

Untersuchung über intrauterine Infektionen von Ferkeln mit dem
Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) sowie der Ausscheidung von
PCV2 bei Muttersauen in Bayern

von

Marion Köppen geb. Müller

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

Untersuchung über intrauterine Infektionen von Ferkeln mit dem
Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) sowie der Ausscheidung von
PCV2 bei Muttersauen in Bayern

von

Marion Köppen geb. Müller

aus Backnang

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Matthias Eddicks

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. M. Ritzmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. G. Sutter

Tag der Promotion: 18.07.2015

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|------------|--|-----------|
| I. | EINLEITUNG..... | 1 |
| II. | LITERATURÜBERSICHT..... | 3 |
| 1. | Spezifische Eigenschaften des Porzinen Circovirus Typ 2..... | 3 |
| 2. | Porcine circovirus diseases (PCVD)..... | 4 |
| 2.1. | PCV2 subclinical infection (PCV2-SI)..... | 5 |
| 2.2. | PCV2 systemic disease (PCV2-SD)..... | 6 |
| 2.3. | PCV2 lung disease (PCV2-LD)..... | 7 |
| 2.4. | PCV2 enteric disease (PCV2-ED)..... | 8 |
| 2.5. | PCV2 reproductive disease (PCV2-RD)..... | 8 |
| 2.6. | Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)..... | 9 |
| 3. | Diagnostik..... | 10 |
| 3.1. | Antikörpernachweis mittels ELISA..... | 10 |
| 3.2. | Nukleinsäurennachweis mittels PCR..... | 11 |
| 3.3. | Weitere diagnostische Verfahren..... | 12 |
| 3.3.1. | Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenstest (IIFT) oder indirektem Immunperoxidasetest (IIPT)..... | 12 |
| 3.3.2. | Virusnachweis durch Virusisolation..... | 12 |
| 3.3.3. | Virusnachweis durch Elektronenmikroskopie..... | 12 |
| 3.3.4. | Antigennachweis mittels Immunhistochemie (IHC)..... | 13 |
| 3.3.5. | Genomnachweis mittels In-situ-Hybridisierung..... | 13 |
| 3.4. | Diagnose der verschiedenen Krankheitsbilder..... | 13 |
| 3.4.1. | Diagnose von PCV2-SI..... | 13 |
| 3.4.2. | Diagnose von PCV2-SD..... | 13 |
| 3.4.3. | Diagnose von PCV2-LD..... | 14 |
| 3.4.4. | Diagnose von PCV2-ED..... | 14 |
| 3.4.5. | Diagnose von PCV2-RD..... | 15 |
| 3.4.6. | Diagnose von PDNS..... | 15 |
| 4. | Pathogenese von PCVDs..... | 15 |
| 5. | Übertragungswege..... | 18 |
| 6. | Diaplazentare Infektion..... | 19 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 7. | Serologie und Virämie | 20 |
| 7.1. | Serokonversion und Virämie..... | 20 |
| 7.2. | Virämie- und Antikörperstatus der Muttersauen und Einfluss auf den Infektionsstatus ihrer Ferkel..... | 21 |
| 8. | Bekämpfungsstrategien | 22 |
| 8.1. | Immunprophylaxe..... | 22 |
| 8.1.1. | Impfung der Muttersauen..... | 22 |
| 8.1.2. | Impfung der Ferkel | 23 |
| 8.2. | Management | 24 |
| III. | MATERIAL UND METHODEN..... | 25 |
| 1. | Anzeige des Tierversuchvorhabens..... | 25 |
| 2. | Ziel der Arbeit..... | 25 |
| 3. | Auswahl der Betriebe und Studientiere | 25 |
| 4. | Probenentnahme | 27 |
| 4.1. | Blutprobenentnahme | 28 |
| 4.1.1. | Blutprobenentnahme bei den Sauen | 28 |
| 4.1.2. | Blutprobenentnahme bei den Ferkeln | 28 |
| 4.2. | Speichelproben der Sauen | 29 |
| 4.3. | Kotproben der Sauen | 29 |
| 4.4. | Harnproben der Sauen | 29 |
| 5. | Feststellung der Geburtsgewichte | 29 |
| 6. | Verarbeitung und Lagerung der Proben | 29 |
| 7. | Labordiagnostische Untersuchungen..... | 30 |
| 7.1. | Serologische Untersuchungen | 30 |
| 7.1.1. | Qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen PCV2 | 31 |
| 7.1.2. | Quantitative Bestimmung von Antikörpern gegen PCV2 | 32 |
| 7.2. | Molekularbiologische Untersuchungen | 32 |
| 8. | Statistische Auswertung | 34 |
| IV. | ERGEBNISSE | 35 |
| 1. | Betriebs- und Versuchstierparameter..... | 35 |
| 1.1. | Betriebe: Impfung gegen PCV2 | 35 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1.2. | Sauen: Parität und Zuordnung ihrer Ferkel..... | 35 |
| 1.3. | Geburtsgewichte der Ferkel | 36 |
| 2. | Ergebnisse der serologischen Untersuchungen..... | 37 |
| 2.1. | Sauen..... | 37 |
| 2.1.1. | Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen auf Betriebsebene | 37 |
| 2.1.2. | Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen | 39 |
| 2.1.3. | Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen nach Parität..... | 40 |
| 2.1.4. | Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen nach Impfstatus..... | 41 |
| 2.2. | Ferkel | 43 |
| 3. | Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen | 43 |
| 3.1. | Sauen..... | 43 |
| 3.1.1. | Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben auf Betriebsebene ... | 43 |
| 3.1.2. | Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben auf Einzeltierebene .. | 44 |
| 3.2. | Ferkel | 51 |
| V. | DISKUSSION | 52 |
| 1. | Geburtsgewichte der Ferkel | 52 |
| 2. | Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen | 54 |
| 2.1. | Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen..... | 54 |
| 2.2. | Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen in Abhängigkeit von der Parität der Sauen | 55 |
| 2.3. | Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen in Abhängigkeit von dem Impfstatus der Sauen | 56 |
| 2.4. | Antikörper gegen PCV2 im Serum der Ferkel | 58 |
| 3. | Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen | 59 |
| 3.1. | Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben..... | 59 |
| 3.1.1. | PCV2-Genom im Serum der Sauen..... | 59 |
| 3.1.2. | Ausscheidung von PCV2-Genom über Speichel, Kot und Harn der Sauen | 61 |
| 3.1.3. | Ausscheidung von PCV2-Genom in Abhängigkeit einer Impfung der | |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| | Sauen..... | 65 |
| 3.1.4. | Ausscheidung von PCV2 durch die Sauen und Infektionsrisiko ihrer Ferkel | 65 |
| 3.2. | Molekularbiologische Ergebnisse der Serumproben der Ferkel | 66 |
| VI. | ZUSAMMENFASSUNG | 71 |
| VII. | SUMMARY..... | 73 |
| VIII. | ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... | 75 |
| IX. | TABELLENVERZEICHNIS | 76 |
| X. | LITERATURVERZEICHNIS | 78 |
| XI. | DANKSAGUNG | 96 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | | | |
|-------|---|---------|---|
| µl | Mikroliter | PCV2 | Porzines Circovirus Typ 2 |
| Ct | Threshold cycle | | |
| DNA | Deoxyribonucleic acid | PCV2-ED | PCV2 enteric disease |
| DPBS | Dulbecco's Phosphate Buffered Saline | PCV2-LD | PCV2 lung disease |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay | PCV2-RD | PCV2 reproductive disease |
| EU | ELISA-Units | PCV2-SD | PCV2 systemic disease |
| IgA | Immunglobulin A | PCV2-SI | PCV2 subclinical infection |
| IgG | Immunglobulin G | PCVD | Porcine circovirus diseases |
| IgM | Immunglobulin M | PDNS | Porcine dermatitis and nephropathy syndrome |
| IHC | Immunhistochemie | | |
| IIFT | Indirekter Immunfluoreszenstest | PMWS | Postweaning multisystemic wasting syndrome |
| IIPT | Indirekter Immunperoxidasetest | PNP | Proliferative and necrotizing pneumonia |
| ml | Milliliter | | |
| mm | Millimeter | PPV | Porzines Parvovirus |
| n | Anzahl | PRDC | Porcine respiratory disease complex |
| nm | Nanometer | PRRSV | Porcine reproductive and respiratory syndrome virus |
| OD | Optische Dichte | | |
| ORF | Open reading frame | | |
| PCR | Polymerase chain reaction | U/min | Umdrehungen pro Minute |

I. EINLEITUNG

Das Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) ist weltweit und in allen Altersstufen der Schweinepopulation verbreitet (SEGALES und DOMINGO, 2002; SHIBATA et al., 2003). Es kommen sowohl subklinische Infektionen (PCV2 subclinical infection (PCV2-SI)) als auch verschiedene Krankheitsbilder, wie PCV2 systemic disease (PCV2-SD), PCV2 lung disease (PCV2-LD), PCV2 enteric disease (PCV2-ED), PCV2 reproductive disease (PCV2-RD) und das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) vor (SEGALES, 2012). Die verschiedenen Krankheitsbilder werden als porcine circovirus diseases (PCVD) zusammengefasst (SEGALES, 2012).

Eine Übertragung von PCV2 ist sowohl horizontal als auch vertikal über Harn, Sperma, respiratorische und digestive Se- und Exkrete (MAGAR et al., 2000; SHIBATA et al., 2003; SCHMOLL et al., 2008; CHIOU et al., 2011; ROSE et al., 2012) sowie Kolostrum und Milch (GERBER et al., 2012) oder diaplazentar (RITZMANN et al., 2005; HA et al., 2008; SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013) möglich.

In neueren Untersuchungen aus Nordamerika wird der diaplazentaren Übertragung von PCV2 eine besondere Bedeutung beigemessen (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Die Ergebnisse von DVORAK et al. (2013) zeigen zusätzlich, dass Ferkel in eine mit PCV2 kontaminierte Umgebung geboren werden. Die Autoren schließen daraus, dass frühe Infektionen der Ferkel mit PCV2 entweder intrauterin oder direkt nach der Geburt eine wichtige Rolle in der Erregerübertragung spielen. Für Deutschland liegen wenige Informationen über die Prävalenz diaplazentarer oder direkt postpartaler Infektionen von Ferkeln mit PCV2 vor. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Prävalenz intrauteriner Infektionen von Feten mit PCV2 in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben zu erfassen. Zusätzlich soll ermittelt werden, ob Zusammenhänge zwischen dem Infektionsstatus der Muttertiere und dem Infektionsstatus der neugeborenen Ferkel bestehen. Des Weiteren soll die Ausscheidung von PCV2 über Speichel, Kot und Harn bei den Sauen geprüft werden, um mögliche weitere Infektionsquellen für die Ferkel in den ersten Lebensstunden zu ermitteln. Hierfür werden aus einundzwanzig Betrieben, die sich auf alle Regierungsbezirke Bayerns

verteilen, präkolostrale Serumproben von neugeborenen Ferkeln auf PCV2-Antigen sowie Antikörper gegen PCV2 untersucht. Zusätzlich werden der Antikörperstatus sowie das Vorhandensein von PCV2-Antigen im Serum der dazugehörigen Muttersauen zum Zeitpunkt der Geburt überprüft. Um die Relevanz der PCV2-Ausscheidung der Muttertiere zu beurteilen, werden Speichel-, Kot- und Harnproben von den Muttertieren auf PCV2-Antigen untersucht. Die vorliegende Arbeit soll Erkenntnisse über den Infektionszeitpunkt liefern und dazu beitragen präventive Strategien weiter zu entwickeln.

Basierend auf aus der Literatur bekannten Daten, wird angenommen, dass eine diaplazentare Infektion von Ferkel mit PCV2 in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben mit einer Prävalenz von 10 – 60 % in Form von zum Zeitpunkt der Geburt virämischen oder zumindest IgG-Antikörper positiven Ferkeln nachgewiesen werden kann. Des Weiteren wird erwartet, dass auf allen Betrieben bei bis zu 90 % der Muttersauen spezifische IgG-Antikörper gegen PCV2 und in einigen Fällen auch PCV2-Antigen im Serum nachweisbar sind. Zusätzlich wird angenommen, dass eine Ausscheidung von PCV2 durch den Nachweis von PCV2-Genom im Speichel, Kot oder Harn der Muttersauen dokumentiert werden kann, wodurch sich ein Teil der Ferkel, der nicht virämisch auf die Welt kommt, kurz nach der Geburt infizieren kann. Andererseits wird erwartet, dass es bei einem Teil der virämisch geborenen Ferkel durch die Aufnahme maternalen Antikörper über das Kolostrum zu einer Reduktion der nachzuweisenden Virusmenge im Serum zwischen dem ersten (präkolostral) und zweiten Lebenstag kommt.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Spezifische Eigenschaften des Porzinen Circovirus Typ 2

Das porcine Circovirus gehört zur Familie der Circoviridae (LUKERT et al., 1995). Es ist ein kleines, unbehülltes Virus mit zirkulärer, aus 1759 Nukleotiden bestehender einzelsträngiger DNA (TISCHER et al., 1982; TODD et al., 1991). Es besitzt elf offene Leserahmen, open reading frames (ORFs) (HAMEL et al., 1998), wobei eine Proteinsynthese bisher nur bei drei der ORFs beschrieben wurde (SEGALES et al., 2012). ORF1 codiert ein Protein, welches für die Replikation der viralen DNA essentiell ist (ILYINA und KOONIN, 1992). ORF2 codiert ein großes Strukturprotein, welches an der Kapsidbildung beteiligt ist (NAWAGITGUL et al., 2000), während ORF3 ein Protein codiert, welchem eine Rolle bei der viralen Pathogenese im Wirtsorganismus angedacht wird (LIU et al., 2006).

Im Jahr 1974 wird das Porzine Circovirus erstmalig in porcinen PK-15 Nierenzelllinien nachgewiesen und als Picornavirus-ähnliches Virus beschrieben (TISCHER et al., 1974). TISCHER et al. (1982) beschreiben die genauere Morphologie des Virus mit seiner zirkulären, einzelsträngigen DNA und führen die Bezeichnung Porzines Circovirus (PCV) ein. Später weisen MEEHAN et al. (1998) in Gewebeproben von Schweinen mit klinischen Anzeichen von PCV2-SD einen weiteren Genotypen von PCV nach, der in der Abfolge der Nukleotide in weniger als 80% mit der Nukleotidsequenz des zuerst beschriebenen Genotypen übereinstimmt. So wird das in der Nierenzelllinie gefundene Virus als Porzines Circovirus Typ 1 (PCV1) bezeichnet und das später gefundene pathogene Virus als Porzines Circovirus Typ 2 (PCV2) (MEEHAN et al., 1998; ALLAN et al., 1999a). PCV1 und PCV2 können mittels multiplex Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (KIM et al., 2001), In-situ-Hybridisierung (ROSELL et al., 1999; KIM und CHAE, 2001) oder monoklonalen Antikörpern (ALLAN et al., 1995) unterschieden werden. Anhand der Ergebnisse verschiedener Studien, in denen Gewebe- und Serumproben von Schweinen mittels PCR und In-situ-Hybridisierung untersucht werden, wird die Prävalenz von PCV1 als gering eingeschätzt (HAMEL et al., 2000; MANKERTZ et al., 2000; CALSAMIGLIA et al., 2002; DE BOISSESON et al., 2004), wohingegen PCV2 mit hoher Prävalenz

in verschiedenen Studien nachgewiesen wird (CALSAMIGLIA et al., 2002; SEGALES und DOMINGO, 2002; DE BOISSESON et al., 2004).

Im Zusammenhang mit einer steigenden Zahl an PCV2-SD-Fällen in Kanada in den Jahren 2004/2005 wird ein bis dahin noch nicht bekannter Genotyp von PCV2 entdeckt (GAGNON et al., 2007). Daraufhin wird dieser Genotyp als PCV2b bezeichnet, während der ursprüngliche Typ als PCV2a bezeichnet wird. Seit 2004/2005 scheint sich PCV2b zum weltweit vorherrschenden Genotypen in der Schweinepopulation zu entwickeln (CHEUNG et al., 2007; GAGNON et al., 2007). Im Jahr 2008 wird in einer retrospektiven Studie aus Lungengewebe- und Serumproben aus den Jahren 1980 – 1996, die aus Dänemark stammen, ein dritter Genotyp von PCV2 nachgewiesen (DUPONT et al., 2008). Dieser Genotyp wird im Rahmen der Einführung einer einheitlichen Nomenklatur als PCV2c bezeichnet (SEGALES et al., 2008). Während PCV2c nur in Proben von Schweinen aus Dänemark nachgewiesen wird (DUPONT et al., 2008), werden PCV2a und PCV2b weltweit detektiert (CHEUNG et al., 2007; GAGNON et al., 2007). Im Jahr 2010 wird ein weiterer Genotyp von PCV2 beschrieben, der in Gewebeproben aus dem Jahr 2008 von Tieren mit porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) nachgewiesen wird (GAGNON et al., 2010). Dieser Genotyp weist sowohl das ORF1 von PCV1 als auch das ORF2 von PCV2a auf, weshalb er die Bezeichnung PCV1/2a erhält (GAGNON et al., 2010). In einer Studie von GUO et al. (2010) werden retrospektiv Gewebe- und Serumproben aus den Jahren 2004 – 2008 von an PCV2-SD erkrankten Schweinen aus verschiedenen Regionen Chinas untersucht. Dabei wird ein neuer Genotyp von PCV2 entdeckt, der zunächst als PCV2d bezeichnet wird (GUO et al., 2010). Später wird dieser Genotyp als porcine circovirus type 2b mutant (mPCV2b) bezeichnet, da er eine Mutation im ORF2-kodierten Kapsidprotein enthält (GUO et al., 2012; CHAE, 2015). XIAO et al. (2015) wiederum sehen PCV2d als eigenständigen Genotypen an. Von den in den USA zwischen 2012 – 2013 untersuchten PCV2-Sequenzen werden 37 % als PCV2d klassifiziert, was einen Wechsel der Genotypen von PCV2b zu PCV2d erahnen lässt (XIAO et al., 2015).

2. Porcine circovirus diseases (PCVD)

Eine Infektion mit PCV2 kann sich in verschiedenen Krankheitsbildern äußern. Dabei scheint PCV2 einen Gefäßtropismus zu besitzen, der ein Grund dafür sein

könnte, weshalb das Virus so viele verschiedene Organsysteme erreichen und infizieren kann (SZEREDI und SZENTIRMAI, 2008). SEGALES (2012) fasst die unterschiedlichen, mit PCV2 in Verbindung gebrachten Krankheitsbilder zusammen und schlägt vereinheitlichte Bezeichnungen vor, die in der vorliegenden Arbeit verwendet werden (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Durch PCV2 ausgelöste Krankheitsbilder nach SEGALES (2012)

| PCVD proposed name (acronym) | Replaced terminology | Main clinical signs |
|---|--|---|
| PCV2 subclinical infection (PCV2-SI) | None | decreased average daily gain without any evident clinical sign |
| PCV2 systemic disease (PCV2-SD) | Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) Porcine circovirus PCV2-associated systemic infection | wasting, weight loss, decreased rate of weight gain clinically evident, ill thrift or poor-doer |
| PCV2 lung disease (PCV2-LD) | PCV2-associated respiratory disease Proliferative and necrotizing Pneumonia (PNP) | respiratory distress, dyspnoe |
| PCV2 enteric disease (PCV2-ED) | PCV2-associated enteritis | diarrhea |
| PCV2 reproductive disease (PCV2-RD) | PCV2-associated reproductive failure | abortions or mummifications |
| Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) | None | dark red papules and macules on skin, mainly in hind limbs and perineal area |

2.1. PCV2 subclinical infection (PCV2-SI)

Bei einer PCV2-SI kann man bei den Tieren eventuell verminderte Gewichtszunahmen feststellen, ansonsten zeigen die Schweine keinerlei klinische Anzeichen (SEGALES, 2012). Laut SEGALES (2012) verlaufen die meisten Infektionen mit PCV2 subklinisch. Bei einer PCV2-SI kann man bei klinisch gesunden Tieren eine Infektion mit PCV2 durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 oder den Nachweis von PCV2-Genom im Serum der Tiere feststellen (SEGALES et al., 2012), was in verschiedenen Studien beschrieben wird (OSTANELLO et al., 2005; STEINER et al., 2009). Maternale Antikörper gegen PCV2 scheinen den Ferkeln keinen Schutz vor Infektionen mit PCV2 zu bieten, verhindern aber zumindest den Ausbruch einer klinisch manifesten Erkrankung (OSTANELLO et al., 2005).

2.2. PCV2 systemic disease (PCV2-SD)

PCV2-SD oder postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (SEGALES, 2012), betrifft meistens Schweine im Alter von 5 bis 12 Wochen (HARDING und CLARK, 1997; ALLAN und ELLIS, 2000). Verlauf und Schwere unterscheiden sich je nach Stadium der Erkrankung und des Managements im Betrieb (HARDING und CLARK, 1997; ALLAN und ELLIS, 2000). So ist die Morbidität und Letalität in endemisch betroffenen Betrieben gering (HARDING und CLARK, 1997; ALLAN und ELLIS, 2000). Koinfektionen mit Bakterien oder Viren verkomplizieren allerdings den Verlauf der Erkrankung und führen zum Anstieg der Mortalität von 1 – 2 % auf 10 – 25 % (CHAE, 2004).

Die klinischen Anzeichen von PCV2-SD sind nicht spezifisch und sehr variabel (CHAE, 2004). Betroffene Tiere zeigen Kümern, Dyspnoe, vergrößerte Lymphknoten, Blässe, Ikterus und oftmals wässrigen Durchfall (HARDING und CLARK, 1997).

Die pathologisch anatomisch beobachteten Veränderungen sind eine Vergrößerung der Lymphknoten, vor allem der Inguinal-, Mediastinal-, Mesenterial- und Bronchiallymphknoten, sowie Veränderungen an Lunge, Leber, Nieren, Milz, Darm, Magen und, wie auch bei der klinischen Untersuchung zu sehen, Blässe und Ikterus (HARDING und CLARK, 1997). Bei der postmortalen Untersuchung fallen nicht kollabierte Lungen und interstitielle Pneumonien auf (HARDING und CLARK, 1997; ROSELL et al., 1999). Des Weiteren kann man eine Hepatomegalie finden (KENNEDY et al., 2000). Die Nieren sind teilweise unauffällig oder vergrößert und ödematös oder haben diffus verteilte, weiße Herde auf der subkapsulären Oberfläche (HARDING und CLARK, 1997; KENNEDY et al., 2000). Ein weiterer möglicher Befund ist eine Splenomegalie (HARDING und CLARK, 1997). Der Magendarmtrakt kann sich teilweise dünnwandig oder auch ödematisiert darstellen (HARDING und CLARK, 1997). Der Darm kann flüssigkeitsgefüllt sein und im Magen werden manchmal Ulzerationen beobachtet (HARDING und CLARK, 1997).

Auch histopathologisch sind charakteristische durch PCV2-SD hervorgerufene Veränderungen an Lymphknoten, Lunge, Leber, Nieren, Milz, Magendarmtrakt und Pankreas festzustellen (HARDING und CLARK, 1997). Histopathologisch typisch sind granulomatöse Entzündung und intrazytoplasmatische

Einschlusskörperchen (CHAE, 2004). Vor allem aber kann eine lymphozytäre Depletion der Lymphfollikel und des parafollikulären Gebietes sowie eine histiozytäre Infiltration der lymphatischen Organe beobachtet werden (ROSELL et al., 1999). Die Veränderungen an den lymphatischen Geweben und die veränderte Immunzellpopulation könnten eine Immunsuppression und damit verbundene Neigung zu Infektionen mit Sekundärerregern erklären (ELLIS et al., 1998; SEGALÉS et al., 2004a).

Die beschriebenen histologischen Veränderungen können bei alleiniger Infektion mit PCV2 beobachtet werden (KENNEDY et al., 2000). Jedoch nimmt die Ausprägung der histologischen Veränderungen bei Koinfektionen von PCV2 und dem Porzinen Parvovirus (PPV) zu (KENNEDY et al., 2000). Dies deutet darauf hin, dass Kofaktoren eine wichtige Rolle in der Pathogenese von PCV2-SD spielen (KENNEDY et al., 2000). Zu diesen Kofaktoren zählen neben viralen Erregern, wie PPV (CHOI und CHAE, 2000; KENNEDY et al., 2000; KRAKOWKA et al., 2000; HA et al., 2008) und dem porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (WELLENBERG et al., 2000; WELLENBERG et al., 2004b), auch bakterielle Erreger und Umwelteinflüsse (ALLAN und ELLIS, 2000). Die bei PCV2-infizierten Schweinen nachgewiesenen bakteriellen Erreger, wie *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* oder *Pasteurella multocida*, könnten auch erst sekundär, nach einer Schwächung des Immunsystems durch PCV2, an der Entstehung von PCV2-SD beteiligt sein (WELLENBERG et al., 2000; SEGALÉS et al., 2004a).

