vierer Gruppen eingestallt. So ist vorstellbar, dass die Rangkämpfe schneller beendet waren als bei LxT und LxP.

Beeinflussung der Genexpression und Proteinkonzentration von Interleukinen durch Stress

Tuchscherer et al. (2010) zeigten, dass sich die immunologische Reaktion auf Stress im Alter der Schweine (zwischen 4 und 12 Wochen) verändert. Als Stressor wurde eine vierstündige Isolation eines Schweines von der Gruppe verwendet. So steigt TNF α im Alter von 35 Wochen weniger stark im Vergleich zu den Kontrolltieren (siebte Lebenswoche) an. Im Bezug auf die unterschiedlichen Reaktionen von TNF α sind in dieser Studie keine Unterschiede zwischen den Rassen bzw. im zeitlichen Verlauf sichtbar. Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Blutproben eventuell zu spät nach dem Stressor genommen worden sind. TNF α reagiert sehr empfindlich auf die negative Rückkopplung von Glukokortikoiden. TNF α kann eine Reaktion des Hypothalamo-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems (HPA-Reaktion) auslösen, die zu einer Immunsuppression führen kann (DeRijk et al. 1997, Bauer et al. 2000, Avitsur et al. 2001, Stark et al. 2001, Rohleder et al. 2003).

IL-6 zeigte im zeitlichen Verlauf deutliche Unterschiede zwischen den Rassen. LxT weist die höchste Plasmakonzentration an IL-6 nach dem Absetzen auf. Die Konzentration fällt danach auf ein konstant niedrigeres Niveau. TxT zeigt im Vergleich dazu an allen Zeitpunkten eine konstant niedrige Plasmakonzentration an IL-6, während LxP erst am letzten Zeitpunkt eine erhöhte Konzentration aufweist. Glukokortikoide üben durch negative Rückkopplung eine inhibierende Wirkung auf die Stressachse aus. Der Einfluss geschieht auf der Ebene der Hypophyse, des Hypothalamus und des Hypocampus. Somit wird die HPA-Achse indirekt inhibiert (De Kloet und Reul 1987). Durch diesen Mechanismus wird IL-6 in der Sekretion indirekt inhibiert und es werden keine weiteren APP induziert. Auch das Wachstum und die Differenzierung der B-Zellen werden vermindert. Durch eine geringe Konzentration von IL-6 werden keine weiteren zytotoxischen T-Zellen differenziert (DeRijk et al. 1997, Rohleder et al. 2003). Es wäre möglich, dass die negative Rückkopplung von Glukokortikoiden bei LxT am geringsten ist, beziehungsweise später zu Stande kommt als bei den anderen Rassen. In der Genexpression von IL6 ist zu erkennen, dass LxT nach dem Umstallen von Flatdeck in den Maststall signifikant höhere Werte zeigt als LxP. Das lässt vermuten, dass die Konzentration im Plasma wieder ansteigen könnte. Durch die großen zeitlichen Abstände der Probenentnahme könnte der Anstieg im Plasma nicht nachgewiesen worden sein. Im Allgemeinen ist zu erkennen, dass TxT keine Regulation aufweist.

Im zeitlichen Verlauf der Konzentration im Plasma von IL-12 ist deutlich zu erkennen, dass LxT und LxP am ersten Termin der Blutentnahme signifikant erhöht ist. Wobei TxT keine Konzentrationsunterschiede im zeitlichen Verlauf zeigt. Die Genexpression zeigt bei allen Rassen keine Regulationen. Da die Blutproben ein paar Tage nach dem Umstallen entnommen worden waren, kann es sein, dass die Regulation nicht erfasst wurde.

Ein Interleukin, welches zur Kommunikation zwischen den Stressmechanismen und dem Immunsystem eine wichtige Rolle innehat, ist IL-1. So kann es bei höherer Genexpression beziehungsweise bei einer höheren Konzentration im Organismus zu Fieber, Schläfrigkeit und Verminderung der Futteraufnahme führen. IL-1 β ist von zentraler Bedeutung (Tuchscherer und Manteuffel 2000). Nach dieser Theorie exprimiert TxT IL1 β höher an den ersten zwei Zeitpunkten im Vergleich zu den anderen beiden Rassen. Dies hätte zur Folge, dass die alte Rasse noch 2-3 Tage nach dem Stressor durch das Immunsystem die HPA-Achse stimuliert ist. Im weiteren zeitlichen Verlauf ist zu erkennen, dass die Tiere der alten Rasse deutlich weniger IL1 β exprimieren als LxT und LxP. Das könnte zur Folge haben, dass die alte Rasse auf Stressoren heftiger als andere Rassen reagieren würde. Bei Ratten wurde erforscht, dass die Konzentration an IL-6 im Plasma signifikant steigt bei einer Erhöhung der Elektroschockanzahl, wobei bei einer Anzahl von 10 Schocks noch keine Reaktion zu erkennen ist, erst ab einer fünffach höheren Dosis. Bei IL1 β ist schon eine Konzentrationserhöhung bei zehn Schocks zu erkennen (Maslanik et al. 2013, in press). Wenn man das auf die hier getesteten Schweine bezieht, ist die Reaktion der TxT so zu erklären, dass sie zwar gestresst ist, zu sehen an der hohen IL1 β Expression, allerdings nicht einem so großen und langanhaltenden Stress ausgesetzt ist wie die anderen Rassen, die auch deutlich erhöhte IL-6 Konzentrationen im Plasma aufweisen. IL-10, als Antagonist der proinflammatorischen Interleukine, zeigt bei allen Rassen eine abnehmende Tendenz. Bei Ratten wurde findet eine Regulation bei geringeren Stressfaktoren statt. Allerdings ist bei einem langanhaltendem Stressor weniger IL-10 im Plasma nachweisbar, da eine Gewöhnung eintritt (Maslanik et al. 2013, in press).

Die Unterschiede der verschiedenen Rassen sind deutlich: LxT und LxP reguliert vor allem IL6 und IL12. Somit könnte die Infektion zu einer Aktivierung der B-Zellen führen. Ferner kommt es zu einer vermehrten Produktion der Immunglobuline. Im Gegensatz dazu aktivieren TxT die T-Zellen durch IL1 β , dies hätte eine verminderte Produktion von Immunglobulinen zur Folge, allerdings auch eine schnellere zytotoxische Antwort.

Beeinflussung des Differentialblutbildes und der Immunglobuline M und G durch Stress

In dieser Studie wurden keine Signifikanzen in der Anzahl der Leukozyten zwischen den Rassen und im zeitlichen Verlauf sichtbar (Daten nicht gezeigt). Tendenziell ist zu erkennen, dass TxT eine höhere Konzentration der verschiedenen Zellen aufwies als LxT und LxP. Alle Rassen nahmen tendenziell an Lymphozytenanzahl im Alter zu. Bei LxP nahm die Leukozytenkonzentration tendenziell zu. Die beiden anderen Rassen wiesen keine Unterschiede auf. Im Gegensatz dazu steht folgende Studie: Sutherland et al. (2005) untersuchte vier unterschiedliche Rassen in Bezug auf ihren prozentualen Lymphozyten- und Leukozytengehalt. Bei allen Schweinerassen nahm die Konzentration an Lymphozyten zu. Die Leukozytenanzahl verringerte sich im Verlauf der Zeit. Berkshire ist eine traditionelle Rasse ähnlich wie Turopolje. Berkshire hatte im Vergleich zu Duroc, Meishan, Large White x Landrasse und Yorkshire den geringsten Gehalt an Leukozyten, sowohl im Alter von 4, 8 und 12 Wochen, dies ist wiederum konträr zur aktuellen Studie. Reed und McGlone (2000) verglichen zwei Genotypen von Schweinen, zum einen PIC Camborough-15 Schweine und zum anderen PIC Camborough-15 Schweine mit einem 25%-igen Meishan-Anteil. Im Differentialblutbild stellte man keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Rassen fest. Dies stimmt mit den Ergebnissen dieser Studie überein.

Die Konzentrationen der Immunglobuline G und M sind bei LxT und LxP signifikant höher als bei TxT, mit Ausnahme der ersten Blutprobenentnahme. Im zeitlichen Verlauf steigt die Konzentration beider Immunglobuline bei LxT und LxP signifikant bis zur dritten Probenentnahme. Bei TxT pendelte sich die Konzentration nach dem zweiten Termin auf ein Niveau ein. Die Studie von Sutherland et al. (2005) untersuchte den Gehalt von IgG. Hier zeigt die „robuste Rasse“ Berkshire eine höhere IgG Konzentration als die anderen Rassen der Studie. Allerdings wird sichtbar, eine Ausnahme stellen hier die Meishan dar, dass der IgG-Spiegel im Alter an Konzentration zunimmt. Das ist auch in der aktuellen Studie deutlich zu sehen. Dennoch zeigt die Studie von Sutherland et al. (2005), wie auch die aktuelle, dass es sowohl im Differentialblutbild als auch im Gehalt der Immunglobuline eine genetische Varianz zu geben scheint.

Wenn man das Differentialblutbild und die Immunglobulinkonzentration von IgG und IgM in Zusammenhang mit der zuvor diskutierten Genexpression in den Lymphozyten und der Proteinkonzentration im Plasma bringt, bestätigt sich die

Hypothese, dass sich die immunologische Reaktion der hier untersuchten Rassen grundlegend unterscheidet. So scheint es, dass LxT und LxP durch IL6 die B-Zellen aktivieren und vermehrt Immunglobuline gebildet werden, wohingegen TxT die T-Lymphozyten induziert.

Weiterhin besteht eine Tendenz, dass TxT auf Stress, der hier durch Absetzen und Umstallung ausgelöst wurde, robuster reagieren als LxT und LxP. Generell ist zu erwähnen, dass die Reaktion auf Stress stark vom Individuum abhängt. Auch das Verhalten der einzelnen Tiere sollte mit betrachtet werden (von Borell 2000). Aber nicht nur Stress hängt von vielen, teils nicht beeinflussbaren Faktoren ab, sondern auch die physiologischen Werte (Kaneko 1997, Edfors-Lilja et al. 1998, Reed und McGlone 2000, Salajpal et al. 2008). So wurde von Dikic et al. (2008) festgestellt, dass reinrassige Turopolje signifikante Unterschiede in den Konzentrationen von Glucose und Kreatinin im Blut im Vergleich zu ihrer Kreuzung mit einer modernen Rasse (CSL (♀Swedish Landrace (SL) x ♂CHypor) x Turopolje).

