

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

**Untersuchung zur Wirksamkeit einer One-Shot-Impfung  
gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* im Vergleich zu einer  
Two-Shot-Impfung bei Schweinen in einem Feldversuch**

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

vorgelegt von  
Helen Gertrud Löffler  
aus Kronach  
2015

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

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

**Referent:** Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Tag der Promotion: 31. Januar 2015

**Für meine Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Ätiologie .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Epidemiologie .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Pathogenese .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4 Klinische Symptomatik.....</b>	<b>8</b>
<b>2.5 Pathomorphologie und Pathohistologie .....</b>	<b>9</b>
2.5.1 Pathomorphologische Veränderungen.....	9
2.5.2 Pathohistologie .....	9
<b>2.6 Immunologie .....</b>	<b>10</b>
<b>2.7 Diagnostik .....</b>	<b>12</b>
2.7.1 Direkter Erregernachweis .....	12
2.7.1.1 Kultivierung.....	12
2.7.1.2 Molekularbiologische Verfahren-PCR.....	12
2.7.1.3 IF, IHC und ISH .....	13
2.7.2 Indirekter Erregernachweis .....	14
<b>2.8 Bekämpfungsstrategien.....</b>	<b>15</b>
2.8.1 Antibiotische Behandlung .....	15
2.8.2 Prävention.....	17
2.8.2.1 Optimierung der Umweltbedingungen .....	17
2.8.2.2 Vakzination .....	18
2.8.3 Eradikation.....	21
<b>3 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Versuchsbetrieb .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Versuchstiere.....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Auswahl der Tiere .....	23
3.2.2 Zootechnische Maßnahmen und betriebsspezifische Behandlungen ....	23
<b>3.3 Versuchsgruppen .....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Einteilung der Versuchsgruppen .....	24
3.3.2 Vakzinen .....	25
<b>3.4 Methoden .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Ermittlung der Tageszunahmen.....	25
3.4.2 Blutprobenentnahme.....	26
3.4.3 Serologische Diagnostik .....	27
3.4.4 Lungenscore .....	28
3.4.5 Tierverluste und erkrankte Tiere .....	29
3.4.6 Statistik .....	30
<b>4 ERGEBNISSE.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Tiere und Daten .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Gewichtsentwicklung.....</b>	<b>32</b>

<b>4.3 Serologie .....</b>	<b>38</b>
4.3.1 Impfgruppen.....	39
4.3.2 Einzeltiere .....	42
<b>4.4 Lungenbefunde am Schlachthof .....</b>	<b>45</b>
<b>4.5 Mortalität und Probenentnahmen .....</b>	<b>47</b>
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>49</b>
<b>    5.1 Diskussion von Material und Methode .....</b>	<b>49</b>
5.1.1 Versuchstiere .....	49
5.1.2 Der Versuchsbetrieb .....	49
5.1.3 Impfzeitpunkte.....	51
5.1.4 Wiegungen der Tiere .....	51
5.1.5 Serologie.....	52
5.1.6 Lungenscoring .....	53
5.1.7 Mortalität und Sektionen .....	55
<b>    5.2 Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>55</b>
5.2.1 Gewichtsentwicklung .....	55
5.2.2 Serologie.....	58
5.2.2.1 Serumprofil bis zur 13. Lebenswoche.....	58
5.2.2.2 Serumprofil der Einzeltiere vor und nach der Vakzination .....	60
5.2.2.3 Serumprofil nach der 13. Lebenswoche .....	61
5.2.3 Lungenbefunde am Schlachthof .....	62
5.2.4 Mortalität .....	63
<b>6 SCHLUSSFOLGERUNG .....</b>	<b>65</b>
<b>7 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>66</b>
<b>8 SUMMARY .....</b>	<b>68</b>
<b>9 TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>70</b>
<b>10 ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>71</b>
<b>11 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>73</b>
<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>106</b>

## Abkürzungsverzeichnis

µm	Mikrometer
ADWG	Durchschnittliche Tageszunahmen (Average Daily Weight Gain)
AK	Antikörper
APP	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
B.	Bordetella
BALF	Broncho-alveolar Lavage Fluid
BALT	Bronchus-associated Lymphatic Tissue
BU	bakteriologische Untersuchung
bzw.	beziehungsweise
CD	Cluster of Differentiation
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EP	Enzootische Pneumonie
HPS	<i>Haemophilus parasuis</i>
IF	Immunfluoreszenz
Ig	Immunglobulin
IG	Impfgruppe
IHC	Immunhistochemie
IL	Interleukin
ISH	In-situ Hybridisierung
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
LW	Lebenswoche
M.	Mycoplasma
m²	Quadratmeter
MHK	minimale Hemmkonzentration
n	Anzahl
nm	Nanometer
OD	optische Dichte
Past.	Pasteurella
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCV2	Porcines Circovirus Typ 2
PRDC	Porcine Respiratory Disease Complex

PRRSV	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus
Sc.	Streptococcus
SIV	Swine Influenza Virus
SPF	Specific Pathogen Free
Stand.abw.	Standardabweichung
Stand.fehler	Standardfehler
T.	Trueperella (= Arcanobacterium)
TLR	toll-like Rezeptor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
W	Wiegung

## 1 Einleitung

Die Enzootische Pneumonie (EP) zählt zu den häufigsten und kostspieligsten Erkrankungen beim Schwein. ROSS (1992) dokumentiert zudem, dass weltweit mehr als 93 % der Schweinebestände infiziert seien. *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* ist das ätiologische Agens dieser infektiösen respiratorischen Erkrankung. Das typische Krankheitsbild der EP wird mit chronischem Husten, Wachstumsretardation, geringer Mortalität und hoher Morbidität beschrieben (THACKER und MINION, 2012).

Häufig beteiligte Erreger, die auf das immunmedierte pathologische Wirken von *M. hyopneumoniae* im Atmungstrakt folgen (TAJIMA et al., 1984), sind *Pasteurella (Past.) multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae (APP)*, *Streptococcus (Sc.) suis* und *Haemophilus parasuis (HPS)* (THACKER und MINION, 2012). Der klinische Kranktausbruch und die Schwere der Erkrankung der *M. hyopneumoniae*-Infektion sind neben der Beteiligung von Sekundärerregern stark von den Umwelt- und Managementfaktoren im Betrieb abhängig. Nach einem Review von STÄRK (2000) sind unter anderem die Bestandsgröße, die Lüftungsqualität, eine kontinuierliche Stallbelegung, die regionale Schweinebestandsdichte und die Distanz zu infizierten Nachbarherden als Risikofaktoren zu nennen (CHRISTENSEN und MOUSING, 1992).

Die Immunprophylaxe mit inaktivierten Ganzzellvakzinen ist bis heute eine häufig verwendete Strategie, um die klinischen Erscheinungen der *M. hyopneumoniae*-Infektion bei Aufzucht- und Mastschweinen zu kontrollieren (THACKER und MINION, 2012). Ein Impfeinsatz führt zu geringeren Lungenläsionen und zur Erhöhung der Tageszunahmen (MAES et al., 1999) sowie zu einer verbesserten Futterverwertung und einer geringeren Mortalitätsrate (PALLARES et al., 2000). Trotz der zahlreichen Informationen über *M. hyopneumoniae*-Vakzinationen, ist es auf Betriebsebene oft schwierig zu entscheiden, welcher der diversen kommerziell erhältlichen Impfstoffe eingesetzt werden soll.

Laut einer Studie von GREINER et al. (2011) wird die Einfachimpfung ebenso erfolgreich eingesetzt, wie die Zweifachimpfung. Grundsätzlich muss bei Untersuchungen unter Feldbedingungen die Beteiligung von Koinfektionen und Umweltbedingungen am Infektionsgeschehen im jeweiligen Versuchsbetrieb stets miteinbezogen werden.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, einen Einfachimpfstoff mit einem Zweifachimpfstoff in einem Schweinebetrieb mit 3-Wochen-Produktionsrhythmus zu vergleichen. Es sollte überprüft werden, ob unsere Hypothese, dass die One-Shot-Vakzine zu einer vergleichbaren Verbesserung des Gesundheitsstatus' des Betriebes und der Gewichtsentwicklung der Tiere führt, wie der Einsatz eines Zweifachimpfstoffes zutrifft. Eine ab der dritten Lebenswoche mit MycoFLEX®-vakzierte Versuchsgruppe wurde zu diesem Zweck mit einer Impfgruppe verglichen, welcher der Two-Shot-Impfstoff Stellamune® Mycoplasma in der ersten und vierten Lebenswoche injiziert wurde. Als Parameter für die Wirkung der Impfungen wurden die Tageszunahmen der Tiere und die Lungenbefunde am Schlachthof beurteilt. Zusätzlich wurde mit Hilfe von Blutentnahmen ein Serumprofil der Tiere erstellt.

## 2 Literaturübersicht

Bei *Mycoplasma hyopneumoniae* handelt es sich um einen für das Schwein wirtsspezifischen, weltweit verbreiteten Erreger, der für hohe wirtschaftliche Einbußen in der kommerziellen Schweineproduktion verantwortlich ist (MAES et al., 2003).

Durch die Besiedelung des Atmungstraktes und Schädigung natürlicher Abwehrmechanismen fungiert *M. hyopneumoniae* als primär pathogener Erreger (THACKER und MINION, 2012), der anderen Lungenpathogenen, wie *Actinobacillus pleuropneumoniae* (YAGIHASHI et al., 1984) und *Pasteurella multocida* (CIPRIAN et al., 1988), die Invasion und Vermehrung in der Lunge erleichtert.

Bei dem Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) ist *M. hyopneumoniae* in Kombination mit Viren, wie dem Porcinen Circovirus Typ 2 (PCV2), dem Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) oder dem Swine Influenza Virus (SIV) ein Wegbereiter der Infektion (THACKER und MINION, 2012).

### 2.1 Ätiologie

GOODWIN et al. (1965), MARE und SWITZER (1965) beschrieben bereits 1965 *M. hyopneumoniae*, der der Klasse der Mollicutes zuzuordnen ist (RAZIN et al. 1998). Mykoplasmen zeichnen sich durch ihre Zellwandlosigkeit aus. Mit einem Durchmesser von 400-1200 nm (TAJIMA und YAGIHASHI, 1982) gehören sie zu den kleinsten bekannten Zellen. Man unterscheidet derzeit bis zu 119 Spezies, zu denen unter anderem *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae* und *M. suis* als weitere pathogene Mykoplasmen beim Schwein zu nennen sind (THACKER und MINION, 2012). *M. flocculare* gilt als apathogener Keim, dessen Morphologie und Wachstumsansprüche denen von *M. hyopneumoniae* sehr ähneln, weshalb sich eine Kultivierung und Differenzierung oftmals schwierig gestaltet (BEREITER et al., 1990; THACKER und MINION, 2012). ROSS und WHITTLESTONE (1983) entwickelten 1983 erstmals spezifische Nährmedien mit 5 – 10 % Kohlenstoffdioxid-Atmosphäre, um den hohen Wachstumsansprüchen der Mykoplasmen in ihren kleinen, typisch spiegeleiförmigen Kolonien gerecht zu werden. Nicht nur die aufwändige Anzüchtung, sondern auch die hohe genetische Vielfalt (FREY et al., 1992) der

einzelnen Isolate von *M. hyopneumoniae* erschwert die Differenzierung. Die verschiedenen Stämme von *M. hyopneumoniae* weisen eine große Variabilität in den Oberflächenproteinen (DJORDEVIC et al., 2004; WILTON et al., 2009) auf und verschiedene Feldstämme zeigen beträchtliche Virulenzunterschiede (VICCA et al., 2003; CALUS et al., 2007). CALUS et al. (2007) und BARATE et al. (2013) können diesbezüglich ein 181 kDa schweres Protein hoch virulenten Stämmen zuordnen. VILLARREAL et al. (2009) stellen in ihrer experimentellen Studie fest, dass wenig virulente Isolate, die bei einer Monoinfektion keine schwerwiegenden klinischen Symptome induzieren, das Krankheitsbild nach einer Infektion mit einem hochvirulenten Erregerstamm gravierend potenzieren. Hingegen beeinflusst in einer Studie von PETTIT et al. (2013) die genetische Variation von *M. hyopneumoniae* das Krankheitsbild nicht.

## 2.2 Epidemiologie

Für die Ansteckung mit *M. hyopneumoniae* innerhalb endemisch infizierter Herden werden von CLARK et al. (1991) drei Übertragungswege beschrieben. Die direkte Übertragung von infizierten Sauen auf ihre Ferkel, infizierte Ferkel untereinander und die Übertragung in der Aufzucht von älteren Schweinen auf neu eingestallte Tiere, bei einer kontinuierlichen Belegung (CLARK et al., 1991). Auch MORRIS et al. (1995) stellen eine horizontale Transmission von seropositiven Schweinen auf naive Buchtengenossen durch direkten Kontakt fest. Diese Ferkel serokonvertieren siebenmal häufiger, als Tiere mit nur indirektem Kontakt zu *M. hyopneumoniae* positiven Schweinen (MORRIS et al., 1995). CALSAMIGLIA und PIJOAN (2000) zeigen einen Zusammenhang zwischen der Wurfnummer der Zuchtsauen und der *M. hyopneumoniae* – Prävalenz. So lässt sich *M. hyopneumoniae* zu 52 % bei Jungsauen während des ersten Wurfs nachweisen. Im Unterschied dazu wird *M. hyopneumoniae* bei 39 % der Zuchtsauen zwischen dem zweiten und vierten Wurf, bei 35 % zwischen dem fünften und siebten Wurf und 0 % zwischen dem achten und elften Wurf nachgewiesen (CALSAMIGLIA und PIJOAN, 2000). Positive Zuchtsauen werden bei CALSAMIGLIA und PIJOAN (2000) also zwischen dem ersten bis zum siebten Wurf detektiert. Ob es sich hierbei um persistent infizierte Tiere oder um Reinfektionen handelt, kann aufgrund des Studiendesigns nicht

bestimmt werden (CALSAMIGLIA und PIJOAN, 2000). GOODWIN et al. (1965) weisen *M. hyopneumoniae* bei Absetzferkeln von Zuchtsauen bis zum zweiten Wurf mit einem höheren Prozentsatz nach als bei Würfen älterer Muttersauen. SIBILA et al. (2007a) finden hingegen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Wurfanzahl der Muttersauen und einem *M. hyopneumoniae* - Nachweis in den Saugferkeln. NATHUES et al. (2013) stellen fest, dass über ein gut geführtes Management und eine gezielte Tierbetreuung der Saugferkel der *M. hyopneumoniae* – Infektionsdruck vermindert werden kann. Hohe Ferkelnesttemperaturen (mitunter > 40°C) in den ersten zwei Wochen *post partum*, das Zähneschleifen der Ferkel und eine zweite Eiseninjektion am sechsten oder siebten Lebenstag senken die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit *M. hyopneumoniae* (NATHUES et al., 2013). Die Infektionsdynamik und der Schweregrad von respiratorischen Erkrankungen ist nach einem Review von STÄRK (2000) sowohl von den Haltungsbedingungen, wie Herdengröße und Belegdichte (STÄRK et al., 1998b), als auch von weiteren Einflussgrößen, wie der regionalen Schweinedichte (STÄRK et al., 1992), dem Betriebsmanagement und Luftparametern, wie der Saisonalität (JENSEN und BLAHA, 1997) abhängig. Nach VICCA et al. (2003) sind verschiedene Feldstämme von *M. hyopneumoniae* auch unterschiedlich virulent. Sie teilen die Stämme in wenig, moderart und hoch virulent ein (VICCA et al., 2003). Bei der Übertragung von *M. hyopneumoniae* über die Luft lassen sich verschiedene Angaben in der Literatur finden: Unter experimentellen Bedingungen kann eine Tröpfcheninfektion bei einer Entfernung von einem bis 150 m erfolgen (CARDONA et al., 2005). DEE et al. (2009) und OTAKE et al. (2010) können hingegen bei einer Entfernung von 4,7 km bzw. 9,2 km eine Übertragung von *M. hyopneumoniae* nachweisen. MUIRHEAD und ALEXANDER (1997) halten eine Reinfektion eines *M. hyopneumoniae* - negativen Betriebes über eine Lufttransmission für sehr wahrscheinlich, wenn sich ein infizierter Nachbarbetrieb im Umkreis von drei km befindet. Insbesondere die Nähe zu Endmastbetrieben, großen geschlossenen Betrieben, reinfizierten Nachbarbetrieben und Parkplätzen von Tiertransportern stellen erhöhte Risikofaktoren für eine Ansteckung über die Luft dar (HEGE et al., 2002). Grundsätzlich lässt sich ein saisonales Jahresmuster mit erhöhter Erkrankungsrate in den niederschlagsintensiven Monaten November und März beobachten, wobei *M. hyopneumoniae* nach 48 Stunden unter Feldbedingungen nicht mehr infektiös ist (GOODWIN et al., 1985).

Die *M. hyopneumoniae* - Exposition der Schweine in einem Betrieb ist nach SIBILA et al. (2004) von den Haltungsbedingungen abhängig. Die EP kann beispielsweise über ein striktes Alles-Rein-Alles-Raus-Produktionsschema erfolgreich kontrolliert werden (CLARK et al., 1991). In geschlossenen Betrieben mit kontinuierlichen Lüftungswegen werden die Aufzuchterkerl nicht ausschließlich von ihren erkrankten Buchtengenossen durch direkten Kontakt mit *M. hyopneumoniae* infiziert, sondern auch ältere Tiere, die im Flatdeck aufgestellt sind, übertragen den Erreger (CLARK et al., 1991). Die Belegungsdichte und das Stallklima stellen wichtige Faktoren beim direkten Kontakt miterregerhaltigen Aerosolen dar. Dahingegen ist die Gefahr einer indirekten Übertragung durch Stallpersonal von einem infizierten Bestand auf empfängliche Tiere als gering einzuschätzen, da Hygienestandards beachtet werden (BATISTA et al., 2004). NATHUES et al. (2012) können bei 14,8 % der landwirtschaftlichen Mitarbeiter (16 von 108) *M. hyopneumoniae* in den Nasenhöhlen nachweisen. In der Studie wird eine signifikante Assoziation zwischen einem positiven Nachweis von *M. hyopneumoniae* aus Nasentupfern bei Saugferkeln und einem positivem Befund bei den landwirtschaftlichen Mitarbeitern hergestellt (NATHUES et al., 2012).

## 2.3 Pathogenese

Die Pathogenese der Enzootischen Pneumonie beginnt mit der Inhalation von *M. hyopneumoniae* und der Anheftung des Erregers an das Ziliennepithel des oberen Atmungstraktes (ZIELINSKI und ROSS, 1993). Die Inkubationszeit des Pathogens beträgt in experimentellen Studien im Mittel 13 Tage (SÖRENSEN et al., 1997) bzw. neun bis 14 Tage (LE CARROU et al., 2006; PIETERS und PIJOAN, 2006) oder zehn bis 16 Tage (HAESEBROUCK et al., 2004). Unter Feldbedingungen ist der Zeitraum von der Ansteckung bis zum klinischen Auftreten der Symptome oftmals schwer feststellbar und es wird ein längerer Zeitraum vermutet, da die Serokonversion in einer klinisch infizierten Herde vor allem zwischen der 12. und 15. Lebenswoche detektiert wird, bzw. zwischen der 15. und 18. Lebenswoche bei einer subklinisch infizierten Herde (VICCA et al., 2002). Die Antikörperreaktion auf eine *M. hyopneumoniae* - Infektion wiederum ist variabel und kann zwischen drei bis acht Wochen dauern (NICOLET et al., 1990; KOBISCH et al., 1993; MORRIS et al.,

1995). Bei einer gleichzeitigen PRRSV-Infektion kann eine verkürzte Inkubationszeit mit klinischem Krankheitsausbruch in einem früheren Lebensalter der Tiere beobachtet werden (THACKER et al., 1999).

Das Ausmaß der Erkrankung sowie tendenziell die Transmissionrate sind abhängig von der Virulenz des invadierenden *M. hyopneumoniae* - Stammes (MEYNS et al., 2004; VICCA et al., 2003). MEYNS et al. (2007) beobachten, dass hochvirulente *M. hyopneumoniae* - Erregerstämme größere Kapazitäten haben, sich in der Lunge zu vermehren. Diese verursachen schwerwiegender Pneumonien und zeigen *in vitro* eine schnellere Generationszeit (MEYNS et al., 2007).

Verschiedene Proteine sind bisher beschrieben worden, die an der Adhäsion von pathogenen Erregerstämmen an das zilientragende Epithel von Trachea, Bronchien und Bronchiolen beteiligt sind, welche die Grundvoraussetzung für den Krankheitsausbruch gewesen sind (DEBEY und ROSS, 1994; HSU und MINION, 1997; BURNETT et al., 2006; WILTON et al., 2009). *M. hyopneumoniae* siedelt sich direkt im apikalen Bereich der Zilien, im interziliären Raum oder in der Nähe der Mikrovilli an (BLANCHARD et al., 1992; JAQUES et al., 1992). Die Konsequenzen der Kolonisierung der Atemwege sind Klumpenbildung zerstörter Epithelzellen und Reduktion der Zilienaktivität bis hin zu Zilienverlust (JAQUES et al., 1992; DEBEY und ROSS, 1994; OLIVEIRA, 2006). Toxische Metaboliten wie die Hydrogenperoxide und Superoxidradikale, die von Mykoplasmen produziert und sezerniert werden, sind an der Zerstörung der Zilien und Epithelzellen beteiligt, jedoch deutet vieles darauf hin, dass vor allem die Auswirkungen auf das Immunsystem und die Entzündungsprozesse für die klinischen Veränderungen verantwortlich sind (RAZIN, 1991; RAZIN et al., 1998).

Die Ziliostase und die Hypersekretion von zähflüssigem Schleim aus den Becherzellen (DEBEY et al., 1992) behindern den mechanischen Selbstreinigungsmechanismus der Bronchien. Diese reduzierte mukoziliäre Clearance ermöglicht Sekundärerreger die Invasion der Atemwege. In einer Studie von PALZER et al. (2008) wird anhand bakteriologischer Untersuchungen und Multiplex-PCR von bronchoalveolärer Spülflüssigkeit (BALF) von 339 Schweinen eine signifikante Assoziation von *M. hyopneumoniae* mit *Past. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. hyorhinis* und PRRSV (EU-Typ) in Deutschland ermittelt. Aufgrund der Besiedelung des oberen Atmungstraktes durch *M. hyopneumoniae*, der respiratorischen Vorschädigung und einer anhaltenden entzündlichen Immunantwort

können daraufhin derartige Pathogene bis in die Alveolen vordringen und sich im unteren Atmungstrakt vermehren (TAJIMA et al., 1984; YAGIHASHI et al., 1984; CIPRIAN et al., 1988; THACKER und MINION, 2012).

Das Ausmaß der Erkrankung und der Lungenveränderungen wird durch die Suppression und Modulation des Immunsystems beeinflusst (RAZIN et al., 1998, THACKER, 2001). Als Reaktion auf die Zilienkolonisierung des Erregers wird das umgebende peribronchiolare und perivaskuläre Gewebe mit Makrophagen, T- und B-Lymphozyten infiltriert (SARRADELL et al., 2003). Es bilden sich lymphoide Knötchen mit Keimzentren aus vorwiegend CD4<sup>+</sup>T-Zellen (SARRADELL et al., 2003). Die Lymphozyten werden zu einer mitogenen Zellteilung angeregt (MESSIER und ROSS, 1991), so dass diese Mitogene gehäuft im Lungengewebe akkumulieren. Man geht davon aus, dass diese Akkumulation an der Lungengewebsschädigung beteiligt ist (BASKERVILLE, 1972) und diese Änderungen des respiratorischen Immunsystems die Empfänglichkeit gegenüber anderen Lungenpathogenen steigert (THACKER, 2001).

## 2.4 Klinische Symptomatik

*M. hyopneumoniae* ist der Primärerreger der Enzootischen Pneumonie der Schweine. Bei einer Monoinfektion äußert sich die Mykoplasmosis mit der Symptomatik eines chronischen, nicht-produktiven Hustens, einhergehend mit reduzierten Tageszunahmen und geringerer Futterverwertungseffizienz bei hoher Morbidität und geringer Mortalität (THACKER und MINION, 2012).

Eine Ursache für die wirtschaftlichen Einbußen durch die EP stellen die reduzierten Tageszunahmen dar (POINTON, et al., 1985; MAES et al., 2003). Bei einer natürlichen Infektion mit einem *M. hyopneumoniae* - Feldstamm über inokulierte Kontaktiere variiert der Verlust der Tageszunahmen zwischen 12,7 % und 15,9 %, während die Futterverwertung der Tiere um 13,8 % gesenkt wird. (POINTON et al., 1985).

Unter Feldbedingungen sind Pneumonien häufig mit zahlreichen bakteriellen Erregern vergesellschaftet (MORRISON et al., 1985; PALZER et al., 2008). *M. hypneumoniae* verstärkt bei gleichzeitiger Infektion mit bakteriellen und viralen Erregern den Schweregrad der Pneumonien (THACKER, 2004) und ist weltweit für

erhebliche wirtschaftliche Verluste in der Schweineproduktion verantwortlich (MAES et al., 2003). Sekundärinfektionen sind gekennzeichnet durch produktiven Husten, Fieber, Anorexie, Dyspnoe, Auseinanderwachsen der Tiere und erhöhte Mortalität (MAES et al., 1996; HALBUR, 1998; THACKER und MINION, 2012).

## 2.5 Pathomorphologie und Pathohistologie

### 2.5.1 Pathomorphologische Veränderungen

Die durch *Mycoplasma hyopneumoniae* induzierten Lungenveränderungen sind gekennzeichnet durch dunkelrote bis violette, erhärtete, scharf begrenzte Lungenareale, welche in den kranioventralen Anteilen der Lungenlappen lokalisiert sind (KWON et al., 2002) und in chronischen Fällen violett bis grau und gummiartig werden (THACKER und MINION, 2012). Das Parenchym ist einheitlich in der Farbe und es lässt sich katarrhalisches Exsudat aus den angeschnittenen Luftwegen herausdrücken (WEISS und RUDOLPH, 2007; THACKER und MINION, 2012). Zusätzlich sind die Bronchial- und Mediastinallymphknoten häufig vergrößert (MAES et al., 1996).

Diese Lungenläsionen sind nicht pathognomonisch für eine *M. hyopneumoniae*-Infektion, da andere Erreger, wie das SIV, ein ähnliches pathomorphologisches Lungenmuster verursachen können (THACKER et al., 2001). Durch bakterielle oder virale Pathogene wird das makroskopische Lungenbild vielgestaltig (ZIMMERMANN und PLONAIT, 2004). An der Schnittfläche fließt mukopurulentes Exsudat aus den Bronchien und Bronchiolen (THACKER und MINION, 2012). Die Heilung der unkomplizierten, pathomorphologischen Lungenveränderungen bei einer Monoinfektion mit *M. hyopneumoniae* beginnt etwa acht Wochen *post infectionem*, so dass nach ca. zehn Wochen nur noch wenige makroskopische Läsionen zurückbleiben (MAES et al., 1996).

### 2.5.2 Pathohistologie

Pathohistologisch wird die EP nach SARRADELL et al. (2003) als eine interstitielle, katarrhalische Bronchopneumonie beschrieben. Sie zeichnet sich vor allem durch eine Hyperplasie von mononukleären Zellen im Bronchus-assoziiertem

lymphatischen Gewebe (BALT) aus (FEENSTRA et al., 1994; SARRADELL et al., 2003; OLIVEIRA, 2006). Die sogenannten Keimzentren werden von Makrophagen, dentritischen Zellen, B- und T- Lymphozyten, insbesondere von CD4<sup>+</sup>-Zellen gebildet und befinden sich in den perifollikulären Bereichen der Lymphknoten, in der Lamina propria und im Epithel der Bronchien, Bronchiolen und Alveolarsepten (SARRADELL et al., 2003). Plasmazellen, welche Immunglobulin A<sup>+</sup> (IgA<sup>+</sup>) und IgG<sup>+</sup> sezernieren, siedeln sich vorwiegend in der Peripherie des BALT an (SARRADELL et al., 2003).

## 2.6 Immunologie

Die durch *M. hyopneumoniae* verursachte EP ist größtenteils ein immunmediertes, pathologisches Geschehen (TAJIMA et al., 1984; THACKER, 2001). Der Mechanismus und die Virulenzfaktoren mittels denen *M. hyopneumoniae* dieses Krankheitsgeschehen induziert und das Immunsystem moduliert, ist aber noch weitgehend unklar (THACKER, 2001).