2.3. PCV2 lung disease (PCV2-LD)

Zur PCV2-LD werden der porcine respiratory disease complex (PRDC) und die proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) gezählt (SEGALES, 2012).

Bei der Entstehung von PRDC scheint PCV2 eine bedeutende Rolle zu spielen (KIM et al., 2003). Betroffen sind vor allem Schweine zwischen der 10. und 20. Lebenswoche. Klinisch zeigen die Tiere verlangsamtes Wachstum, schlechte Futtermittelverwertung, Anorexie, Lethargie, Fieber, Husten und erschwerte Atmung (THACKER und THANAWONGNUWECH, 2002). Histopathologisch findet man eine bronchointerstitielle Pneumonie mit peribronchialer und peribronchiolarer Fibrose (KIM et al., 2003; HANSEN et al., 2010). PRDC basiert auf einer multifaktoriellen Ätiologie (THACKER und

THANAWONGNUWECH, 2002). Meist werden mehrere unterschiedliche Erreger bei erkrankten Tieren gefunden. Hierbei kommt PCV2 in Kombination mit *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* oder PRRSV vor. Die Interaktion verschiedener Pathogene scheint wichtig für die Entwicklung von PRDC zu sein (THACKER und THANAWONGNUWECH, 2002; KIM et al., 2003). Manche Erreger, wie *Pasteurella multocida* oder *Streptococcus suis*, sind jedoch wahrscheinlich erst sekundär an der Verstärkung der Symptome von PRDC beteiligt (HANSEN et al., 2010).

Bei der Pathogenese von PNP scheint PCV2 das Hauptagens in Europa zu sein (GRAU-ROMA und SEGALES, 2007). Hierbei findet man eine akute, interstitielle Pneumonie mit Nekrose der bronchialen und bronchiolaren Epithelzellen mit Ansammlungen nekrotischer Zellen in den Alveolen (SZEREDI und SZENTIRMAI, 2008).

2.4. PCV2 enteric disease (PCV2-ED)

PCV2-ED ist eine weitere klinische Manifestation von PCV2. Die betroffenen Tiere haben Durchfall und eine granulomatöse Enteritis (KIM et al., 2004b). Histopathologisch ist eine granulomatöse Entzündung und lymphatische Depletion in den Peyerschen Platten sowie im Dünn- und Dickdarm zu finden (KIM et al., 2004b). In einer retrospektiven Studie von BARO et al. (2015) werden Proben von Darm- und Lymphgewebe von Absetzern und Mastschweinen mit klinischen Anzeichen einer intestinalen Erkrankung und mikroskopischen Veränderungen im Darm aus den Jahren 1998 – 2011 mittels In-situ-Hybridisierung auf PCV2 untersucht. Dabei weisen sie PCV2 in Proben von 75 % der Tiere nach (BARO et al., 2015). Allerdings wird bei jedem positiven Tier PCV2 auch in lymphatischen Geweben detektiert (BARO et al., 2015). So scheint es, dass PCV2-ED selten vorkommt und dass ein beobachteter Durchfall oft im Zusammenhang mit einer PCV2-SD in Erscheinung tritt (BARO et al., 2015).

2.5. PCV2 reproductive disease (PCV2-RD)

PCV2 kann intrauterin übertragen werden (RITZMANN et al., 2005; HA et al., 2008; SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Eine diaplazentare Infektion kann zu embryonalem oder fetalem Tod führen. So äußert sich die PCV2-RD in Umrauschen der Sauen, Totgeburten, Mumifizierung, Spätaborten und erhöhter Neugeborenensterblichkeit (BRUNBORG et al., 2007; MATEUSEN et al., 2007).

BRUNBORG et al. (2007) beobachten bei einigen infizierten Ferkeln Myokarditis und weisen das Virus im Myokard, der Leber und der Milz nach. Das Myokard scheint ein Zielorgan von PCV2 bei Feten oder jungen Schweinen zu sein (BRUNBORG et al., 2007).

2.6. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)

PCV2 könnte das primäre Agens für die Entstehung von PDNS sein (WELLENBERG et al., 2004a). Die genaue Ätiologie und Pathogenese von PDNS ist jedoch bis heute unklar. In anderen Veröffentlichungen wird zum Beispiel PRRSV neben PCV2 als ätiologisches Agens in Betracht gezogen (THIBAUT et al., 1998; CHOI und CHAE, 2001).

Betroffen sind Absetzferkel und Mastschweine. Klinisch zeigen die Tiere multifokale Hautveränderungen, subkutane Ödeme, schlechtes Allgemeinbefinden, Gewichtsverlust, Dyspnoe oder Tachypnoe und Blässe (WELLENBERG et al., 2004a).

Die typischen Hautveränderungen sind vor allem im Perianalbereich und an den Gliedmaßen, aber auch an den angrenzenden Bereichen des Abdomens und des Thorax und an den Ohrrändern zu beobachten (THIBAUT et al., 1998). Anfangs bilden sich runde bis unregelmäßige, rote bis violette Flecken und Papeln, die oft konfluieren und dann große, unregelmäßige Erytheme und Plaques bilden (THIBAUT et al., 1998). Im weiteren Verlauf entwickeln sich Krusten, die langsam verblassen und bei überlebenden Tieren teilweise unter Narbenbildung abheilen (THIBAUT et al., 1998). Histologisch stellen sich diese Veränderungen als Hautblutungen dar, verursacht durch eine nekrotisierende und leukozytoklastische Vaskulitis der kleinen Blutgefäße (THIBAUT et al., 1998; MAJZOUB et al., 2005). Besonders betroffen scheinen die postkapillären Venolen der oberen Dermis zu sein (THIBAUT et al., 1998). Oft finden sich in den Gefäßen Thromben und es kann eine fokale, ischämische Koagulationsnekrose der darüber liegenden Dermis auftreten (THIBAUT et al., 1998).

Die Nieren der betroffenen Tiere sind vergrößert und haben eine blasse Rinde mit multiplen fokalen, 2 – 4 mm großen Blutungen (CHOI und CHAE, 2001). Ebenso sind die Lymphknoten vergrößert und weisen oft Blutungen auf (CHOI und CHAE, 2001). Histologisch zeigt sich eine multifokale bis diffuse

lymphoplasmazelluläre Nephritis sowie teilweise eine akute bis chronische, teils nekrotisierende Glomerulonephritis (MAJZOUB et al., 2005). Die oben erwähnte nekrotisierende Vaskulitis zeigt sich auch in den Nieren, den Lymphknoten, dem Magen, der Milz und der Leber (CHOI und CHAE, 2001).

3. Diagnostik

Das alleinige klinische Bild genügt nicht zur Diagnose einer PCVD (ALLAN und ELLIS, 2000). Auch ist es nicht möglich mit Hilfe einer serologischen Untersuchung auf spezifische Antikörper gegen PCV2 eine Aussage über eine eventuelle Krankheitsproblematik zu treffen (ALLAN und ELLIS, 2000; SEGALLES et al., 2005c). Die endgültige Diagnose einer PCVD kann nur durch die Detektion von PCV2-Antigen oder -Nukleinsäuren in Verbindung mit dem Nachweis spezifischer Organ- beziehungsweise Gewebeveränderungen getroffen werden (ALLAN und ELLIS, 2000). Hierbei ist zu beachten, dass der Ausprägungsgrad der histologischen Veränderungen häufig, aber nicht immer, mit der detektierten PCV2-Antigenmenge korreliert (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; WELTI et al., 2012). Sowohl der Ausprägungsgrad der Veränderungen als auch die detektierte Antigenmenge können sich am gleichen Tier in verschiedenen lymphatischen Organen unterscheiden, weshalb immer mehrere Organe untersucht werden sollten (WELTI et al., 2012).

3.1. Antikörpernachweis mittels ELISA

Antikörper gegen PCV2 können mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) nachgewiesen werden (WALKER et al., 2000). Zum einen kann ein qualitativer Nachweis erfolgen oder die Menge der Antikörper mittels quantitativem ELISA festgestellt werden (SERELISA[®] PCV2 Ab Mono Blocking, Synbiotics, Lyon, France), zum anderen kann man die verschiedenen Antikörperklassen IgM und IgG unterscheiden (Ingezim PCV IgG[®] and Ingezim IgM[®], Ingenasa, Madrid, Spain). Durch die Bestimmung der relativen Menge von IgM und IgG (Ingezim PCV IgG[®] and Ingezim IgM[®], Ingenasa, Madrid, Spain) können Rückschlüsse über den Infektionszeitpunkt gezogen werden (SEGALLES et al., 2005b). Werden weder IgM noch IgG nachgewiesen, liegt keine Infektion vor. Beim Nachweis von IgM und IgG gibt das Verhältnis beider Antikörperklassen Aufschluss über den Infektionszeitpunkt: Wird mehr IgM als IgG detektiert, handelt es sich um eine aktive Infektion; bei mehr IgG als IgM

liegt die Infektion ein bis zwei Monate zurück. Wird nur IgG und kein IgM gefunden, handelt es sich um eine alte Infektion (Gebrauchsanleitung des Ingezim PCV IgG[®] and Ingezim IgM[®], Ingenasa) (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Bestimmung des Infektionszeitpunktes nach Ingezim PCV IgG[®] and Ingezim IgM[®] (Ingenasa)

| Nachweis von IgG | Nachweis von IgM | Verhältnis IgG- und IgM-Mengen | Interpretation |
|------------------|------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| - | - | | Keine Infektion |
| + | + | IgG < IgM | Aktive Infektion |
| + | + | IgG > IgM | 1 bis 2 Monate alte Infektion |
| + | - | | Alte Infektion |

3.2. Nukleinsäurennachweis mittels PCR

Der Nachweis von Nukleinsäuren des PCV2 mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) ist möglich (HAMEL et al., 2000; SHIBATA et al., 2003; CHUNG et al., 2005). Die Primer basieren hierbei auf DNA-Sequenzen, welche im porcinen Circovirus Typ 2 spezifisch vorhanden sind (HAMEL et al., 2000). Die real-time-PCR stellt eine schnelle und einfache Methode der Genomdetektion dar, bei der ein quantitativer Nachweis durch die Bestimmung des Ct-Wertes (threshold cycle, CT), bei dem das PCR-Produkt zum ersten Mal nachgewiesen wird, möglich ist (CHUNG et al., 2005).

Für eine PCR kann DNA aus verschiedenen Geweben wie Lymphknoten, Tonsillen, Lunge, aus Se- und Exkreten oder aus Serum gewonnen werden (HAMEL et al., 2000; CALSAMIGLIA et al., 2002; SHIBATA et al., 2003). Die PCR stellt sich in verschiedenen Studien als sensitivere Methode im Vergleich zur Virusisolation (MAGAR et al., 2000), In-situ-Hybridisierung (CALSAMIGLIA et al., 2002; KIM und CHAE, 2004) oder Immunhistochemie (KIM und CHAE, 2004) dar. In Verbindung mit charakteristischen histopathologischen Veränderungen in Geweben kann die PCR zur Diagnostik einer PCVD genutzt werden (CHAE, 2004; KIM und CHAE, 2004).

3.3. Weitere diagnostische Verfahren

3.3.1. Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenstest (IIFT) oder indirektem Immunperoxidasetest (IIPIT)

Mit Hilfe eines indirekten Immunfluoreszenstestes und indirekten Immunperoxidasetests können Antikörper gegen PCV2 detektiert werden (ALLAN et al., 1998; ELLIS et al., 1998; MCNEILLY et al., 1999). Hierbei wird eine mit PCV2 infizierte Zellkultur mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert, damit vorhandene Antikörper gegen PCV2 am Antigen binden können. Anschließend werden gegen die ersten Antikörper gerichtete, beispielsweise mit Fluoresceinisothiocyanat markierte Antikörper hinzugegeben (ALLAN et al., 1998). Die Sichtbarmachung erfolgt dann im Falle eines Immunfluoreszenstests durch eine UV-Bestrahlung (ALLAN et al., 1998) und im Falle eines Immunperoxidasetests durch eine Farbreaktion (MCNEILLY et al., 1999). Zwischen PCV1- und PCV2-Isolaten besteht eine geringe antigenetische Kreuzreaktivität (ALLAN et al., 1998), was bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten ist (SEGALES et al., 2005c). Zudem sind diese Verfahren zeitraubend (BLANCHARD et al., 2003).

3.3.2. Virusnachweis durch Virusisolation

Bei der Virusisolation findet eine gezielte Vermehrung von PCV2 mit Hilfe von speziellen Zellkulturen wie bei PCV2 den porzinen PK-15 Nierenzelllinien statt (ALLAN et al., 1998; KIM und CHAE, 2004). Da durch PCV2 jedoch kein zytopathischer Effekt in den Zellkulturen beobachtet werden kann (ALLAN et al., 1998; KIM und CHAE, 2004), ist eine weitere Identifizierung von PCV2 zum Beispiel mittels indirekter Immunfluoreszenz, Elektronenmikroskopie oder In-situ-Hybridisierung nötig (ALLAN et al., 1998; KIM und CHAE, 2001, 2004). Zudem ist die Virusisolation von PCV2 relativ schwierig und kann mehrere Wochen dauern (KIM und CHAE, 2004).

3.3.3. Virusnachweis durch Elektronenmikroskopie

Mittels der Elektronenmikroskopie können Viruspartikel in Geweben von erkrankten Schweinen untersucht werden und bei identischer Größe und Morphologie als PCV-ähnliches Virus identifiziert werden (ALLAN et al., 1998).

3.3.4. Antigennachweis mittels Immunhistochemie (IHC)

Die Immunhistochemie kann für den Nachweis von PCV2 in unterschiedlichen Organen wie Leber, Milz, Lymphknoten, Tonsillen, Lunge, Pankreas und Nieren genutzt werden (MCNEILLY et al., 1999). Hierbei wird das PCV2-Antigen mit Hilfe von markierten Serumantikörpern detektiert (MCNEILLY et al., 1999). Durch den Nachweis von PCV2 in fixierten Geweben kann eine histopathologische Diagnose von PCV2-SD bestätigt werden (KIM und CHAE, 2004). Die Immunhistochemie ist, verglichen mit der In-situ-Hybridisierung, die schneller durchzuführende Methode (MCNEILLY et al., 1999).

3.3.5. Genomnachweis mittels In-situ-Hybridisierung

Mit Hilfe der In-situ-Hybridisierung lässt sich PCV2-Genom in Zellen verschiedener, in Formalin fixierter Gewebe wie Leber, Milz, Lymphknoten, Tonsillen, Lunge, Pankreas, Nieren und Peyersche Platten (CHOI und CHAE, 1999; MCNEILLY et al., 1999) oder auch in Makrophagen nachweisen (CHOI und CHAE, 1999). Hierbei wird PCV2-Genom mit Hilfe einer komplementären Sonde, welche am Genom bindet, mittels Farbreaktion sichtbar gemacht (ROSELL et al., 1999). Diese Methode ermöglicht eine Virusdetektion und gleichzeitige Betrachtung der durch PCV2 verursachten pathologischen Veränderungen (ALLAN et al., 1998; CHOI und CHAE, 1999) und dient somit der Bestätigung der Diagnose einer PCVD (KIM und CHAE, 2004). Im Vergleich zur Immunhistochemie zeigt sich die In-situ-Hybridisierung als sensitivere Methode (KIM und CHAE, 2004).

3.4. Diagnose der verschiedenen Krankheitsbilder

3.4.1. Diagnose von PCV2-SI

Bei einem Tier mit dem Nachweis einer PCV2-Infektion, durch virologische oder serologische Verfahren, ohne klinische Anzeichen einer PCVD, kann man von einer PCV2-SI ausgehen (SEGALES et al., 2012).

3.4.2. Diagnose von PCV2-SD

CHAE (2004) fordert zur Diagnosestellung von PCV2-SD die Erfüllung dreier Kriterien: klinische Anzeichen, charakteristische mikroskopische Läsionen, wie lymphoide Depletion oder granulomatöse Lymphadenitis und den Nachweis von PCV2-Antigen oder -Nukleinsäuren innerhalb dieser Läsionen. Bei an PCV2-SD

erkrankten Schweinen kann PCV2 in verschiedenen Organen wie Lunge, Leber, Nieren sowie in lymphatischen Geweben wie Lymphknoten, Milz, Tonsillen und Peyerschen Platten nachgewiesen werden (ELLIS et al., 1998). Für die Diagnostik, also das Vorhandensein von makroskopisch und mikroskopisch typischen Veränderungen und den Nachweis von PCV2 in diesen Veränderungen, eignen sich am besten die lymphatischen Organe von Tieren während der ersten Woche der klinischen Symptome (SEGALÉS et al., 2004b).

OLVERA et al. (2004) und BRUNBORG et al. (2004) beschreiben einen Zusammenhang zwischen der nachgewiesenen Virusmenge im Serum und dem Auftreten von typischen PCV2-SD bedingten Veränderungen. So sehen OLVERA et al. (2004) in der Nutzung einer quantitativen PCR die Möglichkeit einer Diagnosestellung für PCV2-SD, wenn eine ausreichende Zahl an Tieren einer Gruppe untersucht wird. Bei Tieren mit moderaten Veränderungen können Mengen von 9×10^6 PCV2-Genomkopien/ml Serum detektiert werden und ab einem Grenzwert von 10^7 Genomkopien/ml Serum kann nach OLVERA et al. (2004) die Diagnose von PCV2-SD gestellt werden.

3.4.3. Diagnose von PCV2-LD

Die Diagnose von PCV2-LD basiert auf dem Nachweis von PCV2 im Lungengewebe, ohne Virusnachweis in lymphatischen Geweben (SEGALES, 2012). Die Abgrenzung von PCV-LD zu PCV-SD ist in manchen Fällen nur schwer möglich, da die erkrankten Tiere klinisch als PRDC gesehen werden, aber oftmals Virus in Lymphorganen nachgewiesen wird. In solchen Fällen könnte es sich um eine subklinische PCV2-Infektion mit anderen Pathogenen als Ursache der klinischen Symptome oder um eine PCV2-SD mit Beteiligung der Lunge handeln (TICO et al., 2013). Bei einer PNP ist der Nachweis von PCV2 in und um die Bronchien und Bronchiolen und in den Mediastinallymphknoten möglich (SZEREDI und SZENTIRMAI, 2008).

3.4.4. Diagnose von PCV2-ED

Die Diagnose von PCV2-ED stützt sich auf drei Kriterien: (1) Die Tiere zeigen Durchfall, (2) haben die typischen Veränderungen in den Peyerschen Platten, aber nicht in anderen lymphatischen Geweben wie Lymphknoten, Milz oder Tonsillen und (3) PCV2 kann in den veränderten Geweben nachgewiesen werden (KIM et al., 2004a).

3.4.5. Diagnose von PCV2-RD

Um die Diagnose einer PCV2-RD zu stellen, müssen folgende drei Punkte erfüllt sein: (1) Das Auftreten von Spätaborten und Totgeburten, manchmal in Verbindung mit fetaler Herzhypertrophie, (2) charakteristische Veränderungen wie fibronisierende oder nekrotisierende Myokarditis und (3) der Nachweis von PCV2 in den myokardialen Läsionen und anderen fetalen Geweben (SEGALES et al., 2005c).

3.4.6. Diagnose von PDNS

Die Diagnose von PDNS basiert auf folgenden Kriterien: Hämorrhagische und nekrotisierende Hautveränderungen, vor allem an der Hinterhand und im Perianalbereich und/oder gestaute, blasse Nieren mit generalisierten petechialen Blutungen in der Kortex, in Verbindung mit systemischer, nekrotisierender Vaskulitis und nekrotisierender, fibrinöser Glomerulonephritis (SEGALES, 2002).

4. Pathogenese von PCVDs

Krankheitsbilder wie PCV2-SD entwickeln sich vor allem bei Tieren mit niedrigen Antikörpertitern und hoher Virusmenge im Blut (BRUNBORG et al., 2010). Die Höhe der Virämie scheint eine Rolle bei der Entstehung von PCV2-SD zu spielen (LAROCHELLE et al., 2003; BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; WELLENBERG et al., 2004b). So zeigen in verschiedenen Studien Serumproben von Tieren mit klinischen Anzeichen für PCV2-SD im Vergleich zu klinisch unauffälligen Tieren höhere PCV2-DNA-Mengen (RITZMANN, 2007; TURNER et al., 2009; BAUMGARTNER et al., 2012). BRUNBORG et al. (2004) und OLVERA et al. (2004) beschreiben einen Zusammenhang zwischen der nachgewiesenen Virusmenge im Blut und der Schwere der klinischen Anzeichen für PCV2-SD. So werden bei Tieren mit klinischen Anzeichen für PCV2-SD Mengen über 10^7 Genomkopien/ml Serum nachgewiesen, während bei klinisch unauffälligen Tieren Mengen unter 10^6 Genomkopien/ml Serum nachgewiesen werden (BRUNBORG et al., 2004). Als Grenzwert, ab dem PCV2-SD typische Läsionen in Organen zu finden sind, wird eine Menge von 10^7 Genomkopien/ml Serum angegeben (OLVERA et al., 2004).

Allerdings ist die ätiologische Bedeutung von PCV2 für PCVDs noch nicht vollständig geklärt oder sogar bei einigen Krankheitsbildern wie PDNS fraglich

(RITZMANN, 2007; DVORAK et al., 2013). Bei der Entstehung von PCVDs wird von einigen Autoren die Beteiligung weiterer Kofaktoren vermutet, da nicht alle PCV2-infizierten Schweine klinische Symptome zeigen (ALLAN und ELLIS, 2000; KRAKOWKA et al., 2000; BLANCHARD et al., 2003; WELLENBERG et al., 2004b). Zu diesen Faktoren zählen zum einen virale Erreger wie PRRSV (WELLENBERG et al., 2000; WELLENBERG et al., 2004b) oder PPV (CHOI und CHAE, 2000; KENNEDY et al., 2000; KRAKOWKA et al., 2000; HA et al., 2008) zum anderen bakterielle Erreger und Umwelteinflüsse (ALLAN und ELLIS, 2000). Zu den nicht-infektiösen Einflussfaktoren, die zumindest die Klinik verschärfen können, zählen unter anderem Zugluft, Überbelegung, schlechte Luftqualität und das Mischen verschiedener Altersklassen (MAGAR et al., 2000). BAUMGARTNER et al. (2012) sehen chronischen Stress, verursacht durch hohe Belegdichte, große Sauengruppen oder vermindertes Geburtsgewicht von unter 1,30 kg als Risikofaktor für die Entstehung von PCV2-SD. Außerdem könnten leichtere Ferkel von den größeren Wurfgeschwistern vom Gesäuge verdrängt und somit nur unzureichend über das Kolostrum mit maternalen Antikörpern versorgt werden (BAUMGARTNER et al., 2012).

PRRSV scheint ein wichtiger prädisponierender Faktor in der Entstehung von PCV2-SD zu sein, da Koinfektionen mit PCV2 und PRRSV öfter bei Tieren mit klinischen Anzeichen nachgewiesen werden als bei klinisch unauffälligen Tieren (WELLENBERG et al., 2004b). Experimentelle Infektionen mit PCV2 allein führen teilweise nur zu milden bis moderaten PCV2-SD-ähnlichen Läsionen (KRAKOWKA et al., 2000). Dies könnte darauf hindeuten, dass PCV2-Infektionen meist subklinisch verlaufen und PCV2 zwar essentiell, aber alleine nicht ausreichend zur vollen Reproduktion von PCV2-SD ist, sondern Kofaktoren benötigt werden (KRAKOWKA et al., 2000; WELLENBERG et al., 2004b; TURNER et al., 2009). In einer Untersuchung von KRAKOWKA et al. (2000) entwickeln alle experimentell mit PCV2 und PPV infizierten Schweine klinische Anzeichen für PCV2-SD, die sich in Apathie, Anorexie, Ikterus und subkutanen Ödemen äußern. In einer Studie von HA et al. (2008) werden bei nur intrauterin mit PCV2 infizierten Ferkeln keine Anzeichen für PCV2-SD festgestellt, jedoch werden bei Ferkeln, die postpartal zusätzlich mit PPV infiziert werden oder eine Immunstimulation erfahren, für PCV2-SD typische histologische Veränderungen in den Lymphknoten beobachtet. So sehen HA et al. (2008) in der Infektion mit

PPV oder einer Immunstimulation Schlüsselkomponenten in der Pathogenese von PCV2-SD. Bei KENNEDY et al. (2000) und ALLAN et al. (1999b) führt eine zusätzliche Infektion mit PPV zu einer deutlicheren Ausbildung der schon bei alleiniger Infektion mit PCV2 beobachteten, histologischen Veränderungen verschiedener Gewebe. PPV scheint somit zumindest einen Einfluss auf den Schweregrad der histologischen Veränderungen zu haben (ALLAN et al., 1999b; KENNEDY et al., 2000).

Wiederum andere Studien lassen vermuten, dass PCV2 allein das ausschlaggebende Agens für die Entstehung einer klinisch manifesten Erkrankung sein kann (ALLAN und ELLIS, 2000; MADEC et al., 2000; RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Zumindest kann eine alleinige Infektion mit PCV2 typische Veränderungen an den Organen hervorrufen, wie bei PCV2-SD granulomatöse Läsionen der lymphatischen Organe, mehrkernige Riesenzellen, intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen sowie Pneumonie und Hepatitis (MAGAR et al., 2000).