4. Wurfparameter und Fleischqualität

Auf Grund der Qualität des Schlachtkörpers von LxT ist diese Rasse für eine konventionelle Stallhaltung geeignet. Turopolje ist explizit gezüchtet für die nicht-konventionelle Haltung in Wäldern mit restriktiver Fütterung (Dikic et al. 2008). In Deutschland und Kroatien gibt es keine Maßnahmen, alte, fettreiche Rassen zur kommerziellen Mast aufzunehmen. In Spanien und Italien hat man die Vorzüge der Fleischqualität dieser alten Rassen zu schätzen gelernt (Serra et al. 1998). Nicht zu vernachlässigen ist außerdem, dass die Wurfgröße der Turopolje zu klein ist, um auf dem Weltmarkt Bestand zu haben. Die Wurfgröße wird in anderen Publikationen zwischen 6,67 und 8,56 Ferkeln pro Sau (Dikic et al. 1999) beschrieben. Deshalb wurde in Österreich die Erhöhung der Wurfgröße als Zuchtziel festgesetzt (Druml 2011). Ein Aspekt für die Zucht von LxT ist, dass sie die größten Würfe aller hier untersuchten Rassen hatten. Betrachtet man die Sau, welche 18 Ferkel im Wurf hatte (davon sechs Totgeburten), dann wäre die Wurfgröße gleichzusetzen mit LxP. Allerdings wäre die Mortalität geringer als bei LxP. Die statistische Fragwürdigkeit bleibt unumstritten. Daher ist die Anzahl (n=3) zu gering gewählt, um aussagekräftig zu sein. Dennoch ist deutlich sichtbar, dass die Deutsche Landrasse auch mit der Belegung eines Turopolje-Ebers keine Verluste in der Wurfgröße aufweist. Umgekehrt ist eine Einbuße der Wurfgröße gegeben (Dikic et al. 2008). Die

Verluste an Ferkeln zwischen der ersten und der 20./25. Lebenswoche (LW) sind alle in der Säugephase aufgetreten. Der pathologische Grund blieb ungeklärt, da keine Verletzungen oder Krankheiten zu erkennen waren. Während der Versuchsdauer wurden keine Krankheiten an den Versuchstieren festgestellt, auch kamen keine Schweine wegen Krankheit ums Leben.

Die tägliche Futtermittelaufnahme ist zwischen den drei Rassen unterschiedlich. TxT hat die größte Futtermittelaufnahme am Tag, eventuell aus dem Grund, dass die Schweine in Zweier- bis Vierergruppen gehalten wurden. Durch die geringe Hierarchie konnte ohne Rangelei und Stress Futter aufgenommen werden. Einen guten Vergleich gibt es zwischen der LxT und LxP, da hier alle Schweine in einer Gruppengröße von acht Tieren gehalten wurden. Die tägliche Futtermittelaufnahme ist bei LxP geringer als bei LxT. Ein weiterer Faktor für die hohe Futtermittelaufnahme kann auch sein, dass die Futterzusammensetzung an die Ansprüche von LxP angepasst wurde. Acciaioli et al. (2002) publizierte ähnliche Ergebnisse. Es wurde hier gezeigt, dass die bodenständige Rasse (Cinta Senese) eine höhere tägliche Aufnahme hat als die Kreuzung aus einer modernen (Large White) und der alten Rasse.

Neben der vermehrten Futtermittelaufnahme weist LxT eine höhere Gewichtszunahme und ein tendenziell höheres Schlachtgewicht als LxP auf. LxT nimmt in den fünf Wochen zwischen den beiden Schlachtungen deutlich zu, wobei der Fettanteil prozentual steigt. Dies könnte durch eine restriktivere Fütterung in den letzten Wochen der Mast eventuell verhindert werden. Es ist nicht selten, dass die Kreuzungstiere längere Schlachtkörper haben als die modernen und alten Rassen. Der lange Körper ist für die Nutzscheine, welche zur Zucht nicht zugelassen werden, nicht elementar, wie z.B. bei LxP. Wichtig ist die größere Körperlänge für Zuchtscheine, die ähnlich der Deutschen Landrasse einen langen Körper aufweisen sollten, um mehr abdominalen Raum für größere Würfe zu haben (Franci et al. 2003, Sirtori et al. 2011).

In der Untersuchung des Fleisches wurden nur die physikalischen und chemischen Parameter gemessen. Es wurden keine geschmacklichen Studien durchgeführt. Dennoch ist ein Zusammenhang zwischen den chemischen und physikalischen Werten und zum Geschmack und zur Qualität erkennbar. Die Fleischqualität hängt von vielen Faktoren ab, zum einen von der Genetik, aber auch von der Qualität des Futters in der Endmast, dem Transport und der Handhabung der Tiere kurz vor der Schlachtung (Armero 1999). Ein Indikator für gute Fleischqualität ist nicht nur der Tropfsaftverlust, sondern auch das intramuskuläre Fett (IMF) und die Leitfähigkeit. IMF ist ein Indikator für die

Weichheit und die Konsistenz des Fleisches, wobei das Minimum 1,5 % betragen sollte, um ein geschmackliches Erlebnis zu haben (Fortin et al. 2005). In diesem Versuch liegt LxP mit 1,18 % weit unter dem in der Literatur angegebenen Minimum. Die Korrelation zwischen Schmackhaftigkeit und IMF ist in der Literatur belegt (Blanchard et al. 1999, Ferandez et al. 1999, Wood et al. 2004, Fischer et al. 2006). Bei TxT gilt die Fleischqualität durch den hohen Prozentsatz an intramuskulärem Fett als hervorragend. Dennoch ist die geringe Fleischfläche im Verhältnis zu der Fettfläche ökonomisch nicht haltbar. In dieser Studie konnte aufgezeigt werden, dass die Zucht von LxT einerseits wirtschaftlich bleibt und andererseits die Fleischqualität im Aspekt des Geschmacks, der Textur und der Saftigkeit den heutigen Ansprüchen entspricht. LxT wies ein IMF von $1,43 \% \pm 0,04 \text{ SEM}$ und TxT von $2,15 \% \pm 0,03 \text{ SEM}$ auf. Auch in anderen Veröffentlichungen erkennt man einen kontinuierlichen Verlauf des IMF-Gehaltes. So besitzen alte Rassen einen hohen Gehalt, die Kreuzungen von alten und modernen Rassen decken das Mittelfeld ab, die geringste Konzentration weisen die modernen Rassen auf (Ellis et al. 1996, Serra et al. 1998). Weitere Qualitätsmerkmale sind die Leitfähigkeit und der Tropfsaftverlust. Lapp (2009) untersuchte Schweine mit unterschiedlichem Durocanteil. Die Qualität ließ kontinuierlich mit sinkendem Durocanteil nach. Ähnliches konnte auch in einer Studie von Jüngst und Tholen (2007) gezeigt werden. Laube et al. (2000) konnte zeigen, dass eine Haltung von Schweinen mit einem Anteil an alter Rasse wirtschaftlich sein kann. Der Tropfsaftverlust steht in Verbindung mit der Stressresistenz. Pietrain galt in der Vergangenheit als stresslabil. Dies gilt auch für Hybridschweine, welche als Vaterlinie die Pietrain Eber aufweisen (Dudenhoff et al. 2011). Dieser Parameter ist auf der einen Seite genetisch bedingt (van Wijk et al. 2005, Borchers et al. 2007), auf der anderen Seite ist er beeinflussbar durch das Handling der Tiere vor dem Schlachtprozess und den Schlachtprozess selbst (Huff-Lonergarn 2010, Schellander et al. 2010). Beides sind essentielle Faktoren für eine gute Fleischqualität. Auch wirtschaftlich betrachtet ist der Tropfsaft von Bedeutung. Durch das bessere Vermögen den Fleischsaft zu halten, ist das Fleisch schwerer und kann so besser verkauft werden (Dudenhoff et al. 2011). Im Vergleich zwischen TxT ($4,62 \% \pm 0,47 \text{ SEM}$) und LxP ($4,04 \% \pm 0,41 \text{ SEM}$) ist die Fleischqualität in Bezug auf Tropfsaftverlust bei der alten Rasse deutlich besser. LxT ($4,54 \% \pm 0,44 \text{ SEM}$) steht hier im Mittelfeld. Bei der Messung der Leitfähigkeit zeichnen sich dieselben Tendenzen ab.

In der Vergangenheit wurde viel über PSE-Fleisch diskutiert, welches mittels des pH-Wertes kontrolliert werden kann. 24 h nach der Schlachtung sollte der pH-Wert nicht über 7,8 sein (Braun und Müller 2006). Alle hier untersuchten Rassen wiesen eine pH-Wert zwischen 5 und 6 auf.

SEUROP-Klassifizierung basiert auf der Bonner Formel. Mit Hilfe dieser Klassifizierung wird der Marktpreis der einzelnen Schweinehälften festgesetzt. Die Einteilung der Schweinehälften dient dazu, das Fleisch auf Grund verschiedener Parameter in unterschiedliche Handelsklassen einzuteilen. Die Parameter wurden hier schon zum Teil diskutiert, wobei in dieser Bewertung vor allem auf die Wünsche des Verbrauchers (z.B. Magerfleisch) eingegangen wird und nicht unbedingt auf geschmackliche oder qualitative Komponenten. So ist es wenig erstaunlich, dass LxP durchgehend eine S-Bewertung hat, LxT die Klassen S bis R und TxT die schlechteste Bewertung aufweist. Durch die große Fettfläche und der damit resultierenden kleinen Fleischfläche der TxT, kann das Fleisch dem Verbraucher nicht verkauft werden. Der Kilopreis ist durch den prozentual geringen Fleischanteil niedriger als bei einem umgekehrten Verhältnis (LxP und LxT).

Im Hinblick auf diese Studie ist es möglich, Nutzschweine mit einem jeweiligen Anteil von 50 % Deutsche Landrasse und Turopolje in einer konventionellen Aufstallung zu mästen, die Fleischqualität zu verbessern, aber die Mastleistung nicht zu verringern. Durch eine Optimierung der Futterzusammensetzung auf die Bedürfnisse von LxT könnte der Fettanteil eventuell verringert werden. Des Weiteren wäre interessant, wie sich die Parameter bei unterschiedlichem Turopoljeanteil verändern. Dabei könnten auch die Zuchteigenschaften wie Wurfgröße, Geburtsverhalten und Mütterlichkeit untersucht werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich LxT als Nutzrasse eignet, ähnlich wie die Hybridschweine (LxP).

VI. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK

Im gesamten Kontext betrachtet wurde in dieser Studie gezeigt, dass TxT gegenüber des PRRS MLV widerstandfähiger reagieren als die beiden anderen Rassen. TxT scheint das Virus mit Hilfe eines anderen Mechanismus zu eliminieren, durch Aktivierung der T-Zellen und nicht wie die LxT und LxP mit Hochregulation der B-Zellen. Weiterhin scheinen die Rassen sich in der immunologischen Reaktion auf Stress zu unterscheiden. So stellt sich LxP stresslabiler dar als LxT und TxT. In der Fleischqualität steht aus physikalischer und chemischer Sicht TxT am besten dar. Durch das schlechte Fett-Fleischverhältnis ist TxT für die konventionelle Mästung aber nicht geeignet. LxT dagegen wäre für die industrielle Mast sehr gut geeignet, da die Tiere in der Fleischqualität bessere Werte aufweisen als LxP. Ferner wachsen sie nicht deutlich langsamer und die Fettauflagerungen unterscheiden sich nicht von LxP. Somit lohnt es sich die traditionelle Schweinerasse Turopolje zu erhalten und mit einer moderneren Rasse zu kreuzen.