Mykoplasmen verfügen über komplexe Strategien, um die angeborene und auch die erworbene Immunität zu stimulieren. Über mitogene Faktoren proliferierten die T- und B- Lymphozyten derart (RUUTH und PRAZ, 1989; MESSIER und ROSS, 1991), dass deren Aggregate selbst im Lungengewebe zu Schädigungen führen (BASKERVILLE, 1972). *M. hyopneumoniae* veranlasst die Produktion proinflammatorischer Zytokine, wie IL1, IL2, IL4, IL6, IL8, IL10 und TNF α (THACKER, 2001; CHOI et al., 2006; LORENZO et al., 2006; AHN et al., 2009). Diese Sekrete schützen zwar den Wirt vor einer weiteren Erregerinvasion, aber andererseits sind sie auch an der Gewebsschädigung beteiligt (KELLY, 1990; RODRIGUEZ et al., 2004; AHN et al., 2009). Diese Signalmoleküle werden von Makrophagen und Monozyten sezerniert (RODRIGUEZ et al., 2004). Nach einer *M. hyopneumoniae* - Infektion kann zudem eine Suppression der Phagozytoseaktivität bei einem anschließenden Challengeversuch mit Sekundärerregern beobachtet werden, so dass *M. hyopneumoniae* - infizierte Tiere vermutlich für Sekundärinfektionen prädisponiert sind (CARUSO und ROSS, 1990). Die Mechanismen, wie Erreger des Respirationstrakts miteinander aggieren und wie unter anderem *M. hyopneumoniae* das Immunsystem genau moduliert ist bis heute noch unbekannt (THACKER, 2001). Toll-Like-Rezeptoren 2 (TLR2) und 6 (TLR6) spielen bei der Erkennung der

Lipoproteine von *M. hyopneumoniae* eine bedeutsame Rolle (MUNETA et al., 2003). Durch die Kolonisierung der Atemwege wirkt *M. hyopneumoniae* direkt auf den Organismus und schädigt das lokale Lungengewebe. Dies verursacht eine Klumpenbildung zerstörter Epithelzellen und letztendlich einen Zilienverlust in den oberen Atemwegen (DEBEY und ROSS, 1994). Immunglobuline (Ig) der Klasse A werden bei einer *M. hyopneumoniae* - Infektion in der Lamina propria der Trachea und in Sekreten des Respirationstrakts vermehrt nachgewiesen, wo hingegen, die von Plasmazellen sezernierten IgGs in Serum und Lunge dominieren (MESSIER et al., 1990; SHELDRAKE et al., 1993). Sekretorische IgA's verhindern die Anheftung von bakteriellen Erregern an die Epithelzellen und sind dem lokalen Abwehrmechanismus zuzuordnen (WILLIAMS und GIBBONS, 1972).

Die Antikörper, die mittels ELISA im Blut infizierter Tiere gemessen werden, können keine Aussagekraft über die Schutzwirkung im Einzeltier treffen (DJORDJEVIC et al., 1997; THACKER et al., 1998b). Die Impfstoffe gegen *M. hyopneumoniae* können zwar einen Krankheitsausbruch verhindern (THACKER et al., 2000a) sie seien aber grundsätzlich nicht in der Lage eine sterile Immunität im Tier auszubilden (MAES et al., 2008). Grundsätzlich benötigt das Immunsystem nach einem Antigenkontakt mindestens zwei bis drei Wochen um die optimale funktionelle Kapazität zu erreichen (CHASE und LUNNEY, 2012), so dass gemessene Antikörper nach einer Vakzinierung als impfinduziert angesehen werden können. Diese gemessenen Antikörper stehen nicht in Zusammenhang mit der protektiven Wirkung einer Impfung (DJORDJEVIC et al., 1997, THACKER et al., 1998b). Einen positiven Zusammenhang zwischen den gemessenen Antikörpern bzw. der Serokonversionsrate und der Prävalenz von Lungenläsionen stellen hingegen YAGIHASHI et al. (1993) fest. FANO et al. (2007) dokumentieren, das die Prävalenz von *M. hyopneumoniae* in Absetzferkeln eine prädiktive Aussagekraft über Lungenläsionen zum Zeitpunkt der Schlachtung hat.

Die Ferkel infizierter Muttersauen erhalten maternale Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* passiv über das Kolostrum, da die porzine epitheliochoriale Plazenta den Transfer maternaler Immunoglobuline verhindert (WAGSTROM et al., 2000). Die Ferkel werden dadurch ohne spezifische Immunität geboren und erhalten eine maternale Immunität erst über die Kolostralmilchgabe (BANDRICK et al., 2008). YAGIHASHI et al. (1993) interpretieren gemessene Immunglobuline bei Ferkeln, die weniger als zwei Monate alt waren, als maternale Antikörper.

## 2.7 Diagnostik

### 2.7.1 Direkter Erreger nachweis

#### 2.7.1.1 Kultivierung

Die Isolation von *M. hyopneumoniae* aus pathomorphologisch verändertem Lungengewebe über eine bakteriologische Kultivierung ist eine der sensitivsten Methoden in den späteren EP-Stadien, im Vergleich zu Immunfluoreszenz (IF), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) und polymerase chain reaction (PCR) (SÖRENSEN et al. 1997). Obwohl die Kultivierung früher als der Goldstandard galt, wird sie heutzutage in der Routinediagnostik oft durch andere Verfahren ersetzt. Aufgrund des sehr langsamen Wachstums der Kolonien von vier bis acht Wochen (FRIIS, 1975) mit speziellen Ansprüchen an das Nährmedium und mit dem Risiko einer Kontamination mit normaler Bakterienflora oder anderen Mykoplasmen, wie *M. flocculare* und *M. hyorhinis* (FRIIS, 1975; WHITTLESTONE, 1985; THACKER und MINION, 2012; ROSS, 1987), erweist es sich als sehr anfälliges, arbeits- und zeitintensives Verfahren (FRIIS, 1975).

#### 2.7.1.2 Molekularbiologische Verfahren-PCR

Als Probenmaterial für die PCR-Technik sind aktuell die BALF oder der tracheobronchiale Tupfer beim lebenden Tier am besten geeignet (MAROIS et al., 2007), weil der Erreger sich am zilientragenden respiratorischen Epithel anhaftet und vermehrt (BLANCHARD et al., 1992). Der in der Schweinemedizin einfach und schnell durchführbare Nachweis von *M. hyopneumoniae* aus Nasentupfern (PRADO et al., 2013) besitzt in Studien von FABLET et al. (2010), PIETERS und ROVIRA (2013) eine geringere Sensitivität als die BALF.

Bei Einzeltieruntersuchungen ist nur bei 15 % der experimentell infizierten Tiere *M. hyopneumoniae* in den oberen Atemwegen nachweisbar (KURTH et al., 2002; PIETERS und PIJOAN, 2006), so dass das Probenmaterial aus den Nasenhöhlen eher für ein Herdenmonitoring geeignet ist (OTAGIRI et al., 2005). SIBILA et al. (2008) stellen einen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von

*M. hyopneumoniae* aus Nasentupfern von Absetzferkeln und dem Vorkommen von EP-Lungenläsionen fest.

Es gibt verschiedene PCR-Techniken. Zur Steigerung der Sensitivität werden bei der nested PCR zwei Sets von Primern genutzt, wodurch eine minimale Anzahl von vier bis fünf Mikroorganismen detektiert werden können (THACKER, 2004). Eine multiplex PCR etablieren STAKENBORG et al. (2006) für den Nachweis mehrerer verschiedener porziner Mykoplasmen. Durch die real-time PCR wird eine quantitative Aussage über den Erreger ermöglicht (MAROIS et al., 2010). PIETERS und ROVIRA (2013) können erste positive Ergebnisse bereits fünf Tage *post inoculationem* aus BALF, Larynx- und Nasentupfern erzielen. Das PCR-Verfahren erlaubt den Nachweis von bereits wenigen *M. hyopneumoniae* - Organismen und ist imstande, Erregerfragmente aus Umgebungs- und Luftfilterproben nachzuweisen (STÄRK et al., 1998a). Für den Ausschluss eines falsch positiv getesteten Probenmaterials durch Kontamination aus einer *M. hyopneumonie* - positiven Umgebung und für unterschiedliche Probenmaterialen sollten verschiedene Testverfahren herangezogen werden (KURTH et al., 2002).

#### 2.7.1.3 IF, IHC und ISH

Die Immunfluoreszenz (IF) oder die Immunhistochemie (IHC) weisen *M. hyopneumoniae* mit Hilfe von markierten Antikörpern direkt im Lungengewebe nach. Beide Methoden sind schnell und kostengünstig (AMANFU et al., 1984; SORENSEN et al., 1994). Da das Probenmaterial für die Untersuchung nicht degeneriert sein darf, muss das zu untersuchende Lungengewebe unmittelbar nach Todeseintritt des Tieres für eine IHC in Formalin fixiert bzw. für eine IF auf Eis gelegt werden und innerhalb von 24 Stunden ins Labor versendet werden (THACKER und MINION, 2012). Sofern das Probenmaterial keine Bronchien mit zilienbesetzten Epithelien enthält, birgt diese Technik das Risiko von falsch-negativen Ergebnissen (THACKER, 2004). Demnach ist die Sensitivität des Tests bei ungeeignetem Probenmaterial sowie Trägertieren und subklinischen Erkrankungen sehr gering und wird in der Routinediagnostik kaum verwendet (SÖRENSEN et al., 1997; HILTERMANN-LINDEN, 2004). Die In-situ-Hybridisierung (ISH) macht mit einer Digoxin-versetzten Probe bestimmte Genomabschnitte von *M. hyopneumoniae* im infizierten Lungengewebe farblich sichtbar (KWON und CHAE, 1999).

## 2.7.2 Indirekter ErregerNachweis

Serologische Tests können als indirekter ErregerNachweis für die Kontrolle im Herdenmonitoring eingesetzt werden, insbesondere für die Überwachung von *M. hyopneumoniae* - negativen Herden (THACKER und MINION, 2012). Antikörperprofile können sowohl über eine simultane Blutentnahme bei Tieren eines Bestandes aus verschiedenen Altersbereichen (transversales Verfahren) erstellt werden oder es wird eine individuelle Tiergruppe wiederholt während eines Produktionszyklus beprobt (longitudinales Verfahren; ANDREASEN et al., 2000; SIBILA et al., 2009).

Der Nachweis von *M. hyopneumoniae* ist über verschiedene ELISA Methoden möglich. Zum Beispiel über einen blocking ELISA (DAKO *M. hyopneumoniae*-ELISA) oder über indirekte ELISA-Tests (HerdChek® *M. hyopneumoniae*Antibody Test Kit und Tween 20 *M. hyopneumoniae*-ELISA) (THACKER, 2004). In Untersuchungen über die Spezifität und Sensitivität verschiedener ELISA-Tests treten falsch-positive Ergebnisse vermindernd gering auf, so dass die Spezifität der ELISA-Tests als sehr gut zu beurteilen ist (AMERI-MAHABADI et al., 2005; ERLANDSON et al., 2005). Die Sensitivität beträgt lediglich 35 - 63 % (ERLANDSON et al., 2005). Dadurch reicht die serologische Diagnostik allein nicht aus, einen negativen Herdenstatus zu beweisen. Zudem kann mittels serologischer Methoden bis heute nicht zwischen infizierten und vakzinierten Schweinebeständen unterschieden werden (STRAIT et al., 2004; PAUSENBERGER et al., 2014). Dies erschwert die Interpretation der Ergebnisse. Sobald sich Diskrepanzen in den Ergebnissen der verschiedenen ELISA-Tests ergeben, sollte ein Western Blot Immunosassay zur Ermittlung verschiedener *M. hyopneumoniae* - Antigene als ergänzendes Verfahren genutzt werden (AMERI et al., 2006).

Die Serokonversion weist in verschiedenen Studien erhebliche Unterschiede bei der natürlichen und experimentellen Infektion auf. Obwohl nach zehn Tagen bis vier Wochen nach experimenteller, intratrachealer Infektion die Tiere Antikörper bilden (SHELDRAKE et al., 1990; KOBISCH et al., 1993), können SHELDRAKE et al. (1990) und LEON et al. (2001) unter Feldbedingungen erst zwischen der 12. und 20. bzw. 15 und 17. Lebenswoche eine Serokonversion bei Schweinen im Endmastalter eruieren, wobei LEON et al. (2001) wie in Studien von KOBISCH et al. (1993), MORRIS et al. (1995) und SÖRENSEN et al. (1997) eine Infektion ein bis sechs Wochen vor der Serokonversion vermuten. KOBISCH et al. (1993) stellen die

höchste Serokonversionsrate erst zwischen der elften und zwölften Woche *post infectionem* fest. Es ist zu beachten, dass im Vergleich zu experimentell infizierten Tieren bzw. zu Tieren mit direktem Kontakt zu infizierten Tieren gegenüber Schweinen, die sich über indirekten Kontakt infizieren, eventuell einer niedrigeren Infektionsdosis ausgesetzt sind und sich so diese langsame Ausbreitung des Erregers und die verzögerte und langsame Serokonversion erklären ließe (FANO et al., 2005). Die Ursache für die späte Serokonversion von *M. hyopneumoniae* wird zudem damit begründet, dass der Erreger gering invasiv auf den Wirtsorganismus einwirkt (SITJAR et al., 1996) und sich nach einer Infektion nicht systemisch ausbreitet. Bei einer Beteiligung von PCV2 (OPRIESSNIG et al., 2004) am Krankheitsgeschehen wird ein signifikant höherer Anstieg der *M. hyopneumoniae* - Antikörper am 21. und 35. Tag *post infectionem* beobachtet und auch ein Koinfektion mit SIV (THACKER et al., 2001) lässt eine Tendenz zu höheren *M. hyopneumoniae* – Antikörpern in der zweifach infizierten Gruppe erkennen (THACKER et al., 2001, OPRIESSNIG et al., 2004). Laut DJORDJEVIC et al. (1997) und THACKER (1998b) besteht jedoch keine Korrelation zwischen der Höhe der Antikörper und der protektiven Wirkung gegen eine Pneumonie. Unter der Verwendung verschiedener kommerzieller Impfstoffe stellt THACKER (1998b) fest, dass einige Impfstoffe hohe Antikörper und eine größere Anzahl an seropositiven Tieren induzieren. Andererseits bleiben manche Versuchstiere an Tag 28 und 45 *post vaccinationem*, je nach Impfgruppe, seronegativ (THACKER, 1998b).

## 2.8 Bekämpfungsstrategien

### 2.8.1 Antibiotische Behandlung

Der Einsatz von Antibiotika gegen *M. hyopneumoniae* kann zur Kontrolle der Erkrankung unterstützend beitragen (THACKER und MINION, 2012). Chemotherapeutika können zwar die Erregermenge im Respirationstrakt minimieren, aber nicht eliminieren (THACKER et al., 2006), noch bereits bestehende Lungenläsionen wieder gesunden lassen (THACKER und MINION, 2012).

*M. hyopneumoniae* ist als zellwandloser Erreger nicht sensibel gegenüber  $\beta$ -Laktamantibiotika, welche die Zellwandsynthese der Bakterien hemmen (MAES et al., 2008). Zahlreiche Antiinfektiva, wie Tilmicosin, Tulathromycin und Doxycycline hingegen zeigen gute Erfolge bei der Bekämpfung der klinischen Erkrankung, sowie verbesserte Tageszunahmen (BOUSQUET et al., 1998). Einen schnelleren Heilungsverlauf und eine geringere Mortalitätsrate in Beständen, in denen neben *M. hyopneumoniae* noch weitere Lungenpathogene gefunden werden, ermitteln NUTSCH et al. (2005). NUTSCH et al. (2012) ermitteln in einer experimentellen Studie, dass die Behandlung von *M. hyopneumoniae* - infizierten Tieren mit Tulathromycin zu signifikant weniger Lungenläsionen im Vergleich zur Tildipirosin-Therapie führt.

Anhand von *in-vitro*-Untersuchungen ermitteln THONGKAMKOON et al. (2010) die beste Wirksamkeit mit Valnemulin und Tiamulin, wobei die minimale Hemmstoffkonzentration (MHK) für *M. hyopneumoniae* für diese Wirkstoffe am niedrigsten ist. Ferner besitzt Florfenicol gemäß den experimentellen Untersuchungen von WILHELM et al. (2012) *in vitro* eine hohe antimikrobielle Aktivität gegen zahlreiche getestete *M. hyopneumoniae* - Isolate. Die Forscher nutzen hierfür 95 verschiedene *M. hyopneumoniae* - Stämme, welche aus dem Atmungstrakt von erkrankten Schweinen aus acht verschiedenen europäischen Ländern isoliert wurden (WILHELM et al., 2012). VICCA et al. (2004) können bei fünf von 21 *M. hyopneumoniae* - Feldisolaten eine Widerstandsfähigkeit gegenüber den Fluorchinolonen Flumequin und Enrofloxacin und bei einem Isolat gegenüber Lincomycin, Tilmicosin, and Tylosin nachweisen. Weitere Studien berichten über Resistenzen gegenüber Marbofloxacin (LE CARROU et al., 2006), Chlortetrazykline, Makroliden und Lincomycin (THONGKAMKOON et al., 2013).

Laut THACKER et al. (2006) hat der Zeitpunkt des Medikamenteneinsatzes einen bedeutenden Einfluss auf eine erfolgreiche Therapie gegen *M. hyopneumoniae*. Ein optimales Antibiotikaregime sollte eine Woche vor dem erwarteten Krankheitsausbruch und für ein bis drei Wochen lang verabreicht werden (MAES et al., 2008). Unter Feldbedingungen war *M. hyopneumoniae* zudem mit Sekundärerregern vergesellschaftet (THACKER und MINION, 2012), so dass eine Kombination aus verschiedenen Antibiotika zur Behandlung der EP sinnvoll sein kann (BURCH et al., 1986; STIPKOVITS et al., 2001).

Eine signifikante Reduktion der *M. hyopneumoniae* - Prävalenz in Zuchtsauen zum Zeitpunkt der Geburt und beim Absetzen können HOLST et al. (2013) mit einer einmaligen Injektion von Tulathromycin am 112. Trächtigkeitstag bewirken. Infolge der geringeren *M. hyopneumoniae* - Exposition wird eine geringe Anzahl seropositiver Saug- und Absetzferkel ermittelt (HOLST et al., 2013).

Für eine pulsierende Dosismedikation gegen *M. hyopneumoniae* verwenden WALTER et al. (2000) Tiamulin und Chlortetrazyklin in Kombination sieben Tage lang als Medizinalfutter jeweils in den Wochen zwei, vier, sieben, zehn, dreizehn nach Masteinstallung und sie haben damit gute Erfolge. Aufgrund der Resistenzentwicklung und den möglichen Risiken von antimikrobiellen Rückständen in Schlachttierkörper raten MAES et al. (2008) diese Strategie, als auch kontinuierliche Behandlungen während einer oder mehrerer Produktionsstadien ab. In der Literatur finden sich verschiedene Ergebnisse über die Antibiotikawirksamkeit. So reduzieren sich in einer experimentellen Studie von HANNAN et al. (1982) die *M. hyopneumoniae* - Pneumonien unter Einsatz von Tiamulin. ROSS und COX (1988) können hingegen keinen therapeutischen Effekt von Tiamulin auf die makroskopischen und mikroskopischen Lungenläsionen feststellen. Diese scheinbar konträren Resultate beruhen vermutlich auf einer unterschiedlichen Empfänglichkeit verschiedener *M. hyopneumoniae* - Isolate, sowie dem Studiendesign, den gemessenen Parametern und der An- oder Abwesenheit von Sekundärerregern (THACKER und MINION, 2012).

## 2.8.2 Prävention

### 2.8.2.1 Optimierung der Umweltbedingungen

Die Optimierung der Haltungsbedingungen ist eine der wichtigsten Maßnahmen, um eine *M. hyopneumoniae* - Infektion in einem Bestand kontrollieren zu können (SIBILA et al., 2004). Das Alles-Rein-Alles-Raus Verfahren kann die Zirkulation der Pathogene von älteren auf jüngere Tiergruppen unterbinden (CLARK et al., 1991). Für den Platzbedarf eines Mastschweines auf Vollspaltenboden wurden 1984 0,7 m<sup>2</sup> festgelegt, um die Auswirkungen der Überbelegung und die zunehmende Übertragungsrate respiratorischer Erreger zu minimieren (MADEC, 1984). Laut der Verordnung zum Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere und anderer zur Erzeugung

tierischer Produkte gehaltener Tiere bei ihrer Haltung (Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung § 29 Absatz 2) sind heute für ein Mastschwein über 110 kg KGW 1,0 m<sup>2</sup> vorgeschrieben (BGBl I 2014a). Die Trennung von naiven Jungsauen und ihren Würfen bis zur zweiten Trächtigkeit von dem Altsauenbestand dient laut HOY et al. (1986) der Vermeidung einer Destabilisierung der Herdenimmunität. MAES et al. (1996) raten unter anderem in ihrem Managementprogramm zu weniger als 30 % primiparen Zuchtsauen im Gesamtbestand. Weitere Managementstrategien werden in Reviews von MAES et al. (1996, 2008) empfohlen. Hierzu gehören die Einhaltung hygienischer Standardmaßnahmen (BATISTA et al., 2004), einschließlich regelmäßige Reinigung und Desinfektion, Stressminimierung durch weniger Umstellungen, kein Zurückversetzen der Tiere, optimale Klimatisierung mit adäquater Raumtemperatur, Luftfeuchte (60 – 80 %) und Luftgeschwindigkeit (< 0,2 m/s) (MAES et al., 1996).

#### 2.8.2.2 Vakzination

Der wirtschaftliche Erfolg und finanzielle Nutzen einer *M. hyopneumoniae* - Impfung zeigt sich in einer klinischen Verbesserung der respiratorischen Problematik in *M. hyopneumoniae* - infizierten Betrieben (MAES et al., 1999). Eine Steigerung der Tageszunahmen, eine Verbesserung der Futterverwertung und eine bessere Schlachtkörperqualität können festgestellt werden (POINTON et al., 1985; MAES et al., 1999).

MUIRHEAD und ALEXANDER (1997) überlegen sich zahlreiche Voraussetzungen für die Implementierung einer Impfung in infizierten Betrieben. Hierzu werden unter anderem folgende Kriterien genannt: die Präsenz von *M. hyopneumoniae* im Bestand wird diagnostiziert, ein kontinuierliches Infektionsgeschehen an respiratorischen Erkrankungen sei in der Herde vorhanden und die Notwendigkeit eines medizinalen Einsatzes wäre erforderlich. Sekundärinfektionen, insbesondere die mit PRRSV, APP und SIV assoziiert sind, existieren im Betrieb und die Mortalitätsrate vom Absetzen bis zur Schlachtung liegt höher als vier Prozent. Die Vakzinationskosten würden geringer ausfallen als die Einbußen, die durch die Sterblichkeitsrate oder den derzeitigen erforderlichen Antibiotikaeinsatz entstehen (MUIRHEAD und ALEXANDER, 1997).

Dahingegen vereinfacht CLARK (2000) die ökonomische Entscheidung für einen Impfeinsatz gegen *M. hyopneumoniae* mit einer Faustregel: Die Schweine haben mit

180 Lebenstagen ihr Schlachtgewicht (~113 kg) noch nicht erreicht. Maximale Impferfolge werden jedoch erst einige Monate nach der Implementierung einer Impfung erreicht (HAESEBROUCK et al., 2004). Im Vergleich zu Chemotherapeutika hat die Impfung den Vorteil, dass sie keine antimikrobiellen Resistenzen in pathogenen Bakterien provoziert und keine Risiken über Rückstände im Schlachttierkörper entstehen (MAES et al., 2008).

Obwohl eine Vakzination gegen *M. hyopneumoniae* die klinischen Auswirkungen vermindert, schützt sie nicht vor einer Kolonisierung der Atemwege und kann den Erreger nicht eliminieren (MEYNS et al., 2006; SIBILA et al., 2008). Einige Studien belegen, dass die Anzahl der Organismen im Respirationstrakt numerisch durch eine Impfung reduziert wird (MEYNS et al., 2006) beziehungsweise die *M. hyopneumoniae* - Prävalenz in einem Schweinebestand gesenkt wird (SIBILA, 2007b). Es wird aber weder in experimentellen Studien (MEYNS et al., 2006) noch unter Feldbedingungen (VILLARREAL et al., 2011) eine signifikante Reduktion der Übertragungsrate von *M. hyopneumoniae* durch eine Vakzination erreicht.

Die kommerziell erhältlichen Impfstoffe sind Totimpfstoffe aus Ganzzellorganismen oder Membranbestandteilen von *M. hyopneumoniae* (THACKER und MINION, 2012). Two-Shot-Impfstoffe werden den Saugferkeln zweimalig im Abstand von drei bis vier Wochen verabreicht, hingegen werden bei dem Einsatz von One-Shot-Vakzinen die Schweine vorwiegend ab einem Alter von drei Lebenswochen einmalig geimpft (SELBITZ, 2006).

BACCARO et al. (2006) testen zwei One-Shot-Impfungen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, da sie sich gegenüber einer Zweifachimpfung den Vorteil versprechen, dass die Tiere aufgrund der einmaligen Injektion weniger Handlingsstress ausgesetzt sind und die Schlachtkörperqualität durch weniger Injektionsstellen verbessert wäre. Beide Impfstoffe zeigen eine vergleichbare Wirksamkeit bezüglich der Produktionsparameter. Die EP-Lungenläsionen weisen aber Unterschiede zwischen den Impfgruppen auf. Somit können abhängig vom Impfstoff auch One-Shot-Vakzine zur Kontrolle der EP in einem Bestand eingesetzt werden (BACCARO et al., 2006). Die Wahl der jeweiligen Impfstrategie sollte betriebsindividuell entschieden werden und ist unter anderem abhängig von dem allgemeinen Gesundheitszustand des Bestandes, dem zeitlichen Auftreten der klinischen EP, dem Vorhandensein maternaler Antikörper und der Zirkulation von anderen pathogenen Erregern, wie PRRSV (THACKER und MINION, 2012).

Mehrere Studien beschäftigen sich mit dem Einfluss von maternalen Antikörpern auf eine Ferkelimpfung gegen *M. hyopneumoniae*. Experimentelle Untersuchungen von THACKER et al. (1998a) und JAYAPPA et al. (2001) zeigen, dass weniger impfinduzierte Serumantikörper bei Ferkeln geimpfter Zuchtsauen mit hohen maternalen Antikörpern detektiert werden im Vergleich zu Ferkeln von ungeimpften Sauen. WILSON et al. (2013) beweisen in ihren Feldstudien jedoch die erfolgreiche Vakzination von ein-Wochen-alten Ferkeln gegen *M. hyopneumoniae*, die nicht von der Höhe maternaler Antikörper beeinflusst gewesen ist. In Ab- oder Anwesenheit maternaler Antikörper zeigen geimpfte Ferkel einen signifikant niedrigeren Prozentsatz an Lungenläsionen und die *M. hyopneumoniae* – Erregermenge in BALF und Lunge ist geringer als bei nicht geimpften Kontrolltieren (WILSON et al., 2013). Auch MARTELLI et al. (2006) zeigen in ihrer experimentellen Studie, dass eine Vakzination gegen *M. hyopneumoniae* von Saugferkeln am siebten Lebenstag ähnliche serologische Immunantworten auslöst, unabhängig von der An- oder Abwesenheit maternaler Antikörper. Experimentelle Studien von THACKER et al. (1998a) und GREINER et al. (2011) belegen, dass ein erfolgreiches Impfprogramm gegen *M. hyopneumoniae* nicht vom Zeitpunkt der Ferkelimpfung abhängig ist. Bei GREINER et al. (2011) werden drei Versuchsgruppen, die verschiedene Impfstoffe zu verschiedenen Impfzeitpunkten (One-Shot-Impfung am dritten LT, Two-Shot-Impfung am dritten und 19. Lebenstag und Two-Shot-Impfung am 19. und 40. Lebenstag) erhalten und eine Kontrollgruppe unterscheiden. Es werden keine Unterschiede in den Tageszunahmen oder im Schlachtgewicht ermittelt (GREINER et al., 2011). Grundsätzlich ist eine erfolgreiche Impfung zumal von der sachgerechten Anwendung von Impfstoffen und von weiteren beeinflussenden Faktoren abhängig (JUNGBÄCK und LEMKE, 2006). Es gibt zahlreiche Gründe dafür, dass eine Impfung unter Feldbedingungen erfolglos geblieben ist, nach denen im jeweiligen Problembetrieb zu suchen ist. Eine unvorschriftsmäßige Lagerung der Impfstoffe, eine falsche Applikationstechnik, eine Immunsuppression aufgrund von Stress oder eine kurze Immunitätsdauer könnten beispielsweise eine Impfung fehlschlagen lassen (THACKER et al., 1998a; THACKER und MINION, 2012). Die Anwesenheit von Parasiten und Infektionserregern beeinflusst die *M. hyopneumoniae* - Impfung ebenfalls negativ. Eine *Ascaris suum*-Infektion mindert laut STEENHARD et al. (2009) die Effizienz einer *M. hyopneumoniae* - Impfung.

THACKER et al. (2000b) stellen fest, dass die Impfwirksamkeit darüber hinaus von der Beteiligung eines PRRSV-Erregerstammes abhängig ist.

### 2.8.3 Eradikation

Das SPF-Verfahren gewährleistet eine spezifizierte Erregerfreiheit eines *M. hyopneumoniae* - infizierten Bestandes. Hierbei werden Ferkel mittels Kaiserschnitt entwickelt und als immunnaive Tiere isoliert aufgezogen, indem sie kein Kolostrum von der Muttersau erhalten. Dieses Vorgehen dient als Grundlage für den Aufbau eines *M. hyopneumoniae* - freien Schweinebestandes (ZIMMERMANN und PLONAIT, 2004).

Das „Swiss system“ nutzt zur Teilsanierung ein zehn bis 14-tägig Ferkel-freies-Intervall. Jungsauen unter zehn Lebensmonaten sind mit inbegriffen. Dies wird mit einem zeitweisen Fütterungseinsatz von Tiamulin oder eine Kombination aus Chlortetrazyklin, Tylosin und Sulfadimidin ergänzt (ZIMMERMANN et al., 1989).