PCVDs wie PCV2-SD scheinen das Immunsystem zu schwächen (WELLENBERG et al., 2004b). So könnten die bei PCV2-infizierten Schweinen nachgewiesenen Erkrankungen mit Bakterien wie *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* oder *Pasteurella multocida* auch die Folge einer primären Infektion mit PCV2 und Folge der Immunsuppression sein (WELLENBERG et al., 2000; SEGALÉS et al., 2004a). Zumindest scheinen verschiedene Faktoren wie Infektionsdosis, Infektionsroute, Koinfektionen, genetische Faktoren und Unterschiede im Management Einfluss auf die Entstehung oder den Schweregrad von PCVDs zu haben (KENNEDY et al., 2000).

Über die Auswirkung einer intrauterinen Infektion finden sich bei verschiedenen Studien unterschiedliche Ergebnisse. So können GERBER et al. (2012) keinen Unterschied bei der Gewichtsentwicklung, Mortalität und dem Auftreten von PCV2-SD zwischen Tieren, die am 1. Tag post partum virämisch sind, und zu diesem Zeitpunkt nicht virämischen Tieren feststellen. In einer Untersuchung von HA et al. (2008) werden Muttersauen drei Wochen vor dem Abferkeltermin intranasal mit PCV2 infiziert. In dieser Studie führt eine alleinige transplazentare Infektion von Ferkeln nicht zur Entwicklung von PCV2-SD, aber verglichen mit nicht infizierten Tieren ist das Körpergewicht signifikant vermindert (HA et al., 2008).

Eine transplazentare Infektion mit PCV2 könnte zur Entwicklung von multisystemischen Erkrankungen im späteren Leben beitragen, v.a. in Verbindung mit anderen Infektionen (HA et al., 2008). Eventuell führen verschiedene Faktoren wie Infektionszeitpunkt, Quantität und Virulenz von PCV2 in den verschiedenen Studien zu den unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der Auswirkungen einer intrauterinen Infektion (GERBER et al., 2012).

5. Übertragungswege

Eine Übertragung ist sowohl horizontal als auch vertikal über Harn, Sperma, respiratorische und digestive Se- und Exkrete (MAGAR et al., 2000; SHIBATA et al., 2003; SCHMOLL et al., 2008; CHIOU et al., 2011; ROSE et al., 2012) sowie Kolostrum, Milch (GERBER et al., 2012) oder auch diaplazentar (RITZMANN et al., 2005; HA et al., 2008; SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013) möglich. SHIBATA et al. (2003) messen vor allem dem oronasalen Übertragungsweg eine große Bedeutung bei. Eine diaplazentare Übertragung von PCV2 kann in allen Trächtigkeitsstadien nachgewiesen werden (RITZMANN et al., 2005) und kann auch bei natürlich mit PCV2 infizierten Sauen mit hohen Antikörpertitern ohne Reproduktionsprobleme und bei geimpften Sauen festgestellt werden (MADSON et al., 2009c, 2009a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). Sogar in der PCR als nicht virämisch eingestufte Sauen bringen PCV2-infizierte Ferkel zur Welt (DVORAK et al., 2013). Die Ferkel könnten sich aber auch kurz nach der Geburt durch das Kolostrum oder ihre Umwelt infizieren (GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013), da die Muttersauen das Virus ausscheiden oder es in den Stallungen vorhanden ist (DVORAK et al., 2013). Die hohe Resistenz des Virus gegen Erhitzen, Einfrieren, ultraviolettes Licht und chemische Desinfektionsmittel erhöht hierbei das Risiko einer Infektion (SHIBATA et al., 2003), da es auch nach der Reinigung und Desinfektion in den Abferkelabteilen nachzuweisen ist (DVORAK et al., 2013).

Potentielle Virusausscheider sind nicht immer virämisch (SEGALES et al., 2005a; SCHMOLL et al., 2008; DVORAK et al., 2013) und weisen nicht immer Antikörper im Blut auf (SCHMOLL et al., 2008). Somit können das Virus ausscheidende Schweine nicht immer mittels serologischen oder virologischen Untersuchungen des Blutes identifiziert werden (SCHMOLL et al., 2008). Daher ist für eine sichere Diagnosestellung hinsichtlich virusausscheidender Tiere eine

zusätzliche Untersuchung von Se- und Exkreten notwendig (SCHMOLL et al., 2008).

6. Diaplazentare Infektion

In Betrieben in den USA und Mexico wird die diaplazentare Übertragung von PCV2 auf Feten unter Feldbedingungen untersucht und bestätigt (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). In Deutschland wird die intrauterine Übertragung von PCV2 in verschiedenen Trächtigkeitsstadien durch die Detektion des Virus in mumifizierten und abortierten Feten sowie totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln nachgewiesen (RITZMANN et al., 2005).

Untersuchungen von Blutproben vor der Aufnahme von Kolostrum haben ergeben, dass eine sehr unterschiedliche Population von Ferkeln in Bezug auf den PCV2-Infektionsstatus geboren wird (SHEN et al., 2010) (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Möglicher präkolostraler PCV2-Infektionsstatus nach SHEN et al. (2010) (+ Nachweis positiv; - kein Nachweis)

| | PCV2-Antigen | Antikörper gegen PCV2 |
|----------|--------------|-----------------------|
| A | + | - |
| B | + | + |
| C | - | - |
| D | - | + |

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Ferkel entweder zum Zeitpunkt der Geburt oder vor Erreichen der eigenen Immunkompetenz, also vor dem 70. Trächtigkeitstag (NIELSEN et al., 1991; MADSON et al., 2009b; GERBER et al., 2012), intrauterin infiziert werden (Gruppe A). Diese Ferkel, die Antigen positiv jedoch Antikörper negativ zur Welt kommen (Gruppe A), könnten eine besondere Bedeutung hinsichtlich der Verbreitung des Virus innerhalb der Schweinepopulation darstellen, da sie immuntolerante Trägertiere des Virus sein könnten (ALLAN et al., 1995).

Ein hohes Auftreten von IgG, wie 0,08 bis 0,26 mg/ml (GERBER et al., 2012), zum Zeitpunkt der Geburt würde für eine Antigenstimulation nach Entwicklung der Immunkompetenz, das heißt nach dem 70. Trächtigkeitstag, sprechen

(Gruppen B und D) (NIELSEN et al., 1991). Ebenso spricht der Nachweis von neutralisierenden Antikörpern für eine in-utero-Infektion nach Erlangen der Immunkompetenz (GERBER et al., 2012). Ein Vorhandensein von IgM hingegen würde auf eine kürzlich erfolgte Infektion hinweisen (GERBER et al., 2012).

Zu beachten ist, dass ein Teil der intrauterin infizierten Feten imstande ist, die Virämie vor der Geburt zu eliminieren (MADSON et al., 2009c), so wie es auch älteren Tieren gelingt, Virämien zu beenden (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). So kann bei diesen Tieren zum Zeitpunkt der Geburt kein Virus, aber Antikörper gegen PCV2 im Serum detektiert werden (Gruppe D).

7. Serologie und Virämie

7.1. Serokonversion und Virämie

Bei PCV2 kann meist eine typische Antikörperdynamik beobachtet werden wie sie auch bei anderen Viruserkrankungen auftritt: Die kolostralen Antikörper sinken während der Säuge- und Absetzperiode mit dem niedrigsten Level um die 7. (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002) bis 11. Lebenswoche (LAROCHELLE et al., 2003). Zu diesem Zeitpunkt ist die Gefahr von Infektionen mit PCV2 besonders groß (LAROCHELLE et al., 2003). Von RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) wird ein Zusammenhang zwischen PCV2-SD-bedingter Mortalität und niedrigen serologischen Titern gegen PCV2 in der 7. Lebenswoche gesehen. Nach dem Absinken der maternalen Antikörper kommt es zur aktiven Serokonversion (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; LAROCHELLE et al., 2003). Zwischen dem Zeitpunkt der Infektion und dem Nachweis der Serokonversion vergehen zwei bis vier Wochen (BLANCHARD et al., 2003; STEINER et al., 2009).

Nach der Infektion kommt es zu einer weiten Verbreitung des Virus in verschiedene Organe, wobei es möglich wäre, dass das Virus trotz einer spezifischen zellulären und humoralen Immunantwort in Geweben persistiert (MAGAR et al., 2000). Im Verlauf der Virämie zeigen sich Peaks in der zweiten und dritten Woche nach der Infektion (MAGAR et al., 2000). Bis zu diesem Zeitpunkt hat sich das Virus in zahlreiche Gewebe und Organe ausgebreitet (MAGAR et al., 2000).

In verschiedenen Studien werden teilweise eine sehr lange Virämie bei einzelnen Schweinen von bis zu 12 (LAROCHELLE et al., 2003) oder sogar 21 Wochen

(RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002) Dauer beobachtet, wobei beachtet werden muss, dass es auch zu intermittierenden Virämien kommt (MCINTOSH et al., 2006), die teilweise wegen der zeitlichen Abstände der Probenentnahmen nicht erkannt werden können. Diese langen Virämien, oder eventuell persistent infizierte Schweine (MAGAR et al., 2000), können dazu beitragen, dass das Virus im Bestand verbleibt und übertragen wird, auch wenn nicht sicher ist, ob die Tiere zu jedem Zeitpunkt eine ausreichende Menge an Virus ausscheiden, um Artgenossen zu infizieren (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Der gleichzeitige Nachweis von PCV2-Genom und Antikörpern gegen PCV2 im Blut könnte darauf hinweisen, dass eine PCV2-Infektion persistent ist und die Antikörper ineffizient sind (KRAKOWKA et al., 2000), wobei es manchen Schweinen gelingt eine Virämie zu beenden (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002).

7.2. Virämie- und Antikörperstatus der Muttersauen und Einfluss auf den Infektionsstatus ihrer Ferkel

Die intrauterine Übertragung wird in einer Studie von SHEN et al. (2010) bei 499 neugeborenen Ferkeln aus fünf Farmen in Nordamerika untersucht und nachgewiesen. In keinem der untersuchten Betriebe zeigen die Tiere klinische Anzeichen einer PCVD (SHEN et al., 2010). Die zuvor genannten Autoren ermitteln PCV2-Antigen und -Antikörper im präkolostralen Blut der Ferkel und im Blut der Muttersauen. Dabei zeigen sich bei den Ferkeln verschiedene Szenarien hinsichtlich des Infektionsstatus mit PCV2: 7,6 % der Neugeborenen sind sowohl Antigen- als auch Antikörper-positiv, 32,3 % sind Antigen-positiv und Antikörper-negativ, 13,8 % sind Antigen-negativ und Antikörper-positiv und 46,3 % Antigen- und Antikörper-negativ. Von den 125 Sauen sind 96,8 % Antikörper-positiv und 47,2 % Antigen-positiv. Kein Ferkel einer seronegativen Sau wird virämisch geboren (SHEN et al., 2010). In einer anderen Studie werden virämisch geborene Ferkel auch bei Muttersauen, die in der PCR negativ sind, nachgewiesen (DVORAK et al., 2013). DVORAK et al. (2013) können keinen Zusammenhang zwischen einer Virämie bei den Sauen und einer Virämie der Ferkel feststellen. Ebenso wenig sehen sie eine Korrelation zwischen dem Antikörperstatus und der Virämie bei den Zuchtsauen selbst (DVORAK et al., 2013).

In einigen Studien zeigt sich, dass die passive Immunität durch maternale

Antikörper eine Rolle im Schutz vor der Entwicklung einer PCVD spielen könnte (MCKEOWN et al., 2005; OSTANELLO et al., 2005). Damit übereinstimmend sterben in einer Studie von CALSAMIGLIA et al. (2007) während der gesamten Aufzucht- und Mastphase von sieben Monaten eher Ferkel von Sauen mit niedrigen Antikörpertitern als Ferkel von Sauen mit mittleren oder hohen Antikörpertitern gegen PCV2. In Kontrast dazu weisen in einer Untersuchung von SHEN et al. (2010) Ferkel von Sauen mit hohen Antikörpertitern höhere Virämien auf als Ferkel von Sauen mit niedrigeren Antikörperspiegeln. Dies kann entweder auf einer hohen Virämie der bei SHEN et al. (2010) untersuchten Muttersauen beruhen, welche eine hohe Virämie bei den Ferkeln bedingt, oder die produzierten, übertragenen maternalen Antikörper sind nicht protektiv (SHEN et al., 2010).

Des Weiteren entdecken CALSAMIGLIA et al. (2007) einen Zusammenhang zwischen der Virämie der Sauen in der peripartalen Zeit und der Sterblichkeit ihrer Ferkel während der Mast. So sterben mehr Ferkel von Sauen, die zum Zeitpunkt der Geburt virämisch sind, als Ferkel nicht virämischer Sauen (CALSAMIGLIA et al., 2007), wobei nicht klar ist, ob diese Schweine bereits infiziert zur Welt kommen oder sich zu einem späteren Zeitpunkt infizieren (SHEN et al., 2010).

Einen Zusammenhang zwischen der Parität der Sauen und der Virämie ihrer Ferkel können weder CALSAMIGLIA et al. (2007) noch DVORAK et al. (2013) feststellen.

8. Bekämpfungsstrategien

8.1. Immunprophylaxe

8.1.1. Impfung der Muttersauen

Die Sauenimpfung spielt durch die Übertragung maternaler Antikörper mit dem Kolostrum eine entscheidende Rolle im Schutz der Ferkel vor einer PCV2-Infektion (OH et al., 2012) oder zumindest vor der Entstehung einer klinisch manifesten Erkrankung (OSTANELLO et al., 2005). Die Impfung der Sauen senkt den Infektionsdruck, allerdings ist keine Eradikation des Virus durch die Sauenimpfung möglich (FENG et al., 2014). GERBER et al. (2011) beschreiben bei natürlich infizierten, geimpften Sauen eine geringere Ausscheidung von PCV2

über das Kolostrum im Vergleich zu infizierten, nicht geimpften Sauen. Auch in einer Studie von ALJETS et al. (2015) wird durch die Impfung von Zuchtsauen gegen PCV2 eine Reduktion der Ausscheidung von PCV2 über das Kolostrum beobachtet. In einer Untersuchung von KURMANN et al. (2011) werden bei Ferkeln von geimpften Sauen höhere Tageszunahmen und eine Verkürzung der Mastdauer beobachtet im Vergleich zu Ferkeln von nicht geimpften Muttersauen. Ebenso werden in einer Studie von FRAILE et al. (2012b) bei den Ferkeln von geimpften Sauen höhere Tageszunahmen festgestellt als bei den Ferkeln nicht geimpfter Sauen. Ähnlich wie bei anderen viral bedingten Schweinekrankheiten schützen maternale Antikörper vor der Entwicklung klinischer Symptome (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). So sehen BAUMGARTNER et al. (2012) in der möglichen Verdrängung kleinerer Ferkel durch Größere vom Gesäuge einen Risikofaktor für eine Krankheitsentstehung durch mangelnde Kolostrumversorgung.

8.1.2. Impfung der Ferkel

Bei der Impfung von Ferkeln zeigt sich, dass Tiere, die im Alter von drei Wochen geimpft werden, eine bessere Immunantwort auf die Impfung haben als Ferkel mit vergleichbar hohen Antikörpertitern zu Studienbeginn, die im Alter von einer Lebenswoche geimpft werden (HAAKE et al., 2014). Abgesehen von den maternalen Antikörpern können jedoch auch andere altersabhängige Faktoren Einfluss auf die aktive Immunantwort bei Ferkeln haben (HAAKE et al., 2014). So könnte der erhöhte Cortisolspiegel der Neugeborenen zu einer Verminderung der zellulären und humoralen Immunantwort führen (HAAKE et al., 2014). Trotz hoher maternalen Antikörper zum Zeitpunkt der Impfung können HAAKE et al. (2014) bei in der dritten Lebenswoche geimpften Tieren eine gute Wirksamkeit der Impfung verzeichnen.

Die Wirksamkeit der Impfung der Ferkel gegen PCV2, auch bei hohem maternalen Antikörperspiegel zum Impfzeitpunkt, zeigt sich ebenfalls bei KIXMÖLLER et al. (2008). Sie beobachten in einem Betrieb mit PCV2-SD-Problematik bei geimpften Tieren, verglichen mit einer Placebogruppe verschiedene Effekte: Die Impftiere zeigen eine um 70 % geringere Viruslast, eine verkürzte Virämiedauer, in der siebten Lebenswoche signifikant höhere Antikörpertiter und während der Mast höhere Tageszunahmen im Vergleich zur Placebogruppe. Zusätzlich weißt die Impfgruppe eine geringere Mortalitätsrate,

weniger Kümmerer und weniger Tiere mit Husten und Dyspnoe auf (KIXMÖLLER et al., 2008). Auch in einer Untersuchung von FRAILE et al. (2012a) werden signifikant höhere Tageszunahmen bei geimpften Tieren im Vergleich zu nicht geimpften Tieren über die gesamte Mastperiode festgestellt. Des Weiteren scheint die Impfung auch einen Einfluss auf das Auftreten von Koinfektionen zu haben, da bei der Placebogruppe der Untersuchung von KIXMÖLLER et al. (2008) bei mehr Tieren PRRSV und *Mycoplasma hyorhinis* in der Lunge nachgewiesen werden.

8.2. Management

Im Management sind strenge Hygiene, Trennung verschiedener Altersklassen, Verbesserung der Lüftung, Vermeidung von Überbelegung oder Mischen/Umsortieren der Tiere, für jeden Betrieb individuelle Impfprogramme, auch gegen andere Krankheitserreger, und generelle Krankheitsvorsorge wichtig, um die Entstehung von PCVDs zu vermeiden (MADEC et al., 2000; THACKER und THANAWONGNUWECH, 2002; BRUNBORG et al., 2010), auch wenn es durch die hohe Virusresistenz (SHIBATA et al., 2003; DVORAK et al., 2013) schwierig, wenn nicht gar unmöglich ist das Virus aus betroffenen Betrieben vollständig zu entfernen (ALLAN und ELLIS, 2000). Der von MADEC et al. (1999) verfasste 20-Punkte-Plan enthält verschiedene vorbeugende Maßnahmen. Zum einen beinhaltet dieser Plan allgemeine Hygienemaßnahmen, wie Einhaltung eines strikten Rein-Raus-Prinzips, Reinigung und Desinfektion, Quarantäne neuer Zuchttiere, Impfprogramme und Futterqualität, zum anderen auch Arbeitsanweisungen und stallklimatische Voraussetzungen zur Bekämpfung von PCV2-SD (MADEC et al., 1999). Zur Erzielung eines effektiven Ergebnisses empfehlen die Autoren die Einhaltung von 16 der 20 Punkte.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Anzeige des Tierversuchvorhabens

Der Versuch wurde nach § 8 Abs. 7 Satz 1 Nr. 2 des Tierschutzgesetzes bei der zuständigen Behörde angezeigt, bestätigt (Regierung von Oberbayern, Aktenzeichen: 55.2.-154-2532.2-16-13) und bei den zuständigen Behörden der verschiedenen Landkreise, in denen die Studienbetriebe lagen, gemeldet.

2. Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Vorkommen und die Bedeutung intrauteriner Infektionen von Feten mit PCV2 in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben zu erfassen. Zusätzlich sollte ermittelt werden, ob Zusammenhänge zwischen dem Infektionsstatus der Muttertiere und dem Infektionsstatus der neugeborenen Ferkel bestehen. Des Weiteren sollte die Ausscheidung von PCV2 über Speichel, Kot und Harn bei den Sauen geprüft werden, um mögliche weitere Infektionsquellen für die Ferkel in den ersten Lebensstunden zu ermitteln.

3. Auswahl der Betriebe und Studientiere

Um eine Aussage über die Prävalenz einer intrauterinen Übertragung von PCV2 in Bayern treffen zu können, wurde eine zweistufige Klumpenstichprobe durchgeführt. Das Bundesland Bayern ist in 7 Regierungsbezirke Unter-, Ober- und Mittelfranken, Oberpfalz, Ober- und Niederbayern sowie Schwaben unterteilt. Es wurden 20 Betriebe innerhalb dieser Regierungsbezirke in die Studie einbezogen. Entsprechend der regional unterschiedlichen Dichte an ferkelerzeugenden Betrieben in jedem Regierungsbezirk, wurden unterschiedlich viele Betriebe pro Regierungsbezirk ausgewählt. In Niederbayern wurden 6 Betriebe, in Oberbayern, der Oberpfalz und Mittelfranken jeweils 3 Betriebe, in Unterfranken und Schwaben je 2 und in Oberfranken 1 Betrieb in die Studie eingeschlossen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Auswahl der Studienbetriebe (nach Daten des Statistischen Bundesamtes, Stand: 3. Nov. 2012)

| Regierungsbezirk | Ferkelerzeugende Betriebe gesamt | Prozentualer Anteil an Gesamtbayern | Anzahl der Studienbetriebe |
|-------------------------|---|--|-----------------------------------|
| Oberbayern | 480 | 14,38 % | 3 |
| Niederbayern | 1030 | 30,86 % | 6 |
| Oberpfalz | 405 | 12,13 % | 3 |
| Oberfranken | 239 | 7,16 % | 1 |
| Mittelfranken | 465 | 13,93 % | 3 |
| Unterfranken | 329 | 9,86 % | 2 |
| Schwaben | 390 | 11,68 % | 2 |
| Bayern, gesamt | 3338 | 100 % | 20 |

Um eine möglichst wenig beeinflusste Auswahl an Betrieben zu gewährleisten, wurden verschiedene Ferkelerzeugerverbände kontaktiert und von diesen je eine Liste von Betrieben zusammengestellt. Insgesamt wurden aus einer Liste von 36 ferkelerzeugenden Betrieben 20 Betriebe randomisiert ausgewählt. Die Teilnahme erfolgte freiwillig. Ziel war es, aus jedem Betrieb 10 Zuchtsauen und je Zuchtsau 3 Ferkel in die Studie einzuschließen. Es wurden die Muttersauen beprobt, die in Anwesenheit der Probennehmer ferkelten. Die Zahl von insgesamt 40 untersuchten Tieren pro Betrieb erlaubte mit einer Wahrscheinlichkeit von über 98 %, dass das Vorkommen von PCV2 in dem jeweiligen Betrieb erkannt worden wäre, wenn die Prävalenz von PCV2 mindestens 10 % betragen hätte. Bei fünf Betrieben war es aufgrund kleiner Abferkelgruppen oder bereits abgeschlossener Geburten nicht möglich, die gewünschte Tierzahl einzuschließen (siehe Tabelle 5).

Von den Betrieben wurde das jeweilige Impfregime gegen PCV2 erfasst und dokumentiert. Anhand dessen wurden die Betriebe in Ferkelimpfbetriebe und Betriebe, die sowohl Sauen als auch Ferkel impften, unterteilt.

In der Zeit der Probensammlung wurde in der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität München Abortmaterial von Sauen eines Betriebes in Oberbayern (Betrieb 21) positiv auf PCV2 getestet. Dieser Betrieb wurde daraufhin in die Studie aufgenommen. Hier wurden aufgrund der geringen Anzahl abferkelnder Sauen teilweise mehr als drei Ferkel pro Sau beprobt.

Tabelle 5: Regierungsbezirke und Tierzahlen je Betrieb

| Betrieb | Regierungsbezirk | Betriebsgröße (Anzahl Zuchtsauen) | Beprobte Sauen | Beprobte Ferkel |
|----------------|-------------------------|--|---------------------------|----------------------------|
| 1 | Schwaben | 840 | 9 | 27 |
| 2 | Niederbayern | 600 | 10 | 30 |
| 3 | Oberbayern | 300 | 10 | 30 |
| 4 | Niederbayern | 300 | 10 | 30 |
| 5 | Mittelfranken | 240 | 10 | 30 |
| 6 | Niederbayern | 265 | 10 | 30 |
| 7 | Oberbayern | 195 | 10 | 30 |
| 8 | Niederbayern | 270 | 10 | 30 |
| 9 | Oberbayern | 220 | 10 | 30 |
| 10 | Oberpfalz | 150 | 10 | 30 |
| 11 | Oberpfalz | 220 | 10 | 30 |
| 12 | Mittelfranken | 250 | 10 | 30 |
| 13 | Oberpfalz | 250 | 10 | 30 |
| 14 | Niederbayern | 210 | 10 | 30 |
| 15 | Niederbayern | 300 | 10 | 30 |
| 16 | Mittelfranken | 230 | 10 | 29 |
| 17 | Schwaben | 100 | 9 | 27 |
| 18 | Oberfranken | 300 | 10 | 29 |
| 19 | Unterfranken | 230 | 10 | 28 |
| 20 | Unterfranken | 290 | 10 | 30 |
| 21 | Oberbayern | 95 | 7 | 28 |
| Gesamt | Bayern | Ø 279 | 205 | 618 |

Insgesamt wurden in dieser Studie 205 Zuchtsauen und 618 dazugehörige Ferkel untersucht. Von jeder Sau wurde die Parität erfasst, sodass die Sauen in drei verschiedene Altersgruppen eingeordnet werden konnten. Zu den Jungsaunen (Paritätsgruppe 1) wurden alle Sauen gezählt, deren erster Wurf beprobt wurde. Als Altsauen (Paritätsgruppe 2) galten Sauen mit dem zweiten bis vierten Wurf und Sauen ab dem fünften Wurf wurden als alte Altsauen (Paritätsgruppe 3) bezeichnet.