In weiteren Untersuchungen zur Erhärtung der Ergebnisse dieser Studie sollen SNPs auf verschiedenen Genen bei den drei Rassen, wie zum Beispiel CD163 und SIGLEC1 untersucht werden. Ferner wird noch die Konzentration der neutralisierenden Antikörper gegen PRRS MLV gemessen, um eventuelle Konzentrationsunterschiede zwischen den Rassen aufzuzeigen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Studie wurde die Kompetenz des Immunsystems von Turopolje (TxT), Deutsche Landrasse x Pietrain (LxP) und Deutsche Landrasse x Turopolje (LxT) verglichen. Die verschiedenen Rassen sind Vertreter einer alten und einer modernen Rasse und einer Kreuzung von beiden. Hauptziel war es zu untersuchen, ob sich die verschiedenen Rassen in ihrer Immunabwehr gegenüber einer Infektion unterscheiden und wie das Immunsystem durch Stressoren belastet wird. Außerdem wurde untersucht, ob sich LxT zur kommerziellen Mast eignet.

Unterschiede in der Sekretion von Immunglobulin G und M im Kolostrum und reifen Milch der Deutsche Landrasse und Turopolje Sauen, sowie deren Aufnahme durch die Ferkel wurde mittels ELISA untersucht. Nach dem Absetzen der Ferkel wurden zwei getrennte Gruppen gebildet:

Die erste Gruppe wurde mit einem attenuierten Lebendimpfstoff gegen das Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRS MLV) immunisiert, um eine Infektion zu simulieren. Die Fragmente des PRRS MLV wurden aus dem Serum, den Leukozyten, den Tonsillen und dem Lymphonodus tracheobronchale extrahiert und mittels qRT-PCR gemessen. Durch ELISA wurden die Konzentrationen der Interleukine-1 β , 6, 10 und 12 gemessen. Die Genexpression von CD163, SIGLEC1, Mx1, TLR7 und TLR8, TRAF6, Myd88, Interleukin 1, 6, 8, 10, 12, TNF α , TGF β und CXCL12 wurde näher untersucht.

Innerhalb der nicht geimpften Gruppe untersuchte man den Einfluss von Stress auf das Immunsystem. Hierbei wurde die Konzentration von Interleukin 6, 10, 12 im Plasma mittels ELISA, die Genexpression in den Lymphozyten durch qRT-PCR von Interleukin 1 β , 6, 10, 12 und TNF α bestimmt. Außerdem wurde eine mitogenstimulierte Lymphozytenproliferation mittels Lumineszenzmessung durchgeführt.

Bei beiden Gruppen wurde ein Differentialblutbild angefertigt, um Veränderungen im weißen Blutbild untersuchen zu können. Weiterhin wurde mittels ELISA die Immunglobulinkonzentration G und M im Serum untersucht.

Es wurde in der Gruppe der immunisierten Tiere sichtbar, dass die Rassen unterschiedlich auf die Vakzination reagierten. TxT zeigt keine Konzentrationsveränderung von Interleukin 1 β im Plasma. Durch die unveränderte Konzentration des Interleukins könnten vermehrt zytotoxische

T-Zellen gebildet werden. Als Folge wird TNF α aufreguliert. TNF α inhibiert CD163, daher wird nur eine geringe Anzahl von B-Zellen aktiviert und es werden spezifische Antikörper gebildet. Im Gegensatz dazu reagieren die beiden anderen Rassen mit einer Immunantwort des Typs 2. Die oben beschriebene Inhibierung kann nicht stattfinden und es kommt zur Synthese der B-Zellen und zu einer erhöhten Konzentration an Immunglobulinen und spezifischen Antikörpern.

Die Ergebnisse meiner Studie können tendenziell den Einfluss des Stresses auf das Immunsystem bestätigen. So deuten bei TxT die geringere Immunglobulinkonzentration und das Differentialblutbild darauf hin, dass die Immunreaktion auf Stress eher auf T-Zellen basiert (Immunreaktion Typ 1). Auch bei LxT und LxP scheint es, dass die Immunantwort Typ2 und eine Hochregulation der Genexpression von IL6 und die Konzentration im Plasma dominieren. Weiterhin besteht eine Tendenz, dass TxT auf Stress robuster reagieren als die beiden anderen Rassen.

Nach der Schlachtung wurden die Schweinehälften aller Rassen und Gruppen mittels der SEUROP-Klassifizierung eingeteilt und bewertet. Bei Schweinen, die in der 25. Lebenswoche geschlachtet wurden, untersuchte man zusätzlich den Tropfsaftverlust und das intramuskuläre Fett. Im Vergleich der Schachtkörper und Fleischqualität schnitten die Tiere der Kreuzungsrassen (LxT) qualitativ am besten ab.

Schlussfolgernd ist die Kreuzungsrassen (LxT) zur Mastung als Nutzungsrassen geeignet. Sie stellt eine Bereicherung innerhalb der kommerziellen Schweinefleischproduktion dar.

VIII. SUMMARY

This study analyzed the comparison of immune system from Turopolje (TxT), German Landrace x Pietrain (LxP) and German Landrace x Turopolje (LxT). The different races are an old, modern and a cross swine breeds. We compared the competence of the immune systems to react to an immunization and to cope with stress. Furthermore we investigated the fattening performs of LxT.

Differences in the secretion of immunoglobulin G and M were analyzed by ELISA in colostrums and mature milk of DL and T sows and in the serum of the piglets.

The first group was immunized with a modified living vaccine against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRS MLV). Fragments of the virus were detected in serum, leukocytes, tonsils and Lnn. tracheobronchale by qRT-PCR. Furthermore the concentration of interleukine-1 β , 6, 10 and 12 was measured by ELISA. The gene expression was determined from CD163, SIGLEC1, Mx1, TLR7 und TLR8, TRAF6, Myd88, interleukine 1, 6, 8, 10, 12, TNF α , TGF β and CXCL12.

The second group the immune system was determined after stress. In this context we measured the concentration of interleukin-6, 10 and 12 in plasma. The gene expression analyses were taken with RT-PCR. The examined genes were interleukin 1 β , 6, 10, 12 and TNF α . Furthermore we stimulated the lymphocytes with a mitogen and measured the luminance.

Both of these groups were treated by investigating the differential leukocyte count and the concentration of immunoglobulin G and M.

In the first group I found differences in the immune system of the various races after the vaccination. On the base of polymorphisms on the receptors CD163 and SIGLEC1 did not regulated gene expression of interleukin 1. Therefore the organism built more cytotoxic T-cells. So TNF α had a higher level on RNA, in consequence of the CD163 will be inhibited and so the numbers of B-cells will be high. The result was a low concentration of specific antibodies and immunoglobulin. The other races had a higher expression of IL1 β , so the mechanism was based on B-cells and we found more specific antibody and immunoglobulins in serum.

The comparison of the immune system after stress corresponds with the preceding theory. Furthermore TxT had a low concentration on immunoglobulin and the gene expression of interleukin 1 was low too (immune reaction type 1). LxT and LxP based on immune reaction type 2. Thus the regulation of IL6 was higher than the other days; the concentration of IL-6 in plasma was also high.

At slaughter the pig halves of all races and groups were divided and evaluated by the SEUROP classification. The meat from twenty-five week old pigs was measured intramuscular fat and water holding capacity. In the result the best quality of meat has LxT.

In addition LxT is suitable for fattening like LxP. This breed represents a valuable in the commercial pork production.

IX. LITERATUR

Abbas A.K. Lichtman A.H. (2003): Cellular and Molecular Immunology W.B. Saunders Company, USA, Philadelphia

Acciaioli A. Pugliese, C., Bozzi, R., Campodoni, G., Franci, O., Gandini, G. (2002): Productivity of Cinta Senese and Large White x Cinta Senese pigs reared outdoor on woodlands and indoor. 1. Growth and somatic development. Italian Journal of Animal Science: 171–180.

Aderem A. Underhill D. M. (1999): Mechanism of phagocytosis in macrophages. Annu. Rev. Immunol.: 593–623.

Allende R. Laegreid, W.W, Kutish, G.F. (2000): Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: description of persistence in individual pig upon experimental infection. Journal of Virology: 10834–10837.

Arche (2010): Rassestandard Turopolje. www.archepedia.de. (02.02.2013)

Armero E. (1999): Effects of pig sire type and sex on carcass traits, meat quality and sensory quality of dry-cured ham. Journal of the Science of Food and Agriculture: 1147–1154.

Arnheiter H. Frese, M., Kambadur, R., Meier, E., Haller, O. (1996): Mx transgenic mice-animal models of health. Current Topics in Microbiology and Immunology, 206: 119–147.

Asano A. Ko, J.H., Morozumi, T., Hamashima, N., Watanabe, T. (2002): Polymorphisms and the Antiviral Property of Porcine Mx1 Protein. Journal of Veterinary Medical Science: 1085–1089.

Athreya B.H. Pletcher, J., Zulian, F., Weiner, D., Williams, W.V. (1993): Subset-specific effects of sex hormones and pituitary gonadotropins on human lymphocyte proliferation in vitro. Clin. Immunol. Immunopathol.: 201-211.

Avitsur R. Stark, J.L., Sheridan, J.F. (2001): Social stress induces glucocorticoid resistance in subordinate animals. Horm Behav: 247–257.

Babbitt, B.P. Allen, P.M., Matsueda, G., Haber, E., Unanue, E.R. (1985): Binding of immunogenic peptides to a histocompatibility molecules. Nature 317: 359-361.

Bachmann M. F., Oxenius A. (2007): Interleukin 2: from immunostimulation to immunoregulation and back again. EMBO Rep: 1142–1148.

Baggiolini M. Walz, A., Kunkel, S.L. (1989): Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. J Clin Invest 84: 1045-1049.

Baker B. Thacker, B., Vincent, A. (1999): A preliminary investigation into possible PRRSV anergy induction from repeated immunization with a modified live vaccine. Allen D Lemman Swine Conference Research Reports. 26: 31.

Balkwill F.R., Burke F. (1989): The cytokine network. Immunol Today 10: 299-304.

Barnett J. Hemsworth, P.H., Cronin, G.M., Newman, E.A., McCallum, T.H. (1992): Effects of pensize, partialstalls and method of feeding on welfare-related behavioral and physiological responses of group-housed pigs. Applied Animal Behaviour Science: 207–220.