Ein ebenfalls intensiver Antibiotikaeinsatz wird beim medicated-early-weaning-Programm eingesetzt. Die Zuchtsauen werden in der späten Trächtigkeit und bei der darauffolgenden Abferkelung mit Medizinalfutter versorgt. Die neugeborenen Ferkel werden mit fünf Lebenstagen frühzeitig abgesetzt und erhalten ab der Geburt für die ersten zehn Lebenstage eine Antibiotikatherapie (ALEXANDER et al., 1980). Modifizierte Verfahren mit einem Absetzalter von zwölf oder 21 Lebenstagen der Ferkel, und einem Antibiotikaeinsatz werden experimentell teilweise erfolgreich eingesetzt (CLARK et al., 1998).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Versuchsbetrieb

Es handelte sich um einen geschlossenen Betrieb mit 100 Zuchtsauen und 400 Mastplätzen. Die Abferkelungen erfolgten im 3-Wochen-Rhythmus mit vierwöchiger Säugezeit. Eine Anforderung an den Versuchsbetrieb waren zwei aufeinanderfolgende Abferkelgruppen mit jeweils 14 Muttersauen. Nach dem Absetzen wurden die Ferkel in ein Flatdeck und mit Beginn der zwölften Lebenswoche in den Maststall verbracht. Die verschiedenen Gebäudekomplexe befanden sich im Umkreis von 200 m direkt am Hof und die einzelnen Abteile wurden im „Alles-Rein-Alles-Raus-Verfahren“ belegt. In der Leerstehphase wurden die Stallungen gereinigt, aber nicht desinfiziert. Flatdeck und Maststall waren mit Betonvollspaltenböden, Nippeltränken und Sensor-Kurztrögen ausgestattet. Die Frischluftzufuhr wurde über einen Zentralgang den Stallungen zugeführt und gelangte über Porendecken in die einzelnen Stallabteile. Die Abluft wurde zentral abgesaugt. Zusätzlich zu einer Fußbodenheizung wurden die Absetzferkel über Mista-Platten und Deltarohre mit Wärme versorgt.

Der Versuchsbetrieb führte die Entwurmung seines Zuchtsauenbestandes terminorientiert zweimal jährlich mit Ivomec-Prämix® (Fa. Merial, Frankreich) als Futtermedikation durch. Die Impfungen der Zuchtsauen gegen Parvovirose und Rotlauf erfolgten reproduktionsorientiert mit dem Impfstoff Parvoruvac® (Fa. Merial, Frankreich). Die Impfung der Ferkel gegen *M. hyopneumoniae* wurde mit einem Zweifachimpfstoff durchgeführt und die Impfung gegen PCV2 erfolgte einmalig zum Zeitpunkt des Absetzens. Diese Impfungen wurden bereits seit Jahren im Versuchsbetrieb durchgeführt. Zur Eignung des Betriebes für den Versuch wurde die Mykoplasmen-Exposition untersucht. Dafür wurden zwölf Ferkeln in der fünften Lebenswoche Nasentupferproben entnommen. Diese wurden mittels *M. hyopneumoniae* - PCR vor Versuchsbeginn untersucht und bestätigten die Präsenz von *M. hyopneumoniae* am Versuchsbetrieb.

## 3.2 Versuchstiere

Die Mastschweine waren eine Dreirassenkreuzung. Sie stammten von Hybridzuchtsauen, die eine Kombination aus Edelschwein und Landrasse waren ab, welche mit einem Piétrain als Vaterrasse gekreuzt wurden.

### 3.2.1 Auswahl der Tiere

Ab dem Monat November wurden aus zwei aufeinanderfolgenden Abferkelungen insgesamt 271 Tiere in die Feldstudie einbezogen. Alle geborenen Ferkel mit ungestörtem Allgemeinbefinden und einem Mindestkörpermengewicht von 1,20 kg am Tag der Geburt galten als Versuchstiere.

### 3.2.2 Zootechnische Maßnahmen und betriebsspezifische Behandlungen

Unabhängig von der Einteilung der Ferkel in die verschiedenen Versuchsgruppen erhielten alle Tiere aufgrund einer Saugferkel-Durchfallproblematik am ersten Lebenstag metaphylaktisch Baytril® 5 mg/ml Lösung (Fa. Bayer Austria GmbH, Österreich). Das Schwanzkupieren, Zähne schleifen sowie die Eisenapplikation mit 2 ml Eisendextran (Vanafer® 100 mg/ml-Injektionslösung, Fa. Vana GmbH, Österreich) erfolgten am dritten Lebenstag. Die Kastration der männlichen Saugferkel wurde in der ersten Lebenswoche unter Einsatz des nichtsteroidalen Entzündungshemmern Finadyne® (0,15 ml/Saugferkel; Fa. Intervet MSD Animal Health, Österreich) vorgenommen. Alle Tiere erhielten am Absetztag eine Vakzinierung gegen PCV2 mit 1 ml Ingelvac CircoFLEX® (Fa. Boehringer Ingelheim Vetmedica, Deutschland), gleichzeitig zu der im Versuch durchgeführten Mykoplasmenimpfung. Nach Herstellerangaben kann der PCV2-Impfstoff bei Schweinen einmalig ab einem Alter von zwei Wochen eingesetzt werden.

Über weitere erforderliche Einzel- und Gruppenbehandlungen wurde im Versuchsablauf abhängig von der klinischen Problematik und dem Ausmaß einer Erkrankung entschieden. Diese werden im Kapitel 4.1 näher beschrieben.

### 3.3 Versuchsgruppen

#### 3.3.1 Einteilung der Versuchsgruppen

Die Ferkel des ersten Mastdurchganges (MD1) wurden zum ersten Wiegetermin wurfweise nach Geschlecht und Gewicht randomisiert und in zwei Impfgruppen aufgeteilt. Mit den Tieren des zweiten Mastdurchganges (MD2), welche drei Wochen darauf geboren wurden, erfolgte die Impfgruppeneinteilung ebenso (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Versuchsgruppen**

VERSUCHSGRUPPEN	Stellamune-IG	n	MycoFLEX-IG	n
	MD1	74	MD1	68
	MD2	60	MD2	69
Mykoplasmen-Vakzine	Stellamune® Mycoplasma		Ingelvac MycoFLEX®	
Impfart	Two-Shot		One-Shot	
Impfregime	9. (8.-12.) und 30. (29.-33.) Lebenstag		30. (29-33.) Lebenstag	

Für die Erkennung der Impfgruppe (IG) wurden alle Versuchstiere mit fortlaufend nummerierten Ohrmarken in zwei verschiedenen Farben gekennzeichnet. Die Einteilung und Kennzeichnung der Ferkel, sowie alle Impfungen erfolgten während der Säugephase und waren mit dem Absetzen am 30. (29.-33.) Lebenstag abgeschlossen.

Die Ferkel der sogenannten „MycoFLEX-Impfgruppe“ (MycoFLEX-IG) wurden beim Absetzen mit 1 ml der One-Shot-Vakzine Ingelvac MycoFLEX® (Fa. Boehringer Ingelheim Vetmedica, Deutschland) geimpft. Die Ferkel der sogenannten „Stellamune-Impfgruppe“ (Stellamune-IG) erhielten den Two-Shot-Impfstoff Stellamune® Mycoplasma (Fa. Richter Pharma, Österreich) mit je 2 ml (Tabelle 1). Die zweite Impfung in der Stellamune-IG bzw. die erste Impfung in der MycoFLEX-IG wurde beim Absetzen verabreicht. Beide Impfstoffe gegen *M. hyopneumoniae* wurden zu diesem Zeitpunkt zeitgleich mit dem PCV2-Impfstoff appliziert. Die Applikationen erfolgten an getrennten Injektionsstellen intramuskulär, kaudal des höchsten Punktes des Ohrgrundes.

Für ein longitudinales Blutentnahmeverfahren wurden insgesamt 32 Tiere aus dem gesamten Versuch wurfweise ausgewählt und mit einer zweiten Ohrmarke versehen.

Die Ferkel wurden nach ihrer Impfgruppe und ihrem Mastdurchgang fortlaufend gekennzeichnet.

### 3.3.2 Vakzinen

In dieser Studie sollte ein One-Shot- mit einem Two-Shot-Impfstoff gegen *M. hyopneumoniae* verglichen werden. Es handelte sich bei dem Zweifachimpfstoff um den Impfstoff Stellamune® Mycoplasma (Fa. Richter Pharma, Österreich). Er enthielt als wirksame Substanz pro 2 ml Impfdosis inaktiviertes *M. hyopneumoniae*-Antigen mit mindestens 6.000 relativen ELISA-Einheiten. Als Adjuvantien dienten Thiomersal (max. 0,2 mg) und Amphigen (max. 0,1 ml). Nach Herstellerangaben werden die erste Dosis innerhalb der ersten Lebenswoche (ab dem 3. Lebenstag) und die zweite Dosis beim Absetzen (3. - 5. Lebenswoche) appliziert.

Die One-Shot-Vakzine Ingelvac MycoFLEX® (Fa. Boehringer Ingelheim Vetmedica, Deutschland) enthielt pro 1 ml Impfdosis den *M. hyopneumoniae* inaktivierten Stamm J, Isolat B-3745, versetzt mit dem Adjuvans Carbomer. Nach Herstellerangaben wird der Impfstoff bei Schweinen einmalig ab einem Alter von drei Wochen eingesetzt.

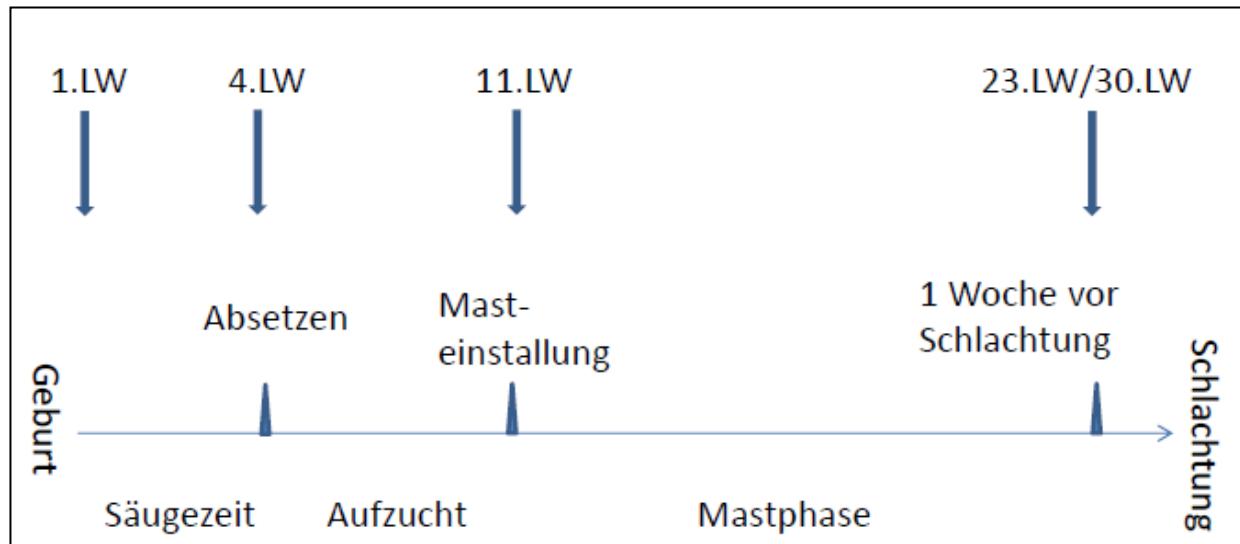
## 3.4 Methoden

### 3.4.1 Ermittlung der Tageszunahmen

Zur Ermittlung der Wachstumsleistung wurden alle Schweine nach Vollendung der ersten Lebenswoche (1.LW), zum Zeitpunkt des Absetzens (4.LW), zur Einstallung in die Mast (11.LW) und eine Woche vor dem Schlachtermin einzeln gewogen (Abbildung 1). Aus den gewonnenen Daten wurden für jedes Versuchstier die mittleren Tageszunahmen (ADWG) für die Säuge-, Aufzucht- und Mastphase ermittelt. Die Ergebnisse wurden zwischen den Impfgruppen miteinander verglichen.

Aus organisatorischen Gründen seitens des Versuchsbetriebes und des Schlachthofes wurden für die zwei Mastdurchgänge insgesamt neun verschiedene Schlachetermine und damit neun abschließende Wiegetermine festgesetzt. Die Einzeltierwiegungen im Saug- und Absetzferkelalter erfolgten mit einer elektronischen Waage (EOP 15K10N Paketwaage 15 kg, Ablesbarkeit 10 g, Kern Sohn GmbH, Deutschland). Bei den Mastschweinen wurde das Körnergewicht mittels

einer mobilen digitalen Viehwaage (MS Scale Easy digitale Selektionswaage, max. Wiegekapazität: 1000 kg, Sapro Handels GmbH, Österreich) ermittelt.

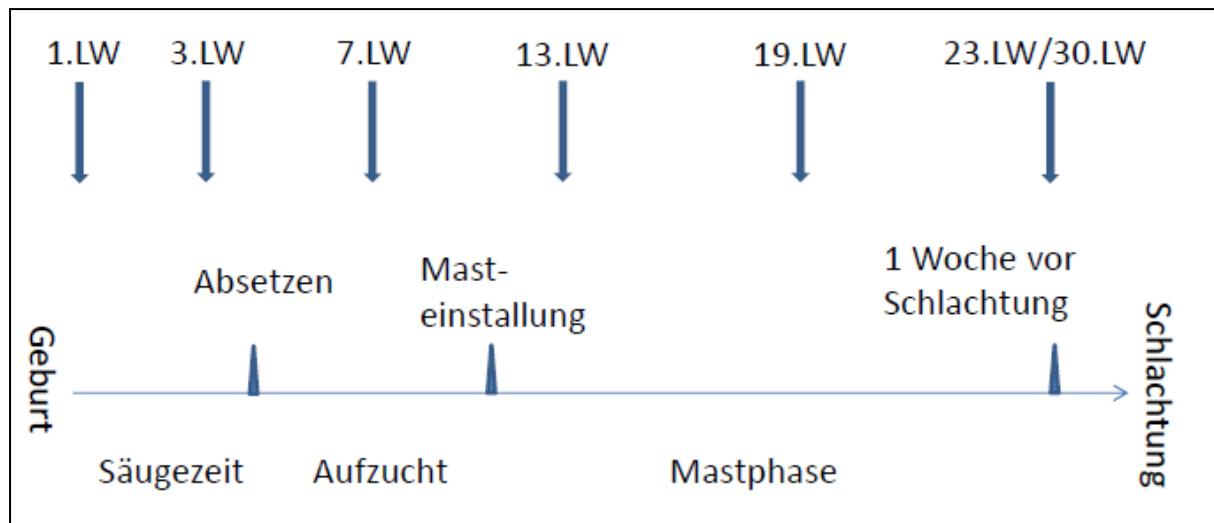


**Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der Ermittlung der Körpergewichte**

### 3.4.2 Blutprobenentnahme

Zur Untersuchung von Serumantikörpern wurden aus jeder Impfgruppe 16 Tiere aus verschiedenen Würfen für die Blutentnahme ausgewählt (Abbildung 2). Diese Probenanzahl sollte es möglich machen, bei einer angenommenen Sensitivität des verwendeten ELISA-Tests von mindestens 50% (ERLANDSON et al., 2005) mit einem Konfidenzlevel von 95% wenigstens ein positives Tier zu detektieren, sobald die Prävalenz größer oder gleich 30 % war. Die erste Blutentnahme erfolgte jeweils ca. am siebten Lebenstag vor der ersten Impfung der Stellamune-IG mittels Punktion der *Vena (V.) cava cranialis* mit einer sterilen Einmalkanüle (Neolus®, 1.2 x 40 mm, Fa. Terumo Europe N.V., Belgien). Hierfür wurden die Saugferkel in Rückenlage von einer Hilfsperson fixiert. Die Manipulation der Ferkel für die zweite Blutentnahme am Ende der dritten Lebenswoche vollzog sich gleichermaßen. Die darauffolgenden Blutentnahmen erfolgten in der siebten, 13. und 19. Lebenswoche, sowie eine Woche vor dem Schlachtermin mittels Fixierung in der Oberkieferschlinge aus der *V. jugularis externa* mit sterilen Einmalkanülen (Mastschweine ab 13. Lebenswoche: 2.1 x 60 mm, Fa. Bovi-Vet, Japan). Für die Probenentnahme wurden zuvor beschriftete

Serummonovetten (Monovette® 9 ml Z, Fa. Sarstedt AG & Co., Deutschland) verwendet. Zur Probenaufbereitung wurden die Röhrchen im Labor der Traunkreis Vetclinic 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert, das Serum in Küvetten pipettiert und bis zur weiteren Untersuchung bei -20°C gelagert.



**Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Blutprobenentnahmen**

### 3.4.3 Serologische Diagnostik

Die Untersuchung des Serums wurde im Labor der Klinik für Schweine an der Veterinärmedizinischen Universität in Wien, Österreich, durchgeführt.

Die Bestimmung spezifischer Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* wurde mit dem Ingezim M.Hyo Compac® (Chargennr. 060411, Fa. Immunologia Y Genetica Aplicada S.A., Spanien) durchgeführt. Es handelte sich hierbei um einen Blocking-ELISA, der gemäß den Herstellerangaben durchgeführt wurde. Mit einem Microtiterplattenlesegerät (Microplate Reader Model 680/21124, Fa. Biorad, Österreich) wurden die fotometrischen Messungen der optischen Dichte der Blutproben (OD-Werte) vorgenommen. Die Beurteilung, ob eine Blutprobe positiv oder negativ einzustufen war, erfolgte anhand von zwei Cut-off- Werten. Die Cut-off-Werte wurden pro ELISA-Platte nach folgenden Formeln berechnet:

Cut-off (-) = 0,45 x Negativkontrolle

Cut-off (+) = 0,40 x Negativkontrolle

Blutproben wurden als positiv beurteilt, wenn der OD-Wert bei 450 nm gleich oder unter dem positiven Cut-off-Wert lag. Blutproben wurden als negativ interpretiert, wenn der OD-Wert bei 450 nm gleich oder über dem negativen Cut-off-Wert lag. Sofern sich das Ergebnis einer Blutprobe zwischen den Cut-off-Werten befand, wurde es als zweifelhaft eingestuft. Bei der Interpretation der Serokonversion wurden die zweifelhaften Blutproben wie positive Proben beurteilt. Die Berechnung der Blocking-ELISA in % ergab sich aus folgender Formel:

$$\text{Blocking-ELISA in \%} = 100 - \frac{\text{OD-Wert} \times 100}{\text{OD-Negativkontrolle}}$$

Aus den ELISA-Werten der insgesamt 216 Blutproben (sechs Blutentnahmetermine der insgesamt 32 Tiere) wurde für die einzelnen Impfgruppen (MycoFLEX-IG, Stellamune-IG) der Anteil positiver Proben berechnet. Die Sensitivität und Spezifität des Testsystems wird vom Hersteller nicht angegeben.

### 3.4.4 Lungenscore

Die adspektorische und palpatorische Lungenbefundung erfolgte nach Abschluss der Schlachtung der Versuchstiere in den Gebäuden des Schlacht- und Zerlegebetriebes Grossfurtner GmbH in Sankt Martin im Innkreis.

Die Lungen der Tiere wurden nacheinander vom Schlachtbandsmann genommen und in fortlaufend nummerierten Plastiktüten kurzfristig verwahrt, während eine Hilfsperson an den Schlachttierkörperhälften die Ohrmarkennummern notierte und den fortlaufenden Zahlen zuordnete. Die Klassifizierung der Lungen erfolgte nach einem modifizierten Scoringssystem nach MADEC und KOBISCH (1982) (Tabelle 2). Für die einzelnen Lungenlappen (links: *Lobus cranialis pars cranialis*, *Lobus cranialis pars caudalis*, *Lobus caudalis*; rechts: *Lobus cranialis*, *Lobus medialis*, *Lobus caudalis* und *Lobus accessorius*) wurden je nach Ausmaß der pathomorphologischen Veränderungen Punkte von 0 bis 4 vergeben. Das Vorkommen von Abszessen, Pleuritiden oder von vergrößerten Tracheobronchiallymphknoten wurde notiert. Eine vollständig pathomorphologisch veränderte Lunge erhielt eine Gesamtzahl von

maximal 28 Punkten (Tabelle 3). Es wurden nur vollständig vom Schlachtkörper entnommene Lungen gescort.

**Tabelle 2: Lungenscore am Schlachthof modifiziert nach MADEC und KOBISCH (1982)**

Punktvergabe	pathomorphologische Veränderungen des einzelnen Lungenlappens
0	nicht vorhanden
1	kleine Veränderungen; nicht größer als 3x3 cm
2	größere Veränderungen, jedoch weniger als 1/2 des Lungenlappens
3	umfangreiche Veränderung, jedoch nicht gesamter Lungenlappen betroffen
4	gesamter Lungenlappen betroffen

**Tabelle 3: Lungenbefundung für eine Tierlunge**

Lobus cranialis sinister pars cranialis	0-4
Lobus cranialis sinister pars caudalis	0-4
Lobus caudalis sinister	0-4
Lobus cranialis dexter	0-4
Lobus medialis	0-4
Lobus accessorius	0-4
Lobus caudalis dexter	0-4
GESAMTZAHL	0-28
BEMERKUNGEN:	z.B. Abszesse

### 3.4.5 Tierverluste und erkrankte Tiere

Während des Versuchsvorhabens schieden einige Versuchstiere aus der Studie aus. Ausschlusskriterien waren der Verlust der Ohrmarke, die Entnahme einer nicht vollständigen Lunge am Schlachtband und das Verenden bzw. die Tötung der Tiere. Alle verendeten und getöteten Tiere wurden einer Sektion unterzogen. Dabei wurden Organproben entnommen, die für eine weiterführende mikrobiologische Untersuchung ins Labor für Veterinärmedizinische Diagnostik und Hygiene in Wien (Fa. LaboVet GmbH, Österreich) versendet wurden. Bei Vorliegen pathomorphologischer Veränderungen des Respirationstraktes wurde eine bakteriologische Untersuchung von Tupferproben oder Lungenteilen durchgeführt.

Klinisch erkrankte Schweine wurden dokumentiert und erhielten eine antibiotische Therapie.

### 3.4.6 Statistik

Die Dateneingabe erfolgte in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel 2010®. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm Statistical Analysis System für Windows Version 9.2 (SAS®, Institute Inc. Cary NC, USA).

Für die Parameter Gewicht, Tageszunahmen und den Lungenscore wurden für die Impfgruppen jeweils die Mittelwerte, die Standardabweichung, das Minimum und das Maximum errechnet.

Um statistische Unterschiede zwischen der Stellamune- und der MycoFLEX-Impfgruppe zu prüfen, wurde beim Lungenscore der Wilcoxon-Rangsummen-Test verwendet. Die Körpergewichte der Einzeltiere zum Geburtszeitpunkt, beim Absetzen, zur Masteinstellung und das Schlachtendgewicht bildeten die Grundlage der Berechnung der durchschnittlichen Tageszunahmen. Ein T-Test für unabhängige Stichproben wurde zum Vergleich der Absolutgewichte und der Tageszunahmen angewendet. Die Anzahl an Tierverlusten in beiden Impfgruppen wurde anhand des Exakten Fisher-Tests miteinander verglichen. Sobald der p-Wert eines Vergleichs kleiner oder gleich 0,05 betrug, wurden die Unterschiede zwischen den Impfgruppen als signifikant angesehen ( $p \leq 0,05$ ). Die Beschreibung der Serologie erfolgte deskriptiv.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Tiere und Daten

Es wurden anfänglich 271 Tiere aus 28 Würfen in den Versuch einbezogen. Aufgrund von 16 Todesfällen wurden von 255 Schweinen Daten über die Wachstumsleistung erfasst.

Von insgesamt 45 Tieren (16 Todesfälle und 29 andere Ausfälle) wurden keine Daten am Schlachthof dokumentiert. 29 Versuchstiere schieden aus dem Punktesystem aus, da die Lungen nicht vollständig vom Geschlinge entnommen werden konnten oder aufgrund von Ohrmarkenverlust (= OM-Verlust) keiner Impfgruppe mehr zuzuordnen waren. Somit wurde von 226 Tieren ein Lungenscore erfasst (Tabelle 4).

Im ersten Mastdurchgang wurden alle Versuchstiere in der siebten Lebenswoche mit dem Medizinalfutter Oxytetrazyklin 40 % (Dosierung: 10g/100kg KGW/Tag, Fa. AniMed Service AG, Österreich) behandelt. Diese Aufzuchtferkel zeigten zu diesem Zeitpunkt eine klinische Symptomatik in Form von gehäuftem Niesen, verstärkter Atemfrequenz und Fieber. Zusätzlich war die Fressleistung auf 80 % herabgesetzt.

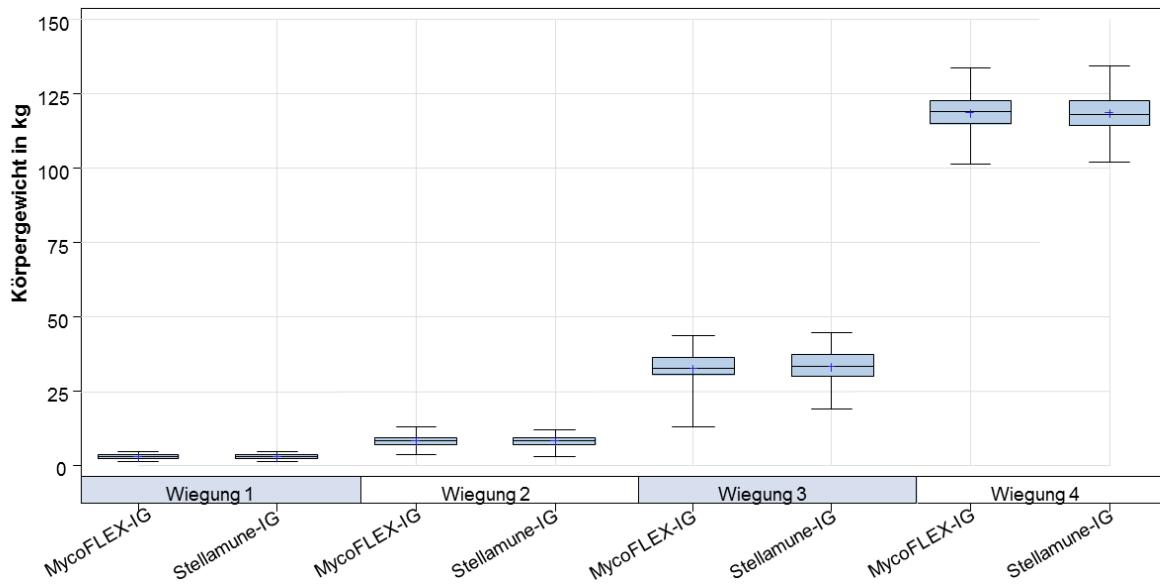
Insgesamt wurden sieben Tiere aus dem ersten Mastdurchgang aufgrund von Husten und Kümmern behandelt. Vier Tiere stammten aus der MycoFLEX-IG und drei Tiere gehörten zur Stellamune-IG. Fünf dieser Tiere (drei Tiere aus der MycoFLEX-IG, zwei Tiere aus der Stellamune-IG) wurden in der siebten Lebenswoche einmalig mit Amoxicillin (Betamox LA®, 1 ml / 10 kg KGW, Fa. Norbrook, Nordirland) behandelt. Ein Tier aus der MycoFLEX-IG erhielt in der 13. Lebenswoche Tulathromycin (1 ml / 40 kg KGW, Draxxin®, Fa. Pfizer, Frankreich) und ein Tier aus der Stellamune-IG wurde in der 19. Lebenswoche mit Danofloxazin (1 ml / 20 kg KGW, Advocid®, Fa. Zoetis, Österreich) behandelt. Aufgrund der geringen Tieranzahl und der gleichmäßigen Verteilung auf beide Impfgruppen wurden diese Einzeltierbehandlungen in den weiteren Auswertungen nicht berücksichtigt.

**Tabelle 4: Anzahl der untersuchten Tiere für Gewichtsentwicklung, Lungenscore und Verluste pro Impfgruppe und Mastdurchgang**

<b>Impfgruppe</b>	<b>Mast-durchgang</b>	<b>Eingeschlossene Tiere</b>	<b>Todesfälle</b>	<b>ausgewertete Tiere nach ADWG</b>	<b>OM-Verlust oder unvollständige Lungenentnahme</b>	<b>ausgewertete Tiere im Lungenscore</b>
MycoFLEX-IG	MD1	137	4	64	16	115
	MD2		2	67		
Stellamune-IG	MD1	134	5	68	13	111
	MD2		5	56		
<b>Gesamt</b>		271	16	255	29	226

## 4.2 Gewichtsentwicklung

In Abbildung 3 und Tabelle 5 wurde ein Vergleich zwischen dem durchschnittlichen Körpergewicht der beiden Impfgruppen unabhängig von den Mastdurchgängen erstellt. Bei der ersten Wiegung (W1) wogen die Tiere der MycoFLEX-IG im Mittel 2,99 kg und die Tiere der Stellamune-IG 2,98 kg. Die zweite Wiegung (W2) ergab durchschnittlich 8,30 kg KGW in der MycoFLEX-IG und 8,31 kg KGW in der Stellamune-IG. In der dritten Wiegung (W3) erbrachten die Tiere ein mittleres Körpergewicht von 32,88 kg in der MycoFLEX-IG und 33,38 kg in der Stellamune-IG. Zur vierten Wiegung (W4) hatten die Endmasttiere ein mittleres Schlachtgewicht von 118,99 kg in der MycoFLEX-IG und 118,86 kg in der Stellamune-IG. Der Vergleich der Körpergewichte der beiden Versuchsgruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten ergab einen p-Wert > 0,05. Somit lag zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Impfgruppen vor.