4. Probenentnahme

Für die präkolostrale Serumgewinnung bei den Ferkeln wurden die Betriebe am errechneten Abferkeltermin angefahren und die Abferkelung überwacht, um genügend Tiere in die Studie einzuschließen. Am Tag nach der Geburt wurden bei den Ferkeln erneut Serumproben gewonnen. Insgesamt wurden 11 Ferkel zwischen der ersten und zweiten Blutprobenentnahme von ihren Muttersauen erdrückt, sodass nur 607 Ferkel ein zweites Mal beprobt werden konnten (siehe

Tabelle 6). Die Blutprobenentnahme sowie Kot- und Speichelgewinnung bei den Muttersauen erfolgte ebenfalls am Tag nach der Geburt, um die Tiere nicht bei der Abferkelung zu stören (siehe Tabelle 6). In jedem Betrieb wurde versucht, von jeweils 10 Sauen im Beprobungszeitraum Harn bei Spontanabatz aufzufangen. Allerdings war es durch die anstehende beziehungsweise abgeschlossene Geburt nicht möglich Harn von jeder Zuchtsau aufzufangen, der Serum, Speichel, Kot und Ferkel zuzuordnen waren. Deshalb wurde auch Harn von Sauen gewonnen, von denen weder Serum, Speichel, Kot noch Ferkel untersucht wurden. Alle Sauen eines Betriebes, von denen Harn gesammelt wurde, gehörten zu derselben Abferkelgruppe wie die Sauen, von denen Serum, Speichel, Kot und Ferkel untersucht wurden. Insgesamt wurden 187 Harnproben von Sauen gesammelt und untersucht. Davon stammten 77 Harnproben von Sauen, denen Serum, Speichel, Kot und Ferkeln zuzuordnen waren.

Tabelle 6: Blutentnahmezeitpunkt und Anzahl untersuchter Tiere

| Blutentnahmezeitpunkt | Tag der Geburt | 1 Tag nach der Geburt |
|-----------------------|----------------|-----------------------|
| Sauen | / | 205 |
| Ferkel | 618 | 607 |

4.1. Blutprobenentnahme

4.1.1. Blutprobenentnahme bei den Sauen

Zur Blutentnahme bei den Muttersauen wurden diese von einer Hilfsperson durch Ansprache und Berührung abgelenkt. Nur bei sehr aggressiven Sauen erfolgte zusätzlich eine kurze Fixierung mit Hilfe einer Oberkieferschlinge durch die Hilfsperson. Für die Blutentnahme wurde die *Vena jugularis externa* mittels einer Serummonovette (Primavette[®] V Serum 10 ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) und einer sterilen Einwegkanüle der Größe 1,2 x 100 mm (SUPRA[®], Erhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) punktiert.

4.1.2. Blutprobenentnahme bei den Ferkeln

Die erste Blutprobeentnahme bei den Ferkeln erfolgte direkt nach deren Geburt, bevor sie Kolostrum aufgenommen hatten. Eine zweite Blutprobe wurde am darauffolgenden Tag, also etwa 12 - 24 Stunden später, genommen. Für die

Blutprobenentnahme wurden die Ferkel von einer Hilfsperson auf dem Rücken liegend auf dem Schoß fixiert und die *Vena cava cranialis* mittels Monovette (Primavette[®] V Serum 7,5 ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) und steriler Einmalkanüle der Größe 0,8 x 40 mm (Sterican[®], Braun Medical AG, Emmenbrücke, Schweiz) punktiert. Um die Ferkel am zweiten Beprobungstag wieder erkennen zu können, wurden sie mittels wasserfestem Stift (Allflex[®] 2-N-1 Tag Pen) auf dem Rücken mit einer Zahl entsprechend der Blutprobenbeschriftung gekennzeichnet.

4.2. Speichelproben der Sauen

Für die Gewinnung von Speichel wurde den Sauen eine Watterolle (Salivette[®], Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) mit Hilfe einer sterilen Klemme ins Maul gehalten und so lange immer wieder angeboten, bis die Watte gut durchsaftet war.

4.3. Kotproben der Sauen

Bei den Zuchtsauen wurden von frisch abgesetztem Kot beziehungsweise durch manuelle Gewinnung aus dem Rektum Einzelkotproben gesammelt.

4.4. Harnproben der Sauen

In jedem Betrieb wurde versucht, von jeweils 10 Sauen spontan abgesetzten Harn aufzufangen.

5. Feststellung der Geburtsgewichte

Die Ferkel wurden direkt nach der Geburt mit Hilfe einer elektronischen Plateauwaage (MS[®], Wiegeplateau, Schippers GmbH, Kerken, Deutschland) gewogen.

6. Verarbeitung und Lagerung der Proben

Die Serummonovetten wurden im Labor der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität München bei 20°C und 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich[®] GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Anschließend wurde das Serum in zwei bis drei Reaktionsgefäße mit einem Fassungsvermögen von 1,5 ml (Eppendorf[®] Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert.

Aus den Serumproben der Ferkel wurden Poolproben hergestellt. Hierfür wurden von allen drei Ferkeln einer Sau je 150 µl in ein 1,5 ml-Reaktionsgefäß (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gegeben, um pro Sau und pro Entnahmeterrin je einen Ferkelpool herzustellen. Bei den Serumproben aus Betrieb 21 wurden bei den Sauen, bei denen sechs Ferkel untersucht wurden, zwei Pools mit dem Serum von je drei Ferkeln hergestellt.

Die Salivetten® wurden ebenfalls bei 20°C und 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Der gewonnene Speichel wurde in 1,5 ml-Reaktionsgefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert.

Vom Kot jeder Sau wurden 0,2 g in ein Probenröhrchen mit 13 ml Fassungsvermögen (Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) abgewogen und mit 2 ml DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) resuspendiert. Anschließend wurde die Suspension bei 20°C und 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Der Überstand wurde in 1,5 ml-Reaktionsgefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert. Von je vier Kot-DPBS-Gemischen der Sauen wurden je 100 µl zu einem Pool gemischt.

Alle Proben wurden bis zur weiteren Bearbeitung bei -20°C tiefgefroren.

7. Labordiagnostische Untersuchungen

7.1. Serologische Untersuchungen

Allen Schweinen dieses Versuches wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten Blut abgenommen, um Serum zu gewinnen. Die Zeitpunkte der Blutentnahme und die Anzahl der beprobten Tiere sind in Tabelle 6 dargestellt. Die gewonnenen Seren der Sauen und die präkolostral gewonnenen Seren der Ferkel wurden auf IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht. Die serologische Untersuchung der Seren erfolgte im Labor der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität. Die Bestimmung der Antikörper gegen PCV2 aus den Serumproben von Muttersauen erfolgte quantitativ, wohingegen die präkolostralen Seren der Ferkel qualitativ untersucht wurden. Im Falle eines positiven Befundes der Serumproben

der Ferkel schloss sich eine quantitative Untersuchung auf Anti-PCV2-Antikörper an. Die serologische Untersuchung der Blutproben der Sauen und Ferkel erfolgte mittels SERELISA[®] PCV2 Ab Mono Blocking ELISA-Kit zum Nachweis von Anti-PCV2-Antikörpern im Serum vom Schwein (Synbiotics Europe, Lyon Cedex 07, Frankreich) nach Herstellerangaben. Hierbei handelt es sich um einen monophasischen Blocking-ELISA. Für die einzelnen Pipetierschritte, Inkubation, photometrische Messung der optischen Dichte (OD) und Berechnung der ELISA-Units (EU) beziehungsweise des Verhältnisses von Probe zur Negativkontrolle (S/N) wurde ein ELISA-Vollautomat (ThunderBolt[®] 105, Gold Standard Diagnostics, Davis, CA 95618, USA) benutzt. Die serologische Untersuchung auf Antikörper gegen PCV2 wurde nur mit Einzelproben und nicht mit Poolproben durchgeführt.

7.1.1. Qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen PCV2

Für die qualitative Antikörperbestimmung wurde von jeder Probe eine Verdünnungsstufe (1:1000) mit Hilfe der vom Hersteller mitgelieferten Probenverdünnungslösung hergestellt. Neben den zu untersuchenden Proben wurden sowohl eine Positiv- als auch eine Negativkontrolle in die mit PCV2-Antigen beschichteten Kavitäten der Testplatte pipettiert und mit Hilfe eines adhäsiven Folienstreifens verschlossen. Anschließend wurde die Testplatte für 60 ± 5 min bei $37 \pm 3^\circ\text{C}$ inkubiert. Danach wurde jede Vertiefung vier Mal gewaschen und dann Anti-PCV2-Antikörper/Peroxidasekonjugat hinzugegeben. Es folgte wiederum eine Abdeckung der Testplatte und Inkubation für 60 ± 5 min bei $37 \pm 3^\circ\text{C}$. Nach vierfachem Waschen und Hinzufügen von Peroxidase-Substrat wurde die Farbreaktion nach 30-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur ($20 \pm 5^\circ\text{C}$) durch Zugabe einer Stopplösung abgebrochen. Anschließend wurde die Farbintensität bichromatisch bei 450 und 630 nm Wellenlänge gemessen. Zur Validierung des Tests mussten die Negativkontrollen im Durchschnitt einen $\text{OD} > 0,8$ und die Positivkontrollen einen durchschnittlichen $\text{OD} < 0,6$ erreichen. Aus den Absorptionswerten wurde für jede Probe das Verhältnis von Probe zu Negativkontrolle (S/N-Verhältnis) bestimmt. Hierfür wurde der Absorptionswert einer Probe durch den Mittelwert der Absorptionswerte der Negativkontrollen geteilt. Proben, die einen $\text{S/N} \leq 0,4$ hatten, galten als positiv hinsichtlich des Vorhandenseins von Antikörpern gegen PCV2 im getesteten Serum. Proben mit einem $\text{S/N} > 0,4$ galten als negativ.

7.1.2. Quantitative Bestimmung von Antikörpern gegen PCV2

Für die quantitative Antikörperbestimmung wurden neben der Positiv- und Negativkontrolle die einzelnen Proben in je drei Verdünnungsstufen (1:100, 1:1000, 1:10000) in die mit PCV2-Antigen beschichteten Kavitäten der Testplatte pipettiert. Die Durchführung des Tests erfolgte entsprechend der qualitativen Methode. Aus den OD-Werten der drei Verdünnungsstufen wurde mit Hilfe von Formeln des Kitherstellers über ein lineares Regressionsmodell ein Antikörpertiter angegeben, welcher in ELISA-Units (EU) ausgedrückt wurde. Zur Validierung des Tests musste der Mittelwert der Absorptionswerte der Negativkontrollen $> 0,8$ und der Mittelwert der Absorptionswerte der Positivkontrollen $< 0,6$ sein. Für eine positive Interpretation des Ergebnisses hinsichtlich des Vorhandenseins von Antikörpern gegen PCV2 musste ein Positiv-Cut-off-Wert von 900 ELISA-Units überschritten werden. Die Obergrenze der bestimmbar Menge an Antikörpern gegen PCV2 bei diesem Testkit lag bei 15000 EU.

7.2. Molekularbiologische Untersuchungen

Die Blutseren, der Speichel, Harn und die Kot-DPBS-Gemische der Sauen wurden molekularbiologisch auf PCV2-Genom untersucht. Die molekularbiologische Untersuchung erfolgte in den Räumlichkeiten des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Die DNA-Extraktion wurde mit Hilfe des kommerziell erhältlichen NucleoSpin[®] 8 Virus Core Kit (Machery-Nagel GmbH & Co. KG, Neumann-Neander-Str. 6-8, 52355 Düren, Deutschland) nach Herstellerangaben durchgeführt. Hierfür wurde ein Pipettierroboter Microlab[®] STARLet (Hamilton Life Science Robotics GmbH, Fraunhoferstr. 17, 82152 Martinsried, Deutschland) genutzt. Für den Nachweis der Virus-DNA wurde eine real-time-PCR nach Zhao (ZHAO et al., 2010) durchgeführt. Dabei wurde der reverse-Primer und die Sonde modifiziert und ein zusätzlicher modifizierter reverse-Primer hinzugefügt (siehe Tabelle 7), um sicherzustellen, dass auch die in Deutschland neu aufgetretenen PCV2b-1C Stämme sicher detektiert werden (EDDICKS et al., 2015). Für die PCR wurde das QuantiTect Probe PCR Kit (Qiagen, Hilden) genutzt. Je Reaktion wurden 5 μ l Eluat zusammen mit 12,5 μ l PCR-Mastermix, 5,5 μ l RNase-freies Wasser und 2 μ l Primer-Sonden-Mix (siehe Tabelle 8) in eine Vertiefung des PCR-Kits gegeben und dieser anschließend in den PCR-Cycler (Stratagene MX3005[®] bzw. Stratagene MX3000[®], Agilent

Technologies, Santa Clara, United States) verbraucht. Die PCR erfolgte mit folgendem Temperaturprofil: 15 Minuten bei 94°C zur Aktivierung der Polymerase, gefolgt von 42 Zyklen mit 15 Sekunden lang dauernder Denaturierung bei 94°C und 60 Sekunden bei 60°C für Annealing und Extension. Jede Probe, die in der PCR ein positives Ergebnis hatte, wurde zur Sicherung des Testergebnisses erneut getestet und, bei wiederum positivem Ergebnis, ein Mittelwert aus den beiden Ct-Werten gebildet. Für eine absolute Quantifizierung wurde bei jedem PCR-Lauf ein Plasmid bekannter Konzentration, welches die zu amplifizierende PCV2-Sequenz enthielt, in fünf log₁₀-Verdünnungsstufen zur Erstellung einer Standardkurve mitgetestet. Gleichzeitig wurde bei jedem PCR-Lauf zur Validierung des Tests eine Negativkontrolle mit untersucht. Diese enthielt nur den Mastermix, das RNase-freie Wasser und den Primer-Sonden-Mix. Bei den Poolproben wurden bei positivem Ergebnis die Proben der Tiere einzeln nachgetestet. Bei einem Ct-Wert > 40,00 wurden die Proben als negativ bewertet. Die in der Studie angegebenen Werte der Proben beziehen sich auf 1 ml Untersuchungsmaterial beziehungsweise bei Kot auf 100 mg Kot.

Tabelle 7: Primer und Sonde der durchgeführten real-time-PCR nach ZHAO et al. (2010), modifiziert

| Name | Sequenz |
|--------------------------|--|
| Primer PCV2-Zhao-for | 5'- cgg ata ttg tak tcc tgg tcg ta -3' |
| Primer PCV2-Zhao-rev mod | 5'- cct gty ctw gat tcc act att gat t -3' |
| Primer PCV2-Zhao-revX97 | 5'- cct gtc ctw gat agg aca atc gat t -3' |
| Sonde PCV2-Zhao mod | 5'-FAM- cga ggc cta crt ggt cya cat ttc – BHQ1 -3' |

Die Zusammensetzung des für die PCR verwendeten Primer-Sonden-Mixes ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Zusammensetzung des in der real-time-PCR verwendeten Primer-Sonden-Mixes mit prozentualem Anteil jedes Reagenzes in %

| Reagenz | Anteil am Primer-Sonden-Mix in % |
|--------------------------|----------------------------------|
| Primer PCV2-Zhao-for | 7,5 |
| Primer PCV2-Zhao-rev mod | 5,0 |
| Primer PCV2-Zhao-revX97 | 2,5 |
| Sonde PCV2-Zhao mod | 3,0 |
| 0,1xTE-Puffer (pH 8) | 82,0 |
| Primer-Sonden-Mix | 100 |

8. Statistische Auswertung

Die statistische Verarbeitung und Auswertung der Daten erfolgte mit IBM SPSS Statistics Version 21.0 und Microsoft Excel 2010.

Das Signifikanzniveau lag bei 5 % ($p = 0,05$) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

Für den Vergleich der quantitativen Ergebnisse der serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen wurden Mittelwerte gebildet und miteinander verglichen. Zusätzlich zu den Mittelwerten wurden immer die Minimal- und Maximalwerte sowie die Standardabweichungen angegeben.

Zunächst wurde der Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung durchgeführt. Zeigte sich beim Kolmogorow-Smirnow-Test eine Normalverteilung der Daten, wurden die Daten mittels einer einfaktoriellem Varianzanalyse ANOVA und einem T-Test ausgewertet. Zeigten die Mittelwerte keine Normalverteilung, wurden die Unterschiede der Mittelwerte nach Gruppenvariablen (Paritätsgruppe oder Impfstatus der Sauen) zunächst mittels Kruskal-Wallis-Test untersucht. Wurde hier ein p-Wert von $< 0,05$ errechnet, erfolgte ein weiterer Vergleich der Mittelwerte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Bei mehreren aufeinanderfolgenden Paarvergleichen wurde das Signifikanzniveau nach Bonferroni-Holm korrigiert.

Die Überprüfung von Korrelationen erfolgte mittels Kreuztabelle und Chi²-Test nach Pearson beziehungsweise beim Korrelationstest zweier metrischer Variablen mittels linearer Regression.

IV. ERGEBNISSE

1. Betriebs- und Versuchstierparameter

1.1. Betriebe: Impfung gegen PCV2

Das Impfregime gegen PCV2 wurde in allen 21 Betrieben dokumentiert. In allen 21 in die Studie eingeschlossenen Betrieben wurde eine Ferkelimpfung gegen PCV2 zwischen der dritten und vierten Lebenswoche der Ferkel durchgeführt. In einem Betrieb (Betrieb 2) wurden zusätzlich auch die Muttersauen gegen PCV2 geimpft. Anhand dieser Informationen wurden die Betriebe in Hinblick auf den Impfstatus der Sauen unterteilt. Insgesamt wurden somit 20 Ferkelimpfbetriebe und ein Ferkelimpfbetrieb mit zusätzlicher Sauenimpfung in die Studie eingeschlossen.

1.2. Sauen: Parität und Zuordnung ihrer Ferkel

Von allen in der Studie untersuchten Sauen wurde die Parität erfasst. Die Sauen hatten zum Beprobungszeitpunkt Paritäten zwischen dem ersten und elften Wurf. Anhand der verschiedenen Paritäten wurden die Sauen in drei Altersklassen unterteilt. Als Jungsauen (Paritätsgruppe 1) wurden Sauen, welche den ersten Wurf hatten, bezeichnet, als Altsauen (Paritätsgruppe 2) Sauen mit dem zweiten bis vierten Wurf und als alte Altsauen (Paritätsgruppe 3) Sauen mit fünf und mehr Würfen. Von den 205 Sauen, denen Serum, Speichel und Kot sowie Ferkel zuzuordnen waren, wurden 11,7 % (24/205) zu den Jungsauen, 43,4 % (89/205) zu den Altsauen und 44,9 % (92/205) zu den alten Altsauen gezählt.

Entsprechend den Sauen konnten die Ferkel auch in Gruppen nach Paritäten ihrer Muttersauen eingeteilt werden (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Einteilung aller Sauen nach Paritätsgruppe und Zuordnung der Ferkel zur Paritätsgruppe der Muttersauen

| Paritätsgruppe | Zuchtsauen | | Ferkel | |
|--------------------|------------|------|--------|------|
| | (n) | % | (n) | % |
| Jungsauen | 24 | 11,7 | 75 | 12,1 |
| 2. -4. Wurf | 89 | 43,4 | 266 | 43,1 |
| ≥ 5. Wurf | 92 | 44,9 | 277 | 44,8 |
| Gesamt | 205 | 100 | 618 | 100 |

1.3. Geburtsgewichte der Ferkel

Die Geburtsgewichte der 618 Ferkel wurden direkt nach der Geburt, vor der ersten Probennahme bestimmt. Das mittlere Körpergewicht aller neugeborenen Ferkel lag bei 1,40 kg, wobei das kleinste Ferkel zur Geburt 0,45 kg und das größte Ferkel 2,60 kg schwer war (siehe Tabelle 10).

Die Geburtsgewichte der Ferkel wurden nach Paritäten ihrer Muttersauen geordnet und die Mittelwerte verglichen (siehe Tabelle 10). Dabei zeigte sich, dass die Ferkel von Jungsauen mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,25 kg signifikant ($p < 0,001$) leichter waren als die Ferkel von Altsauen mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,44 kg und signifikant ($p < 0,001$) leichter als die Ferkel von alten Altsauen mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,43 kg.

Tabelle 10: Durchschnittliche Geburtsgewichte aller Ferkel nach Parität der Muttersauen in Kilogramm (kg) (n = 618)

| Paritätsgruppe | n | MW kg | Min | Max | StabW |
|---------------------|-----|-------|------|------|-------|
| Jungsauen | 75 | 1,25 | 0,45 | 2,00 | 0,27 |
| 2. – 4. Wurf | 266 | 1,44 | 0,60 | 2,40 | 0,32 |
| ≥ 5. Wurf | 277 | 1,43 | 0,60 | 2,60 | 0,34 |
| Gesamt | 618 | 1,40 | 0,45 | 2,60 | 0,33 |

Es konnten keine Korrelationen zwischen dem Geburtsgewicht der Ferkel und dem Impfstatus der Muttersauen, dem Betriebsstatus, dem Antikörperstatus der Sauen, der Höhe des Antikörpertiters der Sauen oder einem Nachweis von PCV2-Genom mittels PCR in einem der untersuchten Materialien der Muttersauen nachgewiesen werden.

2. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

2.1. Sauen

2.1.1. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen auf Betriebsebene

Von allen 205 Sauen, denen jeweils Serum, Speichel, Kot und Ferkel zuzuordnen waren, wurden Serumproben gewonnen. Diese 205 Serumproben wurden mittels quantitativen ELISA auf IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht. Überschritt eine Probe den Wert von 900 ELISA-Units (EU) galt diese Probe als positiv in Bezug auf das Vorhandensein von spezifischen Antikörpern gegen PCV2. Antikörper gegen PCV2 waren auf 12 der 21 Betriebe im Serum von den Muttersauen nachweisbar (siehe Tabelle 11). Dabei konnten in diesen 12 Betrieben bei den zehn in der Studie untersuchten Sauen jedes Betriebes Antikörper gegen PCV2 bei einer bis acht der Sauen nachgewiesen werden (siehe Tabelle 11). In Abbildung 1 sind die mittleren Antikörpertiter der Serumproben der Sauen eines jeden Betriebes nach den 21 Betrieben geordnet in EU dargestellt.