- Bauer M.E.** Vedhara, K., Perks, P., Wilcock, G. K., Lightman, S. L., Shanks, N. (2000): Chronic stress in caregivers of dementia patients is associated with reduced lymphocyte sensitivity to glucocorticoids. *Journal of Neuroimmunol*: 84-92.
- Bautista E.** Goyal, S.M., Yoon, I.J., Joo, H.S., Collins, J.E. (1993): Comparison of porcine alveolar macrophages and CL 2621 for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and anti-PRRS antibody. *J. Vet. Invest.*: 163–165.
- Becker B. Misfeldt M.** (1995): Effects of constant and cycling hot environments on mitogen-stimulated proliferation of peripheral blood lymphocytes from sows and litters. *Journal of Thermal Biology*: 485–488.
- Benfield D.A.** Collins J.E., Dee, S.A., Halbur, P.G., Joo, H.S., Lager, K.M., Mengeling, W.L., Murtaugh, M.P., Rossow, K.D., Stevenson, G.W., Zimmerman, J.J. (1999): Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Diseases of Swine* 18:201–232.
- Bernasconi D.** Schulz, U., Staeheli, P. (1995): The Interferon-Induced Mx Protein of Chickens Lacks Antiviral Activity. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 15: 47–53.
- Biebricher C. K. Eigen M.** (2006): What is a quasispecies? *Curr Top Microbiol Immunol.*:1–31.
- Bilodeau R.** Archambault, R.D., Venzina, S.A., Sauvageau, R., Fournier, M., Dea, S. (1994): Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in a swine operation. *Can. J. Vet. Res.*: 291–298.
- Blanchard P.J.** Warkup, C. C., Ellis, M., Willis, M. B., Avery, P. (1999): The influence of the proportion of Duroc genes on growth, carcass and pork eating quality characteristics. *Animal science (Penicuik, Scotland)* 68: 495-501.
- Bland I.** Rooke, J.A, Bland, V.C, Sinclair, A.G, Edwards S.A. (1999): The acquisition of IgG from colostrums by piglets. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci* 189: Abstract.
- BMELV** (2010): Statistisches Jahrbuch 2010. <http://berichte.bmelv-statistik.de/SJT-4010500-0000.pdf>. (02.02.2013).
- Bönig H.** Banning, U., Hannen, M., Kim, Y.M., Verheyen, J., Mauz-Körholz, C., Körholz, D. (1999): Transforming growth factor- β 1 suppresses interleukin-15-mediated interferon-g production in human T lymphocytes. *Scand J Immunol* 50: 612-618.
- Bonilla F.A., Oettgen, H.C.** (2010): Adaptive immunity. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 125: 33-40.
- Borchers N.** Otto, G., Kalm, E. (2007): Genetic relationship of drip loss to further meat quality traits in purebred Pietrains. *Archiv für Tierzucht- Archives of Animal Breeding* 50: 84-91.
- Brambell F.W.R.** (1969): The transmission of immune globulins from mothers to the foetal a new young. *Proceedings of the Nutrition Society* 28: 35-41.
- Braun U., Müller S.** (2006): Was ist Schweinefleischqualität? <http://www.tll.de/ainfo/tier0893.htm> (18.10.2012).
- Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung** (2012): Rote Liste der gefährdeten Nutztiere www.landwirtschaft-bw.info (02.02.2013).
- Bush L.J., Staley T.E.** (1980): Absorption of colostrum immunoglobulins in newborn calves. *Dairy Sci.*: 672–680.

Butler H., Brown W. (1994): The immunoglobulins and immunoglobulin genes of swine. *Vet Immunology and Immunopathology* 43: 5-12.

Butler J.E., Sun, J., Wertz, N., Sinkora M. (2006): Antibody repertoire development in swine. *Developmental and Comparative Immunology* 30: 199-221.

Butler J.E., Wertz N. (2006): Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets. XVII. IgG subclass transcription revisited with emphasis on new IgG3. *The Journal of Immunology* 177: 5480-5489.

Cabrera R., Lin, X., Ashwell, M., Moeser, A., Odle, J. (2013): Early postnatal kinetics of colostral immunoglobulin G absorption in fed and fasted piglets and developmental expression of the intestinal immunoglobulin G receptor. *Journal of Animal Science* 91: 211-218.

Calvert J.G., Slade, D.E., Shields, S.L., Jolie, R., Mannan, R.M., Ankenbauer, R.G., Welch, S.-K.W. (2007): CD163 Expression Confers Susceptibility to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses. *Journal of Virology* 81: 7371-7379.

Carter L.L., Dutton R.W. (1996): Type 1 and Type 2: a fundamental dichotomy for all T-cell subsets. *Current Opinion in Immunology*: 336-342.

Chang C.C., Yoon, K.-J., Zimmerman, J. J., Harmon, K. M., Dixon, C. M., Dvorak, C.M.T.; Murtaugh, M.P. (2002): Evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during sequential passages in pigs. *J. Virol.*: 4750-4763.

Chapman H.A. (1998): Endosomal proteolysis and MHC class II function. *Curr Opin Immunol* 10: 93-102.

Charerntantanakul W., Platt, R., Johnson, W., Roof, E., Vaughn, E., James, A. (2006): Immune responses and protection by vaccine and various vaccine adjuvant candidates to virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus *Veterinary Immunology and Immunopathology*: 99-115.

Cheng B., Christakos S., Mattson M.P. (1994): Tumor necrosis factors protect neurons against metabolic-excitotoxic insults and promote maintenance of calcium homeostasis. *Neuron* 12: 139-153.

Cheon D., Chae, C., Lee, Y.S. (1997): Detection of nucleic acids of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the lungs of naturally infected piglets as determined by in-situ hybridization. *Journal of Comparative Pathology*: 157-763.

Cheon D., Chae C. (1999): Distribution of a Korean strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in experimentally infected pigs, as demonstrated immunohistochemically and by in-situ hybridization. *Journal of Comparative Pathology*: 79-88.

Chesters P.M., Steele, M., Purewal, A., Edington, N. (1997): Nucleotide Sequence of Equine MxA cDNA. *Sequence DNA*: 239-242.

Cho H., McNab, B., Dubuc, C., Jordan, L., Afshar, A., Magar, R., Prins, S., Eernisse, K. (1996): Comparative study of serological methods for detection of antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.*: 161-166.

Chung H.-K., Lee, J.-H., Kim, H. S., Chae, C. (2004): Expression of Interferon- α and Mx1 Protein in Pigs Acutely Infected with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV). *Journal of Comparative Pathology*: 299-305.

Chung H., Chae C. (2003): Expression of interleukin-10 and interleukin-12 in piglets experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Journal of Comparative Pathology*: 205–212.

Cole R.K. (1968): Studies on genetic resistance to Marek's disease. *Avian Disease*: 9–28.

Constant S.L., Bottomly K. (1997): Induction of TH1 and TH2 CD4+ T cell responses: the alternative approaches. *Ann. Rev. Immunology*: 297–322.

Crawley A. Raymond, C., Wilkie, B.N. (2003): Control of immunoglobulin isotype production by porcine B-cells cultured with cytokines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*: 141–154.

Cukrowska, B. Sinkora, J., Reháková, Z., Sinkora, M., Splíchal, I., Tucková, L., Avrameas, S., Saalmüller, A., Barot-Ciorbaru, R., Tlaskalová-Hogenová H. (1996): Isotype and antibody specificity of spontaneously formed immunoglobulins in pig fetuses and germfree piglets: Production by CD5- B-cells. *Immunology* 88: 611-617.

Curtis J., Bourne F. (1973): Half-lives of Immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of new-born pigs. *Immunology* 24: 147-155.

Dalin A.M. Magnusson, U., Häggendal, J., Nyberg, L. (1993): The effect of transport stress on plasma levels of catecholamines, cortisol, corticosteroid-binding globulin, blood cell count, and lymphocyte proliferation in pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica*: 59–68.

Dantzer R.P., Mormede P. (1983): Stress in farm animals: a need for reevaluation. *Journal of Animal Science* 57: 6–18.

Danzer R., Kelley K. (1989): Stress and immunity: an intergrades view of relationships between the brain and the immune system. *Life Sci.*: 1995–2008.

Das P.B. Dinh, P.X., Ansari, I.H., Lima, M. de Osorio, F.A., Pattnaik, A.K. (2010): The Minor Envelope Glycoproteins GP2a and GP4 of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Interact with the Receptor CD163. *Journal of Virology* 84: 1731–1740.

DeGuchi E., Akuzawa M. (1998): Effects of Fighting after Grouping on Plasma Cortisol Concentration and Lymphocyte Blastogenesis of Peripheral Blood Mononuclear Cells Induced by Mitogens in Piglets. *Journal of Veterinary Medical Science* 60: 149–153.

Deiss-Hemmeter U. (2005): Prüfung der Effektivität der Elektrostimulierung auf die Fleischqualität bei Schlachtschweinen. München, LMU, Dissertation.

De Kloet E., Reul J. (1987): Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: a concept arising from the heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinology* 12: 83-105: 83–105.

DeRijk R. Michelson, D., Karp, B., Petrides, J., Galliven, E., Deuster, P., Paciotti, G. (1997): Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 (IL-1), IL-6, and tumor necrosis factor-(TNF) production in humans: high sensitivity of TNF and resistance of IL-6. *Journal of Clinical Endocrinology Metab*: 2182–2191.

De Passille A. Rushen, J., Pelletier, G. (1988): Sucking behaviour and serum immunoglobulin levels in neonatal piglets. *Anim. Prod.*: 447–456.

Dikic M. Robić, Z., Henc, Z., Gugić, G. (1999): Litter Size and Weight of Piglets of the Turopolje Pig Breed in the Suckling Period. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 64: 97-102.

Dikic M. Salajpal, K., Karolyi, D., Dikic, D. (2008): Characteristics of carcass and tissues in pigs of Turopolje breed and crossbreeds TCL. Acta agriculturae Slovenica, supplement 2.: 53-58.

Dokland T. (2010): The structural biology of PRRSV. Virus Research: 86–97.

Done S.H., Paton D.J. (1995): Porcine reproductive and respiratory syndrome: clinical disease, pathology and immunosuppression. Vet. Rec.: 32–35.

Doyle C., Strominger J. (1987): Interaction between CD4 and class II MHC molecules mediates cell adhesion. Nature: 256–259.

Druml T. (2011): Turopolje eine Schweinerasse zwischen Gestern und Heute. 1.Aufl., Vehling Verlag GmbH, Graz, Österreich

Duan X. Nauwynck, H. J., Pensaert, M. B. (1997a): Effects of origin and state of differentiation and activation of monocytes/macrophages on their susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Archives of Virology 142: 2483–2497.

Duan X. Nauwynck, H., Pensaert, M. B. (1997b): Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Veterinary Microbiology: 9–19.