**Abbildung 3: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen beider Mastdurchgänge. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum**

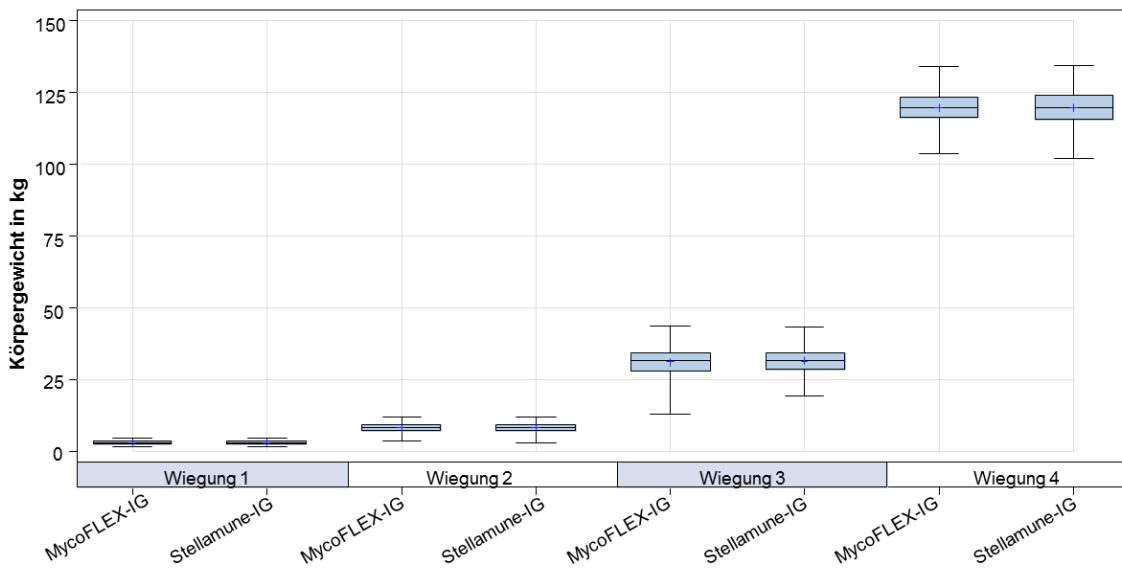
**Tabelle 5: Gewichte beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge**

Wiegung	Impfgruppen	Tieranzahl	Mittelwert	Stand.abw.	Minimum	Maximum
W1	Mycoflex-IG	131	2,99	0,709	1,30	4,60
	Stellamune-IG	124	2,98	0,769	1,25	4,85
W2	Mycoflex-IG	131	8,30	1,729	3,40	13,10
	Stellamune-IG	124	8,31	1,643	3,20	11,70
W3	Mycoflex-IG	131	32,88	5,034	13,00	44,00
	Stellamune-IG	124	33,38	5,351	19,00	45,00
W4	Mycoflex-IG	131	118,99	6,535	101,50	134,00
	Stellamune-IG	124	118,86	6,439	102,00	134,50

Das Alter der Ferkel zum Zeitpunkt W1 war im Durchschnitt neun Tage (acht – zwölf Tage), zum Zeitpunkt W2 30 Tage (29 – 33 Tage) und zum Zeitpunkt W3 81 Tage (78 – 92 Tage). Zum vierten und letzten Wiegetermin eine Woche vor der

Schlachtung betrug das Alter der Tiere in der MycoFLEX-IG im Mittel 186,03 (162 - 210 Tage; Standardabweichung: 12,95) und die Tiere in der Stellamune-IG waren im Mittel 185,72 Tage alt (162 - 213; Standardabweichung: 12,87). Auch bezüglich des Lebensalters der Tiere zum letzten Wiegetermin zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ( $p = 0,847$ ).

Im ersten Mastdurchgang (Abbildung 4, Tabelle 6) hatten die Tiere zu W1 in der MycoFLEX-IG im Mittel ein Gewicht von 3,07 kg und die Tiere der Stellamune-IG wogen im Mittel 3,04 kg. Die Mittelwerte der weiteren drei Wiegungen waren in der MycoFLEX-IG folgende: W2 ergab im Mittel 8,12 kg. Zu W3 hatten die Tiere ein Körpergewicht von 31,13 kg und zu W4 hatten sie ein mittleres Schlachtgewicht von 119,74 kg. Die Gewichtserhebungen der Stellamune-IG des ersten Mastdurchganges ergaben jeweils im Mittel 8,30 kg bei W2, 31,45 kg bei W3 und 119,76 kg bei W4.

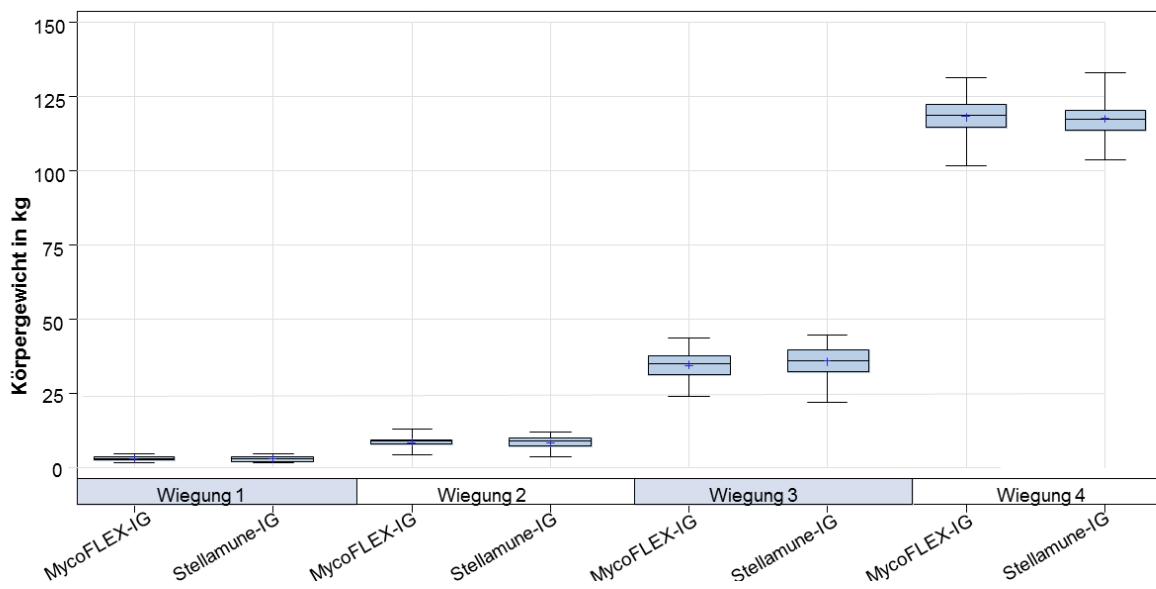


**Abbildung 4: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen im ersten Mastdurchgang. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum**

**Tabelle 6: Deskriptive Statistik der Wiegungen beider Impfgruppen im ersten Mastdurchgang**

Wiegung	Impfgruppen	Tieranzahl	Mittelwert	Stand.abw.	Minimum	Maximum
W1	Mycoflex-IG	64	3,07	0,644	1,45	4,60
	Stellamune-IG	68	3,04	0,715	1,40	4,70
W2	Mycoflex-IG	64	8,12	1,667	3,40	11,70
	Stellamune-IG	68	8,30	1,585	3,20	11,70
W3	Mycoflex-IG	64	31,13	5,295	13,00	43,50
	Stellamune-IG	68	31,45	4,958	19,00	43,00
W4	Mycoflex-IG	64	119,74	6,288	103,50	134,00
	Stellamune-IG	68	119,76	6,633	102,00	134,50

Im zweiten Mastdurchgang (Abbildung 5, Tabelle 7) zeigten sich in der dritten und vierten Wiegung die stärksten Differenzen zwischen beiden Impfgruppen. Die Tiere der MycoFLEX-IG hatten bei der Wiegung 3 (W3) im Mittel ein Körpergewicht von 34,56 kg. Demgegenüber wog die Stellamune-IG zu diesem Zeitpunkt im Mittel 1,14 kg mehr und es ergab sich ein mittleres Körpergewicht von 35,73 kg. Im Gegensatz dazu ergab sich in der vierten Wiegung eine Differenz von 0,49 kg mit 118,27 kg KGW in der MycoFLEX-IG und 117,78 kg KGW in der Stellamune-IG.



**Abbildung 5: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum**

**Tabelle 7: Deskriptive Statistik der Wiegungen beider Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang**

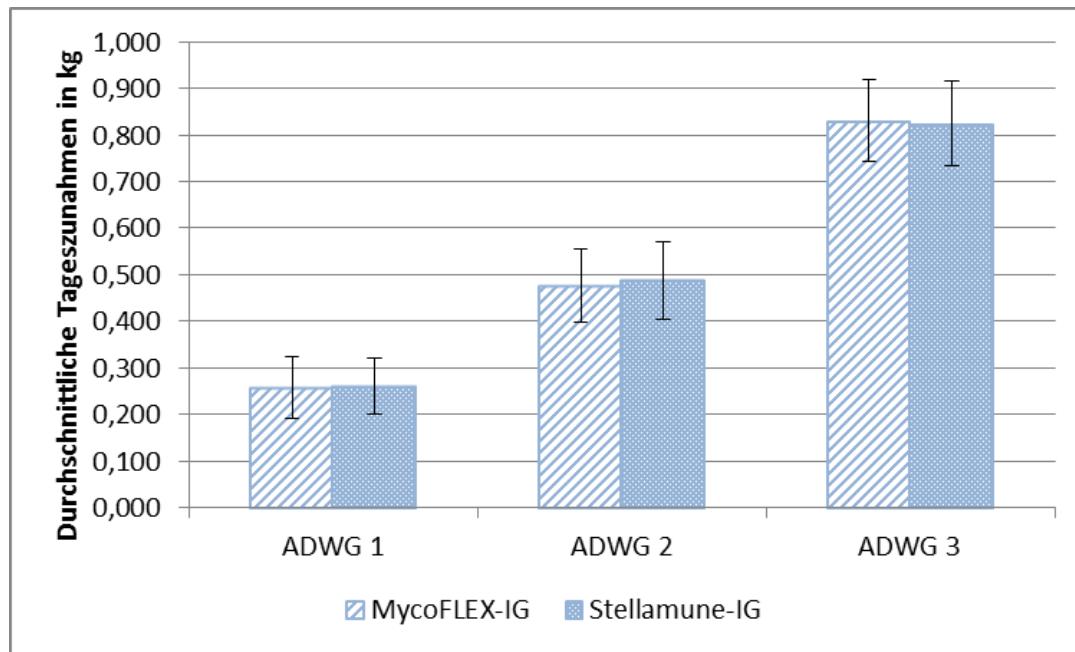
Wiegung	Impfgruppen	Tieranzahl	Mittelwert	Stand.abw.	Minimum	Maximum
W1	Mycoflex-IG	67	2,92	0,764	1,30	4,35
	Stellamune-IG	56	2,91	0,830	1,25	4,85
W2	Mycoflex-IG	67	8,48	1,781	4,05	13,10
	Stellamune-IG	56	8,32	1,725	3,75	11,70
W3	Mycoflex-IG	67	34,56	4,159	24,00	44,00
	Stellamune-IG	56	35,73	4,882	22,00	45,00
W4	Mycoflex-IG	67	118,27	6,730	101,50	131,50
	Stellamune-IG	56	117,78	6,078	104,00	133,00

Die Unterschiede in den Gewichten der beiden Versuchsgruppen waren insgesamt und aufgeteilt nach den Mastdurchgängen zu keinem Zeitpunkt signifikant ( $p$ -Wert > 0,05).

In der Betrachtung der durchschnittlichen Tageszunahmen (ADWG) kennzeichnete ADWG1 den Zeitraum von der ersten Wiegung bis zum Absetzen (Tabelle 8). Die Zunahmen betragen 0,261 kg in der Stellamune-IG und 0,259 kg in der MycoFLEX-IG. ADWG2 kennzeichnete den Zeitraum vom Absetzen bis zur Masteinstallung und ADWG3 den Zeitraum von der Einstellung in die Mast bis eine Woche vor Schlachtung. Die Tiere der Stellamune-IG hatten folgende ADWG-Werte: ADWG2 mit 0,487 kg und ADWG3 mit 0,825 kg. Die Tiere der MycoFLEX-IG hatten folgende ADWG-Werte: ADWG2 mit 0,475 kg und ADWG3 mit 0,831 kg. Die beiden Impfgruppen unterschieden sich bezüglich der Tageszunahmen nicht signifikant voneinander (Tabelle 8, Abbildung 6).

**Tabelle 8: Deskriptive Statistik der durchschnittlichen Tageszunahmen beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge**

ADWG	Impfgruppen	Tieranzahl	Mittelwert	Stand.abw.	Minimum	Maximum	p-Wert
ADWG1	Mycoflex-IG	131	0,259	0,066	0,063	0,433	0,821
	Stellamune-IG	124	0,261	0,061	0,078	0,423	
ADWG2	Mycoflex-IG	131	0,475	0,079	0,196	0,678	0,255
	Stellamune-IG	124	0,487	0,083	0,252	0,709	
ADWG3	Mycoflex-IG	131	0,831	0,089	0,545	1,033	0,619
	Stellamune-IG	124	0,825	0,091	0,636	1,153	



**Abbildung 6: Durchschnittliche Tageszunahmen (ADWG) in kg beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge unter Angabe der Standardabweichung**

### 4.3 Serologie

Für die Beurteilung einer Blutprobe im ELISA ergaben die berechneten Cut-offs folgende Werte (Tabelle 9):

**Tabelle 9: Cut-off-Grenzbereiche im ELISA zu den einzelnen Blutentnahmen**

Cut-Off	1.LW	3.LW	7.LW	13.LW	19.LW	23.LW	24.LW	25.LW	26.LW	27.LW	28.LW	30.LW
positiv	0,37	0,37	0,37	0,36	0,36	0,36	0,36	0,48	0,36	0,48	0,36	0,48
negativ	0,42	0,42	0,42	0,40	0,40	0,40	0,40	0,55	0,40	0,55	0,40	0,55

Die 32 Beprobungstiere wurden gemäß ihrer Impfgruppe, dem Mastdurchgang und einer fortlaufenden Nummer bezeichnet (Abbildung 11, 12). MycoFLEX 1/5 war beispielsweise das Einzeltier mit der fortlaufenden Nummer 5 aus dem ersten Mastdurchgang.

Von insgesamt acht Tieren wurden die Ergebnisse der serologischen Untersuchung zu verschiedenen Blutnahmeterminen als zweifelhaft eingestuft und in den nachfolgenden Kapiteln wie seropositive Blutproben beurteilt: MycoFLEX 1/2 und MycoFLEX 1/3 in der ersten Lebenswoche, Stellamune 1/1 und Stellamune 1/5 in der

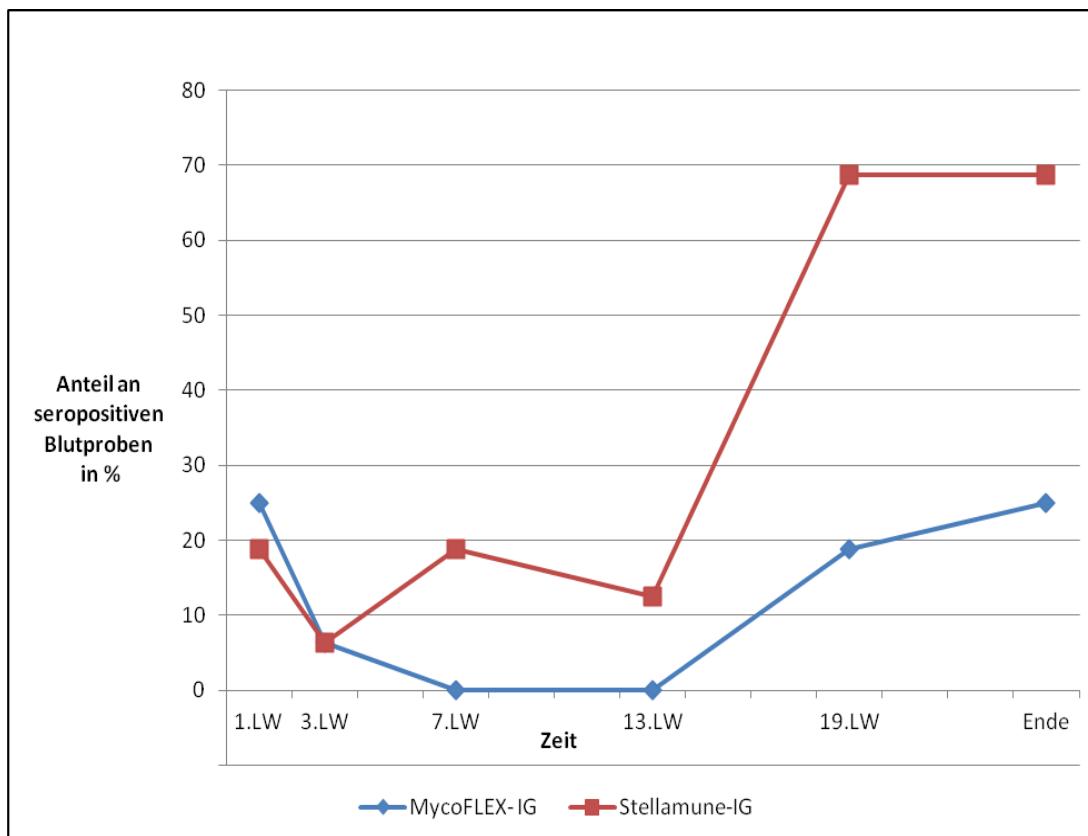
siebten Lebenswoche, Stellamune 2/3 in der 13. Lebenswoche, MycoFLEX 1/6 in der 19. Lebenswoche, Stellamune 1/1, Stellamune 2/4 und Stellamune 2/5 zu Mastende.

#### 4.3.1 Impfgruppen

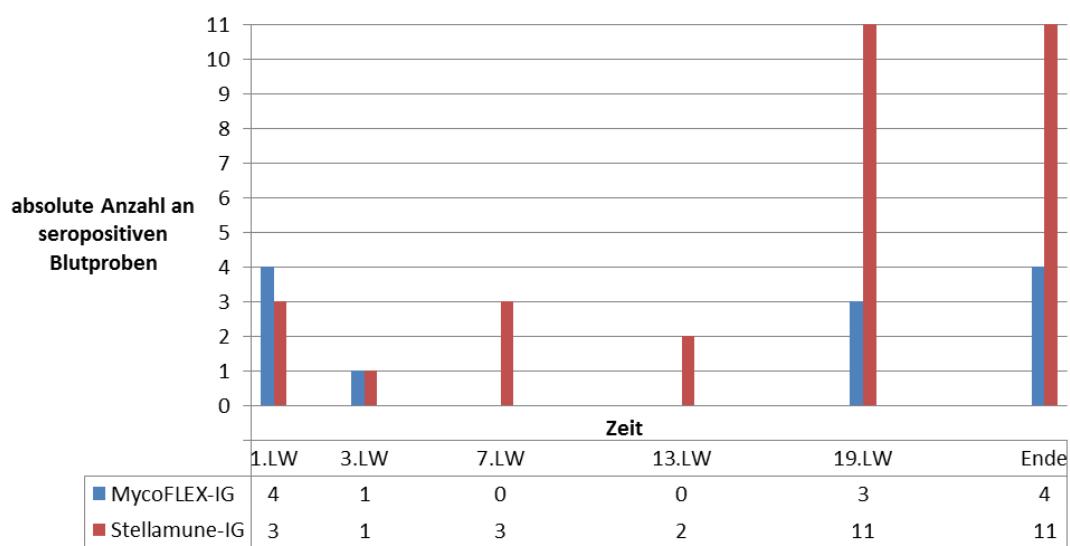
In beiden Impfgruppen konnte ein Abfall seropositiver Tiere von der ersten zur dritten Lebenswoche beobachtet werden (Tabelle 10, Abbildung 7). Der Anteil seropositiver Tiere stieg in der Stellamune-IG von der dritten zur siebten Lebenswoche wieder an (von 6,3 % auf 18,8 %), während in der MycoFLEX-IG in der siebten und 13. Lebenswoche keine seropositiven Tiere nachweisbar waren. Nach einem leichten Rückgang an seropositiven Tieren in der Stellamune-IG von der siebten zur 13. Lebenswoche, stieg der Anteil in beiden Impfgruppen zur 19. Lebenswoche deutlich an (Abbildung 7) und blieb bis zum Mastende auf einem ähnlichen Niveau (Abbildung 7, 8).

**Tabelle 10: Anteil an seropositiv getesteten Blutproben in Prozent und unter Angabe der absoluten Zahlen pro Impfgruppe**

Impfgruppe	Mastdurchgänge	1.LW	3.LW	7.LW	13.LW	19.LW	Ende
MycoFLEX-IG	Gesamt n = 16	25,0 n = 4	6,3 n = 1	0,0 n = 0	0,0 n = 0	18,8 n = 3	25,0 n = 4
	MD1	50,0	12,5	0,0	0,0	12,5	12,5
	MD2	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	37,5
Stellamune-IG	Gesamt n = 16	18,8 n = 3	6,3 n = 1	18,8 n = 3	12,5 n = 2	68,8 n = 11	68,8 n = 11
	MD1	37,5	12,5	25,0	0,0	75,0	62,5
	MD2	0,0	0,0	12,5	25,0	62,5	75,0

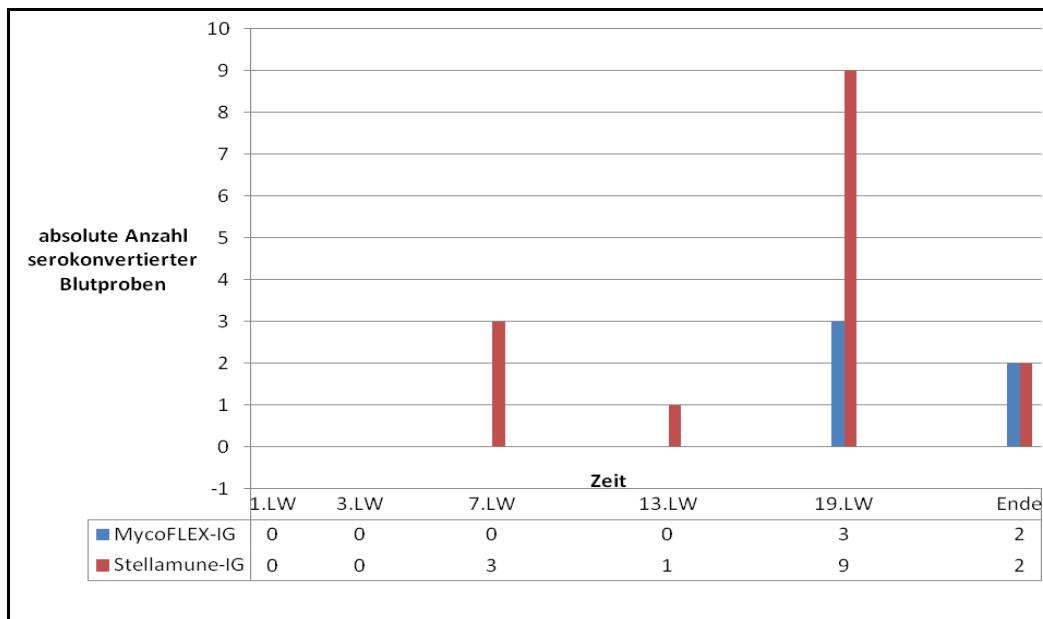


**Abbildung 7: Prozentualer Anteil an seropositiven Blutproben zu den einzelnen Blutentnahmepunkten in beiden Versuchsgruppen**



**Abbildung 8: Absolute Anzahl seropositiv getesteter Tiere je Impfgruppe**

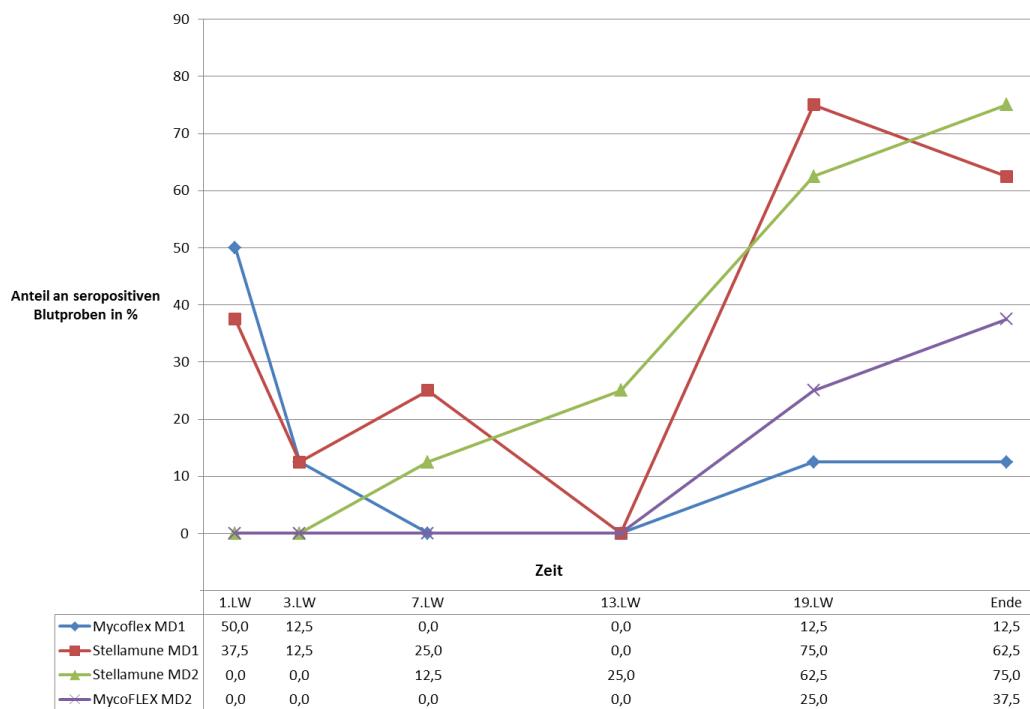
Die Anzahl der Tiere, die nach einem negativen Blocking-ELISA-Ergebnis zum nächsten Entnahmepunkt positiv getestet wurden, stieg deutlich in der siebten und in der 19. Lebenswoche an (Abbildung 9).



**Abbildung 9: Absolute Anzahl an Tieren, die nach einem negativen ELISA-Ergebnis zu dem jeweiligen Entnahmepunkt positiv getestet wurden**

Aufgeteilt auf die beiden Mastdurchgänge zeigten sich Unterschiede im Verlauf (Tabelle 10, Abbildung 10). Im ersten Mastdurchgang konnten in der ersten Lebenswoche seropositive Tiere in beiden Impfgruppen nachgewiesen werden. Von der ersten auf die dritte Lebenswoche zeigte sich in beiden Impfgruppen ein Absinken an vorhandenen Antikörpern. Im Gegensatz dazu wurden im zweiten Mastdurchgang bei beiden Impfgruppen in der ersten und dritten Lebenswoche keine Antikörper nachgewiesen.

Ein voneinander abweichender Antikörperverlauf ließ sich des Weiteren bei der Stellamune-IG zwischen den beiden Mastdurchgängen zwischen der siebten und 13. Lebenswoche erkennen (Abbildung 10). Während im MD1 zunächst ein Absinken der seropositiv getesteten Blutproben von der ersten auf die dritte und dann noch einmal von der siebten auf die 13. Lebenswoche nachweisbar war, zeigte sich im MD2 ein kontinuierlicher Anstieg an seropositiven Tieren ab der siebten Lebenswoche (Abbildung 10).