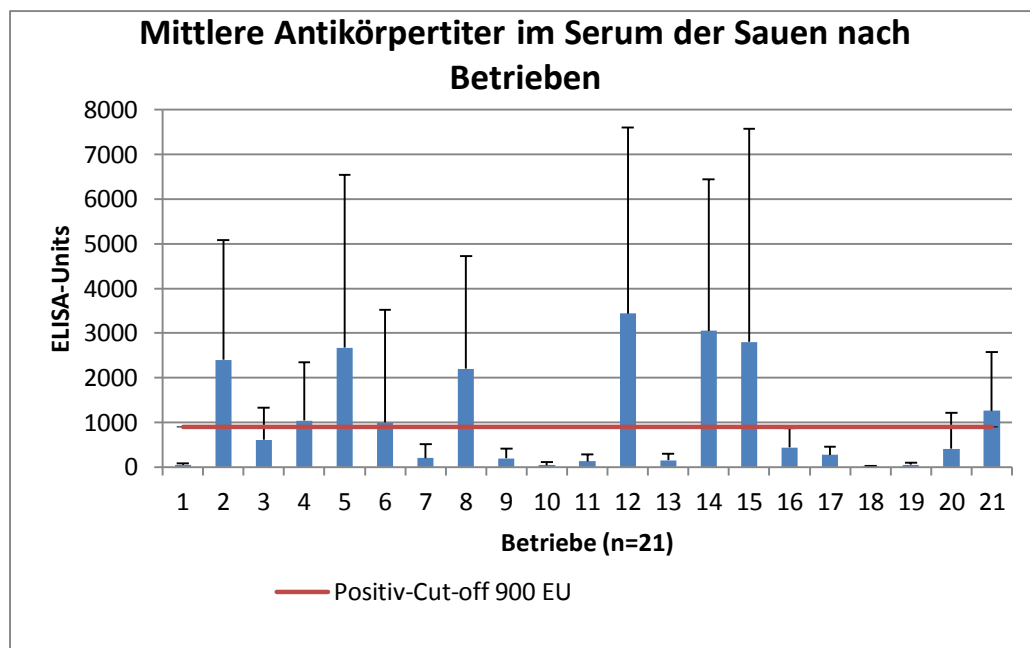


Abbildung 1: Mittelwerte der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) nach Betrieben mit positiver Standardabweichung

Die Mittelwerte der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren von den Sauen jedes einzelnen Betriebes sowie den Betriebsstatus in Hinblick auf das Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper im Serum der Sauen sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) auf Betriebsebene (n = 21) mit Betriebsstatus (unverdächtig -; positiv +)

| Betrieb | n (positiv) / n (gesamt) | MW EU | Min | Max | StabW | Betriebs- status |
|---------|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|
| 1 | 0/9 | 5,00E+01 | 8,00E+00 | 8,30E+01 | 2,47E+01 | - |
| 2 | 8/10 | 2,40E+03 | 2,61E+02 | 9,66E+03 | 2,69E+03 | + |
| 3 | 2/10 | 6,08E+02 | 1,60E+01 | 2,36E+03 | 7,14E+02 | + |
| 4 | 3/10 | 1,04E+03 | 6,50E+01 | 3,30E+03 | 1,30E+03 | + |
| 5 | 4/10 | 2,67E+03 | 3,80E+01 | 1,09E+04 | 3,87E+03 | + |
| 6 | 1/10 | 9,95E+02 | 2,10E+01 | 8,17E+03 | 2,53E+03 | + |
| 7 | 0/10 | 2,02E+02 | 0,00E+00 | 8,70E+02 | 3,11E+02 | - |
| 8 | 5/10 | 2,20E+03 | 1,98E+02 | 7,87E+03 | 2,52E+03 | + |
| 9 | 0/10 | 1,91E+02 | 1,00E+01 | 5,78E+02 | 2,26E+02 | - |
| 10 | 0/10 | 4,05E+01 | 0,00E+00 | 1,65E+02 | 6,59E+01 | - |
| 11 | 0/10 | 1,28E+02 | 0,00E+00 | 5,27E+02 | 1,58E+02 | - |
| 12 | 5/10 | 3,44E+03 | 4,60E+01 | 1,18E+04 | 4,17E+03 | + |
| 13 | 0/10 | 1,47E+02 | 6,00E+00 | 4,23E+02 | 1,47E+02 | - |
| 14 | 5/10 | 3,05E+03 | 3,02E+02 | 9,18E+03 | 3,40E+03 | + |
| 15 | 4/10 | 2,80E+03 | 6,10E+01 | 1,50E+04 | 4,78E+03 | + |
| 16 | 1/10 | 4,35E+02 | 1,52E+02 | 1,64E+03 | 4,38E+02 | + |
| 17 | 0/9 | 2,69E+02 | 2,80E+01 | 5,42E+02 | 1,82E+02 | - |
| 18 | 0/10 | 9,50E+00 | 0,00E+00 | 3,20E+01 | 1,22E+01 | - |

| Betrieb | n (positiv) / n (gesamt) | MW EU | Min | Max | StabW | Betriebs- status |
|---------------|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|
| 19 | 0/10 | 5,14E+01 | 0,00E+00 | 1,61E+02 | 4,64E+01 | - |
| 20 | 1/10 | 4,07E+02 | 2,60E+01 | 2,63E+03 | 8,05E+02 | + |
| 21 | 3/7 | 1,26E+03 | 4,20E+01 | 3,32E+03 | 1,32E+03 | + |
| gesamt | 42/205 | 1,07E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,31E+03 | |

2.1.2. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen

Von den untersuchten Serumproben aller 205 Sauen überschritten 20,5 % (42/205) den Wert von 900 EU. Somit gelten diese Proben als positiv für das Vorhandensein von spezifischen IgG-Antikörpern gegen PCV2. In den 12 Betrieben mit positivem Antikörpernachweis bei den Sauen waren 35,9 % (42/117) der Sauen seropositiv (siehe Tabelle 11).

Im Serum aller 205 Sauen waren im Mittel $1,07 \times 10^3$ EU nachzuweisen. Im Serum der 117 Sauen der Betriebe mit positivem Antikörpernachweis bei den Sauen waren im Mittel $1,79 \times 10^3$ EU nachweisbar und im Serum der 88 Sauen der serologisch unverdächtigen Betriebe im Mittel $1,20 \times 10^2$ EU (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) nach Betriebsstatus (positiv +; unverdächtig -)

| Betriebsstatus | Sauen n (positiv) / n (gesamt) | MW EU | Min | Max | StabW |
|----------------|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| + | 42/117 | 1,79E+03 | 1,60E+01 | 1,50E+04 | 2,86E+03 |
| - | 0/88 | 1,20E+02 | 0,00E+00 | 8,70E+02 | 1,76E+02 |
| gesamt | 205 | 1,07E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,31E+03 |

2.1.3. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen nach Parität

Von jeder Sau wurde die Parität erfasst und anhand dessen die Sauen in drei Altersstufen unterteilt. Die Verteilung der Sauen auf die verschiedenen Paritätsgruppen ist in Tabelle 9 dargestellt.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Seren der 205 Sauen wurden nach Paritätsgruppen geordnet und zu jeder Paritätsgruppe ein Mittelwert aus den ELISA-Ergebnissen gebildet (siehe Tabelle 13). Dabei zeigte sich bei den alten Altsauen ein signifikant höherer mittlerer Antikörpertiter mit $1,62 \times 10^3$ EU im Vergleich zu den Altsauen ($p < 0,001$) und auch im Vergleich zu den Jungsau (n=24) ($p < 0,001$). Im Serum der Altsauen konnte ein mittlerer Antikörpertiter von $6,49 \times 10^2$ EU und im Serum der Jungsau ein mittlerer Antikörpertiter von $5,26 \times 10^2$ EU nachgewiesen werden (siehe Abbildung 2 und Tabelle 13), wobei der Unterschied zwischen dem mittleren Antikörpertiter im Serum der Altsauen und dem mittleren Antikörpertiter im Serum der Jungsau statistisch nicht signifikant war ($p = 0,585$).

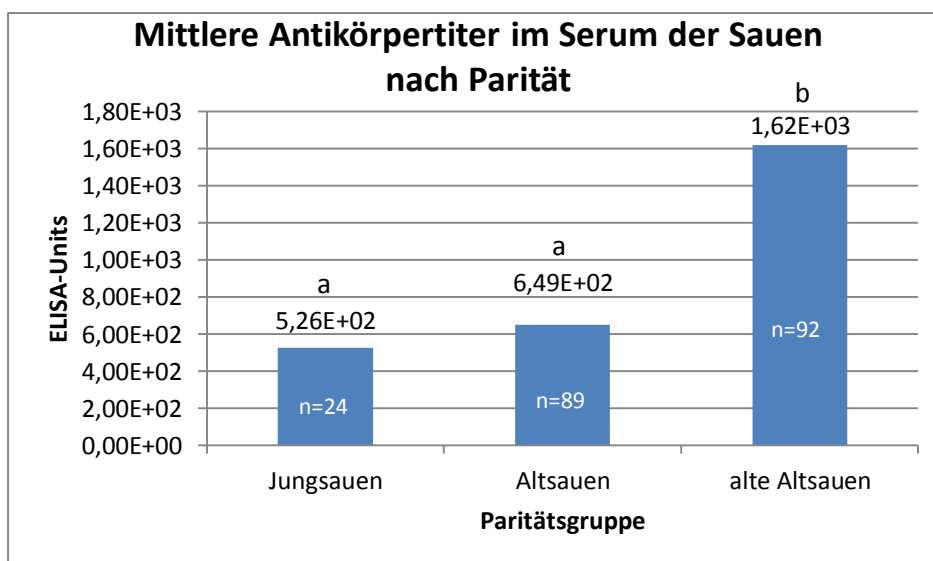


Abbildung 2: Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Parität (n = 205), unterschiedliche Buchstaben a und b kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,001$

Die Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren aller Sauen nach den drei verschiedenen Paritätsgruppen geordnet wurden in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Serologische Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Parität (n = 205)

| Paritätsgruppe | n(positiv) / n(gesamt) | MW EU | Min | Max | StabW |
|---------------------|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Jungsauen | 2/24 | 5,26E+02 | 0,00E+00 | 8,17E+03 | 1,67E+03 |
| 2. – 4. Wurf | 11/89 | 6,49E+02 | 0,00E+00 | 7,87E+03 | 1,53E+03 |
| ≥ 5. Wurf | 29/92 | 1,62E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,91E+03 |
| Gesamt | 42/205 | 1,07E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,31E+03 |

2.1.4. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen nach Impfstatus

In allen 21 Betrieben wurden die Ferkel zwischen der dritten und vierten Lebenswoche gegen PCV2 geimpft. In einem Betrieb (Betrieb 2) wurden zusätzlich auch die Zuchtsauen gegen PCV2 geimpft. Alle 205 Sauen, denen Serum, Speichel, Kot und Ferkel zuzuordnen waren, wurden nach Impfstatus in geimpfte und nicht geimpfte Muttersauen unterteilt. Von den 205 Sauen waren zehn der Sauen geimpft und 195 Sauen nicht geimpft. Zusätzlich wurden die Sauen in die drei Paritätsgruppen Jungsauen mit dem ersten Wurf, Altsauen mit zwei bis vier Würfen und alte Altsauen mit fünf und mehr Würfen eingeordnet. Die Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren der geimpften und nicht geimpften Sauen, nach den drei Paritätsgruppen geordnet, werden in Abbildung 3 und Tabelle 14 dargestellt.

Im Serum der Sauen des Sauenimpfbetriebes wurde im Mittel ein statistisch signifikant ($p < 0,001$) höherer Antikörpertiter mit $2,40 \times 10^3$ EU nachgewiesen als im Serum der Betriebe mit nicht geimpften Sauen mit einem mittleren Antikörpertiter von $1,55 \times 10^3$ EU. Im Serum der Altsauen des Impfbetriebes war ein signifikant ($p = 0,005$) höherer mittlerer Antikörpertiter mit $2,02 \times 10^3$ EU nachweisbar im Vergleich zu dem mittleren Antikörpertiter im Serum der nicht geimpften Altsauen mit $6,01 \times 10^2$ EU. Auch im Serum der alten Altsauen des Impfbetriebes wurde ein signifikant ($p = 0,015$) höherer mittlerer Antikörpertiter mit $2,57 \times 10^3$ EU im Vergleich zu dem mittleren Antikörpertiter im Serum der nicht geimpften alten Altsauen mit $1,55 \times 10^3$ EU nachgewiesen (siehe Abbildung 3 und Tabelle 14).

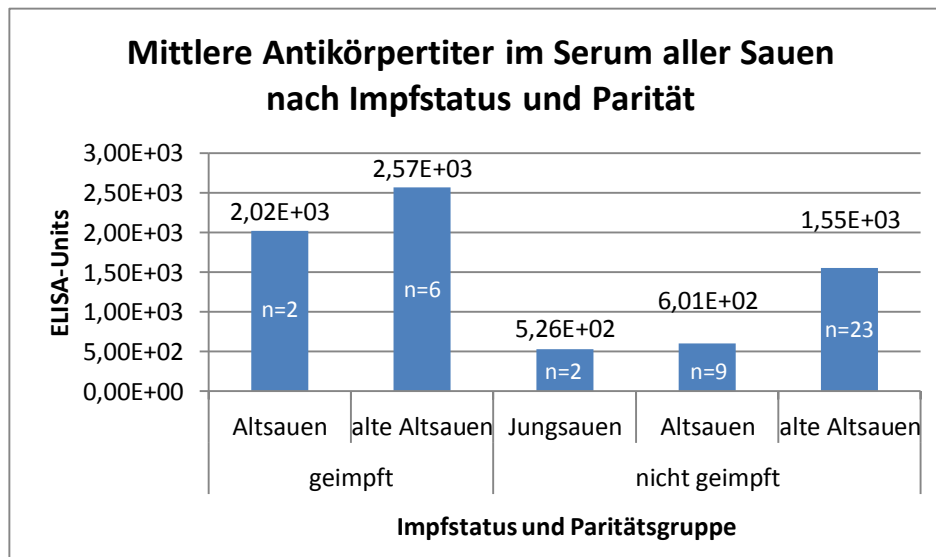


Abbildung 3: Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Impfstatus und Parität (n = 205)

Beim Vergleich der mittleren Antikörpertiter im Serum der nicht geimpften Sauen der verschiedenen Paritätsgruppen wurde im Serum der alten Altsauen ein signifikant ($p < 0,001$) höherer mittlerer Antikörpertiter als im Serum der Altsauen nachgewiesen. Der mittlere Antikörpertiter im Serum der alten Altsauen war auch signifikant ($p = 0,01$) höher als der mittlere Antikörpertiter im Serum der Jungsauen (siehe Abbildung 3 und Tabelle 14).

Tabelle 14: Serologische Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Impfstatus und Parität (n = 205)

| Impfstatus | Paritätsgruppe | n (positiv) / n (gesamt) | MW EU | Min | Max | StabW |
|---------------|----------------|--------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Geimpft | Jungsauen | 0/0 | | | | |
| | 2.-4. Wurf | 2/3 | 2,02E+03 | 8,11E+02 | 3,21E+03 | 1,20E+03 |
| | ≥ 5. Wurf | 6/7 | 2,57E+03 | 2,61E+02 | 9,66E+03 | 3,21E+03 |
| | gesamt | 8/10 | 2,40E+03 | 2,61E+02 | 9,66E+03 | 2,70E+03 |
| Nicht geimpft | Jungsauen | 2/24 | 5,26E+02 | 0,00E+00 | 8,17E+03 | 1,67E+03 |
| | 2.-4. Wurf | 9/86 | 6,01E+02 | 0,00E+00 | 7,87E+03 | 1,52E+03 |
| | ≥ 5. Wurf | 23/85 | 1,55E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,89E+03 |
| | gesamt | 34/195 | 1,00E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,28E+03 |
| Gesamt | | 42/205 | 1,07E+03 | 0,00E+00 | 1,50E+04 | 2,31E+03 |

2.2. Ferkel

Alle 618 von den Ferkeln präkolostral genommenen Serumproben wurden mittels ELISA qualitativ auf das Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht. Beim Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 hätte sich eine Untersuchung der Proben mittels quantitativem ELISA angeschlossen. Keine der untersuchten Serumproben der Ferkel war im qualitativen ELISA reaktiv. Somit entfiel ein anschließender quantitativer ELISA.

So konnten bei keinem der 618 Ferkel zum Zeitpunkt der Geburt spezifische IgG-Antikörper gegen PCV2 im Blut nachgewiesen werden.

3. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

3.1. Sauen

3.1.1. Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben auf Betriebsebene

Alle von den Sauen gewonnenen Serum-, Speichel-, Kot- und Harnproben wurden mittels real-time-PCR molekularbiologisch auf PCV2 untersucht. Die mit Hilfe der PCR detektierte Menge an PCV2-Genom wurde in PCV2-Genomkopien je ml (bzw. bei Kot je 100 mg) Untersuchungsmaterial bestimmt.

Von allen 21 Betrieben wurde in fünf Betrieben in mindestens einem Material PCV2-Genom mittels PCR nachgewiesen. Dabei konnte in drei Betrieben PCV2-Genom in Serumproben und in je zwei Betrieben PCV2 in Speichel-, Kot- oder Harnproben detektiert werden (siehe Abbildung 4).

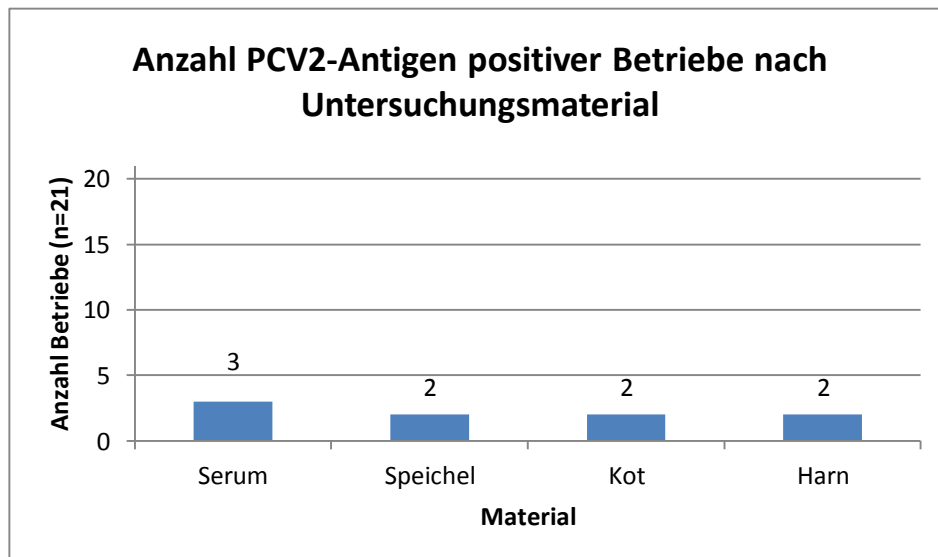


Abbildung 4: Anzahl PCV2-Antigen positiver Betriebe (n = 5) von allen Betrieben (n = 21) nach Untersuchungsmaterial

In einem Betrieb wurde PCV2-Genom sowohl im Serum als auch im Speichel, Kot und Harn von Sauen nachgewiesen. In einem Betrieb waren Kot- und Harnproben von Sauen in der PCR positiv. In den drei anderen Betrieben wurde PCV2-Genom jeweils nur in einem der untersuchten Materialien detektiert, wobei in zwei Betrieben PCV2-Genom im Serum und in einem Betrieb im Speichel nachgewiesen werden konnte. Die genaue Aufteilung der PCR positiven Proben auf die fünf Betriebe mit positivem PCV2-Antigennachweis wurde in Tabelle 15 dargestellt.

3.1.2. Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben auf Einzeltierebene

Insgesamt wurden 205 Serum-, Speichel- sowie Kotproben und 187 Harnproben von Sauen gesammelt. Von den 187 Harnproben stammten 77 Harnproben von Sauen, denen Serum, Speichel, Kot und Ferkeln zuzuordnen waren. Die restlichen 110 Harnproben stammten von Sauen derselben Abferkelgruppe der Betirebe. Alle 802 von den Sauen gewonnen Proben wurden mittels real-time-PCR auf PCV2-Genom untersucht. In allen Serum-, Speichel, Kot- und Harnproben der Sauen konnte PCV2-Genom mit einer Prävalenz von 2,7 % (22/802) nachgewiesen werden.

Bei den 205 Sauen, denen jeweils Serum, Speichel und Kot sowie Ferkel

zuzuordnen waren, konnte in 5,9 % der Fälle (12/205) in mindestens einem der untersuchten Materialien PCV2-Genom mittels PCR nachgewiesen werden. Der Anteil PCV2-positiver Proben der verschiedenen Untersuchungsmaterialien ist in Abbildung 5 dargestellt. Bei den 205 in die Studie eingeschlossenen Sauen wurde PCV2-Genom bei 2,0 % (4/205) der Sauen im Serum, bei 3,9 % (8/205) der Sauen im Speichel und bei 2,0 % (4/205) der Sauen im Kot detektiert.

Die Harnproben wurden auch von Sauen gewonnen, denen weder Serum noch Speichel, Kot oder Ferkel zuzuordnen waren. Alle Harnproben eines Betriebes stammten aus derselben Abferkelgruppe. PCV2-Genom konnte in 3,2 % (6/187) der untersuchten Harnproben mittels PCR nachgewiesen werden (siehe Abbildung 5).

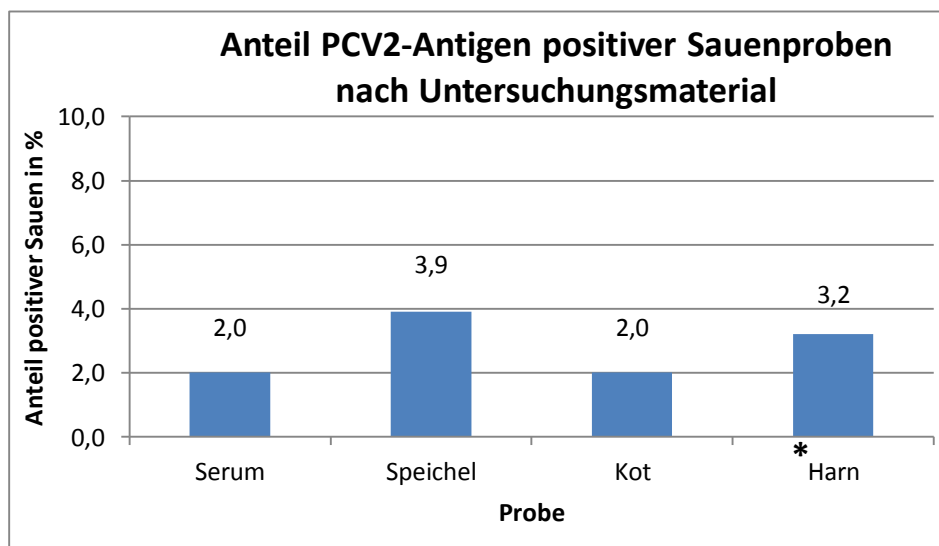


Abbildung 5: Prozentualer Anteil PCV2-Antigen positiven Proben an allen untersuchten Sauenproben nach Untersuchungsmaterial (n = 205, bzw. für * Harn n = 187)

Die genaue Aufteilung der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Untersuchungsmaterialien in den fünf Betrieben mit positivem PCV2-Antigennachweis wurde in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Unterteilung der PCR-positiven Proben in den Betrieben mit positivem PCV-Antigennachweis (n = 5) nach Untersuchungsmaterial der Sauen

| Betrieb | Serum | Speichel | Kot | Harn | gesamt |
|---------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 6 | 0/10 | 1/10 | 0/10 | 0/5 | 1/35 (2,9 %) |
| 8 | 1/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 1/40 (2,5 %) |
| 12 | 1/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 1/40 (2,5 %) |
| 17 | 0/9 | 0/9 | 1/9 | 2/10 | 3/37 (8,1 %) |
| 21 | 2/7 | 7/7 | 3/7 | 4/4 | 16/25 (64,0 %) |
| gesamt | 4/46 (8,7 %) | 8/46 (17,4 %) | 4/46 (8,7 %) | 6/39 (15,4 %) | 22/177 (12,4%) |

In den Betrieben, in denen PCV2-Genom mittels PCR nachgewiesen werden konnte, war von 26,1 % (12/46) der Sauen mindestens eine Probe der verschiedenen Untersuchungsmaterialien positiv in der PCR. Die Prävalenz für PCV2-Genom in den einzelnen Materialien der fünf Betriebe mit positivem PCV2-Antigennachweis lag im Serum bei 8,7 % (4/46), im Speichel bei 17,4 % (8/46), im Kot bei 8,7 % (4/46) und im Harn bei 15,4 % (6/39) (Abbildung 5 und Tabelle 15).

Elf der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Materialien stammten von Altsauen mit dem zweiten bis vierten Wurf. Von den alten Altsauen waren insgesamt sieben Proben PCV2-positiv und von den Jungsauen insgesamt vier Proben. Allerdings konnte keine Korrelation zwischen einem positiven Virusnachweis in einem der Materialien und der Parität der Sauen festgestellt werden. Die genaue Verteilung PCV2-positiver Proben auf die drei Paritätsgruppen und verschiedenen Materialien wird in Abbildung 6 dargestellt.

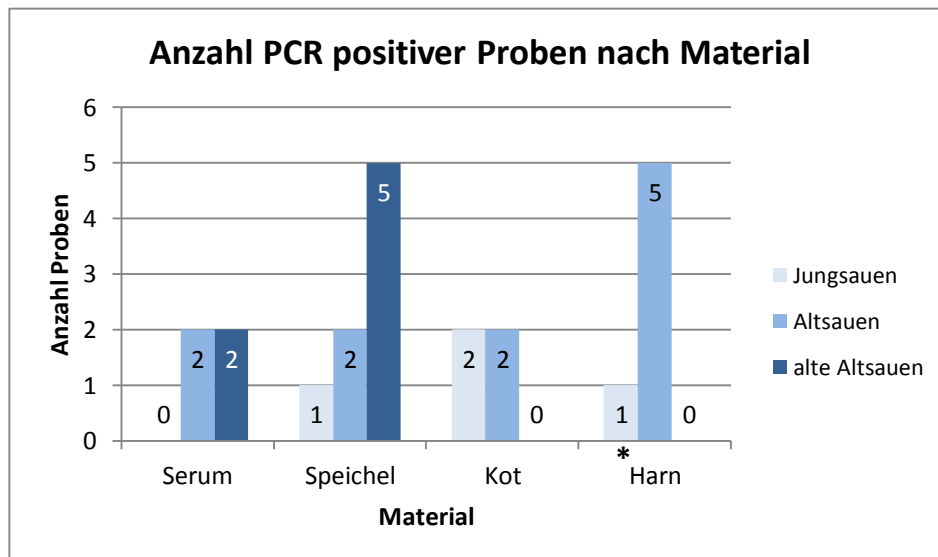


Abbildung 6: Anzahl PCV2-positiver Proben nach Material und Paritätsgruppe der Sauen (n = 205, bzw. für * Harn n = 187)

Von den nachgewiesenen Mengen an PCV2-Genom der in der PCR positiven Proben wurden Mittelwerte gebildet und in Abbildung 7 und Tabelle 16 dargestellt.