Dudenhoff J. Schuster, M., Wittmann, W., Littmann, E., Lindner, J.-P., Götz, K.-U. (2011): Leistungsprüfung und Zuchtwertschätzung für Tropfsaftverlust beim Schwein in Bayern. Züchtungskunde: 142–152.

Dwivedi V. Manickam, C., Binjawadagi, B., Linhares, D., Murtaugh, M.P., Renukaradhya, G.J. (2012): Evaluation of immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs during early stage of infection under farm conditions. Virol J 9: 45.

Ecksall. P.D., Conner, J.G. (1990): Plasma haptoglobin in cattle (*Bos Taurus*) exists as polymers in association with albumin. Comp. Biochem. Physiol. 96: 309–314.

Edfors-Lilja I. Wattrang, E., Marklund, L., Moller, M., Andersson-Eklund, L., Andersson, L., Fossum, C. (1998): Mapping Quantitative trait loci for immune capacity in the pig. Journal of Immunology: 829–835.

Edwards S.A. (2005): Product quality attributes associated with outdoor pig production. Livestock Production Science: 5–14.

Eichorn G., Forst J.W. (1997): Study on the suitability of sow colostrum for the serological diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). Journal of the Veterinary Medicine: 65–72.

Ellinwood N., McCue, M., Jesica, M., Gordy, P. W., Bowen, R. A. (1998): Cloning and Characterization of cDNAs for a Bovine (*Bos taurus*) Mx Protein. Journal of Interferon & Cytokine Research 18: 745–755.

Ellis M. Webb A.J., Avery P.J. Brown I. (1996): The influence of terminal sire genotype, sex, slaughter weight, feeding regime and slaughter-house on growth performance and carcass and meat quality in pigs and on the organoleptic properties of fresh pork. Anim. Sci.: 521-530.

Fabry Z. Raine, C., Hart, M. (1994): Nervous tissue as an immune compartment: the dialect of the immune response in the CNS. Immunology Today: 218–224.

Farmer C. Charagu, P., Palin, M.F. (2007): Influence of genotype on metabolic variables, colostrum and milk composition of primiparous sows. Can. J. Anim. Sci.: 511–515.

Farmer C., Quesnel H. (2009): Nutritional, hormonal and environmental effects on colostrum in sows. *J. Anim. Sci.*: 56–65.

Felten D.L. Felten, S., Carlson, S., Olschowka, J., Livnat, S. (1985): Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *Journal of Immunology*: 755–765.

Fernandez-Botran R. (1988): Lymphokine-mediated regulation of the proliferative response of clones of T helper 1 and T helper 2 cells. *Journal of Experimental Medicine* 168: 543–558.

Fernandez X. Monin, G., Talmant, A., Mouro, J., Lebret, B. (1999): Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat — 2. Consumer acceptability of *m. longissimus lumborum*. *Meat Science* 53: 67–72.

Fischer K. Lindner, J.P., Judas, M., Höreth, R. (2006): carcass and meat quality of heavy pigs. II. characteristics of meat and fat quality. *Archiv für Tierzucht-Archives of Animal Breeding*: 279–292.

Foisnet A. Farmer, C., David, C., Quesnel, H. (2010): Relationships between colostrums production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *J. Anim. Sci.*: 1672–1683.

Fortin A. Robertson, W.M., Tong, A.K.W. (2005): The eating quality of Canadian pork and its relationship with intramuscular fat. *Meat Science*: 297-305.

Franci O. Campodoni, G., Bozzi, R., Pugliese, C., Acciaioli, A., Gandini, G. (2003): Productivity of Cinta Senese and Large White x Cinta Senese pigs reared outdoors in woodlands and indoors. 2. Slaughter and carcass traits. *Italian Journal of Animal Science*: 59–65.

Franek F. (1987): The Subclass heterogeneity of pig IgG. *Vet. Immunol. Immunopathol.*: 79–89.

Frenyo V. Pethtes, G., Antal, T., Szabo I. (1981): Changes in colostral and serum IgG content in swine in relation to time. *Vet Res Communicat.*: 275–282.

Gaskins H. (1998): Immunological development and mucosal defence in the pig intestine. *Progress in Pig Science*: 81–102.

Gass-Cofre A. (2007): Untersuchungen zu Verträglichkeit und Wirksamkeit der Simultanimpfung von Sauherden mit Progressis® und Parvoruvac® gegen PRRS, Parvovirose und Rotlauf. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation.

Gemmell E., Seymour G. J. (1994): Modulation of immune responses to periodontal bacteria. *Current Opinion in Periodontology*: 28–38.

Gilbert S.A. Larochelle, R., Magar R., Cho, H.J., Deregt, D. (1997): Typing of Porcine Reproductive Respiratory Syndrome Virus by a Multiplex PCR Assay. *Journal of clinical Microbiology*: 264–267.

Göbel T., Kaspers B. (2010): in Engelhardt, W, und Breves, G. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*, 3. Aufl., Enke-Verlag, Stuttgart, Deutschland

Goldberg T.L. Lowe, J.F., Milburn, S.M., Firkins, L.D. (2003): Quasispecies variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during natural infection. *Virology*: 197-207.

Goldberg A.L., Rock K.L. (1992): Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. *Nature* 357: 375-379.

Goldrath A.W., Bevan M.J. (1999): Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire. *Nature* 402: 255-262.

- Gomez-Laguna J.** Salguero, F., Barranco, I., Pallarés, F. (2010): Cytokine expression by macrophages in the lung of pigs infected with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Comparative Pathology*: 51–60.
- Grandin T.** (1997): Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*: 249–257.
- Gregory N.** (1996): Welfare and hygiene during preslaughter handling. *Meat Science*: 35–46.
- Gruys E.** Obwolo, M.J, Toussaint, M. (1994): Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet. Bull.*: 1009–1018.
- Hack C.E.**, Hart, M., van Schijndel, R.J., Eerenberg, A.J., Nuijens, J.H., Thijs, L.G. (1992): Interleukin-8 in sepsis: relation to shock and inflammatory mediators. *Infect Immun* 60: 2835–2842.
- Halbur P.G.** Rothschild, M.F., Thacker, B.J., Meng, X.-J, Paul, P.S. (2011): Differences in susceptibility of Duroc, Hampshire, and Meishan pigs to infection with a high virulence strain (VR2385) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Journal of Animal Breeding and Genetics*: 181–189.
- Haller O.** Frese, M., Kochs, G. (1998): Mx proteins: mediators of innate resistance to RNA viruses. *Revue Scientifique et Technique de l' Office International des Epizooties*: 220–230.
- Hamm R.** Honikel, K.O., Fischer, C., Hamid, A. (1980): Veränderung des Rindfleisches nach dem Schlachten und ihre Auswirkungen auf das Wasserbindungsvermögen. *Fleischwirtschaft*: 1567–1576.
- Heinrich P.** Castell, J.V., Andus, T. (1990): interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.*: 621–636.
- Hernandez-Pando R., Rook G.A.** (1994): The role of TNF-alpha in T-cell-mediated inflammation depends on the Th1/Th2 cytokine balance. *Immunology*: 591–595.
- Hessing M.J.C.** Scheepens, C.J.M., Schouten, W.G.P, Tielen, M.J.M, Wiepkema, P.R. (1994): Social rank and disease susceptibility in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*: 373–387.
- Hoffmann K.** (1993): Qualitätsbegriffe bei Fleisch und Fleischerzeugnisse. *Fleischwirtschaft*: 16–28.
- Holter W., Neu, N.** (2006): Morphologie und Funktion des spezifischen Immunsystems. *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*: 237–245.
- Honikel K.O.** (1987): Wasserbindungsvermögen von Fleisch. *Fleischwirtschaft*: 418–428.
- Hopkins S.J., Rothwell N.J.** (1995): Cytokines and the nervous system I: Expression and recognition. *Trends Neurosci* 18: 83–88.
- Horisberger M.A.** (1992): Virus-Specific Effects of Recombinant Porcine Interferon- γ and the Induction of Mx Proteins in Pig Cells. *Journal of Interferon Research* 12: 439–444.
- Horisberger M.A.** (1995): Interferons, Mx genes, and resistance to influenza virus. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 152: 67–71.
- Houben S.** Callebaut, P., Pensaert, M.B. (1995): Comparative study of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay and the immunoperoxidase monolayer assay for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs. *J. Virol. Methods*: 125–128.

- Huff-Lonergarn E. (2010):** Water-holding capacity of fresh meat. <http://www.pork.org/filelibrary/Factsheets/PorkScience/Q-waterholding%20facts04669.pdf>. (02.02.2013).
- Hütter L.A. (1988):** Wasser und Wasseruntersuchung. Diesterweg Verlag, 3. Aufl., Frankfurt am Main, Deutschland.
- Ivankovic A.** Mioč, B., Posavi, M., Caput, P., Pranić, D., Vitković, A. (2000): Characterization and Present Situation of animal Genetic Resources in Croatia. *Stočarstvo*: 191–204.
- Jensen V., Robertsen, B. (2000):** Cloning of an Mx cDNA from Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) and Characterization of Mx mRNA Expression in Response to Double-Stranded RNA or Infectious Pancreatic Necrosis Virus. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 20: 701–710.
- Jensen, P.E. (2007):** Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat. Immunol.* 8: 1041-1048.
- Joo H.S.** Park, B.K., Dee S.A., Pijoan C. (1997): Indirect fluorescent IgM antibody response of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 55: 303–307.
- Joisel F.** Reynaud, G., Charreyre, C., Herin, J.B. (2001): PRRS: Vaccination with a killed vaccine; field experience. *Pig J.*: 120–137.
- Jüngst H., Tholen E. (2007):** Duroc als Endstufeneber. *Top Genetik* 11: 29-31.
- Kacskovics I.** Sun, J., Butler, J.E. (1994): Five putative subclasses of swine IgG identified from the cDNA sequences of a single animal. *Journal of Immunology* 153: 3565-3573.
- Kaneko J. (1997):** clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, 5. Aufl., San Diego, USA.
- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG): <http://www.genome.jp/kegg/> (23.07.2013).
- Kelley K.W. (1995):** Endocytosis. Ringing necks with dynamin. *Nautre*: 116–117.
- Kent S.** Bluthe, R.M., Dantzer, R., Hardwick, A.J., Kelley, K.W., Rothwell, N.J., Vannice, J.L. (1992): Different receptor mechanisms mediate the pyrogenic and behavioral effects of interleukin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 9117–9120.
- King´ori A. (2012):** The Pre-Weaning Piglet: Colostrum and Milk intake: a Review. *J. Anim Adv*: 277–283.
- Klobasa F.** Werhahn, E., Butler, J.E. (1981): Regulation of humoral immunity in the piglet by immunoglobulins of maternal origin. *Res. Vet. Sci.*: 195–206.
- Klobasa, F. Werhahn E. (1984):** Zusammensetzung der Sauenmilch im Verlauf der Laktation. *Landb.-Forsch. Völkenrode* 4:196-202.
- Klobasa F.** Habe, F., Werhahn, E., Butler, J.E. (1985): The Influence of age and breed on concentrations of serum IgG, IgA and IgM in sows' throughout the reproductive cycle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*: 355–366.
- Klobasa F., Butler J. (1987):** Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M and A and albumin in the lactal secretion of sows of different lactation numbers. *Am. J. Vet. Res*: 176–182.
- Klobasa F.** Werhahn, E., Habe, F. (1991): Untersuchungen über die Absorption der kolostralen Immunglobuline bei neugeborenen Ferkeln III. Mitteilung: Einfluss der Verabreichungsdauer der Kolostralmilch. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*: 223-227.