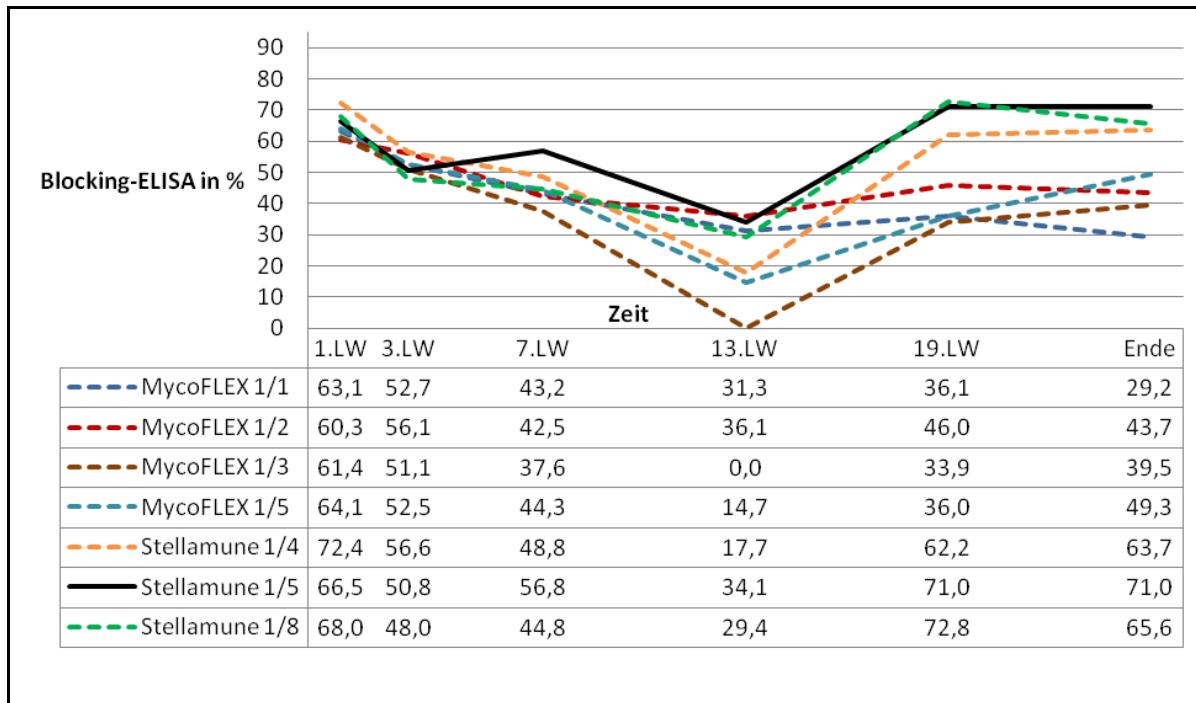
**Abbildung 10: Prozentualer Anteil an seropositiven Blutproben zu den einzelnen Blutentnahmepunkten getrennt nach den Versuchsgruppen und dem Mastdurchgang**

#### 4.3.2 Einzeltiere

Die Einzeltiere wurden nachfolgend in eine seropositive und seronegative Gruppe je nach dem serologischen Ergebnis in der ersten Lebenswoche eingeteilt. Der Verlauf der Blocking-ELISA-Werte, insbesondere von der ersten bis zur siebten Lebenswoche wurde detaillierter ausgewertet. Dieser Lebensabschnitt der Tiere beschreibt den Zeitpunkt vor, während und nach der One- bzw. Two-Shot-Impfung. Bei der Beschreibung des Verlaufes muss berücksichtigt werden, dass die Quantifizierung der Blocking-ELISA-Werte vom Hersteller nicht validiert ist.

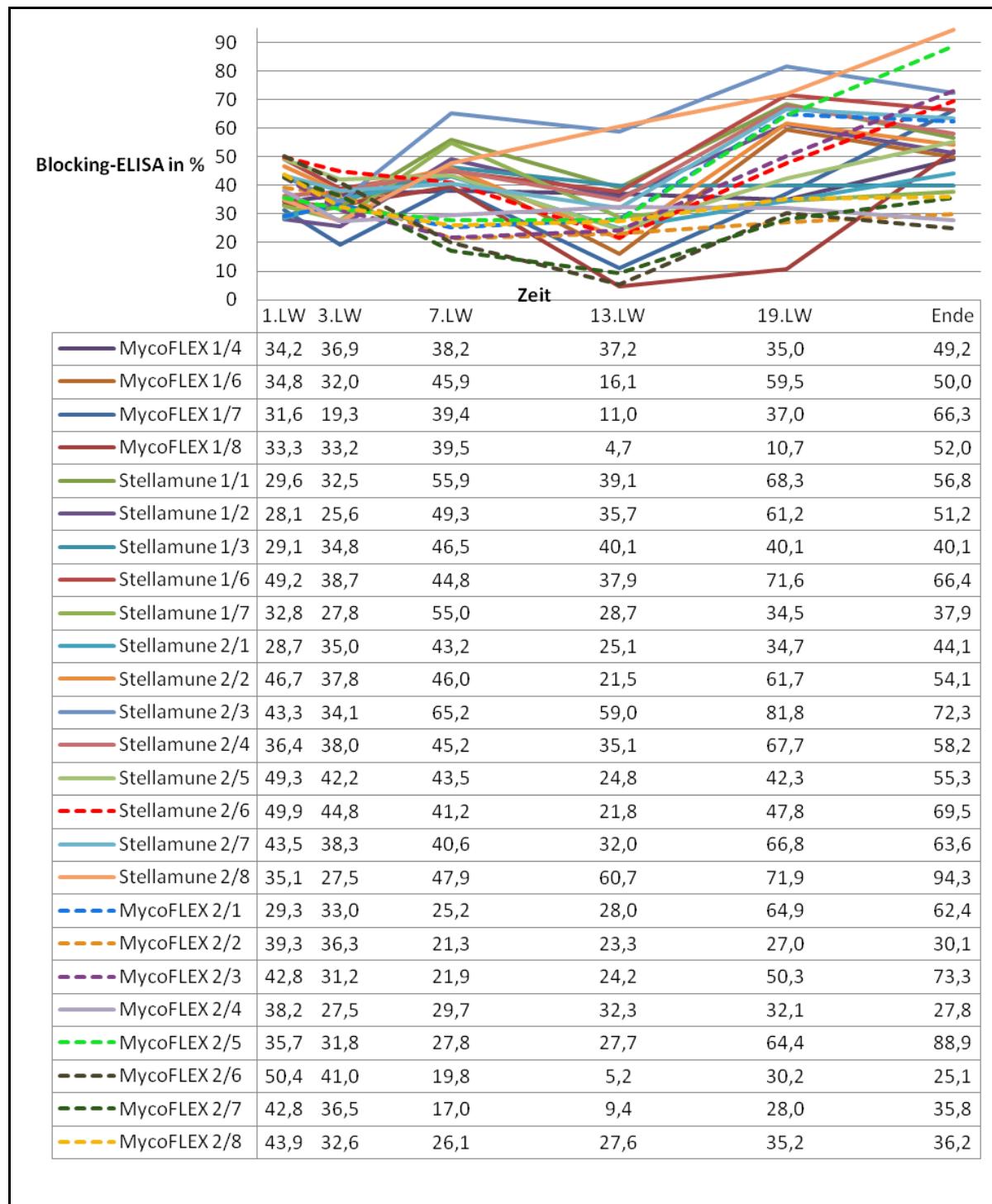
In Abbildung 11 sind die Blocking-ELISA-Werte der insgesamt sieben seropositiv getesteten Einzeltiere grafisch und tabellarisch dargestellt. Vier Einzeltiere stammten aus der MycoFLEX-IG und drei Einzeltiere waren der Stellamune-IG zugehörig. Sechs dieser sieben Tiere, die in der ersten Lebenswoche Antikörper positiv getestet wurden, zeigten keine Serokonversion nach der Impfung. Nur ein Tier (Stellamune

1/5) und damit 14,3 % dieser Subpopulation zeigte einen Antikörperanstieg von der dritten zur siebten Lebenswoche, wobei der positive Cut-off Wert überschritten wurde.



**Abbildung 11: Verlauf der Blocking-ELISA-Werte der in der ersten Lebenswoche seropositiv getesteten Tiere zu den verschiedenen Entnahmepunkten**

In Abbildung 12 sind die Blocking-ELISA-Werte der 25 Tiere grafisch und tabellarisch dargestellt, die in der ersten Lebenswoche seronegativ getestet worden waren. 17 Einzeltiere, 68 % dieser Subpopulation, zeigten einen Anstieg der Blocking-ELISA-Werte. Bei 15 dieser 17 Tiere wurde in der siebten Lebenswoche der positive Cut-off Wert nicht überschritten. Hingegen fielen bei acht von 25 seronegativ getesteten Blutproben die Antikörper zur siebten Lebenswoche weiter ab (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Verlauf der Blocking-ELISA-Werte der in der ersten Lebenswoche seronegativ getesteten Tiere zu den verschiedenen Entnahmepunkten

#### 4.4 Lungenbefunde am Schlachthof

Es wurden die Lungen von 115 Tieren aus der MycoFLEX-IG und von 111 Tieren aus der Stellamune-IG am Schlachthof im Lungenscore beurteilt, sowie makroskopisch auf Pleuritiden, vergrößerte Tracheobronchiallymphknoten und Abszesse untersucht. 29 Versuchstiere schieden aus dem Punktesystem aus, da die Lungen nicht vollständig vom Geschlinge entnommen werden konnten oder sie wegen dem Verlust ihrer Ohrmarke keiner Impfgruppe mehr zugeordnet werden konnten. Bei einer Gesamtzahl von 226 beurteilten Schlachttieren (100 %) entfielen damit 50,9 % der Tiere auf die MycoFLEX-IG und 49,1 % der Tiere auf die Stellamune-IG (Tabelle 11).

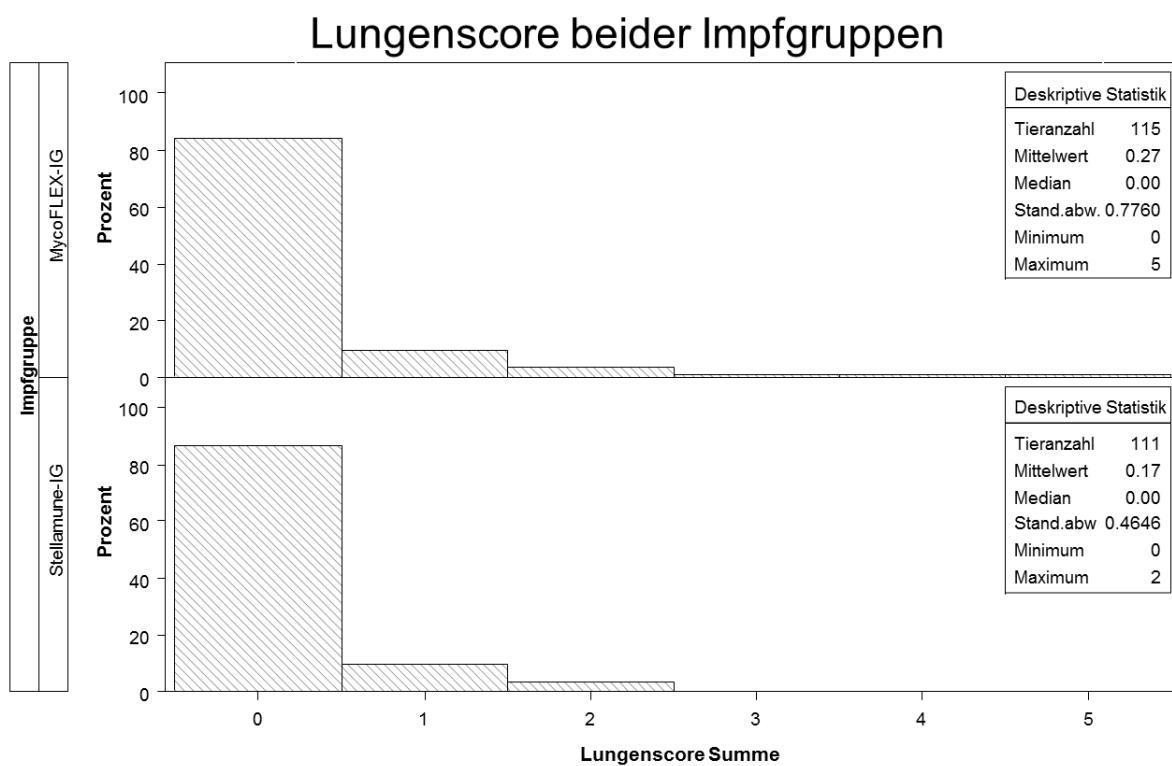
**Tabelle 11: Anzahl (n) der Schweine je Punkte im Lungenscore und Anteil in Prozent der Impfgruppe**

LUNGENSORE		0	1	2	3	4	5	> 5	alle Versuchstiere
MycoFLEX-IG	n	97	11	4	1	1	1	0	115
	Anteil in % der untersuchten Lungen	84,4	9,6	3,5	0,9	0,9	0,9	0,0	100,0
Stellamune-IG	n	96	11	4	0	0	0	0	111
	Anteil in % der untersuchten Lungen	86,5	9,9	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0

Nach dem modifizierten Scoringsystem nach MADEC und KOBISH (1982) konnte eine vollständig pathomorphologisch veränderte Lunge eine Gesamtzahl von maximal 28 Punkten erhalten. In der Stellamune-IG wurden 86,5 % (n = 96) der Tierlungen mit der Punktzahl 0 bewertet, elf Tiere (9,9 %) erhielten im Lungenscore die Bewertung 1 und die Gesamtzahl von zwei Punkten ergab sich für 3,6 % der Tiere (n = 4). In der MycoFLEX-IG ließen sich ähnliche Werte verzeichnen mit der

Ausnahme, dass drei Tierlungen (je 0,9 %) im Scoringsystem drei, vier oder fünf Punkte erhielten (Tabelle 11, Abbildung 13). Es konnte mit einem p-Wert von 0,5995 kein signifikanter Unterschied im Lungenscoring zwischen den beiden Impfstrategien festgestellt werden ( $p > 0,05$ ).

Weitere Veränderungen waren bei zwei Tieren feststellbar. Bei der Lunge eines Tieres aus der Stellamune-IG war eine fokale Pleuritis am *Lobus cranialis sinister pars cranialis* sichtbar. Bei der Lunge eines Tieres aus der MycoFLEX-IG zeigte sich ein Abszess am *Lobus cranialis sinister*. Vergrößerte Tracheobronchiallympknoten wurden bei der Lungenbefundung nicht festgestellt.



**Abbildung 13: Vergleich der MycoFLEX-IG und Stellamune-IG anhand des Lungenscores**

## 4.5 Mortalität und Probenentnahmen

Im Rahmen der Studie wurden von 255 Tieren die Gewichtsentwicklung bis zur Schlachtung und von 226 Tieren ein Lungenscore erfasst, wovon 16 (5,9 %) von 271 Versuchstieren aufgrund schwerwiegender Erkrankungen verendeten oder aus tierschutzrechtlichen Gründen getötet werden mussten (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Absoluter und prozentualer Anteil an Tierverlusten**

Impfgruppe		Tierverluste	Anzahl nach Verlusten	Anzahl vor Verlusten
MycoFLEX-IG	n	6	131	137
	Tieranzahl in % (in Bezug auf alle Versuchstiere)	2,2	48,3	50,5
	Tieranzahl in % (in Bezug auf MycoFLEX-IG)	4,4	95,6	100,0
Stellamune-IG	n	10	124	134
	Tieranzahl in % (in Bezug auf alle Versuchstiere)	3,7	45,8	49,5
	Tieranzahl in % (in Bezug auf die Stellamune-IG)	7,5	92,5	100,0
alle Versuchstiere	n	16	255	271
	Tieranzahl in %	5,9	94,1	100,0

Zwölf Tiere (4,4 %) verendeten während der Säuge- und Aufzuchtperiode zwischen der zweiten bis siebten Lebenswoche und vier Tierverluste (1,5 %) wurden in der Mastphase dokumentiert.

Bei 13 von 16 Tieren lagen keine respiratorischen Veränderungen vor (Tabelle 12). Gründe für den Verlust waren Erdrückungsverluste der Saugferkel durch die Zuchtsau, Ödemkrankheit, Kümmer, Kannibalismus, Frakturen, Polyarthritis und enterohämorrhagisches Syndrom. Bei drei der 16 Tiere, lag eine respiratorische Erkrankung vor (Tabelle 13).

**Tabelle 13: Mortalitätsraten der Impfgruppen im Vergleich nach Einteilung in zwei Todesursachen**

Impfgruppe	Mortalitäten gesamt	respiratorische Befunde	andere Todesursachen
MycoFLEX-IG	6	2	4
Stellamune-IG	10	1	9

Bei zwei Tieren, die aus der MycoFLEX-IG stammten, zeigte sich in der Sektion Bronchopneumonien mit eitrigen Pleuritiden. Von diesen beiden Tieren wurden jeweils Lungenproben und Pleuraltupfer für weiterführende Untersuchungen entnommen. Bei der mikrobiologischen Untersuchung wurde die Beteiligung sekundärer Eitererreger, insbesondere von *Trueperella pyogenes* festgestellt. Das dritte Schwein stammte aus der Stellamune-IG und verstarb aufgrund einer metastatisch-eitrigen Pneumonie. Bei der untersuchten Lungenprobe wurde ebenfalls *Trueperella pyogenes* nachgewiesen. Bei allen drei eingesandten Lungenproben wurde kein Nachweis auf Mykoplasmen durchgeführt.

Es konnte mit einem p-Wert von 0,282 kein signifikanter Unterschied bezüglich der Mortalitätsrate der beiden Impfgruppen festgestellt werden.

## 5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von einem One-Shot-Impfstoff und einem Two-Shot-Impfstoff gegen *M. hyopneumoniae* zu vergleichen. Es sollte überprüft werden, ob mit dem Einsatz einer One-Shot-Vakzine ein gleichwertiger Effekt in der Wachstumsleistung, den Verlusten und der Lungengesundheit der Tiere erzielt werden kann.

Dazu wurden 271 Tiere in die Studie eingeschlossen. Die Gewichtsentwicklung wurde von insgesamt 255 Tieren verfolgt. Von 226 Tieren wurden die Lungen nach der Schlachtung makroskopisch untersucht und bewertet. Für die serologische Untersuchung standen von sechs Zeitpunkten Blutproben von jeweils 32 Tieren zur Verfügung.

### 5.1 Diskussion von Material und Methode

#### 5.1.1 Versuchstiere

Alle Aufzuchtferkel des ersten Mastdurchgangs wurden in der siebten Lebenswoche mit dem Antiinfektivum Oxytetrazyklin 40 % aufgrund einer Pneumonie mit gehäuften Niesanfällen, verstärkter Atemfrequenz und Fieber peroral behandelt. Differentialdiagnostisch könnten PRRSV, SIV, toxin-bildende Pasteurellen, Bordetellen, Streptokokken, *Haemophilus parasuis*, PCV2 und *Actinobacillus pleuropneumoniae* die Ursache der Erkrankung gewesen sein (GRIESSLER et al. 2008). Da die behandelten Aufzuchtferkel der beiden Impfgruppen gemeinsam aufgestellt wurden, waren sie identischen Umweltbedingungen ausgesetzt und erhielten gleichermaßen die Futtermedikation.

#### 5.1.2 Der Versuchsbetrieb

Bei dem Versuchsbetrieb handelte es sich um einen geschlossenen Zucht- und Mastbetrieb, der im 3-Wochen-Rhythmus produzierte. Ziel dieser Studie war es, zu testen, ob der Einsatz eines One-Shot-Impfstoffes im Vergleich zu einer Two-Shot-Vakzine gleichwertig sei. Dabei wurde bei beiden Impfstrategien die Eingliederung in

den Arbeitsalltag beachtet. MATEUSEN et al. (2001) und METTLER (2009) nutzten Parameter wie Tageszunahmen, Hustenindex, Lungenläsionen und serologische Blutuntersuchungen, um die Wirksamkeit von Impfungen gegen eine *M. hyopneumoniae* - Infektion zu beurteilen. In Anlehnung daran, wurden in der vorliegenden Studie die Gewichtsentwicklung, die Serologie, der Lungenscore und die Mortalität beurteilt.

Laut HAESEBROUCK et al. (2004) entwickelt sich eine vollständige Wirkung der Impfung erst nach monatelanger Vakzinierung. Der Versuchsbetrieb in dieser Studie impfte bereits seit einigen Jahren routinemäßig seine Saugferkel gegen *M. hyopneumoniae* mit der Two-Shot-Vakzine Stellamune® Mycoplasma, die auch im Versuchsvorhaben eingesetzt wurde. Das gut geführte Management, wie ein Alles-Rein-Alles-Raus-Verfahren (CLARK et al, 1991) im Zucht- und Mastbereich des Betriebes mit einer optimalen Klimatisierung über eine Porendecke, kein Zurückversetzen der Tiere (MAES et al., 1996) und die Aufstellung bei adäquater Belegungsdichte (STÄRK, 1999) minderten grundsätzlich die *M. hyopneumoniae* – Exposition im Bestand. Des Weiteren war die Einhaltung hygienischer Standardmaßnahmen, einschließlich der regelmäßigen Reinigung (MAES et al., 1996), eine gute Betreuung der Saugferkel mit hohen Ferkelnesttemperaturen und das standardmäßige Schleifen der Zähne (NATHUES et al., 2013) maßgeblich für den guten Gesundheitsstatus des Versuchsbetriebes verantwortlich. Demnach kann angenommen werden, dass der Versuchsbetrieb bereits zu Studienbeginn einen stabilen Gesundheitsstatus gegenüber *M. hyopneumoniae* aufwies. MEYNS et al. (2006) stellten jedoch fest, dass die Übertragungsrate von *M. hyopneumoniae* bei geimpften Schweinen nur sehr gering und nur numerisch durch eine Impfung verringert wurde. Auch im Versuchsbetrieb konnte trotz jahrelanger Impfung eine Mykoplasmen-Exposition vor Versuchsbeginn anhand von Nasentupferproben von Aufzuchtferkeln in der fünften Lebenswoche nachgewiesen werden. Da *M. hyopneumoniae* primär das zilientragende Epithel von Trachea, Bronchien und Bronchiolen befällt (BLANCHARD et al., 1992) und Studien von KURTH et al. (2002) und PIETERS und ROVIRA (2013) eine höhere Sensitivität mittels BALF-Diagnostik gegenüber Nasentupferproben zeigten, hätte ein Erregernachweis über eine BAL mehr Tiere als positiv erkennen können. Da die Nasentupfer in der vorliegenden Feldstudie positiv waren, wurde auf eine weitere Diagnostik verzichtet. Zudem erweist sich bei positivem Befund die Nasentupferentnahme an lebenden Tieren als

praktikabel und zeitsparend (PRADO et al., 2013). Im Versuch selbst bestätigten die serologischen Befunde eine *M. hyopneumoniae* - Exposition.

### 5.1.3 Impfzeitpunkte

Die Wahl der Impfzeitpunkte wurde so ausgewählt, dass sie für den Landwirt eine praxisgerechte und terminlich einfache Eingliederung in die zootechnischen Maßnahmen darstellten (METTLER, 2009). Die erste Dosis der Two-Shot-Impfung wurde im Versuchsbetrieb durchschnittlich am neunten Lebenstag und zum Absetzen durchgeführt. Die Ferkel der MycoFLEX-IG wurden hingegen nur einmalig am Absetztag, für die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* fixiert. Am Absetztag wurde die jeweilige Impfung gegen *M. hyopneumoniae* zeitgleich mit der Impfung gegen PCV2 durchgeführt. Der Vorteil einer One-Shot-Vakzine lag in der Arbeitserleichterung im Managementsystem und der reduzierten Applikationsanzahl (DIAZ et al., 2004). Da die Saugferkel nicht mehrmals eingefangen und fixiert werden mussten, resultierte daraus eine geringere Stressbelastung für die Tiere (DIAZ et al., 2004). Der optimale Impfzeitpunkt sollte in Abhängigkeit von dem Auftreten der klinischen Erkrankung gewählt werden damit die Tiere rechtzeitig vor einer Feldinfektion eine belastbare Immunität aufbauen können (ROTH, 1999). In der vorliegenden Studie wurden die Tiere im Saugferkelalter gegen *M. hyopneumoniae* geimpft, während die serologischen Ergebnisse auf einen Infektionszeitpunkt zum Ende der Aufzucht oder in der Mast schließen lassen.

### 5.1.4 Wiegen der Tiere

Alle 255 Schweine wurden zu festgesetzten Terminen gewogen. Da die einzelnen Geburten der Zuchtsauen im Versuchsbetrieb um bis zu fünf Tage differierten, hatten die Tiere eines Mastdurchgangs am jeweiligen Wiegetermin ein unterschiedliches Lebensalter. Das Alter bei der ersten Wiegung lag durchschnittlich bei neun Tagen, das jüngste Ferkel war zu diesem Zeitpunkt acht Tage alt und das älteste Ferkel zwölf Tage alt. In der Statistik wurde entsprechend mit den Lebenstagen der einzelnen Versuchstiere gerechnet und auf mögliche Unterschiede nur über die ermittelten Tageszunahmen geprüft. Andere Studien unterschieden ebenfalls ihre Versuchsgruppen anhand der ADWG (DAWSON et al., 2002; SIUGZDAITE et al., 2003; BACCARO et al., 2006; WILSON et al., 2012) und die Wiegezeitpunkte (in der

ersten Lebenswoche, beim Absetzen, zur Masteinstellung, zu Mastende) wurden vergleichbar wie in der vorliegenden Studie gewählt (SIUGZDAITE et al., 2003; BACCARO et al., 2006; WILSON et al., 2012). Die Anzahl der Wiegetermine variierte in anderen Studien dahingehend, dass die erste Wiegung erst mit dem Absetzen der Ferkel (BACCARO et al., 2006) oder eine zusätzliche Wiegung während der Mastphase (WILSON et al., 2012) erfolgte. WILSON et al. (2012) stellten dadurch bereits in der mittleren Mastphase signifikante Unterschiede zwischen der geimpften Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe fest. Sie kamen letztendlich zu der Interpretation, dass geimpfte Tiere ein insgesamt signifikant höheres Endgewicht und signifikant höhere Tageszunahmen hatten als die Kontrollgruppe. Da für den Landwirt im Hinblick auf die Wirksamkeit einer Impfmaßnahme die gesamten Tageszunahmen in der Aufzucht- und Mastphase entscheidend sind wurden die Wiegezeitpunkte auf die in der vorliegenden Studie durchgeföhrten Zeitpunkte beschränkt.

Aufgrund der Größe der Schlachtchargen mit durchschnittlich 30 Tieren im wöchentlichen Abstand und aus logistischen Gründen wurden die Endmasttiere in unterschiedlichen Lebenswochen gewogen. Dennoch war das Lebensalter der Tiere zum letzten Wiegetermin zwischen den Impfgruppen nicht signifikant unterschiedlich. Über die Berechnung der Tageszunahmen in Abhängigkeit vom genauen Alter der Versuchstiere war der Vergleich zwischen den Impfgruppen möglich. Auch DAWSON et al. (2002) wogen die Tiere mit unterschiedlichem Lebensalter einen Tag vor der Schlachtung und beurteilten ihre Versuchsgruppen anhand der Wachstumsleistung (ADWG).

### 5.1.5 Serologie

Es wurden 32 Schweine von ursprünglich 271 eingeschlossenen Versuchstieren (12 %) für jeweils sechs Blutprobenentnahmen herangezogen.

Auch bei Feldstudien von BACCARO et al. (2006) und LEON et al. (2001) wurden fünf bzw. sechs Termine für die Blutprobenentnahme festgelegt. Die serologische Untersuchung diente in diesen und in der vorliegenden Studie primär zum Nachweis einer Feldinfektion mit *Mycoplasma hyopneumoniae*, sowie zum Abschätzen des Infektionszeitpunktes. SIUGZDAITE et al. (2003), SIBILA et al. (2007b), GOLINAR OVEN und VALENCAK (2012), WILSON et al. (2012) und HENNINGER et al. (2014) wählten kürzere Intervalle für die Blutentnahmen und steigerten dadurch die Anzahl

auf bis zu 15 Blutentnahmen. SIBILA et al. (2007b), WILSON et al. (2012) und HENNINGER et al. (2014) konnten damit darstellen, dass die Serokonversion nach einer Feldinfektion in einer geimpften Gruppe früher auftritt als in einer ungeimpften Kontrollgruppe, was mit einem größeren Abstand zwischen den Blutentnahmeterminen nicht möglich gewesen wäre. Allerdings schlugen HENNINGER et al. (2014) aus praktischer Sicht, basierend auf ihren Ergebnissen, bei einem longitudinalen Blutentnahmeverfahren, einen Abstand von sechs Wochen zwischen dem erstmaligen Auftreten von Husten und dem nachfolgenden Beprobungstermin vor, um eine eventuelle Serokonversion nach einer Feldinfektion festzustellen. Demnach wären in dieser Studie die sechs ausgewählten Blutentnahmetermine für diese Interpretationen ausreichend. HENNINGER et al. (2014) und SIUGZDAITE et al. (2003) konnten durch die kürzeren Abstände zwischen den Blutentnahmen bereits zwei Wochen nach einer Two-Shot-Vakzination eine impfinduzierte Immunreaktion in *M. hyopneumoniae* - negativen Tieren feststellen. In der vorliegenden Studie war dies, abhängig von den Blutentnahmeterminen erst ca. 3 Wochen nach der Impfung zu sehen. In der vorliegenden Studie konnte, wie bei HENNINGER et al. (2014) ein Unterschied im Verlauf der Serumprofile zwischen Two- und One-Shot Impfstoffen beschrieben werden, während SIBILA et al. (2007b) ähnlich verlaufende Serumprofile unabhängig von der Impfstrategie in *M. hyopneumoniae* - positiven Herden feststellen konnten. In der vorliegenden Studie wurde die Anzahl der Blutproben so gewählt, dass mit einer Testsensitivität von mindestens 50 % und einem Konfidenzlevel von 95 % mindestens ein positives Tier detektiert werden konnte sobald die Prävalenz bei mindestens 30% lag. In anderen Studien hingegen variierte die Anzahl der Beprobungstiere für die Blutentnahmen, abhängig von der späteren Auswertung der Serologie. So beprobten SIBILA et al. (2007b) 100 % der Tiere in ihrer Feldstudie, da sie den genauen Infektionsverlauf über den direkten und indirekten ErregerNachweis beschreiben wollten.

### 5.1.6 Lungenscoring

Die Untersuchung der Lungen erfolgte im Schlachthof Grossfurtner in Ried im Innkreis. Damit der Schlachtablauf nicht gestört wurde, wurden die Lungen vor der Beurteilung durch das Personal vom Geschlinge geschnitten und in nummerierte, den Tierkörpern zugeordnete Plastiktüten verpackt. Dabei kam es in einigen Fällen

zum Verlust des *Lobus accessorius*, so dass die zugehörigen Tiere aus dem modifizierten Scoringsystem nach MADEC und KOBISCH (1982) ausschieden. Darin begründete sich die Differenz der in dem Versuch vom Einschluss bis zur Schlachtung verfolgten Tiere (255 Tiere) zu der Anzahl der Tiere, von denen die Lungen (226 Tiere) beurteilt wurden.