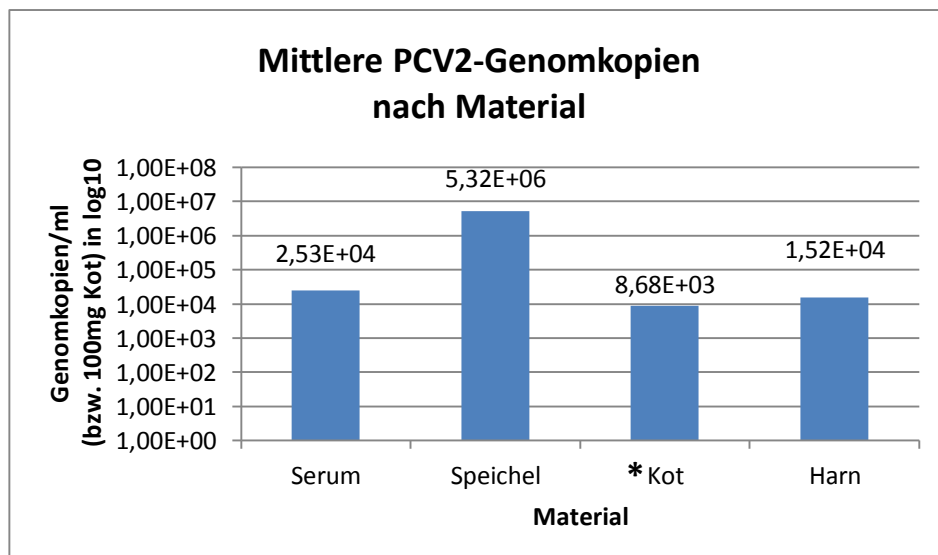


Abbildung 7: Mittelwerte der molekularbiologischen Ergebnisse der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Materialien Serum (n = 4), Speichel (n = 8), Kot (n = 4) und Harn (n = 6) in Genomkopien/ml Untersuchungsmaterial (bzw. für *Kot 100 mg) in log10

In den PCV2-positiven Speichelproben wurde im Mittel die höchste Menge an PCV2-Genom mit $5,32 \times 10^6$ Genomkopien/ml Speichel nachgewiesen, wobei die

Unterschiede zwischen den nachgewiesenen Mengen in den unterschiedlichen Materialien nicht signifikant ($p = 0,086$) waren. In den PCR-positiven Serum- und Harnproben wurden Mengen von $2,53 \times 10^4$ Genomkopien/ml Serum beziehungsweise $1,52 \times 10^4$ Genomkopien/ml Harn nachgewiesen. In den PCV2-positiven Kotproben wurde im Mittel die geringste Menge an PCV2-Genom mit $8,68 \times 10^3$ Genomkopien/100mg Kot detektiert (siehe Abbildung 7 und Tabelle 16).

Tabelle 16: Molekularbiologische Ergebnisse der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Materialien Serum (n = 4), Speichel (n = 8), Kot (n = 4) und Harn (n = 6) in Genomkopien/ml Untersuchungsmaterial (bzw. für *Kot 100 mg)

| | MW | Min | Max | StabW |
|-----------------|----------|----------|----------|----------|
| Serum | 2,53W+04 | 2,40E+03 | 9,20E+04 | 4,45E+04 |
| Speichel | 5,32E+06 | 4,70E+03 | 4,20E+07 | 1,48E+07 |
| *Kot | 8,68E+03 | 2,00E+03 | 2,40E+04 | 1,03E+04 |
| Harn | 1,52E+04 | 3,20E+03 | 1,52E+04 | 1,42E+04 |

Die nachgewiesenen Genomkopien je ml Untersuchungsmaterial beziehungsweise für Kot je 100 mg für jedes Tier, die jeweilige Paritätsgruppe und das Ergebnis des ELISAs in Bezug auf das Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper gegen PCV2 im Serum für jede Sau mit positivem PCV2-Antigennachweis sind in Tabelle 17 dargestellt. Auch Sauen, bei denen keine spezifischen Antikörper gegen PCV2 oder PCV2-Genom im Serum nachgewiesen werden konnten, schieden das Virus über die verschiedenen Materialien aus.

Tabelle 17: Molekularbiologische Ergebnisse der Sauen mit Sauennummer (SN) in Genomkopien/ml (bzw. für Kot 100mg) nach Betrieb und Paritätsgruppe mit ELISA-Ergebnis (EE) (+ positiv, - negativ)

| Betrieb | SN | Paritäts- gruppe | Serum | Speichel | Kot | *Harn | EE |
|---------|------|---------------------|----------|----------|----------|----------|----|
| 6 | 6.1 | 3 | / | 5,30E+03 | / | / | - |
| 8 | 8.5 | 3 | 9,20E+04 | / | / | / | + |
| 12 | 12.5 | 3 | 3,90E+03 | / | / | / | + |
| 17 | 17.1 | 1 | / | / | 2,40E+04 | / | - |
| 17 | 17.6 | 2 | / | / | / | 4,60E+03 | - |
| 21 | 21.1 | 3 | / | 2,60E+04 | / | / | - |
| 21 | 21.2 | 2 | 2,40E+03 | 4,20E+07 | 4,80E+03 | 1,60E+04 | + |
| 21 | 21.3 | 3 | / | 4,70E+03 | / | / | - |
| 21 | 21.4 | 2 | 2,70E+03 | 2,10E+04 | 3,90E+03 | 5,50E+03 | + |
| 21 | 21.5 | 1 | / | 3,60E+04 | 2,00E+03 | 3,20E+03 | - |
| 21 | 21.6 | 3 | / | 2,00E+04 | / | / | + |
| 21 | 21.7 | 3 | / | 4,30E+05 | / | / | - |

*Zwei von sechs in der PCR PCV2-positiven Harnproben stammten von Sauen, denen weder Serum, Speichel, Kot noch Ferkel zuzuordnen waren. Sie gehörten zu den Abferkelgruppen der Betriebe 17 und 21, in denen weitere Tiere beprobt wurden. Bei beiden Sauen handelte es sich um den zweiten Wurf, womit sie in die Paritätsgruppe 2 eingeordnet wurden. Bei der Sau aus Betrieb 17 wurde eine Menge von $2,20 \times 10^4$ Genomkopien pro ml Harn nachgewiesen. Bei der Sau aus Betrieb 21 wurden $4,00 \times 10^4$ Genomkopien pro ml Harn detektiert.

Alle Proben der vier untersuchten Materialien von zwei Sauen (21.2, 21.4) aus demselben Betrieb (Betrieb 21) waren PCV2-positiv (siehe Tabelle 17). Bei einer dieser beiden Sauen (Sau 21.2) konnte im Speichel mit $4,20 \times 10^7$ Genomkopien/ml die größte Menge an PCV2-Genom nachgewiesen werden (siehe Tabelle 17). Bei dieser Sau handelte es sich auch um die Muttersau des virämisch geborenen Ferkels. Neben lebensfähigen, normalgewichtigen

Ferkeln brachte diese Sau (21.2) auch Mumien verschiedener Größe zur Welt (siehe Abbildung 8). Aufgrund der weit vorangeschrittenen Geburt konnte nur ein Ferkel dieser Sau präkolostral beprobt und in die Studie eingeschlossen werden.



Abbildung 8: Mumien der Sau 21.2.

Der mittlere Antikörpertiter im Serum der Sauen, die in der PCR mindestens in einem untersuchten Material positiv waren, mit einem Wert von $1,87 \times 10^3$ EU zeigte keinen statistisch signifikanten ($p = 0,096$) Unterschied im Vergleich zu dem mittleren Antikörpertiter im Serum der in der PCR in keinem Material positiven Sauen mit $1,02 \times 10^3$ EU. Somit korrelierte ein positiver Virusnachweis im Serum, Speichel, Kot oder Harn nicht mit der Höhe des Antikörpertiters der

Sauen. Auch konnte keine Korrelation zwischen einem positiven Virusausnachweis mittels PCR und dem Impfstatus der Sauen oder dem Betriebsstatus beobachtet werden.

3.2. Ferkel

Insgesamt wurden von 618 neugeborenen Ferkeln präkolostral Serumproben gewonnen. 11 Ferkel wurden vor der zweiten Blutprobenentnahme von der Muttersau erdrückt. Somit wurden von 607 Ferkeln am Tag nach der Geburt erneut Serumproben gewonnen. Alle in der Studie gesammelten Serumproben der Ferkel wurden mittels real-time-PCR untersucht. Von allen prä- und postkolostral untersuchten Ferkelblutproben war ein Ferkel (0,2 %; 1/618) zum Zeitpunkt der Geburt virämisch. Die PCR der Serumprobe dieses Ferkels zeigte einen Ct-Wert von 23,68 was einer Menge von $1,00 \times 10^8$ Genomkopien/ml Serum entspricht. Dieses Ferkel wurde vor der zweiten Blutprobenentnahme von der Muttersau erdrückt und konnte dadurch nicht postkolostral untersucht werden. Das präkolostral virämische Ferkel stammte aus Betrieb 21 von der Sau 21.2. Es hatte ein Geburtsgewicht von 1,30 kg.

V. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit sollte die Prävalenz einer intrauterinen Infektion von Ferkeln mit dem Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) in Bayern untersucht werden. Dafür wurden von 618 Ferkeln aus 21 Betrieben direkt nach der Geburt, noch vor der ersten Aufnahme von Kolostrum Blutproben gewonnen und mittels real-time-PCR auf PCV2-Genom und mittels ELISA auf spezifische IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht. Zusätzlich wurden von den 205 dazugehörigen Muttersauen 12 – 24 Stunden nach dem Abferkeln jeweils eine Blut-, Speichel- und Kotproben und von 187 Zuchtsauen Harnproben gesammelt. Das Serum der Sauen wurde mittels real-time PCR auf PCV2-Genom und mittels ELISA auf spezifische IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht, um eine Aussage über den PCV2-Infektionsstatus der Sauen treffen zu können. Die Speichel-, Kot- und Harnproben der Sauen wurden ebenfalls mit Hilfe der real-time PCR auf PCV2-Genom untersucht, um die Virusausscheidung bei den Sauen zu analysieren. Die statistische Planung der Probensammlung der vorliegenden Arbeit erfolgte so, dass das Vorkommen von PCV2 in dem jeweils untersuchten Betrieb mit einer Wahrscheinlichkeit von über 98 % erkannt worden wäre, wenn die Prävalenz mindestens 10 % betragen hätte.

1. Geburtsgewichte der Ferkel

Die Ferkel wurden direkt nach der Geburt gewogen, um einen eventuellen Zusammenhang zwischen einem verminderten Geburtsgewicht der Ferkel und einem positiven PCV2-Anigennachweis oder positiven Antikörpernachweis gegen PCV2 bei den Ferkeln selbst oder bei den dazugehörigen Muttersauen zu untersuchen. Das mittlere Geburtsgewicht der 618 in die vorliegende Studie eingeschlossenen Ferkel lag bei 1,40 kg. Die Ferkel von Jungsaunen waren mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,25 kg signifikant ($p < 0,001$) leichter als die Ferkel von Altsauen mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,44 kg und auch signifikant ($p < 0,001$) leichter als die Ferkel von alten Altsauen mit einem mittleren Geburtsgewicht von 1,43 kg. In einer Untersuchung von MÜLLER et al. (2006) wurden die Geburtsgewichte von 12700 Ferkel in einem sächsischen ferkelerzeugenden Betrieb ermittelt. Die Autoren bestimmten ein mittleres Geburtsgewicht von 1,58 kg (MÜLLER et al., 2006), welches nahe dem nach

RÖHE und KALM (2004) optimalen Geburtsgewicht von 1,6 kg liegt. HEINZE und RAU (2007) untersuchten die mittleren Geburtsgewichte von 4500 Ferkeln aus drei Betrieben in Thüringen. Hier wurden mittlere Geburtsgewichte zwischen 1,44 und 1,51 kg bestimmt (HEINZE und RAU, 2007). Somit liegt das in der vorliegenden Studie mittlere Geburtsgewicht aller 618 Ferkel nur knapp unter den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen. Das in der vorliegenden Studie virämisch geborene Ferkel wies ein Körpergewicht von 1,30 kg auf. Somit konnten keine Rückschlüsse auf einen Einfluss einer intrauterinen Infektion der Ferkel auf das Geburtsgewicht gezogen werden. Des Weiteren konnte in der vorliegenden Studie keine Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht der Ferkel und dem Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 im Serum der Muttersauen oder der Höhe des Antikörpertiters der Muttersauen festgestellt werden. Ebenso wurde keine Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht der Ferkel und dem positiven Nachweis von PCV2-Genom im Serum, Speichel, Kot oder Harn der Muttersauen beobachtet. So scheint von den in der vorliegenden Studie untersuchten Parametern nur die Parität der Muttersauen einen Einfluss auf das Geburtsgewicht der Ferkel zu haben, da die Jungsauen im Mittel signifikant ($p < 0,001$) leichtere Ferkel zur Welt brachten als die Altsauen und alten Altsauen. In einer Untersuchung von QUINIOU et al. (2002) zeigte sich, dass die mittleren Geburtsgewichte in Würfen mit mehr als 16 Ferkeln geringer waren als die mittleren Geburtsgewichte von Ferkeln aus Würfen mit weniger als 11 Ferkeln. Die Ferkel aus Würfen mit mehr als 16 Ferkeln hatten ein mittleres Geburtsgewicht von 1,26 kg, die Ferkel aus Würfen mit weniger als 11 Ferkeln ein mittleres Geburtsgewicht von 1,59 kg (QUINIOU et al., 2002). Dabei hatten die Sauen mit dem ersten Wurf eine größere Anzahl an Ferkeln als Sauen mit dem zweiten Wurf (QUINIOU et al., 2002). Ab dem vierten Wurf konnte anhand der kleineren Würfe eine Reduktion der Fruchtbarkeit bei den Sauen festgestellt werden, was bei älteren Sauen meist beobachtet werden kann (QUINIOU et al., 2002). Die Anzahl der Ferkel jedes Wurfs wurde in der vorliegenden Arbeit nicht eruiert, weshalb ein Zusammenhang zwischen größeren Würfen bei jüngeren Sauen und dadurch bedingte geringere Geburtsgewichte nicht bestätigt werden konnte. Hinsichtlich eines Einflusses einer Infektion der Muttersauen mit PCV2 auf das Geburtsgewicht ihrer Ferkel konnten in der vorliegenden Studie keine Zusammenhänge zwischen einem positiven Antikörpernachweis gegen PCV2 oder einem positivem PCV2-Antigennachweis im Serum, Speichel, Kot oder Harn

der Muttersauen und dem Geburtsgewicht ihrer Ferkel festgestellt werden. So scheint es, dass eine Infektion klinisch unauffälliger Muttersauen mit PCV2, wenn überhaupt, nur einen geringen Einfluss auf das Geburtsgewicht der Ferkel hat.

2. Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

2.1. Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen

Bei der serologischen Untersuchung des Serums aller 205 Muttersauen konnten spezifische IgG-Antikörper gegen PCV2 im Serum von 20,5 % (42/205) der Sauen nachgewiesen werden. Jedoch verteilten sich die positiven Proben lediglich auf 12 der 21 Betriebe. Dadurch ergab sich innerhalb der 12 Betriebe mit positivem Antikörpernachweis im Serum der Sauen eine Seroprävalenz von 35,9 % (42/117). In der Literatur wurden in PCV2-SD betroffenen Betrieben Antikörper gegen PCV2 in bis zu 100 % der untersuchten Blutproben nachgewiesen (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Auch in einer Untersuchung von SHEN et al. (2010) wurden in 96,8 % der untersuchten Serumproben von Muttersauen spezifische Antikörper gegen PCV2 detektiert. In Studien von DVORAK et al. (2013), GERBER et al. (2011, 2012) und DIAS et al. (2013) waren 100 % der untersuchten Sauen seropositiv. Die geringe Prävalenz mit der spezifische Antikörper gegen PCV2 in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen wurden, könnte durch die randomisierte Betriebsauswahl erklärt werden. Die in die Studie eingeschlossenen Betriebe wurden randomisiert aus einer Liste von Betrieben und ohne Berücksichtigung einer eventuell vorliegenden Krankheitsproblematik, Betriebskennzahlen, Größe des Betriebes, Genetik der Muttersauen oder den Impfstatus der Muttersauen ausgewählt. Im Gegensatz dazu stammen die meisten in der Literatur erhobenen Daten aus Studien, welche in Betrieben durchgeführt wurden, in denen eine Infektion mit PCV2 bekannt war und die Tiere als natürlich mit PCV2 infiziert galten (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; GERBER et al., 2011, 2012; DIAS et al., 2013). Der Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 im Serum von Sauen ohne klinische Anzeichen einer PCVD wurde in einer Untersuchung von CARASOVA et al. (2007) erbracht. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass PCV2 in diesen Betrieben zu persistieren scheint. In der vorliegenden Studie konnten Antikörper gegen PCV2 ebenfalls bei klinisch unauffälligen Sauen detektiert werden.

Lediglich die Sauen aus einem der 21 eingeschlossenen Betriebe zeigten klinische Symptome einer PCV2-RD, welche sich in Frühgeburten, Aborten und Mumien äußerte (Betrieb 21). Alle anderen Sauen zeigten keinerlei Anzeichen einer PCVD. Basierend auf diesen Ergebnissen scheinen in Bayern vor allem subklinische Infektionen mit PCV2 bei den Sauen eine Rolle zu spielen. Aufgrund der geringen Seroprävalenz und der geringen Anzahl an Betrieben, in denen der Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 möglich war, scheinen Infektionen mit PCV2 bei Sauen in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben in geringerem Ausmaß stattzufinden als anhand der in der Literatur beschriebenen Daten vermutet werden kann.

2.2. Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen in Abhängigkeit von der Parität der Sauen

Alle in der Studie untersuchten Sauen wurden in eine der drei Paritätsgruppen Jungsauen, Altsauen mit zwei bis vier Würfen oder alte Altsauen mit fünf und mehr Würfen eingeordnet. Dabei zeigte sich, dass beim Vergleich der Antikörpertiter der Sauen der drei Paritätsgruppen bei den alten Altsauen signifikant ($p < 0,001$) höhere Mengen an Antikörpern gegen PCV2 detektiert werden konnten als bei den Alt- oder Jungsauen. Die Altsauen wiesen einen allerdings statistisch nicht signifikant ($p = 0,585$) höheren mittleren Antikörpertiter im Serum auf als die Jungsauen. Beim Vergleich der nicht geimpften Sauen untereinander wurde bei den alten Altsauen ein signifikant höherer mittlerer Antikörpertiter detektiert als bei den Altsauen ($p < 0,001$) oder bei den Jungsauen ($p < 0,01$). Diese Beobachtungen decken sich mit den in der Literatur beschriebenen Verhältnissen. In einer Untersuchung von BÜGENER (1982) wurden Veränderungen der Immunglobulinfraktionen im Blut und der Milch von Sauen ab dem 90. Trächtigkeitstag bis zum 35. Tag post partum und im Blut ihrer Ferkel ebenfalls bis zum 35. Tag post partum untersucht. Dabei wurden im Serum, Kolostrum und der Milch bei den älteren Sauen höhere Mengen an IgG- und IgM-Antikörpern nachgewiesen als bei den Jungsauen. In einer Studie von GERBER et al. (2011) zeigte sich eine moderate Korrelation zwischen der Menge an Antikörpern gegen PCV2, welche im Kolostrum nachzuweisen waren, und der nachgewiesenen Antikörpermenge im Serum der Sauen. Davon ausgehend würde man bei Ferkeln von Sauen mit einem hohen Antikörpertiter einen höheren Antikörpertiter im Serum erwarten als im Serum der Ferkel von

Sauen mit niedrigeren Antikörpertitern. So konnten in einer Studie von SCHRÖDER (2001) die höchsten Konzentrationen an IgG- und IgA-Antikörpern im Serum der Ferkel von Sauen mit dem zweiten bis sechsten Wurf nachgewiesen werden. Auch in einer Untersuchung von WIELAND et al. (2009) zeigte sich, dass im Serum von Ferkeln von Sauen mit mehr als drei Würfen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit spezifische Antikörper gegen PCV2 nachzuweisen waren als im Serum von Ferkeln jüngerer Sauen. Im Gegensatz zu den Beobachtungen der vorliegenden Studie wurden in einer Untersuchung von KURMANN et al. (2011) höhere Antikörpertiter im Serum von Jungsauen als im Serum von älteren Sauen unabhängig vom Impfstatus detektiert. Allerdings handelte es sich dabei, um Sauen aus zwei schon vor der Impfung seropositiven Betrieben, mit der Diagnosestellung einer PCV2-SD in einem der beiden Betriebe (KURMANN et al., 2011). In Betrieben ohne klinische Anzeichen einer PCVD konnten bei den älteren Sauen höhere Antikörpertiter nachgewiesen werden als bei jüngeren Sauen, was dadurch erklärt werden kann, dass ältere Sauen sich während ihres Lebens mehrmals mit dem Antigen auseinander gesetzt haben. Da maternale Antikörper den Ferkeln Schutz vor der Entstehung einer klinisch manifesten PCVD zu bieten scheinen (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; OSTANELLO et al., 2005), könnten die Ferkel älterer Sauen besser geschützt sein, da sie über das Kolostrum mit mehr maternalen Antikörpern versorgt werden könnten als Ferkel jüngerer Sauen. Ferkel jüngerer Sauen könnten weniger maternale Antikörper aus dem Kolostrum aufnehmen und dadurch eher an einer PCVD erkranken als Ferkel älterer Sauen mit höheren Antikörpertitern im Serum. Somit liegt die Vermutung nahe, dass Ferkel von Jungsauen ein höheres Risiko haben an einer PCVD zu erkranken.

2.3. Antikörper gegen PCV2 im Serum der Muttersauen in Abhängigkeit von dem Impfstatus der Sauen

Im Serum von 20,5 % (42/205) der Muttersauen konnten spezifische Antikörper gegen PCV2 detektiert werden. Bei 8 der 10 Sauen des Betriebes mit Sauenimpfung wurden spezifische Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen. Hingegen waren in den Betrieben, in denen nur die Ferkel und nicht die Sauen geimpft wurden, nur 17,4 % (34/195) aller Sauen seropositiv. In der Literatur wurden bei 96,8 – 100 % der untersuchten Zuchtsauen Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2011,

2012; DIAS et al., 2013). Hierbei konnten sowohl bei geimpften als auch bei nicht geimpften Sauen Antikörper gegen PCV2 detektiert werden (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2011, 2012; DIAS et al., 2013). Allerdings wurden in diesen Studien Tiere untersucht, die als mit PCV2 infiziert galten (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2011, 2012; DIAS et al., 2013), was eine Vorauswahl der Betriebe und Studientiere vermuten lässt. So scheint es, dass in randomisiert ausgewählten Betrieben, wie in der vorliegenden Studie, ohne Impfung der Sauen Antikörper gegen PCV2 nur mit einer geringen Prävalenz nachgewiesen werden können.

In der vorliegenden Studie zeigte sich bei geimpften Sauen ein signifikant ($p < 0,001$) höherer durchschnittlicher Antikörpertiter von $1,40 \times 10^3$ EU im Vergleich zu den nicht geimpften Sauen mit durchschnittlich $1,00 \times 10^3$ EU. Auch im Vergleich der verschiedenen Paritätsgruppen nach Impfstatus wiesen die geimpften Altsauen und alten Altsauen signifikant höhere mittlere Antikörpertiter im Serum auf verglichen mit den mittleren Antikörpertitern der nicht geimpften Altsauen beziehungsweise alten Altsauen (Vergleich Altsauen $p = 0,005$; Vergleich alte Altsauen $p = 0,015$). Dies deckt sich mit den Beobachtungen in anderen Untersuchungen, in denen ebenfalls höhere Antikörpertiter im Serum geimpfter Sauen nachgewiesen wurden (GERBER et al., 2011; KURMANN et al., 2011; DVORAK et al., 2013). Es ist zu erwarten, dass bei den Sauen aus Impfbetrieben vermutlich auch höhere Antikörpermengen mit dem Kolostrum auf die Ferkel übertragen werden, als bei den nicht geimpften Sauen (GERBER et al., 2011), da GERBER et al. (2011) eine Korrelation zwischen den Antikörpertitern gegen PCV2 im Serum der Sauen und den im Kolostrum nachgewiesenen Antikörpermengen feststellten. Dies zeigte sich auch in einer Untersuchung von KURMANN et al. (2011), in welcher im Serum von Ferkeln geimpfter Sauen signifikant höhere Antikörpertiter nachgewiesen werden konnten als im Serum von Ferkeln nicht geimpfter Sauen. Auch in einer Studie von DVORAK et al. (2013) wurden hohe Mengen an IgG-Antikörpern im Kolostrum geimpfter Sauen detektiert. Da maternale Antikörper Schutz vor der Entstehung einer klinisch manifesten PCVD bieten (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; OSTANELLO et al., 2005), legen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, die sich mit den Beobachtungen aus der Literatur decken, die Vermutung nahe, dass Ferkel geimpfter Sauen durch die Aufnahme höherer Mengen maternaler Antikörper

besser geschützt sind. Ferkel nicht geimpfter Sauen könnten somit ein höheres Risiko haben an einer PCVD zu erkranken.