- Körholz D.** Banning, U., Bönig, H., Grewe, M., Schneider, M., Mauz-Körholz, C., Klein-Vehne, A., Krutmann, J., Burdach, S. (1997): The role of interleukin 10 (IL-10) in IL-15 mediated T-cell responses. *Blood* 90: 4513 – 4520.
- Kralik G., Margeta V. (2004):** Autochthonous pig and poultry breeds in the Republic of Croatia. The Summaries for International Symposium "Sustainable Utilization of Indigenous Plant and Animal Genetic Resources in the Mediterranean Region".
- Kräusslich H. (1994):** Tierzuchtlehre. Ulmer Verlag, 4. Aufl., Stuttgart.
- Kräusslich H., Brem G. (1997):** Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre für Tiermediziner. Enke Verlag, Stuttgart.
- Kruse, P.E. (1983):** The importance of colostral immunoglobulins and their absorption from the intestine of the newborn animals. *Ann. Rech. Vet.* 4: 349-353.
- Krüger M.** Schrödl, W., Lindner A., Kunze, R. (1995): C-reaktives Protein (CRP)-ein Akute-Phase-Protein mit labormedizinischer Bedeutung in der Veterinärmedizin. *Tierärztl. Praxis:* 230–240.
- Lager K.M.** Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L. (1997): Homologous challenge of porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Vet. Microbiol.:* 113–115.
- Lanzavecchia A., Sallusto F. (2000):** Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors and memory cells. *Science:* 92–97.
- Lapp J. (Hrsg.) (2009):** Auswirkungen unterschiedlicher Duroc-Genanteile auf das ökologisch erzeugte Mastschwein. Verlag Dr. Köster, Berlin, Deutschland.
- Laube S.** Henning, M., Brandt, H., Kallweit, E., Glotek, P. (2000): Fleischbeschaffenheit von Schweinekreuzungen mit besonderen Qualitätseigenschaften im Vergleich zum heutigen Standard- und Markenschweinangebot. *Archiv für Tierzucht- Archives of Animal Breeding:* 463-476.
- Lecce J.G., Morgan D. (1962):** Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb. *Nutr.:* 263–268.
- Lee S.C.** Liu, W., Dickson, D.W., Brosnan, C.F., Berman, J.W. (1993): Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes. Differential induction by lipopolysaccharide and IL-1 beta. *J Immunol* 150: 2659-2667.
- Leibold W. (2003):** Angewandte Immunologie beim Impfen.22. Fachgespräch der BpT-Fachgruppe Bestandsbetreuung Schwein, BpT: 8.11.2003.
- Liebert U.G. (2001):** Slow and persistent virus infections of neurons-a compromise for neuronal survival. *Curr Top Microbiol Immunol.* 253: 35-60.
- Liu Y.** Shi, W., Zhou, E., Wang, S., Hu, S., Cai, X., Rong, F., Wu, J., Xu, M., Li, L. (2010): Dynamic changes in inflammatory cytokines in pigs infected with highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Clinical and Vaccine Immunology:* 1439–1445.
- LMG** Lebensmittelgesetzbuch, Paragraph 35.
- Loftus R. (Hrsg.) (1993):** World watch list for domestic animal diversity. FAO, Rome, Italien.
- Lopez O.J., Osorio F. A. (2004):** Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.:* 155–1663.
- Loppnow H. (2001):** Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen. *Internist* 42: 13-27.

- Lowe J.E.** Husmann, L.D., Firkins, F.A., Zuckermann, T.L. (2005): Correlation of cell-mediated immunity against porcine reproductive and respiratory syndrome virus with protection against reproductive failure in sows during outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome in commercial herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*: 1707–1711.
- Lunney, J.K.** Ho, C.-S., Wysocki, M., Smith, D.M. (2009): Molecular genetics of swine major histocompatibility complex, the SLA complex. *Development and Comparative Immunology* 33:362-374
- Lunney J.K.** Fritz, E., Rothschild, M.F., Kerrigan, M., Tribble, B., Rowland, R.R.R. (2011): Probing genetic control of swine responses to PRRSV infection: current progress of the PRRS host genetics consortium. *BMC Proc* 5: 30.
- Lustermann H., Günther H.** (1977): Absorption von Kolostrumbestandteilen im Darm - eine Übersicht. *Arch. Exp. Veterinärmed.*: 53–59.
- Maslanik T.** Mahaffey, L., Tannura, K., Beninson, L., Greenwood, B.N., Fleshner, M. (2013): The inflammasome and danger associated molecular patterns (DAMPs) are implicated in cytokine and chemokine responses following stressor exposure. *Brain, Behavior and Immunity*: 54-62.
- McEwen B.S.** (1998): Stress, Adaptation, and Disease: Allostasis and Allostatic Load. *Annals NY Acad Sci* 840: 33–44.
- McGlone J.J.** Salak, J. L., Lumpkin, E.A., Nicholson, R.I., Gibson, M., Norman, R.L. (1993): Shipping stress and social status effects on pig performance, plasma cortisol, natural killer cell activity, and leukocyte numbers. *Journal of Animal Science*: 888–896.
- Meier W.A.** Galeota, J., Osorio; F.A., Husmann, R.J., Schnitzlein, W.M. (2003): Gradual development of the interferon-gamma response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. *Virology*: 18–31.
- Mengeling W.I.** Lager, K.M., Vorwald, A.C. (1995): Diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.*: 3–16.
- Meulenberg J.** Petersen, D., Besten, A., de Kluyver, E., Nieuwstadt, A., Wensvoort, G., Moormann, R.J.M. (1997): Molecular characterization of Lelystad virus. *Veterinary Microbiology*: 197–202.
- Milon A.** Aumaitre, A., Le Dividich, J., Franz, J., Metzger, J.J. (1983): Influence of birth prematurity on colostrum composition and subsequent immunity of piglets. *Ann. Rech. Vet.*: 533–540.
- Minami Y.** Kono, T., Miyazaki, T., Taniguchi, T. (1993): The IL-2 receptor complex: is structure, function and targets genes. *Annu Rev Immunol* 11: 245-268.
- Modrow S. (Hrsg.)** (2003): *Molekulare Virologie*. Spektrum, Heidelberg, Deutschland.
- Molitor T.W.** Bautista, E.M., Choi, C.S. (1997): Immunity to PRRSV: Double-edged sword. *Vet. Microbiol.*: 265–276.
- Morrison, L. A.** Lukacher, A.E., Braciale, V.L., Fan, D.P., Braciale, T.J. (1986): Differences in antigen presentation to MHC class I and class II-restricted influenza virus-specific cytolytic T lymphocyte clones. *J Exp Med* 163: 903-921.
- Morozumi T.** Sumantri, C., Nakajima, E., Kobayashi, E., Asano, A.I., Oishi, T., Mitsuhashi, T.I., Watanabe, T., Hamasima, N. (2001): Three Types of Polymorphisms in Exon 14 in Porcine Mx1 Gene. *Biochemical Genetics* 39: 251-260.

Muller U. Steinhoff, U., Reis, L.F.L., Hemmi, S., Pavlovic, J., Zinkernagel, R. M., Aguet, M. (1994): Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science*: 1918–1921.

Murata H., Namioka S. (1977): The duration of colostral immunoglobulin uptake by the epithelium of the small intestine of neonatal piglets. *J. comp. Pathol.*: 431–439.

Murphy K. Travers, P., Walport, M. (Hrsg.) (2009): *Janeway Immunologie*. Spektrum, Heidelberg, Deutschland.

Murtaugh M. Xiao, Z., Zuckermann, F.A. (2002): Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral Immunol.*: 533–547.

Nakayama M. Nagata, K., Kato, A., Ishihara, A. (1991): Interferon-inducible mouse Mx1 protein that confers resistance to influenza virus is GTPase. *Journal of Biology and Chemistry*: 21404–21408.

Nelson E.A. Christopher-Hennings, J., Benfield, D.A. (1994): Serum immune responses to the proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Vet. Diagn. Invest*: 410–415.

Nielsen J. Kjaersgaard, H.D., Kristensen, C.S. (2004): Colostrum uptake-Effect on health and daily gain until slaughter. *Proc IPVS Hamburg, Germany*.

Nilubol D. Torremorell, M., Halbur, P.G., Platt, K.B., Harris, D.L. (2002): The effect of killed vaccine in pigs previously infected with PRRS virus. *17th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Ames, Proc.*: 333.

Nilubol D. Platt, K.B., Halbur, P.G., Torremorell, M., Harris, D.L. (2004): The effect of a killed porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine treatment on virus shedding in previously PRRSV infected pigs. *Vet. Microbiol.*: 11–18.

Noble P.B, Cutts J.H. (1967): Separation of blood leukocytes by Ficoll Gradient. *Can. Vet. Jour* 5: 110-111.

Nottet H.S. (2005): The Blood brain barrier: monocyte and viral entry into the brain. In: Gendelman, H.E., Grant, I., Everall, I.P., Lipton, S.A., Swindells, S. *The Neurology of AIDS 2nd edition*, Oxford, UK: Oxford University Press: 155-161.

Oh J. Drabik, K., Kutsch, O., Choi, C., Tousson, A., Benveniste, E.N. (2001). CXC chemokine receptor 4 expression and function in human astrogloma cells. *J Immunology*: 2695–2704.

Ohlinger V., Weiland, F., Haas, B.; Visser, N., Ahl, R., Mettenleiter, T.C., Weiland, E., Rziha, H-J., Saalmüller, A., Straub, O.C. (1991): Seuchenhafte Spätabort beim Schwein- Ein Beitrag zur Ätiologie des Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS). *Tierärztl. Umschau*: 703–708.

Onofre G. Koláčková, M., Jankovičová, K., Krejsek, J. (2009): Scavengerreceptor CD163 and its biological functions. *ACTA Medica*: 57–61.

Osorio F.A. Galeota, J.A., Nelson, E., Brodersen, B., Doster, A., Wills, R. (2002): Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity. *Virology*: 9–20.