Die Adspektion von Lungen ist ein geeignetes Monitoring um die Bedeutung von respiratorischen Erkrankungen im Bestand einzuschätzen (FRAILE et al., 2010). Es ist jedoch zu beachten, dass bei den Schlachthofchecks subklinische Infektionen oder Erkrankungen im jungen Alter, die ohne Narben ausgeheilt sind, eventuell nicht erfasst werden (REGULA et al., 2000). Purpur- bis graufarbene konsolidierte Areale in den kranioventralen Lungenbereichen werden als typische Veränderungen von *M. hyopneumoniae* - Infektionen bewertet (THACKER und MINION, 2012), wobei *M. hyopneumoniae* meist in Assoziation mit anderen Pathogenen in Schlachtungen präsent war (FRAILE et al., 2010; HANSEN et al., 2010; FABLET et al., 2012). Aber auch andere Pathogene, wie SIV können ein ähnliches pathologisches Lungenmuster verursachen (THACKER et al., 2001).

OSTANELLO et al. (2007) demonstrierten an über 10.041 Schlachtungen, dass das Scoringsystem nach MADEC und KOBISCH (1982) dazu genutzt werden kann, *M. hyopneumoniae* - typische Lungenläsionen zu quantifizieren. Als Beweis für die hohe Spezifität des Lungenscorings wurde in der Studie nach OSTANELLO et al. (2007) die Anwesenheit von peribronchialer oder perivaskulärer lymphohistiozytärer Infiltration in der pathohistologischen Untersuchung der Schlachtungen herangezogen. Anhand des Scoringsystem wurde in der vorliegenden Feldstudie, wie auch bei METTLER (2009), nur die Ausdehnung der pathomorphologisch veränderten Lungenareale beurteilt und nicht die Qualität der Veränderungen. Durch die zusätzliche Dokumentation von Abszessen, Pleuritiden und von vergrößerten Tracheobronchiallympknoten sollten weitere Veränderungen der Schlachtungen beschrieben werden. Das Vorkommen von Pleuritiden hätte auf eine Beteiligung von APP (FRAILE et al., 2010; MEYNS et al., 2011; FABLET 2012) und anderen bakteriellen Pathogenen am Krankheitsgeschehen hingewiesen (ENOE et al., 2002). Für Abszesse in der Lunge wären typische Eitererreger, wie Streptokokken, Staphylokokken und *Trueperella pyogenes* verantwortlich (VALLANT, 2010). Pleuritiden oder Abszesse konnten jeweils nur bei jeweils einem Tier am Schlachthof festgestellt werden. Vergrößerte Lungenlymphknoten, die bei entzündlichen

Veränderungen der Lunge sekundär reaktiv-hyperplastisch anschwellen traten nicht auf (WEISS und RUDOLPH, 2007).

### 5.1.7 Mortalität und Sektionen

Die Schwere der Erkrankung und damit auch die Mortalität, die mit der enzootischen Pneumonie einhergeht sind von der Präsenz anderer respiratorischer Infektionserreger beeinflusst (HAESEBROUCK et al., 2004; SIBILA et al., 2009; THACKER und MINION, 2012). Generell wird die Mortalitätsrate als gering beschrieben (SIBILA et al., 2009), PALLARES et al. (2000) stellten zwischen geimpften und ungeimpften Tieren aus verschiedenen Betriebssystemen trotzdem signifikante Unterschiede bezüglich der Mortalitätsrate fest. In der vorliegenden Studie wurde ebenfalls die Mortalität zwischen den Impfgruppen verglichen.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Gewichtsentwicklung

Die in dieser Studie verwendeten Impfstoffe ließen keine signifikanten Unterschiede in den Tageszunahmen der Schweine beider Mastdurchgänge erkennen. Die Tiere verhielten sich somit in den Mastleistungsdaten gleich, unabhängig davon, ob sie mit einer One-Shot- oder Two-Shot-Vakzine geimpft wurden. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass sowohl der Two-Shot-Impfstoff, als auch der One-Shot-Impfstoff hinsichtlich der täglichen Zunahmen der Tiere verwendet werden kann.

Der Großteil der Feldstudien berichtete über einen grundsätzlich positiven Effekt der *M. hyopneumoniae* - Impfung hinsichtlich der Tageszunahmen, sowohl bei Two-Shot-Vakzinen (CHARLIER et al., 1994; MAES et al., 1998; SIUGZIAITE et al., 2003) als auch bei den One-Shot-Vakzinen (DAWSON et al., 2002; BACCARO et al., 2006, WILSON et al., 2012). Es konnten dabei stets höhere Mastleistungen bei vakzinierteren Schweinen gegenüber einer ungeimpften Kontrollgruppe erzielt werden. In diesem Versuchsbetrieb wurde auf eine ungeimpfte Kontrollgruppe verzichtet, damit absehbare wirtschaftliche Einbußen aufgrund von einer längeren Mastdauer (LLOPART et al., 2002), finanzielle Abzüge bezüglich der Schlachtkörperqualität (BAK und NORREGAARD, 2011) und dem Schlachtgewicht (BACCARO et al., 2006)

oder Mehrkosten aufgrund notwendiger Behandlungen (MAES et al., 1999; KYRIAKIS et al., 2001) vermieden werden konnten.

BAK und NORREGAARD (2011) erstellten einen Vergleich zwischen einer Tiergruppe, die mit Ingelvac Myco- und CircoFLEX® geimpft wurde, und einer Mastgruppe, die lediglich mit Ingelvac CircoFLEX® vakziniert wurde. Es wurden bessere Ergebnisse bei den klinischen Parametern (Prävalenz von Kümmerern, Lungenläsionen, Mortalität) und bei den Produktionsparametern (Schlachtgewicht, Magerfleischanteil, Schlachtpreis) in der Ingelvac Myco- und CircoFLEX® geimpften Tiergruppe gegenüber der nur gegen PCV2-geimpften Tiergruppe ermittelt (BAK und NORREGAARD, 2011). Durch den Einsatz des Impfstoffs Ingelvac MycoFLEX® erreichten die Tiere ihr Schlachtgewicht um einen Tag früher als diejenigen Schweine, die nur gegen PCV2 geimpft wurden (BAK und NORREGAARD, 2011). Da der Versuchsbetrieb in der vorliegenden Studie bereits seit Jahren gegen *M. hyopneumoniae* und PCV2 vakzinierte, wurde die Wirksamkeit der MycoFLEX®-Impfung im Vergleich zur Stellamune-IG dadurch bewiesen, dass keine signifikanten Unterschiede in den Tageszunahmen zwischen beiden Impfgruppen vorlagen.

In einer Metaanalyse aus 28 veröffentlichten Feldstudien nach JENSEN et al. (2002) hatten gegen *M. hyopneumoniae*-vakzierte Schweine um 21 g höhere Tageszunahmen als nicht geimpfte Tiere. Ebenso berichteten DINSLAGE et al. (2008) in ihrem retrospektiven Manuscriptvergleich über eine Zuwachsrate von bis zu 82 g/Tag. Die Autoren beider Studien erwähnten, dass bei einem Vergleich der Ergebnisse stets das Studiendesign berücksichtigt werden sollte. Allein bei der Ermittlung der Gewichtszunahmen über Einzeltier- oder Gruppenwiegung, kann statistisch betrachtet bereits ein signifikanter Unterschied in den Ergebnissen erreicht werden oder nicht. So berichteten LLOPART et al. (2002) in ihrer Studie, dass kein signifikanter Unterschied in den ADWG's zwischen einer gegen *M. hyopneumoniae* geimpften Tiergruppe und einer Placebogruppe ermittelt werden konnte, da bei den Tieren im Bestand immer nur eine Gruppenwiegung durchgeführt wurde. Signifikante Unterschiede zeigten sich erst im Schlachtkörpergewicht (LLOPART et al. 2002). In der vorliegenden Studie wurde deshalb ausschließlich mit dem Datensatz von Einzeltieren gearbeitet.

In der Literatur gibt es unterschiedliche Studienergebnisse beim Vergleich der Wirksamkeit von One-Shot-Impfungen gegenüber Two-Shot-Impfungen, so dass oftmals keine generelle Impfempfehlung getroffen werden kann (DIAZ et al., 2004;

METTLER, 2009). DIAZ et al. (2004) legten einen Unterschied bezüglich drei verschiedener Impfregime dar. Im Vergleich zwischen einem Two-Shot-Impfstoff und einem One-Shot-Impfstoff wurde jedoch kein Unterschied bezüglich der Tageszunahmen beobachtet (DIAZ et al., 2004). Dies zeigte sich auch in der vorliegenden Studie. DIAZ et al. (2004) ermittelten hingegen signifikant höhere Lebendmassezunahmen, wenn die Muttertiere drei Wochen vor der Abferkelung mit dem One-Shot-Impfstoff vakziniert wurden und eine anschließende Vakzination der Ferkel am 42. Lebenstag durchgeführt wurde. In der Studie von METTLER (2009) wurde die Wirksamkeit zweier Impfstoffe gegen *M. hyopneumoniae* bei verschiedenen Haltungssystemen innerhalb eines Betriebes untersucht. Innerhalb der zwei Haltungssysteme verglich die Autorin geimpfte Tiere (eine Two-Shot-Impfung und einen One-Shot-Impfstoff, der zu drei verschiedenen Zeitpunkten einmalig verabreicht wurde) mit einer ungeimpften Kontrollgruppe. Geimpfte Tiere erreichten zwischen 26 und 29 g/Tag höhere Tageszunahmen als die ungeimpften Tiere, wobei sich dies abhängig von der Impfstrategie statistisch absichern ließ. Bei den im Maststall gehaltenen Tieren waren die Differenzen in den Tageszunahmen sowohl für die Two-Shot-Impfgruppe, als auch die One-Shot-Impfgruppen, welche am vierten Lebenstag und am 25. Lebenstag geimpft wurden, signifikant gegenüber der Kontrollgruppe. Hingegen ließen sich die höheren mittleren Zuwachsraten für die One-Shot-Impfgruppe im Maststall, welche am 90. Lebenstag geimpft wurde, und für alle Impfgruppen, die im Außenklimastall gehalten wurden, statistisch nicht absichern (METTLER, 2009). Wie auch in der vorliegenden Studie zeigte sich bei METTLER (2009), abhängig vom Haltungssystem, eine vergleichbare Wirksamkeit in den Tageszunahmen bei der Two-Shot-Impfgruppe und der One-Shot-Impfgruppe, welche am 25. Lebenstag geimpft wurde. Die Autorin stellte darüber hinaus eine unterschiedliche Impfstoffwirksamkeit aufgrund ungleicher Betriebsbedingungen fest, da die im Außenklimastall gehaltenen Tiere signifikant höhere Tageszunahmen aufwiesen als die Tiere im geschlossenem Maststallsystem mit Belüftungsanlage. Ihre Begründung lag in einem erhöhten Infektionsdruck im Maststall durch einen geringeren Luftraum und einem stärkeren Tierkontakt zwischen verschiedenen Altersgruppen über zu niedrige Buchtenbegrenzungen.

## 5.2.2 Serologie

### 5.2.2.1 Serumprofil bis zur 13. Lebenswoche

Da maternale Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* eine mittlere Halbwertszeit von 15,8 Tagen haben, deren Persistenz aber von der initialen Antikörperkonzentration im Ferkel abhängig ist und nach der Kaplan-Meier-Schätzung nach 30 bis 63 Tagen, je nachdem ob die Ferkel niedrige oder hohe Antikörperkonzentrationen zu Beginn aufwiesen, abnehmen, wurden in der vorliegenden Studie die in der ersten und dritten Lebenswoche nachgewiesenen Antikörper in beiden Impfgruppen als maternale Antikörper interpretiert (MORRIS et al. 1994). So interpretierten auch YAGIHASHI et al. (1993) nachgewiesene Antikörper bei Ferkeln bis zwei Lebensmonaten als erworbene Immunglobuline maternaler Herkunft. Bei denen in der siebten Lebenswoche nachgewiesenen Antikörpern in der vorliegenden Studie ist fraglich, in wie weit es sich hierbei noch um maternale Antikörper oder um impfinduzierte Antikörper handelte. Die Stellamune-IG reagierte in beiden Mastdurchgängen in ihrem Antikörperverlauf in der Zeit nach der zweiten Vakzination gleichermaßen mit einem Anstieg des Anteils seropositiver Tiere. Da die zweite Impfung gegen *M. hyopneumoniae* bereits etwa 3 Wochen zuvor erfolgte, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass die nachgewiesenen Antikörper impfinduziert aufgetreten waren. Auch HENNIGER et al. (2014) beschrieben eine impfinduzierte Serokonversion nach einer Two-Shot Impfung gegen *M. hyopneumoniae*, weisen aber darauf hin, dass damit nur in negativen Herden die Verabreichung des Impfstoffs überprüft werden kann. Da die verfügbaren Testsysteme nicht zwischen maternalen und impfinduzierten Antikörpern unterscheiden können, ist eine klare Aussage in positiven Betrieben nicht möglich. Ein impfinduzierter Antikörperanstieg nach der Impfung seronegativer Ferkel mit verschiedenen Two-Shot Impfstoffen wurde auch in der Studie von THACKER (1998b) beobachtet. Impfinduzierte Antikörper zeigten sich in einer Studie von THACKER et al. (2000a) bereits 2 Wochen nach einer Impfung. Ihre Menge nahm über die nächsten 6 Wochen, bis zum Studienende, wieder signifikant ab, wenn keine Infektion mit *M. hyopneumoniae* erfolgte. Zwei von fünf untersuchten Schweinen waren am Ende der Studie bereits wieder seronegativ (THACKER et al., 2000a). In der vorliegenden Studie zeigten drei Tiere der Stellamune-IG in der siebten Lebenswoche eine Serokonversion nach der zweiten Impfung. Zur 13. Lebenswoche waren zwei der drei Tiere wieder seronegativ. Damit reagierten maximal 25 % der Tiere der Stellamune-IG (MD1) mit

einer impfinduzierten Serokonversion. In anderen Studien wurde ebenfalls beschrieben, dass eine Serokonversion nicht bei allen geimpften Tieren auftritt (THACKER et al. 1998b).

In der MycoFLEX-IG waren zu diesen Zeitpunkten (7. und 13. Lebenswoche) keine Antikörper nachweisbar. Für die MycoFLEX-IG beider Mastdurchgänge ergab sich damit ein ähnliches Serumprofil wie im longitudinalen Herdenmonitoring von GOLINAR OVEN und VALENCAK (2012). Wie in der vorliegenden Studie, verwendeten GOLINAR OVEN und VALENCAK (2012) ebenfalls den Ingezim M.Hyo Compac®-ELISA und es konnte kein impfinduzierter Antikörperanstieg auf eine One-Shot Impfung hin beobachtet werden. Auch bei HENNINGER et al. (2014) konnte keine klare impfinduzierte Reaktion nach der Impfung mit verschiedenen One-Shot Impfstoffen in der Serologie gezeigt werden.

Die Tiere in der vorliegenden Studie reagierten unterschiedlich auf die eingesetzten Impfstoffe, wobei in der Stellamune-IG im Vergleich zur MycoFLEX-IG eine impfinduzierte Serokonversion messbar war. Wie auch von anderen Autoren experimenteller Studien beschrieben, konnte in der vorliegenden Studie nicht von der Höhe der humoralen Immunantwort auf die Wirksamkeit der eingesetzten Impfstoffe geschlossen werden (DJORDJEVIC et al. 1997; THACKER, 1998b). Auch in der vorliegenden Studie konnten wie bei LILLIE (2004) keine Unterschiede in der Wachstumsleistung und Lungengesundheit zwischen den Impfgruppen festgestellt werden.

Unterschiede im Antikörperverlauf zwischen den Mastdurchgängen ergaben sich in Bezug auf die maternalen Antikörper in beiden Impfgruppen und in der Stellamune-IG in der 13. Lebenswoche. Während im ersten Mastdurchgang 37,5 % der Beprobungstiere in der MycoFLEX-IG und 50,0 % der Beprobungstiere in der Stellamune-IG in der ersten Lebenswoche maternale Antikörper aufwiesen, waren in beiden Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang keine maternalen Antikörper nachweisbar. Die 32 Beprobungstiere für die Blutentnahme wurden aus verschiedenen Würfen ausgewählt. Dies erklärt die Differenzen in den Antikörperhöhen, wenn man eine ungleichmäßige Versorgung der Saugferkel mit Kolostrum annimmt (KLOBASA und BUTLER, 1987), wobei auch die Kolostrumaufnahme durch die Ferkel eines Wurfes unterschiedlich sein kann (TIZARD, 2009). Seropositive Muttersauen übertragen innerhalb der ersten sechs Stunden postnatal Antikörper auf ihre Ferkel (KLOBASA et al., 1987). Es ist zu

vermuten, dass die *M. hyopneumoniae* - Exposition der Zuchtsauen im zweiten Mastdurchgang geringer war als im ersten Mastdurchgang, da bei beiden Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang keine maternalen Antikörper in der ersten Lebenswoche nachgewiesen werden konnten. Ob dies Auswirkungen auf die spätere Infektion der Ferkel hatte ist fraglich, da die Protektivität maternaler Antikörper kontrovers diskutiert wird (THACKER and MINION, 2012). Es war allerdings ein unterschiedlicher Verlauf zwischen den beiden Stellamune-IG in den unterschiedlichen Mastdurchgängen um die 13. Lebenswoche feststellbar. Während die vermeintlich impfinduziert seropositiven Ferkel des ersten Mastdurchgangs zur 13. Lebenswoche wieder seronegativ waren, stieg der Anteil im zweiten Mastdurchgang kontinuierlich weiter an. Da mit kommerziellen ELISA-Testsystemen eine Diskriminierung zwischen Antikörpern verschiedener Herkunft nicht möglich ist, kann mit den vorliegenden Daten nicht geschlussfolgert werden, ob dieser weitere Anstieg an seropositiven Tieren zur 13. Lebenswoche eine späte Reaktion auf die Impfung oder ein Hinweis auf eine Feldinfektion darstellte (PAUSENBERGER et al, 2014).

#### 5.2.2.2 Serumprofil der Einzeltiere vor und nach der Vakzination

Bei dem ausgewählten serologischen ELISA-Test Ingezim M.Hyo Compac<sup>®</sup> handelte es sich um einen qualitativen Test zur Bestimmung des Herdenstatus. Dieser ist grundsätzlich für eine quantitative Bewertung der Einzeltiere nicht geeignet, da vom Hersteller keine Angaben über einen konkreten Wert für Sensitivität und Spezifität gemacht wurden (Immunologia Y Genetica Aplicada S.A., Madrid, Spanien, 2008). Die nachfolgenden Aussagen über Einzeltiere sind in dieser Studie demnach vorsichtig zu interpretieren, aber dennoch erwähnenswert, da abgrenzbare Beobachtungen erfasst wurden.

Durch die Zuordnung der Einzeltiere in eine seronegative und eine seropositive Subpopulation, sollte der Einfluss maternaler Einflüsse auf die impfinduzierte Immunantwort der Ferkel im Zeitraum nach der Impfung untersucht werden. Sechs von sieben Tieren, deren Blutproben in der ersten Lebenswoche seropositiv waren, reagierten nicht mit einem Antikörper-Anstieg auf die Impfung. Die Antikörper fielen sogar bis zur 13. Lebenswoche ab. Nur eines dieser Ferkel (14,3 %) reagierte mit einem Antikörperanstieg auf die Impfung. Hingegen antworteten 17 von 25 Tieren

(68 %), deren Blutproben in der ersten Lebenswoche seronegativ waren, mit einem Antikörper-Anstieg auf die Impfungen gegen *M. hyopneumoniae*. Folglich wies eine wesentlich höhere Anzahl der seronegativen Ferkel nach der Vakzination einen Antikörperanstieg auf, als bei den seropositiven Ferkeln. HODGINS et al. (2004) stellten in ihrer Studie ebenfalls fest, dass höhere Mengen an maternalen Antikörpertitern mit einer geringeren Antikörperreaktion assoziiert waren. Hingegen zeigten YAGIHASHI et al. (1993), dass die aktive Immunität von Ferkeln von Sauen mit hohen kolostralen Antikörpern, welche proportional zu den maternalen Antikörpern der Ferkel waren, schneller und höher vorhanden war, als bei Ferkeln von Sauen mit niedrigen kolostralen Antikörpern.

#### 5.2.2.3 Serumprofil nach der 13. Lebenswoche

Unabhängig von der Impfvariante zeigten beide Versuchsgruppen in der Mastphase einen deutlichen Anstieg in der Anzahl seropositiver Tiere, was vermutlich auf eine Feldinfektion am Ende der Aufzucht oder am Anfang der Mast zurückzuführen war. Auch andere Studien interpretierten die Zunahme an spezifischen *M. hyopneumoniae* – Antikörpern einige Wochen nach einer Infektion als Immunantwort auf diese Infektion (YAGIHASHI et al., 1993; CALSAMIGLIA et al., 1999; MAES et al., 1999; THACKER et al., 2000a; MEYNS et al., 2006; SIBILA et al., 2007b; GOLINAR OVEN und VALENCAK, 2012). Der genaue Infektionszeitpunkt der Feldinfektion in dieser Studie ist schwer beurteilbar. WILSON et al. (2012) und SIBILA et al. (2007b) stellten fest, dass die geimpfte Tiergruppe gegenüber der Kontrollgruppe um zwei bzw. drei Wochen früher einen Antikörperanstieg zeigten und demnach die Serokonversion abhängig vom Impfstatus der Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten eintreten kann. Übereinstimmend mit Studien von SHELDRAKE et al. (1990), KOBISCH et al. (1993), MORRIS et al. (1995) und SÖRENSEN et al. (1997) wird die Infektion zwischen einer und sechs Wochen vor der Serokonversion vermutet.

LEON et al. (2001) bewerteten die Masteinstellung in geschlossenen Betrieben als kritischen Transmissionszeitpunkt. Viele Tiere mit etwa zehn Lebenswochen besaßen nur noch geringe Mengen maternaler Antikörper und waren damit empfänglicher für eine Infektion (LEON et al., 2001). Nach den serologischen Ergebnissen in dieser Studie kann auch davon ausgegangen werden, dass

spätestens zum Ende der Aufzucht bei den meisten Tieren keine detektierbaren maternalen Antikörper mehr vorlagen. Im zweiten Mastdurchgang wurden sogar nie Antikörper maternaler Herkunft nachgewiesen. Andererseits ist die Ausbildung einer stabilen Immunität bereits zwei Wochen (MycoFLEX-IG) nach der One-Shot-Impfung zu erwarten (Herstellerangaben). Nach allgemeinen Angaben braucht das Immunsystem nach einem Antigenkontakt mindestens zwei bis drei Wochen um die optimale funktionelle Kapazität zu erreichen (CHASE und LUNNEY, 2012) und sollte damit auch spätestens 3 Wochen nach der zweiten Dosis einer Two-Shot-Impfung ausgebildet sein.

### 5.2.3 Lungenbefunde am Schlachthof

Der Großteil der beurteilten Lungen beider Impfgruppen wies keine Spitzenlappenpneumonien und sonstige makroskopische Veränderungen an den Lungen auf. Im Lungenscoring wurden 84,4 % der Tierlungen innerhalb der MycoFLEX-IG und 86,5 % der Tierlungen innerhalb der Stellamune-IG mit der Punktzahl 0 bewertet. Dies sprach für einen guten Gesundheitsstatus des Betriebes im Zeitraum der Studiendurchführung. MEYNS et al. (2011) untersuchten die Lungen von 6335 belgischen Schlachtschweinen und stellten fest, dass Risikofaktoren, wie eine hohe Tieranzahl pro Bucht, sowie ein frequenter Zukauf von Tieren oder das Vorkommen von Pleuritiden mit einer höheren Prävalenz von Pneumonien in Zusammenhang standen. Folglich ist in dem Versuchsbetrieb der vorliegenden Studie die gute Betriebsführung mit funktionierendem Lüftungssystem, die Vermeidung von Zurückstellen kümmernder Tiere und die Remontierung durch eine eigene Jungsaufzucht hinsichtlich der guten Lungenbefunde zu berücksichtigen. Der jahrelange Impfstoffeinsatz des Versuchsbetriebes mit dem Two-Shot-Impfstoff hatte vermutlich ebenfalls zum guten Gesundheitszustand des Betriebes beigetragen (HAESEBROUCK et al., 2004). Ältere Untersuchungen zu Two-Shot-Impfstoffen (SCHEIDT et al., 1994; DOHOO und MONTGOMERY, 1996; MAES et al., 1999; PALLARES et al., 2000; POMMIER et al., 2000), wie auch jüngere Challengestudien zu One- und Two-Shot-Impfungen (RAPP-GABRIELSON et al., 2008; EICHMEYER et al., 2009; REYNOLDS et al., 2009; ANGULO et al., 2013) und One-Shot-Feldstudien (WILSON et al., 2012) verwendeten die Dokumentation von Lungenläsionen als Parameter zur Beurteilung der Wirksamkeit von Impfstoffen gegen *M. hyopneumoniae* bei Schweinen. Hierbei wurde stets ein signifikanter

Unterschied zwischen geimpften Tieren und Kontrollgruppen festgestellt. In der vorliegenden Studie konnte mittels dem modifizierten Lungenscoring nach MADEC und KOBISCH (1982) eine vergleichbare Wirksamkeit beider Impfstoffe nachgewiesen werden.

Für das Lungenscoring zum Zeitpunkt der Schlachtung muss berücksichtigt werden, dass möglicherweise mit *M. hyopneumoniae* infizierte Aufzuchttiere nicht mit erfasst wurden, da bei frühen Infektionen die Läsionen der Lungen vor der Schlachtung nach einer Heilungsdauer von ca. acht bis zehn Wochen (MAES et al., 1996) vollständig rekonvalesziert sein könnten (NOYES et al., 1990). Da nach den serologischen Ergebnissen in der vorliegenden Studie eine Feldinfektion frühestens am Ende der Aufzucht vermutet wurde, könnte das Ausheilen einzelner unkomplizierter *M. hyopneumoniae* bedingter Läsionen angenommen werden, es wäre aber unwahrscheinlich, dass dies auf alle Masttiere gleichermaßen zugetroffen hätte. Eine Übertragung von *M. hyopneumoniae* betrifft darüber hinaus nicht alle Tiere gleichzeitig. Über direkten Kontakt konnten MORRIS et al. (1995) 21 Tage *post infectionem* erstmals eine Serokonversion nachweisen, hingegen wurde über die indirekte Exposition einer seronegativen Tiergruppe mit *M. hyopneumoniae*-seropositiven Jungsauen die höchste Serokonversionsrate erst mit 11 Wochen festgestellt. Im Vergleich der Lungenläsionen erwies sich eine moderate bis gute Übereinstimmung mit den ELISA-Ergebnissen (MORRIS et al., 1995).

#### 5.2.4 Mortalität

Beim den Tierverlusten zeigte sich mit 4,4 % in der MycoFLEX-IG und 7,5 % in der Stellamune-IG kein signifikanter Unterschied zwischen den Impfgruppen. Die Mortalität war mit insgesamt 5,9 % während des gesamten Produktionszyklus (4,4% während der Säuge- und Aufzuchtperiode, 1,5 % in der Mastphase) im Normbereich. Gemäß der Verordnung über hygienische Anforderungen beim Halten von Schweinen (Schweinehaltungshygieneverordnung § 8 Absatz 2 Anlage 6 Abschnitt I) spricht man über ein gehäuftes Auftreten von verendeten Schweinen in einem Stall, wenn 10 % im Abferkelbereich, 3 % im Aufzuchtbereich und 2 % im Mastbereich innerhalb von sieben Tagen überschritten wurden (BGBl I 2014b). MAES et al. (1999) bemerkten keine signifikante Senkung der Mortalitätsrate in einem Vergleich einer Two-Shot-geimpften Tiergruppe (3,8 %) und einer Kontrollgruppe (4,0 %). Die EP war aber in dieser Studie auch nicht mit einer erhöhten Mortalitätsrate assoziiert

(MAES et al., 1999). In einer Studie von PALLARES et al. (2000) hingegen zeigten sich signifikante Unterschiede in der Mortalitätsrate zwischen geimpften und ungeimpften Tieren. Bei Tierverlusten aufgrund einer Pneumonie stellten sie außerdem bei einem von drei Versuchsbetrieben signifikante Unterschiede zwischen der gegen *M. hyopneumoniae* geimpften Versuchsgruppe (0,05 %) und der Kontrollgruppe (0,18 %) fest (PALLARES et al., 2000).

In der weiterführenden Untersuchung von nur drei veränderten Lungen wurde in der vorliegenden Studie die Beteiligung von *M. hyopneumoniae* nicht weiter verfolgt. Der Sekundärerreger *Trueperella pyogenes*, wie auch in der Literatur als Eitererreger bei einer Pneumonie mit Abszessbildung beschrieben, war bei allen drei Tieren nachweisbar (LILJEGREN et al., 2003; VALLANT, 2010).