2.4. Antikörper gegen PCV2 im Serum der Ferkel

In der vorliegenden Studie konnten in keiner der 618 von den Ferkeln präkolostral gewonnenen Serumproben spezifische Antikörper gegen PCV2 nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu wurden in anderen Untersuchungen bei neugeborenen Ferkeln Antikörper gegen PCV2 detektiert (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). In einer Studie von SHEN et al. (2010) wurden präkolostral bei 21,4 % der Ferkel Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen und in einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) waren 5 % der präkolostral untersuchten Ferkel seropositiv. Ebenso detektierten GERBER et al. (2012) im Serum von 9 % der neugeborenen Ferkel Antikörper gegen PCV2. In einer Untersuchung von DIAS et al. (2013) war in 7 % der untersuchten Würfe mindestens ein präkolostral seropositives Ferkel. Hierbei brachten sowohl virämische als auch nicht virämische Muttersauen seropositive Ferkel zur Welt, wobei in den Würfen nicht virämischer Sauen signifikant weniger seropositive Ferkel waren (DIAS et al., 2013). Neben einer Virämie der Muttersauen sahen die Autoren ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem Antikörperstatus der Sauen und einer fetalen Exposition mit PCV2 (DIAS et al., 2013). Da in der vorliegenden Studie kein Ferkel seropositiv zur Welt kam, konnte ein Zusammenhang zwischen einem positivem PCV-Antigen- oder Antikörpernachweis im Serum der Muttersauen und dem Vorkommen seropositiv geborener Ferkel nicht untersucht werden. Die Ausbildung von spezifischen Antikörpern gegen PCV2 in utero spricht für eine Infektion mit PCV2 nach Erlangen der Immunkompetenz, also nach dem 70. Trächtigkeitstag (NIELSEN et al., 1991; MADSON et al., 2009b; GERBER et al., 2012). Werden, wie in der vorliegenden Studie, keine Antikörper gegen PCV2 zum Zeitpunkt der Geburt nachgewiesen, kann dies verschiedene Ursachen haben. Entweder fand keine intrauterine Infektion der Ferkel mit PCV2 statt oder die Infektion mit PCV2 fand kurz vor der Geburt statt, da zwei bis vier Wochen zwischen der Infektion und der Serokonversion vergehen, oder die Infektion erfolgte vor dem 70. Trächtigkeitstag, also vor dem Erlangen der Immunkompetenz (NIELSEN et al., 1991; BOLIN et al., 2001; BLANCHARD et al., 2003; MADSON et al., 2009b; STEINER et al., 2009; GERBER et al., 2012). Diese vor dem

70. Trächtigkeitstag infizierten Ferkel könnten eine besondere Bedeutung hinsichtlich der Verbreitung des Virus innerhalb der Schweinepopulation darstellen, da sie immuntolerante Trägartiere des Virus sein könnten (ALLAN et al., 1995). Allerdings würde man bei immuntoleranten Ferkeln, die vor der Ausbildung der Immunkompetenz infiziert wurden, mit dem Nachweis von PCV2-Genom im Serum mittels PCR rechnen. Ebenso wäre bei der Infektion kurz vor der Geburt ohne Ausbildung von Antikörpern gegen PCV2 der Nachweis von PCV2-Genom im Serum der Ferkel zu erwarten. Bei experimentell mit PCV2 infizierten Tieren ist nicht immer ein Virusnachweis möglich, was MCKEOWN et al. (2005) durch eine lokalisierte Virusvermehrung in lymphatischen Geweben erklären. So ist es denkbar, dass das Virus in verschiedenen Organen intrauterin infizierter Ferkel ohne eine Virämie oder Antikörper gegen PCV2 im Serum der Ferkel nachzuweisen wäre. Jedoch fand in der vorliegenden Studie keine Untersuchung der Organe oder Gewebe von Ferkeln statt, sodass diese eventuell intrauterin infizierten Ferkel ohne PCV2-Antigen oder –Antikörper im Serum nicht erfasst werden konnten. Dennoch besteht im Vergleich zu den 5 - 21,4 % seropositiv und 39,9 – 63 % virämisch geborener Ferkel in Nordamerika (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013) nur eine geringe Prävalenz intrauterin mit PCV2 infizierter Ferkel in Bayern.

3. Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

3.1. Molekularbiologische Ergebnisse der Sauenproben

3.1.1. PCV2-Genom im Serum der Sauen

Von den 205 in die Studie eingeschlossenen Sauen wurden Serumproben gewonnen und mittels real-time-PCR auf PCV2-Genom untersucht. PCV2-Genom konnte im Serum von 2,0 % (4/205) der Sauen nachgewiesen werden. Bei diesen vier zum Zeitpunkt der Abferkelung virämischen Sauen handelte es sich um nicht geimpfte Tiere. Die in der vorliegenden Studie aufgezeigte Prävalenz von PCV2 in 2,0 % der Serumproben von Sauen deckt sich mit in der Literatur beschriebenen Ergebnissen. So konnte in einer Untersuchung von WIELAND et al. (2009) in 2,7 % der Serumproben von Sauen PCV2-Genom nachgewiesen werden. In anderen Studien war PCV2-Genom in 0 % (LÓPEZ-SORIA et al.,

2005), 0,8 % (LOPEZ-SORIA et al., 2004), 3,4 % (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002), 7,6 % (CALSAMIGLIA et al., 2007) oder sogar 47,2 % (SHEN et al., 2010) der Sauen von Zuchtsauen in der Zeit um den Abferkeltermin nachweisbar, wobei angemerkt werden muss, dass zum Teil in den untersuchten Betrieben klinische Anzeichen einer PCV2-SD vorlagen (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; LÓPEZ-SORIA et al., 2005; CALSAMIGLIA et al., 2007). In einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) wurde mittels PCR im Serum von 73 % der Sauen PCV2-Genom nachgewiesen. Eine Korrelation zwischen der im Serum nachgewiesenen Virusmenge und einer Impfung der Sauen oder der Parität der Sauen schien dabei nicht zu bestehen (DVORAK et al., 2013). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Hier konnte ebenfalls keine Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2-Genom in einem der untersuchten Materialien und der Parität oder dem Impfstatus der Sauen festgestellt werden. Allerdings ist zu beachten, dass nur in einem der 21 untersuchten Betriebe eine Impfung gegen PCV2 bei den Sauen durchgeführt wurde und bei keiner Sau aus diesem Betrieb PCV2-Genom in einem der untersuchten Materialien detektiert wurde. In einer Untersuchung von DIAS et al. (2013), in welcher 143 Sauen aus drei verschiedenen Betrieben untersucht wurden und insgesamt bei 13,3 % der Sauen unabhängig von Antikörpertiter und Parität PCV2 im Serum nachgewiesen werden konnte, war ebenfalls keine der Sauen aus dem Sauenimpfbetrieb virämisch. So vermuteten diese Autoren, dass eine Impfung zwar nicht vor der Infektion mit PCV2 schützt, wie auch schon in anderen Studien beschrieben (OSTANELLO et al., 2005), aber dass durch eine Impfung Virämien bei den Muttersauen reduziert werden können (DIAS et al., 2013). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie scheinen dies zu unterstützen, da keine der geimpften Muttersauen virämisch war. Jedoch wäre zur Bestätigung dieser Annahme die Untersuchung mehrerer Betriebe mit und ohne Impfung der Muttersauen nötig.

In einer Studie von GRAU-ROMA et al. (2009) wurden Sauen und deren Nachkommen aus verschiedenen Farmen in Spanien und Dänemark untersucht. Dabei wurde PCV2-Genom im Serum von 2,3 % der Sauen aus Spanien und 29,4 % der Sauen aus Dänemark nachgewiesen (GRAU-ROMA et al., 2009). In den dänischen Betrieben entwickelte in 40,5 % der Würfe virämischer Sauen und in 37,5 % der Würfe nicht virämischer Sauen mindestens ein Ferkel klinische

Anzeichen für PCV2-SD (GRAU-ROMA et al., 2009). So sahen diese Autoren keinen Hinweis für einen Zusammenhang zwischen einer Virämie der Sauen und dem Auftreten von PCV2-SD bei ihren Ferkeln. GERBER et al. (2012) konnten keinen Zusammenhang zwischen einer Virämie der Sauen und einer Virämie ihrer Ferkel am Tag nach der Geburt feststellen. In verschiedenen Studien zeigten experimentell intranasal, oronasal oder intrauterin mit PCV2 infizierte Sauen zum Teil Reproduktionsstörungen, aber ansonsten keine weiteren klinischen Symptome einer PCVD (PENSAERT et al., 2004; PARK et al., 2005; MADSON et al., 2009b; PARK et al., 2009). Auch in der vorliegenden Studie zeigten die virämischen und PCV2-ausscheidenden Sauen, mit Ausnahme der Sauen aus Betrieb 21, keine klinischen Anzeichen einer PCVD. So scheint eine intrauterine Übertragung von PCV2 unabhängig von einer klinischen Symptomatik, einer Impfung oder dem Antikörper- oder Antigenstatus der Muttersauen geschehen zu können (MADSON et al., 2009c; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). In der vorliegenden Studie konnten bei der Muttersau des einzigen virämisch geborenen Ferkels Virusgenom und Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen werden. Allerdings waren die Fallzahlen virämisch geborener Ferkel zu gering, um daraus Rückschlüsse auf eventuelle Einflussfaktoren, wie Impfung, Antigen- oder Antikörperstatus im Serum der Muttersauen zu ziehen.

3.1.2. Ausscheidung von PCV2-Genom über Speichel, Kot und Harn der Sauen

Bei 3,9 % (8/205) der in diese Studie eingeschlossenen Sauen konnte PCV2-Genom im Speichel nachgewiesen werden. Der Nachweis von PCV2-Genom mittels PCR gelang insgesamt auf fünf der 21 Betriebe. Innerhalb dieser fünf Betriebe konnte PCV2-Genom im Speichel von 17,4 % (8/46) der Sauen detektiert werden. In einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) hingegen wurde PCV2-Genom im Speichel von 80 % der untersuchten Sauen nachgewiesen. Dabei konnte kein Unterschied in der Menge an über Speichel oder auch Kolostrum ausgeschiedenen Virus zwischen geimpften und nicht geimpften Sauen festgestellt werden (DVORAK et al., 2013). Dem gegenüber stehen Beobachtungen von GERBER et al. (2011), welche eine geringere Ausscheidung von PCV2 bei geimpften im Vergleich zu nicht geimpften Sauen feststellten, wobei diese Autoren allein die Ausscheidung von PCV2 über das Kolostrum untersuchten. In der vorliegenden Studie war keine der Sauen mit positivem

PCV2-Nachweis in einem der untersuchten Materialien geimpft. Allerdings wurde eine Impfung der Sauen gegen PCV2 auch nur in einem der 21 in die Studie eingeschlossenen Betriebe durchgeführt, sodass aufgrund der geringen Fallzahl geimpfter Sauen keine Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2 in einem der untersuchten Materialien und dem Impfstatus der Sauen festgestellt werden konnte.

In der vorliegenden Studie konnte die höchste Nachweisrate und die größte Menge an ausgeschiedenem Virus im Speichel gezeigt werden, wobei die Unterschiede zwischen den nachgewiesenen Mengen in den unterschiedlichen Materialien Serum, Speichel, Kot und Harn der Sauen nicht signifikant ($p = 0,086$) waren. In einer Untersuchung von CHIOU et al. (2011) wurde die Ausscheidung von PCV2 in zwei natürlich infizierten Betrieben beobachtet. Dabei lag die höchste Nachweisrate an ausgeschiedenem PCV2 in einem der Betriebe bei 47,4 % der Tiere über oropharyngeale und nasale Sekrete, im anderen Betrieb hingegen wurde am häufigsten eine Ausscheidung von Virus über den Kot bei 72,2 % der Tiere nachgewiesen (CHIOU et al., 2011). In verschiedenen Studien konnte jedoch kein Unterschied in der ausgeschiedenen Menge an PCV2 über die verschiedensten Materialien wie Speichel, Kot oder nasale Sekrete festgestellt werden (PATTERSON et al., 2011a; PATTERSON et al., 2011b), was sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit deckt. SEGALES et al. (2005a) wiesen jedoch bei Tieren mit klinischen Anzeichen von PCV2-SD eine höhere Virusausscheidung nach als bei klinisch unauffälligen Tieren. Dies kann durch die Beobachtungen der vorliegenden Studie bestätigt werden. Hierbei konnte PCV2-Genom in dem Betrieb mit klinischen Anzeichen einer PCV2-RD bei allen sieben untersuchten Muttersauen in mindestens einem, meist jedoch in mehreren, der untersuchten Materialien detektiert werden. Auch wurde in diesem Betrieb die höchste Ausscheidungsrate an Virus im Speichel einer Muttersau beobachtet. In den restlichen Betrieben konnte PCV2-Genom nur vereinzelt bei fünf Sauen aus vier Betrieben nachgewiesen werden. So scheinen Tiere mit klinischen Anzeichen einer PCVD im Vergleich zu klinisch unauffälligen Tieren das Virus vermehrt auszuscheiden.

In den untersuchten Einzelkotproben der Sauen konnte PCV2-Genom in Kotproben von 2,0 % (4/205) der Sauen detektiert werden. Bei alleiniger Betrachtung der fünf Betriebe mit positivem PCV2-Antigennachweis in

mindestens einem der untersuchten Materialien der Muttersauen konnte eine Virusausscheidung bei 8,7 % (4/46) der Sauen über Kot bestätigt werden. Im Gegensatz zu dieser geringen Nachweisrate von PCV2 im Kot von Sauen konnte in einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) PCV2-Genom in 40 % der Kotproben von Muttersauen nachgewiesen werden. In einer Untersuchung von YANG et al. (2003) wurde in insgesamt 20 von 29 untersuchten Kotproben von Saugferkeln PCV2-Genom mittels PCR nachgewiesen. Davon stammten vier PCR-positive Kotproben von neun Tieren mit Durchfall und 16 in der PCR positive Proben von 20 Tieren ohne Durchfall (YANG et al., 2003). So maßen diese Autoren einem möglichen fäkal-oralen Übertragungsweg von PCV2 eine große Bedeutung bei (YANG et al., 2003). In einer Untersuchung von Kotproben natürlich mit PCV2 infizierter Tiere verschiedener Altersklassen konnte eine Ausscheidung von PCV2 über den Kot bei 20,4 % der Tiere gezeigt werden (SHIBATA et al., 2003). Auch in einer Untersuchung von MCINTOSH et al. (2008) wurde eine Ausscheidung von PCV2 über Kot sowohl bei Absetzern, Ebern als auch bei laktierenden Sauen festgestellt. Die Ausscheidung von PCV2 über den Kot bei den Muttersauen konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Sowohl eine klinisch unauffällige Sau schied PCV2 über den Kot aus als auch drei Sauen, die aus dem Betrieb mit klinischen Anzeichen einer PCV2-RD stammten. Dies bestätigt zum einen die Virusausscheidung bei klinisch unauffälligen Tieren und zum anderen die vermehrte Erregerausscheidung bei an PCVD erkrankten Tieren.

In 3,2 % (6/187) aller in der vorliegenden Studie untersuchten Harnproben beziehungsweise in 15,4 % (6/39) der Harnproben von Sauen der fünf Betriebe, in denen ein positiver PCV2-Antigennachweis erfolgte, konnte PCV2-Genom mittels PCR nachgewiesen werden. Die Ausscheidung von PCV2 über Speichel, Kot und Harn wurde in der vorliegenden Studie auch bei Sauen beobachtet, bei denen kein Virus mittels PCR im Serum nachgewiesen werden konnte. Ebenso schieden sowohl virämische als auch nicht virämische Sauen in einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) PCV2 über Speichel, Kot und Kolostrum aus. Auch in anderen Studien konnte bei PCV2 ausscheidenden Tieren nicht immer eine Virämie nachgewiesen werden (SEGALES et al., 2005a; SCHMOLL et al., 2008). Dies deckt sich mit den Beobachtungen der vorliegenden Studie, in der ebenfalls sowohl virämische als auch nicht virämische

Sauen PCV2 über Speichel, Kot und Harn ausschieden. Ebenso schieden in der vorliegenden Studie Sauen, bei denen keine spezifischen Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen werden konnten PCV2 über die verschiedenen Se- und Exkrete wie Speichel, Kot oder Harn aus. In einer Untersuchung von SCHMOLL et al. (2008) konnte PCV2 ebenfalls im Sperma von seronegativen Ebern nachgewiesen werden. Aufgrund dieser Beobachtungen kann festgestellt werden, dass sich weder molekularbiologische noch serologische Untersuchungen von Blutproben zur Identifizierung von Virus ausscheidenden Schweinen eignen, weshalb hierfür eine Untersuchung der verschiedenen Se- und Exkrete notwendig ist (SCHMOLL et al., 2008). Virus ausscheidende Tiere zeigen nicht immer klinische Anzeichen einer PCVD. Dies wurde in verschiedenen Studien bei unterschiedlichen Altersklassen beobachtet. So schieden experimentell infizierte Sauen in einer Untersuchung von PARK et al. (2009) PCV2 über die Milch aus, zeigten aber keine Symptome einer PCVD. Auch bei YANG et al. (2003) schieden klinisch unauffällige Ferkel Virus über den Kot aus. Die Ausscheidung von PCV2 über Speichel, Kot und Harn bei klinisch unauffälligen Muttersauen konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Interessanterweise wurde in der vorliegenden Studie die Ausscheidung von PCV2 über Kot und Harn bei jeweils einer Muttersau bestätigt, welche seronegativ und nicht virämisch zum Zeitpunkt der Probennahme waren. Diese beiden Sauen stammten aus einem Betrieb (Betrieb 17), in dem bei keiner der neun untersuchten Muttersauen spezifische Antikörper gegen PCV2 im Serum nachgewiesen werden konnten. So wären die Sauen dieses Betriebes anhand der serologischen und molekularbiologischen Untersuchung der Serumproben der Muttersauen als unverdächtig in Hinblick auf eine Infektion mit PCV2 eingeschätzt worden. Dies legt die Vermutung nahe, dass in diesem Betrieb die Prävalenz von Antikörpern gegen PCV2 unter 10 % lag, da die Infektion ansonsten anhand der Stichprobenzahl hätte detektiert werden sollen. So scheint es, dass eine Untersuchung von Serum auf spezifische Antikörper gegen PCV2 oder auf PCV2-Genom nicht ausreicht, um eine PCV2-Infektion in einem Bestand zu detektieren, zumindest bei einer begrenzten Probenzahl wie in der vorliegenden Studie von 10 Muttersauen je Betrieb. So ist es denkbar, dass auch in den Betrieben, in denen kein positiver Antikörper- oder Antigennachweis in den verschiedenen Proben der Muttersauen festgestellt wurde, eine PCV2-Infektion vorliegen könnte, aber aufgrund einer niedrigeren Prävalenz als 10 % mit der in der Studie gewählten

Tierzahl weder Antikörper noch Antigen nachgewiesen werden konnten.

3.1.3. Ausscheidung von PCV2-Genom in Abhängigkeit einer Impfung der Sauen

In einer Untersuchung von FRAILE et al. (2012a) konnte eine Reduktion der über den Kot ausgeschiedenen Menge an PCV2 bei geimpften Tieren im Vergleich zu nicht geimpften Tieren festgestellt werden und in einer Studie von GERBER et al. (2012) schieden geimpfte Sauen weniger PCV2 über das Kolostrum aus als nicht geimpfte Sauen. Auch in einer Untersuchung von ALJETS et al. (2015) konnte in verschiedenen Betrieben nach einer Impfung der Sauen gegen PCV2 eine geringere Erregermenge im Kolostrum der Sauen nachgewiesen werden als vor der Impfung. Eine Impfung der Sauen gegen PCV2 scheint den Infektionsdruck zu senken, auch wenn keine Eradikation des Virus durch eine Impfung der Sauen möglich ist (FENG et al., 2014). In der vorliegenden Arbeit konnte eine Ausscheidung von PCV2 über Speichel, Kot oder Harn nur bei nicht geimpften Muttersauen nachgewiesen werden, was die Beobachtungen aus der Literatur unterstützt. Allerdings waren nur 10 der insgesamt 205 untersuchten Sauen gegen PCV2 geimpft, weshalb für eine Aussage über den Einfluss der Impfung auf die Ausscheidung über Se- und Exkrete weitere Studien notwendig wären.

3.1.4. Ausscheidung von PCV2 durch die Sauen und Infektionsrisiko ihrer Ferkel

Die Sauen scheinen eine wichtige Rolle hinsichtlich der Infektion ihrer Nachkommen mit PCV2 zu spielen, da sie ein Reservoir für Circoviren und andere Pathogene in kommerziellen Betrieben darstellen (MADEC et al., 2000). Eine horizontale Übertragung ist zum einen durch direkten Kontakt zum anderen indirekt durch Kontamination der Umwelt möglich (THRUSFIELD, 1995). Ob das in der vorliegenden Studie über die verschiedenen Materialien ausgeschiedene Virus infektiös war, wurde nicht eruiert. Aber die Infektion von naiven Tieren durch PCV2 in nasalen, oralen oder fäkalen Sekreten wurde in einer Untersuchung von PATTERSON et al. (2011b) gezeigt. Hierbei wurde naiven Tieren Speichel, Kot oder nasale Sekrete von experimentell mit PCV2 infizierten Schweinen intraperitoneal injiziert, nasale Sekrete intranasal verabreicht oder Kot verfüttert. Bei den über diese verschiedenen Wege infizierten Tieren konnte eine Virämie und eine Serokonversion nachgewiesen werden (PATTERSON et al.,

2011b). So ist es denkbar, dass auch das in der Studie in den verschiedenen Materialien wie Speichel, Kot und Harn nachgewiesene Virus zur Infektion naiver Tiere führen könnte. Allerdings wären weitere Untersuchungen nötig, um festzustellen, dass das ausgeschiedene Virus infektiös war.

Die Ausscheidung von PCV2 über die verschiedenen Se- und Exkrete führt zu einem hohen Infektionsrisiko der Ferkel nach der Geburt, da das Virus in der unmittelbaren Umgebung der Ferkel vorhanden ist (DVORAK et al., 2013). Zudem ist das Virus äußerst widerstandsfähig (SHIBATA et al., 2003) und kann auch nach Reinigung und Desinfektion in den Stallungen nachgewiesen werden (DVORAK et al., 2013). CHIOU et al. (2011) beobachteten eine PCV2-Ausscheidung über mehrere Wochen bei 4 bis 17 Wochen alten Schweinen. Sie betonten die Notwendigkeit verschiedene Altersklassen voneinander zu trennen, um eine Reduktion der horizontalen Übertragung von PCV2 und eine Kontrolle der Verbreitung des Virus im Betrieb zu ermöglichen (CHIOU et al., 2011). Ebenso maßen BOLIN et al. (2001) der Übertragung von PCV2 von älteren auf jüngere Tiere eine wichtige Rolle in der Verbreitung des Virus bei. Sie vermuteten hinter dem Nachweis von PCV2 in Geweben infizierter Tiere über einen längeren Zeitraum eine persistente Infektion mit PCV2, weshalb adulte, gesunde Tiere ein Erregerreservoir von PCV2 darstellen könnten (BOLIN et al., 2001), wie es auch schon in anderen Studien beobachtet wurde (SEGALES et al., 2005a; SCHMOLL et al., 2008; DVORAK et al., 2013). Eine Ausscheidung von PCV2 konnte bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Muttersauen beobachtet werden, somit könnten diese Sauen eine Infektionsquelle ihrer Ferkel während der Säugezeit darstellen. Allerdings wurde eine Erregerausscheidung bei Muttersauen zum Zeitpunkt der Abferkelung über verschiedene Se- und Exkrete, wie Speichel, Kot und Harn nur in geringem Ausmaß nachgewiesen. Dennoch erscheint, zumindest in Betrieben bei denen PCV2 von den Sauen über verschiedenste Se- und Exkrete ausgeschieden wird, aufgrund der hohen Tenazität von PCV2 gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektion (SHIBATA et al., 2003; DVORAK et al., 2013), eine Ansteckung der Ferkel während der Säugezeit möglich.