Palm N., Medzhitov R. (2009): Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity. *Immunol. Rev.*: 221–233.

Park J.Y. Kim, H.S., Seo, S.H. (2008): Characterization of interaction between porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine dendritic cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*: 1709–1716.

Parrott R.F., Misson B.H. (1989): Changes in pig salivary cortisol in response to transport simulation, food and water deprivation, and mixing. *British Veterinary Journal*: 501–505.

Pavlovic J. Haller, O., Staeheli, P. (1992): Human and mouse Mx proteins inhibit different steps of the influenza virus multiplication cycle. *Journal of Virology*: 2564–2569.

Pavlovic J. Schroder, A., Blank, A., Pitossi, F., Staeheli, P. (1993): Mx proteins: GTPases involved in the interferon-induced antiviral state. *Ciba Foundation Symposia*, 176: 233–247.

Petry D.B. Holl, J.W., Weber, J.S., Doster, A.R., Osorio, F.A., Johnson, R.K. (2005): Biological responses to porcine respiratory and reproductive syndrome virus in pigs of two genetic populations. *Journal of Animal Science*: 1494–1502.

Petry D.B. Lunney, J., Boyd, P., Kuhar, D., Blankenship, E., Johnson, R.K. (2007): Differential immunity in pigs with high and low responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Journal of Animal Science* 85: 2075–2092.

Plumb D. (1999): *Veterinary Drug Handbook*. Pharma Vet., Minneapolis, USA.

Pol J.M.A. van Dijk, J.E., Wensvoort, G., Terpstra, C. (1991): Pathological, ultrastructural and immunohistochemical changes caused by Lelystad virus in experimentally induced infections of mystery swine disease (synonym: porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS)). *Veterinary Quarterly*: 137–143.

Porter P. (1969): Transfer of Immunoglobulins IgG, IgA and IgM to lacteal Secretions in the parturient Sow and their absorption by the neonatal piglet. *Biochem. Biophys. Acta*: 381–392.

Reed S., Mc Glone J.(2000): Immune status of PIC camborough-15 sows, 25 % Meishan sows, and their offspring kept in indoor and outdoors. *Journal of Animal Science*: 2561–2567.

Reiner G. Willems, H., Pesch, S., Ohlinger, V.F. (2010): Variation in resistance to the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRSV) in Pietrain and Miniature pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*: 100–106.

Reiner G. (2012): Evaluierung und Nutzung der natürlichen Krankheitsresistenz beim Schwein-aktueller Stand und Möglichkeiten. *Tierärztl. Praxis*: in press.

Ren Y.W. Zhang, Y.Y., Affara, N.A., Sargent, C.A., Yang, L.G., Zhao, J.L., Fang, L.R., Wu, J.J., Fang, R., Tong, Q., Xiao, J.; Li, J.L., Jiang, Y.B., Cheng, H.C., Zhang, S.J. (2012): The polymorphism analysis of CD169 and CD163 related with the risk of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *Mol Biol Rep* 39: 9903–9909.

Rohleder N. Wolf, J.M., Kirschbaum, C. (2003): Glucocorticoid sensitivity in humans inters individual differences and acute stress-effects. *Stress*: 207–222.

Romagnani S. (1997): The Th1/Th2 paradigm. *Immunology Today*: 263–266.

Rooke J., Bland I. (2002): The acquisition of passive immunity in the new-born piglet. *Livestock Production Science*: 13–23.

Rossow K.D. (1998): Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.*: 1–20.

Rowland R.R. Steffen, M., Ackerman, T., Benfield, D.A. (1999): The evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: quasispecies and emergence of a virus subpopulation during infection of pigs with VR-2332. *Virology*: 262–266.

- Royse A.R.** Husmann, R.J., Dawson, H.D., Caldara-Nova, G., Schnitzlein, W.M., Zuckerman, F.A., Lunney, J.K. (2004): Deciphering the involvement of innate immune factors in the development of the host response to PRRSV vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.*: 199–216.
- Saalmüller A.** (2006): New understanding of immunological mechanisms. *Vet. Microbiol.*: 32–38.
- Salajpal K.** Karolyi, D., Dikic, M., Kantor, V., Kiss, G., Sincere, Z. (2008): Influence of acorn intake on blood lipid profile and longissimus muscle characteristics of Black Slavonian pig. *Acta Agric. Slov.*: 175–181.
- Salak-Johnson J.** Mc Glone, J.J, Norman, R.L. (1996): In vivo glucocorticoid effects on porcine natural killer cell activity and circulating leukocytes. *Journal of Animal Science*: 584-592.
- Salgame P.** Convit, J., Blum, B.R (1991): Immunological suppression by human CD8⁺ T cells is receptor dependent and HLA-DQ restricted. *Proc. Natl. Acad. Sci.*: 2598–2602.
- Salmon H.** Berri, M., Gerds V., Meurens, F. (2009): Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine: Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Dev Comp Immunol*: 384–393.
- Sambraus H.** (2001): *Farbatlas der Nutztiere*. Ulmer Verlag, 6. Aufl., Stuttgart., Deutschland.
- Sambraus H.** (2010): *Gefährdete Nutztierassen*. Ulmer Verlag, 3. Aufl., Stuttgart, Deutschland.
- Schellander K.** Grosse-Brinkhaus, C., Phatsara, C. (2010): Qualität von tierischen Lebensmitteln – Tropfsaftverluste beim Schweinefleisch. *Züchtungskunde*: 57–65.
- Schillfarth S.** (2009): *Regulation und Bedeutung von angiogenen, anti-angiogenen und lymphangiogenen Faktoren während verschiedener Stadien der Ovarfunktion beim Rind*. München, LMU, Dissertation.
- Schmidtke S.** (2002): *Die elektrische Leitfähigkeit als Diagnoseparameter für die Rindfleischreifung*. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation.
- Schmitt F.** Schepers, K.-H, Jüngst, H., Reul, U., Festerling, A. (1986): Fleischqualität beim Schwein, Untersuchung zu deren Erfassung. *Fleischwirtschaft*: 602–605.
- Schnulle P.M., Hurley W.L.** (2003): Sequence and expression of the FcRn in the porcine mammary gland. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 91:227–231.
- Schwängele F.** (1993): Qualitätsmerkmale, Erfassung nach dem Schlachten. *Fleischwirtschaft*: 228–238.
- Serra X.** Gil, F., Pérez-Enciso, M., Oliver, M.A, Vázquez, J.M, Gispert, M. (1998): A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbas line) and Landrace pigs. *Livestock Production Science* 56: 215–223.
- Shah, U.** Dickinson, B.L., Blumberg, R.S., Simister, N.E., Lencer, W.I., Walker, W.A. (2003): Distribution of the IgG Fc receptor, FcRn, in the human fetal intestine. *Pediatr. Res.* 53: 295-301.
- Shibata I.** Mori, M., Uruno, K. (1998): Experimental infection of maternally immune pigs with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus. *J. Vet. Med. Sci.* 60: 1285-1291.
- Silbernagl, S. Despopoulos A.** (1991): *Taschenatlas der Physiologie*, 4. Aufl., Thieme-Verlag, Stuttgart, Deutschland.

- Sirtori F.** Crovetto, A., Meo Zilio, D., Pugliese C., Acciaioli, A., Campodoni, G., Bozzi, R., Franci, O. (2011): Effect of sire breed and rearing system on growth, carcass composition and meat traits of Cinta Senese crossbred pigs. *Italian Journal of Animal Science*: 188–194.
- Snijder E.J., Meulenberg J. (1998):** The molecular biology of arteriviruses. *J. Gen. Virol.* 961–979.
- Sommer H. (Hrsg.) (1991):** Hygiene der Rinder- und Schweineproduktion. UTb-Verlag, Stuttgart, Deutschland.
- Stahli P.** Dreuding, P., Haller, O., Lindenmann, J. (1985): Polyclonal and monoclonal antibodies to the interferon-inducible protein Mx of influenza virus-resistant mice. *Journal of Biological Chemistry*: 1821–1825.
- Staley T.E.** Jones, E.W., Marshall, A.E. (1968): The jejunal absorptive cell of the newborn pig: an electron microscopic study. *Anat. Rec.*: 497–516.
- Stark, J.L.** Avitsur, R., Padgett, D.A., Campbell, K.A., Beck, F.M., Sheridan, J. F. (2001): Social stress induces glucocorticoid resistance in macrophages. *Am J Physiol Regul Integr*: 1799–1805.
- Stear, M. J. Wakelin, D. (1998):** Genetic resistance to parasitic infection. *Rev. Sci. Tech. Off Int. Epiz.* 17:143–153.
- Sterling P. (1988):** Allostasis: A new paradigm to explain arousal pathology. *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*, John Wiley & Sons, New York, USA: 629–649.
- Sterzl J.** Rejnek, J., Travnicsek, J. (1966): Impermeability of pig placenta for antibodies. *Folia Microbiologica* 11: 7–10.
- Stirling, C. M.,** Charleston, B., Takamatsu, H., Claypool, S., Lencer, W., Blumberg, R.S. (2005): Characterization of the porcine neonatal Fc receptor-potential use for trans-epithelial protein delivery. *Immunology* 114: 542–553.
- Straw B.** Zimmerman, J.J, D’Allaire, S., Taylor, D.J. (1999): *Diseases of Swine*, 8. Aufl. Blackwell Publishing UK, England, Oxford.
- Suarez P. (2000):** Ultrastructural pathogenesis of the prrs virus. *Veterinary Research*: 47–55.
- Subramaniama S.** Surb, J.-H., Kwona, B., Pattnaika, A. K., Osorio, F. (2011): A virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus does not up-regulate interleukin-10 levels in vitro or in vivo. *Virus Research*: 415–422.
- Suradhat S. (2003a):** Upregulation of IL-10 gene expression in porcine peripheral blood mononuclear cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology* 84: 453–459.
- Suradhat S. (2003b):** Upregulation of interleukin-10 gene expression in the leukocytes of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology* 84: 2755–2760.
- Sutherland M.** Rodriguez-Zas, S.L., Ellis, M., Salak-Johnson, J.L. (2005): Breed and age affect baseline immune traits, cortisol and performance in growing pigs. *Journal of Animal Science*: 2087–2095.
- Taupin V.** Renno, T., Bourbonniere, L., Peterson, A.C., Rodriguez, M., Owens, T. (1997): Increased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis, chronic macrophage/microglial reactivity, and demyelination in transgenic mice producing tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system. *Eur J Immunol.* 27: 905-913.
- Thacker E. (2003):** Immunology of killed PRRSV Vaccines. 4th Intern. Symp. Emerging Re-emerging Pig Dis., Rom, Italien 29.7.-2.8.2003.