## 6 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Studie wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Tageszunahmen, dem Lungenscore und der Mortalität zwischen zwei Impfgruppen ermittelt, die entweder mit der One-Shot-Vakzine Ingelvac MycoFLEX® oder mit der Two-Shot-Vakzine Stellamune® Mycoplasma geimpft wurden.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung ließen aufgrund der Serokonversion die Manifestation einer Feldinfektion mit *M. hyopneumoniae* am Ende der Aufzucht oder in der Mast vermuten. Eine impfinduzierte Serokonversion konnte nur bei maximal 25 % der Ferkel in der Stellamune-IG nachgewiesen werden. Anhand der humoralen Immunantwort auf die Impfung war in der vorliegenden Studie kein Rückschluss auf die Schutzwirkung möglich.

## 7 Zusammenfassung

Die Immunprophylaxe mit inaktivierten Ganzzellvakzinen ist bis heute eine häufig verwendete Maßnahme, um die klinischen Erscheinungen einer Infektion mit *M. hyopneumoniae* zu kontrollieren.

Das Ziel dieser Studie war es, die Wirksamkeit eines One-Shot-Impfstoffes mit der eines Two-Shot-Impfstoffes gegen *M. hyopneumoniae* zu vergleichen. Die Studie wurde in einem geschlossenen Zucht- und Mastbetrieb, der bereits seit einigen Jahren eine Two-Shot-Vakzine gegen *M. hyopneumoniae* einsetzte, durchgeführt.

Insgesamt wurden 271 Ferkel aus zwei aufeinanderfolgenden Mastdurchgängen nach Gewicht und Geschlecht randomisiert in zwei verschiedene Impfgruppen eingeteilt. Die Ferkel erhielten die One-Shot-Vakzine (Ingelvac MycoFLEX®, Boehringer Ingelheim, Vetmedica, Deutschland) einmalig, intramuskulär um den 30. (29. - 33.) Lebenstag und die Two-Shot-Vakzine (Stellamune® Mycoplasma, Fa. Richter Pharma, Österreich) zweimalig, intramuskulär um den 9. (8. - 12.) und 30. (29. - 33.) Lebenstag. Für den Vergleich zwischen den beiden Impfgruppen (MycoFLEX-IG und Stellamune-IG) wurden die durchschnittlichen Tageszunahmen von 255 Schweinen während der Säuge-, der Aufzucht- und der Mastphase aus vier Wiegungen, jeweils zu Beginn und zum Ende der Produktionsphasen, ermittelt, bei den Schlachttieren die Lungen von 226 Schweinen mittels Lungenscore bewertet, die Verlustrate und Behandlungen dokumentiert und eine serologische Untersuchung bei 16 Tieren je Gruppe zu sechs festgesetzten Terminen durchgeführt.

In dieser Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Tageszunahmen, der Lungengesundheit und der Mortalität zwischen den, mit einem One-Shot- und den, mit einem Two-Shot-Impfstoff geimpften Gruppen. Der Versuchsbetrieb wies durch die Einhaltung hygienischer Standardmaßnahmen und einem innerbetrieblich gut geführtem Management generell einen stabilen Gesundheitsstatus auf. *M. hyopneumoniae*-Genomfragmente wurden aber vor Beginn der Studie bei Aufzuchtferkeln mittels PCR aus Nasentupfern nachgewiesen. Eine *M. hyopneumoniae*-Exposition am Ende der Aufzucht bzw. während der Mast wurde während der Studie aufgrund der serologischen Ergebnisse dargestellt.

Im Serumprofil wurden maternale Antikörper nur im ersten Mastdurchgang beider Impfgruppen nachgewiesen. Die MycoFLEX-IG zeigte keine impfinduzierte Serokonversion, während in der Stellamune-IG maximal 25 % der Beprobungstiere

nach den Impfungen serokonvertierten. Ein impfinduzierter Anstieg der Blocking-ELISA Werte konnte bei einem höheren Anteil, der in der 1. Lebenswoche seronegativen Ferkel dargestellt werden, im Vergleich zu gleichaltrigen seropositiven Tieren. Die impfinduzierte Serokonversion ließ keinen Rückschluss auf die Wirksamkeit der eingesetzten Impfungen zu.

In der vorliegenden Studie zeigte sich somit kein Unterschied in der Wirksamkeit des One-Shot-Impfstoffes Ingelvac MycoFLEX® im Vergleich zu dem Two-Shot-Impfstoff Stellamune® Mycoplasma.

## 8 Summary

### Investigation of the efficacy of a One-Shot-vaccine against *Mycoplasma hyopneumoniae* compared to a Two-Shot-vaccine in pigs in a field trial

Vaccination against *M. hyopneumoniae* with inactivated vaccines is today one of the most employed methods to control for clinical symptoms following the infection with this pathogen.

This investigation was aiming to compare the efficacy of a One-Shot-vaccine with a two dose product against *M. hyopneumoniae*. The study was conducted in a closed farrow-to-finish farm in Austria. Vaccination against *M. hyopneumoniae* with a Two-Shot-vaccine was implemented for years.

A total of 271 piglets from two consecutive farrowing batches were assigned to two treatment groups according to their weight and gender. One treatment group (MycoFLEX-IG) received the one dose product Ingelvac MycoFLEX® (Boehringer Ingelheim, Vetmedica, Germany) once intramuscularly around day 30 (29 - 33) of life. The second treatment group (Stellamune-IG) was vaccinated intramuscularly with the two dose product Stellamune® Mycoplasma (Richter Pharma, Austria) receiving the first dose around day 9 (8 - 12) and the second dose around day 30 (29 - 33). For the comparison of both treatment groups average daily weight gain of 255 pigs was calculated for the suckling, growing and fattening period, according to the results of four weighings conducted at the beginning and the end of those periods, lung lesions were scored for 226 pigs at slaughter and mortality as well as other treatments were recorded for both treatment groups. Serum samples of 16 pigs per treatment group were tested for antibodies against *M. hyopneumoniae* at six time points during the investigation, in order to confirm exposure of the study groups to the pathogen.

In this study no significant differences were found between the One-Shot and the Two-Shot vaccinated groups with regards to average daily weight gain, lung lesions and mortality. An antibiotic treatment was applied to all pigs of the first batch due to an acute clinical disease. Individual treatments were rare and were applied to pigs of both groups to the same extend (MycoFLEX-IG: 4 pigs; Stellamune-IG: 3 pigs). The general health status of the pigs at the study farm was considered high, as proper hygiene practices and good internal management were employed on farm. However, genomic fragments of *M. hyopneumoniae* were detected in nasal swabs of 12

weaned piglets (5 weeks of age) before the study was started. During this study exposure to *M. hyopneumoniae* was shown at the end of the growing or during the fattening period, respectively, by seroconversion.

Maternally derived antibodies were only detectable in the first batch of pigs in both treatment groups. The piglets of the MycoFLEX-IG showed no vaccine induced seroconversion, while a maximum of 25 % of the sampling animals of the Stellamune-IG seroconverted after vaccination. Increasing values of the percent blocking after vaccination could be shown for a higher proportion of piglets being seronegative at one week of age, compared to seropositive piglets at this age. Vaccine induced seroconversion was no predictor for vaccine efficacy.

In the present study no difference of efficacy was shown between the One-Shot-vaccine Ingelvac MycoFLEX® and the Two-Shot-vaccine Stellamune® Mycoplasma.

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Versuchsgruppen

Tabelle 2: Lungenscore am Schlachthof modifiziert nach MADEC und KOBISCH  
(1982)

Tabelle 3: Lungenbefundung für eine Tierlunge

Tabelle 4: Anzahl der untersuchten Tiere für Gewichtsentwicklung, Lungenscore und Verluste pro Impfgruppe und Mastdurchgang

Tabelle 5: Gewichte beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge

Tabelle 6: Deskriptive Statistik der Wiegungen beider Impfgruppen im ersten Mastdurchgang

Tabelle 7: Deskriptive Statistik der Wiegungen beider Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang

Tabelle 8: Deskriptive Statistik der durchschnittlichen Tageszunahmen beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge

Tabelle 9: Cut-off-Grenzbereiche im ELISA zu den einzelnen Blutentnahmen

Tabelle 10: Anteil an seropositiv getesteten Blutproben in Prozent und unter Angabe der absoluten Zahlen pro Impfgruppe

Tabelle 11: Anzahl (n) der Schweine je Punkte im Lungenscore und Anteil in Prozent der Impfgruppe

Tabelle 12: Absoluter und prozentualer Anteil an Tierverlusten

Tabelle 13: Mortalitätsraten der Impfgruppen im Vergleich nach Einteilung in zwei Todesursachen

## 10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der Ermittlung der Körpergewichte

Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Blutprobenentnahmen

Abbildung 3: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen beider Mastdurchgänge. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum

Abbildung 4: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen im ersten Mastdurchgang. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum

Abbildung 5: Körpergewicht in kg der beiden Impfgruppen im zweiten Mastdurchgang. Die Box zeigt das untere und obere Quartil, die Mittellinie den Median und das Kreuz den Mittelwert. Die Whiskers beschreiben das Maximum und das Minimum

Abbildung 6: Durchschnittliche Tageszunahmen (ADWG) in kg beider Impfgruppen beider Mastdurchgänge unter Angabe der Standardabweichung

Abbildung 7: Prozentualer Anteil an seropositiven Blutproben zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten in beiden Versuchsgruppen

Abbildung 8: Absolute Anzahl seropositiv getesteter Tiere je Impfgruppe

Abbildung 9: Absolute Anzahl an Tieren, die nach einem negativen ELISA- Ergebnis zu dem jeweiligen Entnahmepunkt positiv getestet wurden

Abbildung 10: Prozentualer Anteil an seropositiven Blutproben zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten getrennt nach den Versuchsgruppen und dem Mastdurchgang

Abbildung 11: Verlauf der Blocking-ELISA-Werte der in der ersten Lebenswoche seropositiv getesteten Tiere zu den verschiedenen Entnahmepunkten

Abbildung 12: Verlauf der Blocking-ELISA-Werte der in der ersten Lebenswoche seronegativ getesteten Tiere zu den verschiedenen Entnahmepunkten

Abbildung 13: Vergleich der MycoFLEX-IG und Stellamune-IG anhand des Lungenscores

## 11 Literaturverzeichnis

**AHN, K. K., D. KWON, K. JUNG, Y. HA, M. J. SEO, S. H. KIM, M. Y. KIM, K. D. CHO, B. H. LEE, C. CHAE (2009)**

Identification of interleukin-1, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and interleukin-6 expression in lungs from pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* by in situ hybridization.

J Vet Med Sci 71, 441-445.

**ALEXANDER, T. J. L., K. THORNTON, G. BOON, R. J. LYSONS, A. F. GUSH (1980)**

Medicated early weaning to obtain pigs free from pathogens endemic in the herd of origin.

Vet Rec 106, 114-119.

**AMANFU, W., C. N. WENG, R. F. ROSS, H. J. BARNES (1984)**

Diagnosis of mycoplasmal pneumonia of swine: sequential study by direct immunofluorescence.

Am J Vet Res 45, 1349-1352.

**AMERI-MAHABADI, M., E. M. ZHOU, W. H. HSU (2005)**

Comparison of two swine *Mycoplasma hyopneumoniae* enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies from vaccinated pigs and field serum samples.

J Vet Diagn Invest 17, 61-64.

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

Western blot immunoassay as a confirmatory test for the presence of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* antibodies in swine serum.

J Vet Diagn Invest 18, 198-201.

**ANDREASEN, M., J. P. NIELSEN, P. BAEKBO, P. WILLEBERG, A. BÖTNER (2000)**

A longitudinal study of serological patterns of respiratory infections in nine infected Danish swine herds.

Prev Vet Med 45, 221-235.

**ANGULO, J., G. CLINE, K. SADDORIS-CLEMONS (2013)**

Comparative efficacy of Ingelvac MycoFLEX® vaccination in pigs at 3 weeks of age from Ingelvac MycoFLEX® vaccinated and non-vaccinated sows on the reduction of lung lesions.

Proc 44th AASV Congress, San Diego, California,, 251-254.

**BACCARO, M. R., F. HIROSE, O. UMEHARA, L. C. GONCALVES, D. S. DOTO, R. PAIXAO, L. T. SHINYA, A. M. MORENO (2006)**

Comparative efficacy of two single-dose bacterins in the control of *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine raised under commercial conditions in Brazil.

Vet J 172, 526-531.

**BAK, H., E. NORREGAARD (2011)**

Benefits of combined *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 vaccination.

Proc 42nd AASV Congress, Phoenix, Arizona, 167-168.

**BANDRICK, M., M. PIETERS, C. PIJOAN, S. K. BAIDOO, T. MOLITOR (2011)**

Effect of cross-fostering on transfer of maternal immunity to *Mycoplasma hyopneumoniae* to piglets.

Vet Rec 168, 100.

**BARATE, A. K., G. S. JANG, S. CHO, T. W. HAHN (2013)**

Proteomic and genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates from South Korea.

J pure appl Microbiol 7, 3125-3129.

**BASKERVILLE, A. (1972)**

Development of the early lesions in experimental enzootic pneumonia of pigs: an ultrastructural and histological study.

Res Vet Sci 13, 570-578.

**BATISTA, L., C. PIJOAN, A. RUIZ (2004)**

Assessment of transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* by personnel.

J Swine Health Prod 12, 75-77.

**BEREITER, M., T. F. YOUNG, H.S. JOO, R. F. ROSS (1990)**

Evaluation of the ELISA and comparison to the complement fixation test and radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibodies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine serum.

Vet Microbiol 25, 177-192.

**BGBI I (2014a)**

Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2006 (BGBI I, S. 2043), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 5. Februar 2014 (BGBI I, S.94) geändert worden ist.

Abgerufen am 28.9.2014 von

<http://www.gesetze-im-internet.de/tierschnutztv/BJNR275800001.html>

**BGBI I (2014b)**

Schweinehaltungshygieneverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 2. April 2014 (BGBI I, S. 326), die durch Artikel 18 der Verordnung vom 17. April 2014 (BGBI I, S. 388) geändert worden ist.

Abgerufen am 14.09.2014 von <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/schhalthygv/gesamt.pdf>

**BLANCHARD, B., M. M. VENA, A. CAVALIER, J. LE LANNIC, J. GOURANTON, M. KOBISCH (1992)**

Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Vet Microbiol 30, 329-341.

**BOUSQUET, E., P. POMMIER, S. WESSEL-ROBERT, H. MORVAN, H. BENOIT-VALIERGUE, A. LAVAL (1998)**

Efficacy of doxycycline in feed for the control of pneumonia caused by *Pasteurella multocida* and *Mycoplasma hyopneumoniae* in fattening pigs.

Vet Rec 143, 269-272.

**BURCH, D. G., G. T. JONES, T. W. HEARD, R. E. TUCK (1986)**

The synergistic activity of tiamulin and chlortetracycline: in-feed treatment of bacterially complicated enzootic pneumonia in fattening pigs.

Vet Rec 119, 108-112.

**BURNETT, T. A., K. DINKLA, M. ROHDE, G. S. CHHATWAL, C. UPHOFF, M. SRIVASTAVA, S. J. CORDWELL, S. GEARY, X. LIAO, F. C. MINION, M. J. WALKER, S. P. DJORDJEVIC (2006)**

P159 is a proteolytically processed, surface adhesin of *Mycoplasma hyopneumoniae*: defined domains of P159 bind heparin and promote adherence to eukaryote cells.

Mol Microbiol 60, 733-741.

**CALSAMIGLIA, M., C. PIJOAN, G. J. BOSCH (1999)**

Profiling *Mycoplasma hyopneumoniae* in farms using serology and a nested PCR technique.

J Swine Health Prod 7, 263-268.

**CALSAMIGLIA, M., C. PIJOAN (2000)**

Colonisation state and colostral immunity to *Mycoplasma hyopneumoniae* of different parity sows.

Vet Rec 146, 530-532.

**CALUS, D., M. BAELE, T. MEYNS, A. DEKRUIF, P. BUTAYE, A. DECOSTERE, F. HAEBROUCK, D. MAES (2007)**

Protein variability among *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates.

Vet Microbiol 120, 284–291.

**CARDONA, A. C., C. PIJOAN, S. A. DEE (2005)**

Assessing *Mycoplasma hyopneumoniae* aerosol movement at several distances.

Vet Rec 156, 91-92.

**CARUSO, J. P., R. F. ROSS (1990)**

Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* infections on alveolar macrophage functions in swine.

Am J Vet Res 51, 227-231.

**CHARLIER, P., B. JAMBERS, S. MARTINOD, A. LEGRAND (1994)**

Efficacy of Stellamune™ Mycoplasma (vaccine) in European field trials.

Proc 13th, IPVS Congress, Bangkok, 136.

**CHASE, C., LUNNEY, J. (2012)**

Immune System.

In: Diseases of Swine. J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, G.W. Stevenson (Hrsg.), John Wiley & Sons, Inc, 10. Auflage, 227-250.

**CHOI, C., D. KWON, K. JUNG, Y. HA, Y.-H. LEE, O. KIM, H.-K. PARK, S.-H. KIM, K.-K. HWANG, C. CHAE (2006)**

Expression of inflammatory cytokines in pigs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

J Comp Path 134, 40-46.

**CHRISTENSEN, G. J. MOUSING, (1992)**

Respiratory System.

In Diseases of Swine, 7th Edition, eds A.D. Leman, B.E. STRAW, W.L.

MENGELING, S. D'ALLAIRE, D.J. TAYLOR

Ames, Iowa: Iowa State University Press, 128-162

**CIPRIAN, A., C. PIJOAN, T. CRUZ, J. CAMACHO, J. TORTORA, G.**

**COLMENARES, R. LOPEZ-REVILLA, M. DE LA GARZA (1988)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia.

Cand J Vet Res 52, 434-438.

**CLARK, L. K., M. J. FREEMAN, A. B. SCHEIDT, K. E. KNOX (1991)**

Investigating the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd with enzootic pneumonia.

J Vet Med 86, 543-550.

**CLARK, L. K., C. C. WU, W. G. VAN ALSTINE, K. E. KNOX (1998)**

Evaluation of the effectiveness of a macrolide antibiotic on reduction of respiratory pathogens in 12-day and 21-day weaned pigs.

J Swine Health Prod 6, 257-262.

**CLARK, K. L. (2000)**

Mycoplasmal pneumonia control strategies.

Proc Allen D Leman Swine Conference, St. Paul, 87-91.

**DAWSON, A., S. J. THEVASAGAYAM, J. SHERINGTON, R. E. HARVEY, A. R.**

**PETERS (2002)**

Studies of the field efficacy and safety of a singles-dose *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine for pigs.

Vet Rec 151, 535-538.

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

Histochemical and morphologic changes of porcine airway epithelial cells in response to infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Am J Vet Res 53, 1705-1710.

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

Ciliostasis and loss of cilia induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine tracheal organ cultures.

Infect Immun 62, 5312-5318.

**DEE, S., S. OTAKE, S. OLIVEIRA, J. DEEN (2009)**

Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Vet Res 40, 39.

**DIAZ E., E. J. C. CHEVEZ S., J. LARA (2004)**

Evaluation of three different vaccination programs against *Mycoplasma hyopneumoniae* and their impact on body weight up to market age.

Proc 18th IPVS Congress, Hamburg, 410.

**DINSLAGE T., J. BOWDEN, L. KARRIKER (2008)**

An application of evidence based medicine: The impact of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine on average daily gain in swine.

Proc 39th AASV Congress, San Diego, California, 49-54.

**DJORDJEVIC, S. P., G. J. EAMENS, L. F. ROMALIS, P. J. NICHOLLS, V.****TAYLOR, J. CHIN (1997)**

Serum and mucosal antibody responses and protection in pigs vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae* with vaccines containing a denatured membrane antigen pool and adjuvant.

Aust Vet J 75, 504-511.

**DOHOO, I., M. MONTGOMERY (1996)**

A field trial to evaluate a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine: effects on lung lesions and growth rates in swine.

Can Vet J 37, 299-302.

**EICHMEYER, M. A., M. B. ROOF, M. D. PIONTKOWSKI, P. W. HAYES, R. SALTZMAN (2009)**

Efficacy evaluation of a mixed *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin and a porcine circovirus type 2 vaccine.

Proc 48th AASV Congress, Dallas, Texas, 299-300.

**ENOE, C., J. MOUSING, A. L. SCHIRMER, P. WILLEBERG (2002)**

Infectious and rearing system related risk factors for chronic pleuritis in slaughter pigs.

Prev Vet Med 54, 337-349.

**ERLANDSON, K. R., R. B. EVANS, B. J. THACKER, M. W. WEGNER, E. L. THACKER (2005)**

Evaluation of three serum antibody enzyme-linked immunosorbent assays for *Mycoplasma hyopneumoniae*.

J Swine Health Prod 13, 198-203.

**FABLET, C., C. MAROIS, M. KOBISCH, F. MADEC, N. ROSE (2010)**

Estimation of the sensitivity of four sampling methods for *Mycoplasma hyopneumoniae* detection in live pigs using a Bayesian approach.

Vet Microbiol 143, 238-245.

**FABLET, C., C. MAROIS, V. DORENLOR, F. EONO, E. EVENO, J. P. JOLLY, L. LE DEVENDEC, M. KOBISCH, F. MADEC, N. ROSE (2012)**

Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds.

Vet Sci 93, 627-630.

**FANO, E., C. PIJOAN, S. DEE (2005)**

Dynamics and persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs.

Can J Vet Res 69, 223-228.

**FANO, E., C. PIJOAN, S. DEE, J. DEEN (2007):**

Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs.

Can J Vet Res 71, 195-200.

**FEENSTRA, A. A., V. SÖRENSEN, N. F. FRIIS, N. E. JENSEN, V. BILLE-HANSEN (1994)**

Experimental *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs.

Proc 13rd IPVS Congress, Bangkok, 187.

**FRAILE, L., A. ALEGRE, R. LOPEZ-JIMENEZ, M. NOFRARIAS, J. SEGALÉS (2010)**

Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs.

Vet J 184, 326-333.

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

Chromosomal heterogeneity of various *Mycoplasma hyopneumoniae* field strains.

Int J Syst Bacteriol 42, 275-280.

**FRIIS, N. F. (1975)**

Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma flocculare*.

Nord Vet Med 27, 337-339.

**GOLINAR OVEN, I., Z. VALENCAK (2012)**

Efficacy of serum profiling for control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections on large pig farm.

Proc 22th IPVS Congress, Jeju, 704.

**GOODWIN, R. F. W, A. P. POMEROY, P. WHITTLESTONE (1965)**

Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma.

Vet Rec 77, 1247-1249.

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

Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: search for possible causes.

Vet Rec 116, 690-6938.

**GREINER, L., J. F. CONNOR, J. F. LOWE (2011)**

Comparison of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination.

Proc 42nd, AASV Congress, Phoenix, 245-247.

**GRIESSLER, A., T. VOGLMAYR, M. HOLZHEU, M. WERNER-TUTSCHKU (2008)**

Atemwegserkrankungen in der Schweinemast.

In: Schweinekrankheiten – Erkennen und erfolgreich behandeln. A. Griessler, T. Voglmayr, M. Holzheu, M. Werner-Tutschku (Hrsg.), Leopold Stocker Verlag, Graz, 1. Auflage, 158-159.

**HAESEBROUCK, F., F. PASMANS, K. CHIERS, D. MAES, R. DUCATELLE, A.****DECOSTERE (2004)**

Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect?

Vet Microbiol 100, 255-268.

**HALBUR, P. G. (1998)**

Porcine respiratory disease.

Proc 15th IPVS Congress, Birmingham, 1-10.

**HANNAN, P. C., B. S. BHOGAL, J. P. FISH (1982)**

Tylosin tartrate und tiamulin effects on experimental piglet pneumonia induced with pneumonic lung homogenate containing mycoplasmas, bacteria and viruses.

Res Vet Sci 33, 76-88.

**HANSEN, M. S., S. E. PORS, H. E. JENSEN, V. BILLE-HANSEN, M. BISGAARD, E. M. FLACHS, O. L. NIELSEN (2010)**

An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in denmark.

J Comp Pathol 143, 120-131.

**HENNINGER, M., H. PERRIN, J. DUPUIS, L. MIELI (2014)**

Use of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine the vaccine uptake following different vaccination schedules against *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo) – practical interest.

Proc 45th AASV Congress, Dallas, 399-400.

**HEGE, R., W. ZIMMERMANN, R. SCHEIDEDEGGER, K. D. STÄRK (2002)**

Incidence of reinfections with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pig farms located in respiratory-disease-free regions of Switzerland - identification and quantification of risk factors.

Acta Vet Scand 43, 145-156.

**HILTERMANN-LINDEN, E. (2004)**

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

Diss med vet, Hannover

**HODGINS, D. C., P. E. SHEWEN, C. E. DEWEY (2004)**

Influence of age and maternal antibodies on antibody responses of neonatal piglets vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae*.

J Swine Health Prod 12, 10-16.

**HOLST, S., P. YESKE, B. LEUWERKE, R. SWALLA, P. DAVIES, M.PIETERS (2013)**

Effect of pre-farrow administration of tulathromycin injectable solution on *Mycoplasma hyopneumoniae* prevalence in suckling pigs at birth and weaning.

Proc 44th, AASV Congress, San Diego, California, 89-90.

**HOY, S., G. MEHLHORN, K. HÖRÜGEL, W. DORN, K. EULENBERGER, U. JOHANNSEN (1986)**

Der Einfluss ausgewählter endogener Faktoren auf das Auftreten entzündlicher Lungenveränderungen bei Schweinen.

Mh Vet Med 41, 397-400.

**HSU, T., S. ARTIUSHIN, F. C. MINION (1997)**

Cloning and functional analysis of the P97 swine cilium adhesin gene of *Mycoplasma hyopneumoniae*.

J Bacteriol 179, 1317-1323.

**JACQUES, M., B. BLANCHARD, B. FOIRY, C. GIRARD, M. KOBISCH (1992)**

*In vitro* colonization of porcine trachea by *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Ann Rech Vet. 23, 239-247.

**JAYAPPA, H., D. R. RAPP-GARIELSON, V. WASMOEN, E. T. THACKER, B. THACKER (2001)**

Evaluation of the efficacy of *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin following immunization of young pigs in the presence of varying levels of maternal antibodies.

J Swine Health Prod 9, 237-241.

**JENSEN, A., T. BLAHA (1997)**

Zum Zusammenhang zwischen Management- und Hygienefaktoren in Schweinemastbeständen und Organveränderungen am Schlachthof.

Prakt Tierarzt 78, 494-504.

**JENSEN, J. C., A. K. ERSBOLL, J. P. NIELSEN (2002)**

A meta-analysis comparing the effect of vaccines against *Mycoplasma hyopneumoniae* on daily weight in pigs.

Prev Vet Med 54, 265-278.

**JUNGBÄCK, C., I. LEMKE (2006)**

Anwendung von Impfstoffen

In: H.J. Selbitz, M. Moos (Hrsg.): Tierärztliche Impfpraxis. Enke Verlag Stuttgart, 3. Auflage, 13-20.

**KELLY, J. (1990)**

Cytokines of the lung.

Am Rev Resp Disease 141, 765-788.

**KLOBASA, F., J. E. BUTLER (1987)**

Absolute and relative concentration of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers.

Am J Vet Res 48, 176-18.

**KLOBASA, F., E. WERHAHN, J. E. BUTLER (1987)**

Composition of sow milk during lactation.

J Anim Sci 64, 1458-1466.

**KOBISCH, M., B. BLANCHARD, M. F. LE POTIER (1993)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: duration of the disease and resistance to reinfection.

Vet Res 24, 67-77.

**KURTH, K. T., T. HSU, E. R. SNOOK, E. L. THACKER, B. J. THACKER, F. C.****MINION (2002)**

Use of a *Mycoplasma hyopneumoniae* nested polymerase chain reaction test to determine the optimal sampling sites in swine.

J Vet Diagn Invest 14, 463-469.

**KWON, D., C. CHAE (1999)**

Detection and localization of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA in lungs from naturally infected pigs by in situ hybridization using a digoxigenin-labeled probe.

Vet Pathol 36, 308-313.

**KWON, D., C. CHOI, C. CHAE (2002)**

Chronologic localization of *Mycoplasma hyopneumoniae* in experimentally infected pigs.

Vet Pathol 39, 584-587.

**KYRIAKIS, S. C., C. ALEXOPOULOS, J. VLEMMAS, K. SARRIS, S. LEKKAS, M. KOUTSOVITI-PAPADOPOLOU, K. SAOULIDIS (2001)**

Field study on the efficacy of two different vaccination schedules with HYORESP® in a *Mycoplasma hyopneumoniae*-infected commercial pig unit.

J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 48, 675-684.

**LE CARROU, J., M. LAURENTIE, M. KOBISCH, A. V. GAUTIER-BOUCHARDON (2006)**

Persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in experimentally infected pigs after marbofloxacin treatment and detection of mutations in the *parC* gene.

Antimicrob Agents Chemother 50, 1959-1966.

**LEÓN, E. A., F. MADEC, N. M. TAYLOR, M. KOBISCH (2001)**

Seroepidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs from farrow-to-finish farms.  
Vet Microbiol 78, 331-341.

**LILJEGREN, C. H., B. AALBÆK, O. L. NIELSEN, H. E. JENSEN (2003)**

Some new aspects of the pathology, pathogenesis, and aetiology of disseminated lung lesions in slaughter pigs.

APMIS 111, 531–538.

**LILLIE, K. (2004)**

Untersuchungen zur Wirkung und Verträglichkeit eines inaktivierten *Mycoplasma hyopneumoniae*-One-Shot-Impfstoffes (Stellamune®One) bei unterschiedlichen Vakzinationszeitpunkten.