- Tirziu E. (2009):** acute-phase proteins in immune response. *Lucrări Stinlifice Medicină Veterinară VOL. XLII (1)*, Timisoara.
- Tizard I.R. (1981):** Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie. Parey Verlag, Berlin, Deutschland.
- Tizard, I.R. (2000):** *Veterinary Immunology*. 6. Aufl. Verlag Saunders, Philadelphia, USA.
- Trautwein, G. (1990):** Spezifische Krankheitsbedingungen. In: Schulz L.-C. (Hrsg.): *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie*. 10. Aufl. Enke-Verlag, Stuttgart, Deutschland.
- Tuchscherer M. Puppe, B., Tuchscherer, A., Kanitz, E. (1998):** Effects of social status after mixing on immune, metabolic, and endocrine responses in pigs. *Physiology & Behavior* 3: 353–360.
- Tuchscherer M. Kanitz, E., Puppe, B., Tuchscherer, A. (2010):** Altered Immunomodulation by Glucocorticoids in Neonatal Pigs Exposed to a Psychosocial Stressor. *Pediatr Res* 68: 473–478.
- Tuchscherer M., Manteuffel G. (2000):** Die Wirkung von psychischem Stress auf das Immunsystem. Ein weiterer Grund für tiergerechte Haltung. *Arch. Tierz.:* 547–560.
- Underhill D.M. Ozinsky, A., Smith, K.D., Aderem, A. (1999):** Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci.:* 14459–14463.
- van Endert, P.M. (1999):** Genes regulating MHC class I processing of antigen. *Curr. Opin. Immunol.* 11: 82-88.
- van Grop H. van Breedam, W., Delputte, P.L., Nauwynck, H. J. (2008):** Sialoadhesin and CD163 join forces during entry of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology:* 2943–2953.
- van Gorp H. van Breedam, W., van Doorselaere, J., Delputte, P.L., Nauwynck, H.J. (2010):** Identification of the CD163 protein domains involved in infection of the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus. *Journal of Virology:* 1301-1311.
- van Reeth K., Nauwynck H. (2000):** Proinflammatory cytokines and viral respiratory disease in pigs. *Vet. Res.:* 187–213.
- van Wijk H.J. Arts, D.J.G, Matthews, J.O., Webster, M., Ducro, B.J., Knol, E.F. (2005):** Genetic parameters for carcass composition and pork quality estimated in a commercial production chain. *Journal of animal science:* 324–333.
- Vanderheijden N. Delputte, P.L., Favoreel, H.W., Vandekerckhove, J., van Damme, J., van Woensel, P.A., Nauwynck, H.J. (2003):** Involvement of Sialoadhesin in Entry of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus into Porcine Alveolar Macrophages. *Journal of Virology* 77: 8207–8215.
- Vassalli P. (1992):** The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Anna. Rev. Immunol* 10: 411-452.
- Vicari A.P., Trinchieri G. (2004):** Interleukin-10 in viral diseases and cancer: exiting the labyrinth? *Immunol Rev* 202: 223–236.
- Vincent A.L. Thacker, B.J, Halbur, P.G, Rothschild, M.F, Thacker, E. (2005):** In Vitro Susceptibility of Macrophages to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Varies between Genetically Diverse Lines of Pigs. *Viral Immunology* 18: 506–512.

- Vincent A.L.** Thacker, B. J., Halbur, P. G., Rothschild, M. F., Thacker, E. L. (2006): An investigation of susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus between two genetically diverse commercial lines of pigs. *Journal of Animal Science*: 49–57.
- Vögeli P.** Meijerink, E., Fries, R., Neuenschwander, S., Vorländer, N., Stranzinger, G., Bertschinger, H.U. (1997): A molecular test for the detection of E. coli F18 receptors: a breakthrough in the struggle against edema disease and post-weaning diarrhea in swine. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*: 479–484.
- Vogt M.** (1997): Schwerpunkt Schwein. Deutsche Landrasse. <http://www.g-e-h.de>. (02.02.2013).
- Volk B.** Biedermann, G., Kuhn, M., Jatsche, C. (2004): Einfluss der genetischen Herkunft auf die Mast- und Schlachtleistung, die Fleisch- und Fettqualität sowie das Fettsäuremuster der Phospholipide von Mastschweinen. *Arch. Tierz.*: 455-462.
- von Borell E.** (2000): Mechanismus der Bewältigung von Stress. *Arch. Tierz.*: 441–450.
- Wallgren P.** Wilen, I.-L., Fossum, C. (1994): Influence of experimentally induced endogenous production of cortisol on the immune capacity in swine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*: 301-316.
- Wang G.** Song, T., Yu, Y., Liu, Y., Shi, W., Wang, S., Rong, F., Dong, J., Liu, H., Cai, X., Zhou, E.-M. (2011): Immune responses in piglets infected with highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*: 170–178.
- Wang S.J.** Liu, W.J., Yang, L.G., Liu, H.B., Sargen, C.A., Affara, N.A., Zhang, S.J. (2012a): Association of multi-pathogenic infections with BAT2, CXCL12, Mx1 and EHMT2 variations in pigs. *Mol Biol Rep* 39: 8169–8176.
- Wang S.J.** Liu, W.J., Sargent, C.A., Zhao, S.H., Liu, H.B., Liu, X.D., Wang, C., Hua, G.H., Yang, L.G., Affara, N.A., Zhang, S.J. (2012b): Effects of the polymorphisms of Mx1, BAT2 and CXCL12 genes on immunological traits in pigs. *Mol Biol Rep* 39: 2417–2427.
- Ware C.F.**, Vanarsdale, T.L., Crowe, P.D., Browning, J.L. (1995): The ligands and receptors of the lymphotoxin system. *Curr Top Microbiol Immunol* 198: 175-218.
- Warren E.J.** (1997): Coincidental Changes in Behavior and Plasma Cortisol in Unrestrained Pigs after Intracerebroventricular Injection of Tumor Necrosis Factor-. *Endocrinology* 138: 2365–2371.
- Weesendorp E.** Morgan, S., Stockhofe-Zurwieden, N., Graaf, D.J., Popma-De, G., Simon P., Rebel, J.M.J (2012): Comparative analysis of immune responses following experimental infection of pigs with European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of differing virulence. *Veterinary Microbiology*: in press.
- WHO (2013)**: www.who.int. (02.02.2013).
- Wills R.** Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A. (1997): Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet. Microbiol.*: 231–240.
- Wimmers K.** Ponsuksili, P., Krutmuang, S., Gymnich, K., Schellander, D. (2002): Evaluierung der Nutzungsmöglichkeiten verschiedener Blutparameter zur retrospektiven Diagnose von Stress beim Schwein. *Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes*.

Witek B. Kolataj, A., Krol, T. (1996): Adaptive changes of activity of lysosomal enzymes in the liver, kidney and spleen of pigs subjected to transport stress. Arch. Tierz.: 55–59.

Wood J. Nute, G.R., Richardson, R.I., Whittington, F.M., Southwood, O., Plastow, G., Mansbridge, H. (2004): Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. Meat Science 67: 651–667.

Yang W., Schultz R. (1986): Effect of corticosteroid on porcine leukocytes: Age-related effects of corticosteroid inhibition on porcine lymphocyte responses to mitogens. Vet. Immunol. Immunopathol.: 19–29.

Yoon K.J. Wu, L.L., Zimmerman, J.J., Hill, H.T., Platt, K.B. (1997): Field isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vary in their susceptibility to antibody dependent enhancement (ADE) of infection. Vet. Microbiol.: 277–287.

Zhang, X.; Shin, J.; Molitor, T.W.; Schook, L.B.; Rutherford, M.S. (1999): Molecular Responses of Macrophages to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Infection. In: Virology 262: 152–162.

ZDS (2007): Richtlinie für die Stationsprüfung auf Mastleistung, Schlachtkörperwert und Fleischbeschaffenheit beim Schwein.

Zuckermann, F.A. (1999): Extrathymic CD4/CD8 double positive T cells, Vet. Immunol. Immunopathol. 72: 55-66.

X. DANKSAGUNG

Mein größter Dank gilt Herrn Prof. Dr. T. Göbel für die Bereitschaft, die Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der LMU München zu vertreten und für seine Korrektur dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank, leider mit Trauer belegt, gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Heinrich H.D. Meyer für die Überlassung des Themas meiner Dissertation und für die leider viel zu kurze Unterstützung.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. M. Pfaffl für die Unterstützung meines Projektes und für das angenehme Arbeitsklima.

Ein Dankeschön an Frau Dr. Heike Kliem, für die Zusammenarbeit und für ihre Unterstützung, welche sie mir mit vollem Einsatz und zu jeder Zeit zu kommen ließ.

Danke an den Geschäftsführer, Dr. Dr. Kai Frölich, der Arche Warder für die Leihgabe von insgesamt neun Turopolje und für die Unterstützung bei immunologischen Fragen.

Auch ein großes Dankeschön an Horst Laffert, ehemaliger Leiter des Versuchsguts Thalhausen der TU München, und seinem Mitarbeiter, Konrad Praller, welcher mich während des Tierversuches stets unterstützt hat. Eine wichtige Hilfe waren mir auch Barbara Göschl und Claudia Heinze.

Einen weiteren Dank möchte ich Stefanie Dommel aussprechen für die Hilfe im Labor. Natürlich möchte ich mich auch bei allen technischen Assistentinnen, Inge Celler, Waldraut Schmid, Angela Sachsenhauser und Christine Fochtmann, bedanken für die Beantwortung meiner nie enden wollenden Fragen und die Hilfe während meines Versuches.

Gertraud Mayer, Elisabeth Aberl und Daniela Königsdorf vielen Dank für die Hilfe in administrativen Angelegenheiten.

Bei der Geburt der Ferkel und späteren Schlachtung benötigte ich viel Hilfe. An alle Helfer vielen Dank. Es waren Dr. Heike Kliem, Dr. Irmgard Riedmeier, Dr. Rainer Fürst, Veronika Pistek, Diana Sorg, Melanie Spornraft, Stefanie Dommel, Waltraud Schmid und Christine Fochtmann.

Des Weiteren danke ich allen Mitarbeitern des Schlachthauses in Grub für die Geduld während der Probenentnahme und Herrn Dirk Reinhardt für die organisatorische Unterstützung vor, während und nach der Schlachtung.

Bei meiner Familie möchte ich mich bedanken für die Unterstützung, die sie mir in meiner gesamten Ausbildung gegeben hat. Vielen Dank von Herzen.

Danken möchte ich Erika, Hartmut und Christoph Tavernaro und Prof. (em.) Dr. Hans Warlimont für ihre Geduld.

Für die finanzielle Unterstützung, ohne die das Projekt nicht zustande gekommen wäre, möchte ich mich bei B. & C. Tönnies Forschung Gemeinnützige Gesellschaft zur Förderung der Forschung über die Zukunft des Nutztieres in der Nutztierhaltung mbH bedanken. Herzlichen Dank!!!