Diss med vet München.

**LLOPART, D., J. CASAL, J. CLOTA, I. NAVARRA, R. MARCH, P. RIERA, C. ARTIGAS (2002)**

Evaluation of the field efficacy and safety of a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine in finishing pigs.

Pig J 4, 70-83.

**LORENZO, H., O. QUESADA, P. ASSUNCAO, A. CASTRO, F. RODRIGUEZ (2006)**

Cytokine expression in porcine lungs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Vet Immunol Immunopath 109, 199-207.

**MADEC, F. (1984)**

The risk factors of respiratory diseases on fatteners in intensive breeding-finishing units.

Proc 8th, IPVS Congress, Ghent, Belgien, 349.

**MADEC, F., M. KOBISCH (1982)**

Bilan lésionnel des poumons de porcs charcutiers à l'abattoir.

J Rech Porc Fr 14, 405-412.

**MAES, D., M. VERDONCK, H. DELUYKER, A. DE KRUIF (1996)**

Enzootic pneumonia in pigs.

Vet Q 18, 104-109.

**MAES, D., H. DELUYKER, M. VERDONCK, F. CASTRYCK, C. MIRY, A. LEIN, B.****VRIJENS, A. DE KRUIF (1998)**

The effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with a continuous production system.

J Vet Med Series B 45, 495-505.

**MAES, D., H. DELUYKER, M. VERDONCK, F. CASTRYCK, C. MIRY, B. VRIJENS,****W. VERBEKE, J. VIAENE, A. DE KRUIF (1999)**

Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with an all-in/all-out production system.

Vaccine 17, 1024-1034.

**MAES, D., H. DELUYKER, M. VERDONCK, F. CASTRYCK, C. MIRY, B. VRIJENS, R. DUCATELLE, A. DE KRUIF (2001)**

Non-infectious factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish herds.

Vet Rec 148, 41-46.

**MAES, D., W. VERBEKE, J. VICCA, M. VERDONCK, A. DE KRUIF (2003)**

Benefit to cost of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds under Belgian market conditions from 1996 to 2000.

Livest Prod Sci 83, 85-93.

**MAES, D., J. SEGALÉS, T. MEYNS, M. SIBILA, M. PIETERS, F. HAEBROUCK (2008)**

Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs.

Vet Microbiol 126, 297-309.

**MARE, C. J., W.P. SWITZER (1965)**

New species: *Mycoplasma hyopneumoniae*; a causative agent of virus pig pneumonia.

Vet Med Small Anim Clin 60, 841-846.

**MAROIS, C., J. LE CARROU, M. KOBISCH, A.V. GAUTIER-BOUCHARDON (2007)**

Isolation of *Mycoplasma hyopneumoniae* from different sampling sites in experimentally infected and contact SPF piglets.

Vet Microbiol 120, 96-104.

**MAROIS, C., D. DORY, C. FABLET, F. MADEC, M. KOBISCH (2010)**

Development of a quantitative real-time TaqMan PCR assay for determination of the minimal dose of *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 116 required to induce pneumonia in SPF pigs.

J Applied Microbiol 108, 1523-1533.

**MARTELLI, P., M. TERRENI, S. GUAZZETTI, S. CAVIRANI (2006)**

Antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in vaccinated pigs with or without maternal antibodies induced by sow vaccination.

J Vet Med B 53, 229-233.

**MATEUSEN, B. D. MAES, G. HOFLACK, M. VERDONCK, A. DE KRUIF (2001)**

A comparative study of the preventive use of Tilmicosin phosphate (Pulmotil premix) and *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination in a pig herd with chronic respiratory disease.

J Vet Med B 48, 733-741.

**MESSIER, S., R. F. ROSS, P. S. PAUL (1990)**

Humoral and cellular immune responses of pigs inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Am J Vet Res 51, 52-58.

**MESSIER, S., R. F. ROSS (1991)**

Interactions of *Mycoplasma hyopneumoniae* membranes with porcine lymphocytes.

Am J Vet Res 52, 1497-1502.

**METTLER, S. (2009)**

Untersuchungen zur Wirksamkeit zweier *Mycoplasma hyopneumoniae* Impfstoffe bei verschiedenen Haltungssystemen innerhalb eines Betriebs.

Diss med vet, München.

**MEYNS, T., D. MAES, J. DEWULF, J. VICCA, F. HAESEBROUCK, A. DE KRUIF (2004)**

Quantification of the spread of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nursery pigs using transmission experiments.

Prev Vet Med 66, 265-275.

**MEYNS, T., J. DEWULF, A. DE KRUIF, D. CALUS, F. HAESEBROUCK, D. MAES (2006)**

Comparison of transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in vaccinated and non-vaccinated populations.

Vaccine 24, 7081-7086.

**MEYNS, T., D. MAES, D. CALUS, S. RIBBENS, J. DEWULF, K. CHIERS, A. DE KRUIF, E. COX, A. DECOSTERE, F. HAESEBROUCK (2007)**

Interactions of highly and low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates with the respiratory tract of pigs.

Vet Microbiol 120, 87-95.

**MEYNS, T., J. VAN STEELANT, E. ROLLY, J. DEWULF, F. HAESABROUCK, D. MAES (2011)**

A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter.

Vet J 187, 388-392.

**MORRIS, C. R., I. A. GARDNER, S. K. HIETALA, T. E. CARPENTER, R. J. ANDERSON, K. M. PARKER (1994)**

Persistence of passively acquired antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd.

Prev Vet Med 21, 29-41.

**MORRIS, C. R., I. A. GARDNER, S. K. HIETALA, T. E. CARPENTER, R. J. ANDERSON, K. M. PARKER (1995)**

Seroepidemiologic study of natural transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd.

Prev Vet Med 21, 323-337.

**MORRISON, R. B. C. PIJOAN, H. HILLEY, V. RAPP (1985)**

Microorganisms associated with pneumonia in slaughter weight swine.

Can J Comp Med 49, 129-137.

**MORRISON, R. B., C. PIJOAN, A. D. LEMAN (1986)**

Association between enzootic pneumonia and performance.

Pig News Inform 7, 23-34.

**MUNETA, Y., H. UENISHI, R. KIKUMA, K. YOSHIHARA, Y. SHIMOJI, R.****YAMAMOTO, N. HAMASHIMA, Y. YOKOMIZO, Y. MORI (2003)**

Porcine TLR2 and TLR6: identification and their involvement in *Mycoplasma hyopneumoniae* infection.

J Interf Cytok Res 23, 583-590.

**MUIRHEAD, M. R., T. J. L. ALEXANDER (1997)**

Managing pig health and the treating disease in the weaner, grower and finishing periods.

In Muirhead: Managing pig health and the treatment of disease, Sheffield, UK, 283-345.

**NATHUES, H., H. WOESTE, S. DOEHRING, A. S. FAHRION, M. G. DOHERR, E. GROSSE BEILAGE (2012)**

Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nasal swabs sampled from pig farmers.

Vet Rec 170, 623.

**NATHUES, H., S. DOEHRING, H. WOESTE, A. S. FAHRION, M. G. DOHERR, E. GROSSE BEILAGE (2013)**

Individual risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling pigs at the age of weaning.

Acta Vet Scand 55, 55-44

**NICOLET, J., W. ZIMMERMANN, M. CHASTONAY (1990)**

Epidemiology and serodiagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Zentralblatt für Bakteriologie Supplement 20 – Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 249-253.

**NOYES, E., D. FEENEY, C. PIJOAN (1990)**

Comparison of the effect of pneumonia detected during lifetime with pneumonia detected at slaughter on growth in swine.

J Am Vet Med Assoc 197, 1025-1029.

**NUTSCH, R. G., F.J. HART, K. A. ROONEY, D. J. WEIGEL, W. R. KILGORE, T. L. SKOGERBOE (2005)**

Efficacy of tulathromycin injectable solution for the treatment of naturally occurring swine respiratory disease.

Vet Ther 6, 214-224.

**NUTSCH, R. G., M. B. WACHOWSKI, L. P. TAYLOR, H. MOYAERT, N. WUYTS (2012)**

Comparison of efficacy of Tulathromycin (Draxxin®) and Tildipirosin (Zuprevo®) in the treatment of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs.

Proc Allen D Leman Swine Conference, Minnesota, 39, 230.

**OLIVEIRA, S. (2006)**

Essential knowledge: respiratory disease in the growing pig- innate immune response.

Proc Allen D Leman Swine Conference, St. Paul, 39-40.

**OPRIESSNIG, T., E. L. THACKER, S. YU, M. FENAUX, X. J. MENG, P. G. HALBUR (2004)**

Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2.

Vet Pathol 41, 624-640.

**OSTANELLO, F., M. DOTTORI, C. GUSMARA, G. LEOTTI, V. SALA (2007)**

Pneumonia Disease Assessment using a Slaughterhouse Lung-Scoring Method.

J Vet Med A 54, 70-75.

**OTAGIRI, Y., T. ASAI, M. OKADA, T. UTO, S. YAZAWA, H. HIRAI, I. SHIBATA, S. SATO (2005)**

Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in lung and nasal swab samples from pigs by nested PCR and culture methods.

J Vet Med Science 67, 801-805.

**OTAKE, S., S. DEE, C. CORZO, S. OLIVEIRA, J. DEEN (2010)**

Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants.

Vet Microbiol 145, 198-208.

**PALLARES, F.J., S. GOMEZ, G. RAMIS, J. SEVA, A. MUÑOZ (2000)**

Vaccination against swine enzootic pneumonia in field conditions: effect on clinical, pathological, zootechnical and economic parameters.

Vet Res 31, 573-582.

**PALZER, A., M. RITZMANN, G. WOLF, K. HEINRITZI (2008)**

Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia.

Vet Rec 162, 267-271.

**PAUSENBERGER, A., T. FREY, N. ÜBEL, P. SANCHEZ, G. G. GARCIA, M. RITZMANN, M. WENDT (2014)**

Seroconversion after two different vaccination schemes against *Mycoplasma hyopneumoniae* in two seronegative farms

Proc 23rd IPVS Congress, Cancun, 247.

**PETTIT, K., R. TUBBS, L. GALINA-PANTOJA (2013)**

Investigating the genetic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains circulating within a swine production system.

Proc 44th AASV Congress, San Diego, 281.

**PIETERS, M., C. PIJOAN (2006)**

Detection pattern of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA in experimentally infected pigs.

Proc 19th IPVS Congress, Copenhagen, 209-210.

**PIETERS, M., A. ROVIRA (2013)**

Comparison of various sample types for detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in recently infected pigs.

Proc Allen D Leman Swine Conference, St. Paul, Minnesota, 75-76.

**POINTON, A. M., D. BYRT, P. HEAP (1985)**

Effect of enzootic pneumonia of pigs on growth performance.

Aust Vet J 62, 13-18.

**POMMIER, P., A. KEITA, E. PAGOT, A. FLOCHLAY (2000)**

Field efficacy of a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine in the control of enzootic pneumonia in swine.

Revue Méd. Vét., 151, 8-9, 835-840.

**PRADO, C., J. ERTL, B. PAYNE, T. WETZELL, K. BRETEY, M. PIETERS (2013)**

Comparison of two sample types for detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in naturally infected pigs.

Proc Allen D Leman Swine Conference, St. Paul, Minnesota..

**RAPP-GABRIELSON, V. J., T. HOOVER, S. SORNSEN, L. KESL, L. TAYLOR, R. JOLIE, P. RUNNELS, D. WEIGEL, S. YU, T. OPRIESSNIG, K. RUEBLING-JASS, E. STRAIT, P.G. HALBUR (2008)**

Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination in pigs co-infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *porcine circovirus type 2*.

J Swine Health Prod 16, 16-26.

**RAZIN, S. (1991)**

The genera *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Acholeplasma*, *Anaeroplasma*, and *Asteroleplasma*.

In: A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer (Hrsg.), *The prokaryotes*, Vol 2, 2. Auflage, Springer-Verlag, New York, 1937-1959.

**RAZIN, S., D. YOGEV, Y. NAOT (1998)**

Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas.

Microbiol Mol Biol Rev 62, 1094-1156.

**REGULA, G., C. A. LICHTENSTEIGER, N. E. MATEUS-PINILLA, G. SCHERBA, G.****Y. MILLER, R. M. WEIGEL (2000)**

Comparison of serologic testing and slaughter evaluation for assessing the effects of subclinical infection on growth in pigs.

J Am Vet Med Assoc 217, 888-895.

**REYNOLDS, S. C., L. B. ST. AUBIN, L. G. SABBADINI, J. KULA, J. VOGELAAR,****P. RUNNELS, A. R. PETERS (2009)**

Reduced lung lesions in pigs challenged 25 weeks after the administration of a single dose of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine at approximtaely 1 week of age.

Vet J 181, 312- 320.

**RODRIGUEZ, F., G. A. RAMIREZ, J. SARRADELL, M. ANDRADA, H. LORENZO****(2004)**

Immunohistochemical labelling of cytokines in lung lesions of pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*.

J Comp Pathol 130, 306-312.

**ROSS, R. F. (1987)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* infection in swine: history, pathogenesis and epidemiology.

Sel Vet 28, 43-54.

**ROSS, R. F, D. F. COX (1988)**

Evaluation of tiamulin for treatment of mycoplasmal pneumonia in swine.

J Am Vet Med Assoc 193, 441-446.

**ROSS, R. F., P. WHITTLESTONE (1983)**

Recovery of, identification of and serological response to porcine mycoplasmas  
Methods.  
Mycoplasmology 2, 115-127.

**ROSS, R. (1992)**

Mycoplasma diseases.  
In: Lerman, A. D., Straw, B., Mengeling, W., D'Alalaite, S. and Tailor, D. (eds)  
Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames, 537–551.

**ROTH, J. A. (1999)**

Mechanistic bases for adverse vaccine reactions and vaccine failures.  
Adv Vet Med 41, 681-700.

**RUUTH, E., F. PRAZ (1989)**

Interactions between mycoplasmas and the immune system.  
Immunol Rev 112, 133-160.

**SARRADELL, J., M. ANDRADA, A. FERNANDEZ, A. S. RAMIREZ, J. C. GOMEZ VILLAMANDOS, A. JOVER, H. LORENZO, P. HERRAEZ, F. RODRIGUEZ (2003)**  
A morphologic and immunohistochemical study of the bronchus-associated lymphoid tissue of pigs naturally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*.  
Vet Pathol 40, 395-404.

**SCHEIDT, A. B., V. B. MAYROSE, W. G. VAN ALSTINE, K. CLARK, T. R. CLINE, M. E. EINSTEIN (1994)**

The effects of vaccinating pigs for mycoplasmal pneumonia in a swine herd affected by enzootic pneumonia.  
J Swine Health Prod 2, 7-11.

**SELBITZ, H. J. (2006)**

Enzootische Pneumonie  
In: H.J. Selbitz, M. Moos (Hrsg.): Tierärztliche Impfpraxis. Enke Verlag Stuttgart, 3. Auflage, 47-48.

**SHELDRAKE, R.F., I. A. GARDNER, M. M. SAUNDERS, L. F. ROMALIS (1990)**

Serum antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* measured by enzyme linked immunosorbent assay after experimental and natural infections of pigs.  
Aust Vet J 69, 39-42.

**SHELDRAKE, R. F., L. F. ROMALIS, M. M. SAUNDERS (1993)**

Serum and mucosal antibody responses against *Mycoplasma hyopneumoniae* following intraperitoneal vaccination and challenge of pigs with *M. hyopneumoniae*.  
Res Vet Sci 55, 371-376.

**SIBILA, M., M. CALSAMIGLIA, D. VIDAL, L. BADIELLA, A. ALDAZ, J. C. JENSEN (2004)**

Dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in 12 farms with different production systems.  
Can J Vet Res 68, 12-18.

**SIBILA, M., M. NOFRARIAS, S. LOPEZ-SORIA, J. SEGALÉS, P. RIERA (2007a)**

Exploratory field study on *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in suckling pigs.  
Vet Microbiol 121, 352-356.

**SIBILA, M., M. NOFRARIAS, S. LOPEZ-SORIA, S. SEGALÉS, O. VALERO, A. ESPINAL, M. CALSAMIGLIA (2007b)**

Chronological study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs.  
Vet Microbiol 122, 97-107.

**SIBILA, M., R. BERNAL, D. TORRENTS, P. RIERA, D. LLOPART, M. CALSAMIGLIA, J. SEGALÉS (2008)**

Effect of sow vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter.  
Vet Microbiol 127, 165-170.

**SIBILA, M., M. PIETERS, T. MOLITOR, D. MAES, F. HAEBROUCK, J. SEGALÉS (2009)**

Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection.

Vet J 181, 221-231.

**SITJAR, M., E. P NOYES, X. SIMON, C. PIJOAN (1996)**

Relationships among seroconversion to *Mycoplasma hyopneumoniae*, lung lesions and production parameters in pigs.

J Swine Health Prod 4, 273-277.

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

Evaluation of antibody formation, daily weight gain and meat quality after vaccination of piglets against *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Acta Vet Hung 51, 273-281.

**SÖRENSEN, V., K. BARFOD, P. AHRNS, N. F. FRIIS, A. A. FEENSTRA, M. W.**

**PEDERSEN, N. C. FELD, N.E. JENSEN (1994)**

Comparison of four different methods for demonstration of *Mycoplasma hyopneumoniae* in lungs of experimentally inoculated pigs.

Proc 13th IPVS Congress, The Hague, 188.

**SÖRENSEN, V., P. AHRENS, K. BARFOD, A. A. FEENSTRA, N. C. FELD, N. F. FRIIS, V. BILLE-HANSEN, N. E. JENSEN, M. W. PEDERSEN (1997)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: Duration of the disease and evaluation of four diagnostic assays.

Vet Microbiol 54, 23-34.

**STAKENBORG, T., J. VICCA, P. BUTAYE, H. IMBERECHTS, J. PEETERS, A. DE KRUIF, F. HAEBROUCK, D. MAES (2006)**

A multiplex PCR to identify porcine Mycoplasmas present in broth cultures.

Vet Res Commun 30, 239-247.

**STÄRK, K. D. C., H. KELLER, E. EGGENBERGER (1992).**

Risk factors for the re-infection of specific pathogen free pig breeding herds with enzootic pneumonia.

Vet Rec 131, 532–535.

**STÄRK, K. D. C., J. NICOLET, J. FREY (1998a)**

Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* by air sampling with a nested PCR assay.

Appl Environ Microbiol 64, 543-548.

**STÄRK, K. D. C., D. U. PFEIFFER, R. S. MORRIS (1998b).**

Risk factors for respiratory diseases in New Zealand pig herds.

New Zealand Vet J 46, 3–10.

**STÄRK, K. D. C. (1999)**

The role of infectious aerosols in disease transmission in pigs.

Vet J 158, 164-181.

**STÄRK, K. D. C. (2000)**

Epidemiological investigation of the influence of environmental risk factors on respiratory diseases in swine - a literature review.

Vet J 159, 37-56.

**STEENHARD, N. R., G. JUNGERSEN, B. KOKOTOVIC, E. BESHAH, H. DAWSON, J. URBAN, F. JOSEPH, A. ROEPSTORFF, S. M. THAMSBORG (2009)**

Ascaris suum infection negatively affects the response to a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination and subsequent challenge infection in pigs.

Vaccine 27, 5161-5169.

**STIPKOVITS, L., D. MILLER, R. GLAVITS, L. FODOR, D. BURCH (2001)**

Treatment of pigs experimental infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* with various antibiotics.

Can J Vet Res 65, 213-222.

**STRAIT, E. L., B. Z. ERICKSON, E. L. THACKER (2004)**

Analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates.

Proc 18th IPVS Congress, Hamburg, 217.

**STRAIT, E. L. (2012)**

Update on immunology, vaccinology, and diagnostic trends for swine mycoplasmas.

Proc 43rd AASV Congress, Denver Colorado, 453-454.

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

Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* with the porcine respiratory epithelium as observed by electron microscopy.

Infect Immun 37, 1162-1169.

**TAJIMA, M., T. YAGIHASHI, T. NUNOYA, A. TAKEUCHI, F. OHASHI (1984)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs immunosuppressed by thymectomy and treatment with antithymocyte serum.

Am J Vet Res 45, 1928-1932.

**THACKER, B. J., T. B. BOETTCHER, T. S. ANDERSON, E. L. THACKER, T. F. YOUNG (1998a)**

The influence of passive immunity on serological responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination

J Swine Health Prod 6, 107-112.

**THACKER, E. L., B.J THACKER, T. B. BOETTCHER, H. JAYAPPA (1998b)**

Comparison of antibody production, lymphocyte stimulation and protection induced by four commercial *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterins.

J Swine Health Prod 6, 107-112.

**THACKER, E. L., P. G. HALBUR, R. F. ROSS, R. THANAWONGNUWECH, B. J. THACKER (1999)**

*Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia.

J Clin Microbiol 37, 620-627.

**THACKER, E. L., B. J THACKER, M. KUHN, P. A. HAWKINS, W. R. WATERS  
(2000a)**

Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin to pigs.

Am J Vet Res 61, 1384-1389.

**THACKER, E. L., B. J. THACKER, T. F. YOUNG, P. G. HALBUR (2000b)**

Effect of vaccination on the potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-induced pneumonia by *Mycoplasma hyopneumoniae*.  
Vaccine 18, 1244-1252.

**THACKER, E. L. (2001)**

Immunology of the porcine respiratory disease complex.

Vet Clin North Am Food Anim Pract 17, 551-565.

**THACKER, E. L., B. J. THACKER, B. H. JANKE (2001)**

Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine influence virus.

J Clin Microbiol 39, 2525-2530.

**THACKER, E. L. (2004)**

Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Anim Health Res Rev 5, 317-320.

**THACKER, E. L., B. J. THACKER, T. WOLFF (2006)**

Efficacy of a chlortetracycline feed additive in reducing pneumonia and clinical signs induced by experimental *Mycoplasma hyopneumoniae* challenge.

J Swine Health Prod, 14, 140-144.

**THACKER, E. L., F. C. MINION (2012)**

Mycoplasmosis.

In: Diseases of Swine. J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, G.W. Stevenson (Hrsg.), John Wiley & Sons, Inc, 10. Auflage, 779-788

**THONGKAMKOON, P., N. PRAPASARAKUL, M. MAKHANON, S. TALUMMUK, S. KLEIN (2010)**

*In vitro* susceptibility of Porcine Mycoplasmas to antimicrobials agents during 2008-2009.

Proc 21st IPVS Congress, Vancouver, 638.

**THONGKAMKOON, P., W. NARONGSAK, H. KOBAYASHI, P.****PATHANASOPHON, M. KISHIMA, K. YAMAMOTO (2013)**

*In vitro* susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates and occurrence of fluoroquinolone, macrolides and lincomycin resistance.

J Vet Med Sci 75, 1067-1070.

**TIZARD, I. (2013)**

Immunity in the fetus and newborn.

In: Veterinary Immunology, Tizard, I., (Hrsg.), Elsevier Verlag, St. Louis, 9. Auflage, 225-239.

**VALLANT, A. (2010)**

Lunge: embolisch-metastatische Pneumonie.

In: Taschenatlas Schlachttierkörper-Pathologie bei Rind und Schwein, Vallant, A. (Hrsg.), Enke-Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 138.

**VICCA, J., D. MAES, L. THERMOTE, J. PEETERS, F. HAESEBROUCK, A. DE KRUIF (2002)**

Patterns of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in Belgian farrow-to-finish pig herds with diverging disease-course.

J Vet Med B 49, 349-353.

**VICCA, J., T. STAKENBORG, D. MAES, P. BUTAYE, J. PEETERS, A. DE KRUIF, F. HAESEBROUCK (2003)**

Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates.

Vet Microbiol 97, 177-190.

**VICCA, J., T. STAKENBORG, D. MAES, P. BUTAYE, J. PEETERS, F. HAESEBROUCK (2004)**

In vitro susceptibilities of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates.

Antimicrob Agents Chemother 48, 4470-4472.

**VILLARREAL, I., D. MAES, T. MEYNS, F. GEBRUERS, D. CALUS, F. PASMANS, F. HAESEBROUCK (2009)**

Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent *M. hyopneumoniae* isolate. Vaccine 27, 1875-1879.

**VILLARREAL, I., T. MEYNS, J. DEWULF, K. VRANCKX, D. CALUS, F. PASMANS, F. HAESEBROUCK, D. MAES (2011)**

The effect of vaccination on the transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs under field conditions.

Vet J, 188, 48-52.

**WAGSTROM, E. A., K. J. YOON, J. J. ZIMMERMAN (2000)**

Immune component in porcine mammary secretions.

Viral Immunol, 13, 383-397.

**WALTER, D., J. T. HOLCK, S. SORENSEN, C. HAGEN, I. HARRIS (2000)**

Metaphylactic antimicrobial strategy in finishing pigs with naturally occurring *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Proc 16th IPVS Congress, Melbourne, 458.

**WEISS, E., R. RUDOLPH (2007)**

Lymphknoten: 40-44.

Atemwegsorgane: 549-581.

In: E. Dahme und E. Weiß (Hrsg.): Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haussäugetiere (6. Auflage), Enke Verlag, Stuttgart, 40-44, 549-581.

**WHITTLESTONE, P. (1985)**

Mycoplasmal infection of swine.

In: Gylstorff (Hrsg.): Infektionen durch Mycoplasmatales, Gustav Fischer Verlag, Jena, 387-417.

**WILHELM, C., A. V. GAUTIER-BOUCHARDON, F. BOYEN, J. SPERGSER, E.**

**THOMAS (2012)**

Determination of the in vitro activity of florfenicol against *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Proc 22nd IPVS Congress, Jeju, Korea, 702.

**WILLIAMS R. C., R. J. GIBBONS (1972)**

Inhibition of bacterial adherence by secretory immunoglobulin A: A mechanism of antigen disposal.

Science 117, 697-699.

**WILSON, S., L. VAN BRUSSEL, G. SAUNDERS, L. TAYLOR, L. ZIMMERMANN, K. HEINRITZI, M. RITZMANN, E. BANHOLZER, M. EDDICKS (2012)**

Vaccination of piglets at 1 week of age with an inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine reduces lung lesions and improves average daily gain in body weight.

Vaccine 30, 7625-7629.

**WILSON, S., L. VAN BRUSSEL, G. SAUNDERS, P. RUNNELS, L. TAYLOR, D. FREDRICKSON, J. SALT (2013)**

Vaccination of piglets up to 1 week of age with a single-dose *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine induces protective immunity within 2 weeks against virulent challenge in the presence of maternally derived antibodies.

Clin Vac Immunol 20, 720-724.

**WILTON, J., C. JENKINS, S. J. CORDWELL, L. FALCONER, F. C. MINION, D. C. ONEAL, M. A. DJORDJEVIC, A. CONNOLLY, I. BARCHIA, M. J. WALKER, S. P. DJORDJEVIC (2009)**

Mhp493 (P216) is a proteolytically processed, cilium and heparin binding protein of *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Mol Microbiol 71, 566-582.

**YAGIHASHI, T., T. NUNOYA, T. MITUI, M. TAJIMA (1984)**

Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection on the development of *Haemophilus pleuropneumoniae* pneumoniae in pigs.

Nihon Juigaku Zasshi 46, 705-713.

**YAGIHASHI, T., S. KAZAMA, M. TAJIMA (1993)**

Seroepidemiology of mycoplasmal pneumonia of swine in Japan as surveyed by an enzyme linked immunosorbent assay.

Vet Microbiol 34, 155-166.

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

Enzootische Pneumonie (EP): Die Teilsanierung EP reinfizierter Schweinezuchtbetriebe als Alternative zur Totalsanierung.

Schweiz Arch Tierheilk 131, 179-191.

**ZIMMERMANN, W., H. PLONAIT (2004)**

Mykoplasmen- oder Enzootische Pneumonie, EP (Enzootic Pneumonia).

In: K.H. Waldmann und M. Wendt (Hrsg.): Lehrbuch der Schweinekrankheiten, Parey Buchverlag Berlin, 4. Auflage, 135-141.

## **Danksagung**

Ich möchte mich recht herzlich für die Unterstützung und Hilfe bei der Erstellung meiner Dissertation bei einigen Personen bedanken:

Bei Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann möchte ich mich herzlich für die Überlassung des Themas, für die geduldige Durchsicht und kritischen Anmerkungen der Arbeit bedanken.

Meiner Betreuerin Dr. Nicole Übel danke ich für die langwierige Durchsicht und Zusammenarbeit am Manuscript.

Ein persönlicher Dank geht an Dr. Rebecca Langhoff und den Repräsentanten von Boehringer Ingelheim für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Mein besonderer Dank gilt meinen Chefs der Traunkreis Vetclinic vor allem Dr. Alfred Griessler und Dr. Thomas Voglmayr für die kompetente und zielgerichtete Unterstützung meiner Arbeit.

Bei dem Schlacht- und Zerlegebetrieb Grossfurtner GmbH bedanke ich mich für den reibungslosen Ablauf der Lungenbefundung am Schlachtband.

Beim ausgewählten Versuchsbetrieb der Familie Manfred und Gudrun Moser und deren Familie bedanke ich mich für die Mithilfe an der Ausführung des praktischen Teils der Doktorarbeit und dem stets vollen Einsatz am unkomplizierten Studienablauf.

Bei meinen Arbeitskolleginnen Regina Neumüller, Charlotte Annegret Schlenker und Agnes Hochgerner bedanke ich mich für ihre zahlreichen Unterstützungen jeglicher Art.