3.2. Molekularbiologische Ergebnisse der Serumproben der Ferkel

In allen von den Ferkeln präkolostral gewonnenen Serumproben konnte PCV2-Genom in 0,2 % (1/618) der Proben nachgewiesen werden. Dieses eine Ferkel war

zum Zeitpunkt der Geburt mit einer nachgewiesenen Menge von $1,00 \times 10^8$ Genomkopien/ml Serum hoch virämisch. Im Gegensatz zu der geringen Prävalenz virämisch geborener Ferkel in der vorliegenden Studie waren in einer Untersuchung von SHEN et al. (2010) 39,9 % der präkolostral beprobten Ferkel virämisch und in einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) waren 63 % der neugeborenen Ferkel virämisch. Diese beiden Studien wurden in Nordamerika durchgeführt. Bei der intrauterinen Übertragung scheint PCV2 in der Lage zu sein die Plazenta in jedem Trächtigkeitsstadien zu überwinden (PARK et al., 2005). So konnte PCV2 auch in einer Studie aus Deutschland in allen Trächtigkeitsstadien bei 27,1 % der untersuchten Proben nachgewiesen werden (RITZMANN et al., 2005). Allerdings wurde in dieser Studie ein Zusammenhang zwischen Reproduktionsproblemen und PCV2 untersucht, weshalb abortierte Feten, Mumien sowie tot und lebensschwach geborene Ferkel untersucht wurden (RITZMANN et al., 2005). Das in der vorliegenden Studie zum Zeitpunkt der Geburt virämische Ferkel stammte ebenfalls aus einem Betrieb mit Reproduktionsproblemen. Die Ursache für den Nachweis von PCV2 im Serum von nur einem Ferkel könnte an einer lokalisierten Virusvermehrung in lymphatischen Geweben während der frühen Phase der Virusvermehrung liegen (MCKEOWN et al., 2005). Diese lokalisierte Vermehrung resultiert in einer nicht detektierbaren Menge an PCV2 im Serum, weshalb auch bei experimentell mit PCV2 infizierten Tieren PCV2-Genom nicht immer nachgewiesen werden kann (MCKEOWN et al., 2005). Ein weiterer Grund für den geringen Anteil an Ferkeln, die in der vorliegenden Studie virämisch auf die Welt kamen, könnte eine vor der Geburt beendete Virämie sein. Intrauterin infizierte Ferkel werden nicht immer virämisch geboren (SHEN et al., 2010). Bei einer Infektion nach dem 70. Trächtigkeitstag sind die Feten immunkompetent (NIELSEN et al., 1991; GERBER et al., 2012) und nach der Infektion kommt es innerhalb von zwei bis vier Wochen zur Ausbildung von spezifischen Antikörpern (BLANCHARD et al., 2003; STEINER et al., 2009). So könnten intrauterin mit PCV2 infizierte Ferkel nicht virämisch geboren werden, wenn sie nach Erlangen der Immunkompetenz infiziert wurden. Außerdem wäre es möglich, dass PCV2 trotz spezifischer zellulärer und humoraler Immunantwort in verschiedenen Organen persistiert (MAGAR et al., 2000). Allerdings würde man bei einer überwundenen Virämie einen Antikörpernachweis, wie in anderen Studien beschrieben, erwarten (SHEN et al., 2010). In der vorliegenden Studie war jedoch keines der präkolostral

untersuchten Seren von Ferkeln positiv für das Vorhandensein von spezifischen Antikörpern gegen PCV2. Das Vorkommen virämisch geborener Ferkel in randomisiert ausgewählten bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben mit 0,2 % virämisch geborener Ferkel ist deutlich geringer als in den aus Nordamerika stammenden Studien, in welchen 39,9 – 63 % der Ferkel virämisch geboren wurden. So scheint eine diaplazentare Infektion der Ferkel mit PCV2 in Bayern nur mit sehr geringer Prävalenz vorzukommen. Die in die vorliegende Studie eingeschlossenen Ferkel wurden einen Tag nach Geburt, also nach Kolostrumaufnahme erneut beprobt und die postkolostralen Serumproben wiederum mittels PCR auf PCV2-Genom untersucht. Da das virämische Ferkel zu den elf Erdrückungsverlusten gehörte, konnte es am Tag nach der Geburt nicht noch einmal beprobt werden. Dadurch konnte eine eventuelle Maskierung der Virämie bei neugeborenen Ferkeln durch die Aufnahme maternaler Antikörper über das Kolostrum nicht untersucht werden.

Welche Folgen für den Fetus eine Infektion in utero haben kann, könnte zum einen vom PCV2-Genotypen zum anderen vom Zeitpunkt an dem der Fetus infiziert wird abhängen (FARNHAM et al., 2003). Eine diaplazentare Infektion der Feten mit PCV2 kann zu fetalem Tod, Mumifikation der Feten und Aborten führen, vor allem in Betrieben, in denen eine PCV2-Infektion zum ersten Mal auftritt (WEST et al., 1999; O'CONNOR et al., 2001; BRUNBORG et al., 2007). In verschiedenen Studien wurden naive Sauen durch eine Besamung mit PCV2-versetztem Sperma (MADSON et al., 2009b), intranasal (PARK et al., 2005) oder durch direkte Inokulation von PCV2 in die Feten (SANCHEZ et al., 2001; PENSAERT et al., 2004) mit PCV2 infiziert und die Folgen für die Muttersauen und die Ferkel untersucht. Es kam zum Teil zu Aborten, Frühgeburten, Mumien, aber auch lebensfähige Ferkel wurden geboren (PARK et al., 2005; MADSON et al., 2009b). Dabei konnte PCV2-DNA in verschiedenen Organen wie Herz, Lymphknoten, Milz, Thymus, Lunge, Tonsillen und Leber, sowohl bei den tot- als auch bei den lebendgeborenen Ferkeln nachgewiesen werden (SANCHEZ et al., 2001; PENSAERT et al., 2004; PARK et al., 2005). PCV2 scheint sich nur langsam im Uterus von Fetus zu Fetus zu verbreiten und ein fetaler Tod zu allen Trächtigkeitsstadien möglich zu sein, unabhängig von der Immunkompetenz der Feten (PENSAERT et al., 2004). In einer Untersuchung von SAHA et al. (2010) wurden nicht immunkompetente Ferkel am 55. Tag der Trächtigkeit mit PCV2

infiziert. Nach 21 Tagen waren 11 von 12 infizierten Feten ödematös und hatten ein aufgeblähtes Abdomen. Die inneren Organe wiesen Hämorrhagien und Stauungen auf und die Lebern der Feten waren vergrößert (SAHA et al., 2010). Die Autoren konnten hohe Mengen an PCV2 vor allem im Herzen, der Milz und der Leber nachweisen und bestätigten damit, dass das Herz ein wichtiges Zielorgan für die Vermehrung von PCV2 in Feten darstellt (WEST et al., 1999; O'CONNOR et al., 2001; SANCHEZ et al., 2001). Eine Untersuchung des Abortmaterials und der Mumien aus Betrieb 21 auf PCV2 erfolgte im Rahmen dieser Studie nicht, aber das plötzliche Auftreten von Aborten und Mumien in Verbindung mit dem Nachweis von PCV2 bei den Sauen lässt vermuten, dass es sich bei diesem Betrieb um einen vorher naiven Betrieb mit dem ersten Eintrag von PCV2 handeln könnte.

Die Mumien aus einer Untersuchung von MADSON et al. (2009b) hatten unterschiedliche Kopf-Steiß-Längen von 7 – 27 cm, was die Autoren mit einem fetalen Tod zwischen dem 42. und 105. Trächtigkeitstag erklärten (MADSON et al., 2009b). Auch die Muttersau des virämisch geborenen Ferkels der vorliegenden Studie brachte neben lebensfähigen Ferkeln Mumien verschiedener Größe auf die Welt, was auf unterschiedliche Todeszeitpunkte der Feten hindeutet. Die verschiedenen Zeitpunkte, an denen die Feten abstarben, könnten durch verschiedene Infektionszeitpunkte in utero, resultierend aus einer langen Virämie der Muttersau und dadurch mögliche unterschiedliche Übertragungszeitpunkte von der Sau auf die Feten oder durch eine Übertragung von PCV2 von Fetus zu Fetus erklärt werden (MADSON et al., 2009b).

Bei der Muttersau des virämisch geborenen Ferkels konnten zum Zeitpunkt der Abferkelung sowohl spezifische Antikörper gegen PCV2 im Serum als auch PCV2-Genom im Serum, Speichel, Kot, und Harn nachgewiesen werden. In anderen Studien wurde auch bei Ferkeln nicht virämischer Muttersauen PCV2-Genom detektiert (DIAS et al., 2013; DVORAK et al., 2013). Neben einer Virämie der Muttersauen scheint auch der Antikörperstatus der Sauen keinen Einfluss auf eine Infektion der Ferkel in utero zu haben (DIAS et al., 2013). Ein Zusammenhang zwischen dem Antigen- oder Antikörperstatus der Muttersauen und dem Vorkommen virämisch geborener Ferkel konnte in der vorliegenden Studie aufgrund der zu geringen Fallzahlen virämisch geborener Ferkel nicht untersucht werden. Die geringe Nachweisrate an virämisch geborenen Ferkeln in

der vorliegenden Studie führen zu der Annahme, dass eine diaplazentare Infektion der Ferkel in Bayern von geringer Bedeutung zu sein scheint. Wie in einer Studie von DVORAK et al. (2013) festgestellt wurde, ist PCV2 in der unmittelbaren Umgebung der Ferkel nachweisbar, weshalb eine Infektion nicht nur intrauterin, sondern auch kurze Zeit post partum vorstellbar ist. Ein Nachweis von PCV2-Genom im Serum, Speichel, Kot oder Harn der Muttersauen konnte in fünf der 21 untersuchten Betriebe festgestellt werden. Es ist vorstellbar, dass sich PCV2 durch die hohe Tenazität in der Umgebung der ausscheidenden Sauen anreichert und die Ferkel in eine mit PCV2 kontaminierte Umwelt geboren werden, wie es in anderen Studien beschrieben wird (SHIBATA et al., 2003; DVORAK et al., 2013). So ist eine Infektion der Ferkel im Zeitraum nach der Geburt trotz der geringen Nachweisraten von PCV2 bei den Sauen in Betrieben, in denen eine Erregerausscheidung bei die Sauen stattfindet, denkbar auch wenn in der vorliegenden Studie in keiner postkolostralen Serumprobe der Ferkel PCV2-Genom nachgewiesen werden konnte.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Studie war es die Prävalenz intrauteriner Infektionen mit PCV2 bei Ferkeln in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben zu bestimmen. Zusätzlich wurde der Infektionsstatus der Muttersauen bezüglich PCV2 und die Ausscheidung von PCV2 durch die Sauen erfasst. Um eine Aussage über die Prävalenz einer intrauterinen Übertragung von PCV2 in Bayern treffen zu können, wurde eine zweistufige Klumpenstichprobe durchgeführt. Die Betriebe wurden so gewählt, dass sie sich entsprechend der regional unterschiedlichen Dichte an ferkelerzeugenden Betrieben über die sieben Regierungsbezirke Bayerns verteilen. Insgesamt wurden aus 21 Betrieben 205 Muttersauen mit 618 dazugehörigen Ferkeln in die Studie eingeschlossen. Die Blutprobenentnahme bei den Ferkeln erfolgte präkolostral direkt nach der Geburt, um virämische Ferkel zu erfassen, und am Tag nach der Geburt, um eine eventuelle Reduktion der Virämie nach Kolostrum- und somit Antikörperaufnahme zu detektieren. Die Blutprobenentnahme, Kot- und Speichelgewinnung bei den Muttersauen erfolgte ebenfalls am Tag nach der Geburt. In jedem Betrieb wurde versucht, von je 10 Sauen Harn bei Spontanabsatz zu sammeln. Von jedem Ferkel wurde unmittelbar nach der Geburt das Gewicht bestimmt. Die präkolostralen Serumproben der Ferkel und die Serumproben der Muttersauen wurden mittels ELISA auf spezifische Antikörper (IgG) gegen PCV2 getestet. Alle prä- und postkolostral gewonnenen Serumproben der Ferkel und die Serum-, Speichel-, Kot- und Harnproben der Sauen wurden mittels real-time-PCR auf PCV2-Genom untersucht. In den Serumproben aller 205 in der Studie untersuchten Muttersauen konnten spezifische Antikörper gegen PCV2 mit einer Prävalenz von 20,5 % (42/205) nachgewiesen werden. Antikörper gegen PCV2 aus dem Serum von Sauen waren auf 12 der 21 Betriebe nachweisbar, wodurch sich eine Seroprävalenz innerhalb dieser seropositiven Herden von 35,9 % (42/117) ergab. Dabei zeigte sich, dass die Sauen mit fünf und mehr Würfen signifikant höhere Antikörpertiter aufwiesen als die Sauen mit zwei bis vier Würfen oder die Jungsauen. Insgesamt konnte aus 2,7 % (22/802) aller untersuchten Proben (Serum-, Speichel-, Kot- und Harnproben) von den Sauen PCV2-Genom nachgewiesen werden. Der Nachweis spezifischer Genomfragmente von PCV2 gelang auf fünf Betrieben. Innerhalb dieser fünf konnte die höchste Nachweisrate PCV2-positiver Proben im Speichel

mit 17,4 % (8/46) positiver Proben festgestellt werden, gefolgt von Harn mit 15,4 % (6/39) sowie Serum und Kot mit jeweils 8,7 % (4/46) positiver Proben. Es konnte kein signifikanter Unterschied in der nachgewiesenen Virusmenge zwischen den verschiedenen Materialien festgestellt werden. Eine Erregerausscheidung konnte sowohl bei seropositiven, als auch bei seronegativen Sauen nachgewiesen werden. Zwei Sauen, bei denen PCV2 bei einer Sau im Kot und bei einer Sau im Harn nachgewiesen wurde und die nicht virämisch waren, stammten aus einem Betrieb, in welchem keine der untersuchten Sauen seropositiv war. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Antikörperstatus der Sauen und deren Virusausscheidung über die verschiedenen Materialien wurde nicht beobachtet. In keiner der insgesamt 618 untersuchten präkolostralen Serumproben der Ferkel konnten spezifische Antikörper gegen PCV2 nachgewiesen werden. Ein Ferkel war zum Zeitpunkt der Geburt virämisch (0,2 %; 1/618). Da elf Ferkel, darunter auch das virämisch geborene Ferkel, in der Zeit zwischen dem ersten und zweiten Beprobungstermin von den Muttersauen erdrückt wurden, konnten 607 Ferkel postkolostral am Tag nach der Geburt untersucht werden. Zu diesem Zeitpunkt war kein Ferkel virämisch. Das mittlere Geburtsgewicht aller in der Studie untersuchten Ferkel lag bei 1,40 kg. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Geburtsgewichten und dem Nachweis von Antikörpern (quantitativ und qualitativ) oder dem Nachweis von PCV2 bei den Muttersauen. Jedoch waren die Ferkel von Jungsauen mit dem ersten Wurf signifikant leichter als die Ferkel von Sauen mit zwei bis vier oder fünf und mehr Würfen.

Diese Ergebnisse bezüglich der intrauterinen Infektion von Ferkeln mit PCV2 in bayerischen ferkelerzeugenden Betrieben stehen im deutlichen Gegensatz zu den Ergebnissen aus Nordamerika und zeigen, dass die intrauterine Erregerübertragung in Bayern von geringer Bedeutung ist. Eine Erregerausscheidung konnte bei Muttersauen über verschiedene Se- und Exkrete, wie Speichel, Kot und Harn nur in geringem Ausmaß nachgewiesen werden. Dennoch erscheint, zumindest in Betrieben bei denen PCV2 von den Sauen ausgeschieden wird, aufgrund der hohen Tenazität von PCV2 gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektion, eine Ansteckung der Ferkel während der Sägezeit möglich.

VII. SUMMARY

The aim of this study was to determine the prevalence of intrauterine infection of piglets with PCV2 in Bavarian piglet-producing farms. Furthermore, the status of infection of the sows with PCV2 as well as the shedding of PCV2 by the sows were recorded. A two-stage cluster sample was performed to determine the prevalence of an intrauterine infection with PCV2 in Bavaria. Therefore, the Federal state of Bavaria was divided in its seven administrative districts. The farms were chosen in relation to the regionally differing concentration of piglet producers in every administrative district in Bavaria. All in all, 205 sows with their 618 piglets of 21 farms were included in this study. The piglets' first blood samples were taken presuckly directly after being born in order to detect viremic piglets. The second blood sample was taken on the next day to record a possible reduction of the viremia after the intake of colostrum and consequently antibodies. Blood, feces and saliva samples were taken from the sows one day after birth. At each farm it was attempted to collect 10 spontaneous urine samples from the sows. The weight of the piglets was measured directly after birth. The presuckle serum samples of the piglets as well as the serum samples of the sows were tested with an ELISA on specific anti-PCV2 antibodies (IgG). All serum samples of the piglets taken before and after intake of colostrum as well as all serum, saliva, feces and urine samples of the sows were tested with a real-time-PCR for PCV2 genome. In the serum samples of all 205 tested sows anti-PCV2 antibodies were detected with a prevalence of 20.5 % (42/205). 12 of the 21 tested farms showed anti-PCV2 antibodies in the serum samples of the sows, i.e. a seroprevalence of 35.9 % (42/117) in these seropositive herds. Sows with five or more litters had significantly higher antibody titers than sows with two to four litters or gilts. In altogether 2.7 % (22/802) of all tested samples (serum, saliva, feces and urine) of the sows PCV genome was detected. The evidence of specific PCV2 genome fragments was detected in five farms. The highest detection rate in these five farms was found in saliva with 17.4 % (8/46) positive samples, followed by urine with 15.4 % (6/39) and serum and feces with each 8.7 % (4/46) positive samples. There was no significant difference in the detected amount of virus in the different sample materials. A shedding of virus was detected in seropositive as well as in seronegative sows. Two non-viremic sows which tested positive for PCV2 in

feces or in urine came from a farm where none of the tested sows were seropositive. A significant correlation between the antibody status of the sows and their shedding of virus via the different excretory routes could not be demonstrated. None of the altogether 618 presuckle serum samples of the piglets showed specific anti-PCV2 antibodies. One piglet was viremic at the time of birth (0.2 %; 1/618). Eleven piglets, including the one viremic-born piglet, were crushed to death by the sows between the two sample dates. Thus, 607 piglets could be tested 24 hours after birth. At this time point none of the piglets was viremic. The mean birth weight of all tested piglets was 1.40 kg. There was no significant correlation between the weight at birth and the positive evidence of antibodies (quantitatively and qualitatively) or the detection of PCV2 in the sows. However, the gilts' piglets were significantly more lightweight than the piglets from sows with two to four and sows with five or more litters.

These results regarding the intrauterine infection of piglets with PCV2 in Bavarian piglet producing farms are in stark contrast to the results from North America. It was shown that the intrauterine transfer of virus is of less significance in Bavaria. A shedding of virus by sows via saliva, feces and urine was detected only to a minor extent. At least in farms with PCV2 shedding by the sows an infection of the piglets during lactation seems possible because of the high tenacity of PCV2 against environmental influences and disinfection.

VIII. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| <i>Abbildung 1: Mittelwerte der Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) nach Betrieben mit positiver Standardabweichung.....</i> | <i>37</i> |
| <i>Abbildung 2: Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Parität (n = 205), unterschiedliche Buchstaben a und b kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,001$.....</i> | <i>40</i> |
| <i>Abbildung 3: Mittelwerte der serologischen Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Impfstatus und Parität (n = 205).....</i> | <i>42</i> |
| <i>Abbildung 4: Anzahl PCV2-Antigen positiver Betriebe (n = 5) von allen Betrieben (n = 21) nach Untersuchungsmaterial.....</i> | <i>44</i> |
| <i>Abbildung 5: Prozentualer Anteil PCV2-Antigen positiven Proben an allen untersuchten Sauenproben nach Untersuchungsmaterial (n = 205, bzw. für *Harn n = 187).....</i> | <i>45</i> |
| <i>Abbildung 6: Anzahl PCV2-positiver Proben nach Material und Paritätsgruppe der Sauen (n = 205, bzw. für *Harn n = 187).....</i> | <i>47</i> |
| <i>Abbildung 7: Mittelwerte der molekularbiologischen Ergebnisse der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Materialien Serum (n = 4), Speichel (n = 8), Kot (n = 4) und Harn (n = 6) in Genomkopien/ml Untersuchungsmaterial (bzw. für *Kot 100 mg) in log₁₀.....</i> | <i>47</i> |
| <i>Abbildung 8: Mumien der Sau 21.2.</i> | <i>50</i> |

IX. TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 1: Durch PCV2 ausgelöste Krankheitsbilder nach SEGALLES (2012).....</i> | <i>5</i> |
| <i>Tabelle 2: Bestimmung des Infektionszeitpunktes nach Ingezim PCV IgG[®] and Ingezim IgM[®] (Ingenasa).....</i> | <i>11</i> |
| <i>Tabelle 3: Möglicher präkolostraler PCV2-Infektionsstatus nach SHEN et al. (2010) (+ Nachweis positiv; - kein Nachweis).....</i> | <i>19</i> |
| <i>Tabelle 4: Auswahl der Studienbetriebe (nach Daten des Statistischen Bundesamtes, Stand: 3. Nov. 2012).....</i> | <i>26</i> |
| <i>Tabelle 5: Regierungsbezirke und Tierzahlen je Betrieb.....</i> | <i>27</i> |
| <i>Tabelle 6: Blutentnahmezeitpunkt und Anzahl untersuchter Tiere</i> | <i>28</i> |
| <i>Tabelle 7: Primer und Sonde der durchgeführten real-time-PCR nach ZHAO et al. (2010), modifiziert</i> | <i>33</i> |
| <i>Tabelle 8: Zusammensetzung des in der real-time-PCR verwendeten Primer-Sonden-Mixes mit prozentualem Anteil jedes Reagenzes in %</i> | <i>34</i> |
| <i>Tabelle 9: Einteilung aller Sauen nach Paritätsgruppe und Zuordnung der Ferkel zur Paritätsgruppe der Muttersauen.....</i> | <i>36</i> |
| <i>Tabelle 10: Durchschnittliche Geburtsgewichte aller Ferkel nach Parität der Muttersauen in Kilogramm (kg) (n = 618)</i> | <i>36</i> |
| <i>Tabelle 11: Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) auf Betriebsebene (n = 21) mit Betriebsstatus (unverdächtig -; positiv +).....</i> | <i>38</i> |
| <i>Tabelle 12: Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Seren aller Sauen (n = 205) in ELISA-Units (EU) nach Betriebsstatus (positiv +; unverdächtig -).</i> | <i>39</i> |
| <i>Tabelle 13: Serologische Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Parität (n = 205).....</i> | <i>41</i> |
| <i>Tabelle 14: Serologische Ergebnisse der Seren aller Sauen in ELISA-Units (EU) nach Impfstatus und Parität (n = 205)</i> | <i>42</i> |
| <i>Tabelle 15: Unterteilung der PCR-positiven Proben in den Betrieben mit positivem PCV-Antigennachweis (n = 5) nach Untersuchungsmaterial der Sauen</i> | <i>46</i> |
| <i>Tabelle 16: Molekularbiologische Ergebnisse der PCV2-positiven Proben der verschiedenen Materialien Serum (n = 4), Speichel (n = 8), Kot (n = 4) und Harn (n = 6) in Genomkopien/ml Untersuchungsmaterial (bzw. für *Kot 100 mg).....</i> | <i>48</i> |
| <i>Tabelle 17: Molekularbiologische Ergebnisse der Sauen mit Sauennummer (SN)</i> | |

| | |
|---|-----------|
| <i>in Genomkopien/ml (bzw. für Kot 100mg) nach Betrieb und Paritätsgruppe mit ELISA-Ergebnis (EE) (+ positiv, - negativ).....</i> | <i>49</i> |
|---|-----------|

X. LITERATURVERZEICHNIS

Aljets K, Rippel N, Brinkmann M, Lehman J, Thacker BJ (2015) Diagnostic and control strategies for managing PCV2 in the breeding herd. 46th Annual Meeting of the American Association Of Swine Veterinarians. Orlando, USA. 393-4.

Allan GM, McNeilly F, Cassidy JP, Reilly GAC, Adair B, Ellis WA, McNulty MS. Pathogenesis of porcine circovirus; experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Vet Microbiol* 1995; 44: 49-64.

Allan GM, McNeilly F, Kennedy S, Daft B, Clarke EG, Ellis JA, Haines DM, Meehan BM, Adair BM. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *J Vet Diagn Invest* 1998; 10: 3-10.

Allan GM, Mc Neilly F, Meehan BM, Kennedy S, Mackie DP, Ellis JA, Clark EG, Espuna E, Saubi N, Riera P, Bøtner A, Charreyre CE. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 1999a; 66: 115-23.

Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, Foster JC, Ellis JA, Krakowka SJ, Meehan BM, Adair BM. Experimental Reproduction of Severe Wasting Disease by Co-infection of Pigs with Porcine Circovirus and Porcine Parvovirus. *J Comp Pathol* 1999b; 121: 1-11.

Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 3-14.

Baro J, Segales J, Martinez J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: An independent condition or part of the systemic disease? *Vet Microbiol* 2015; 176: 83-7.

Baumgartner M, Brugnera E, Sydler T, Burgi E, Hassig M, Sidler X. Risk factors causing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) onset in Swiss

pig farms. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2012; 154: 429-36.

Blanchard P, Mahe D, Cariolet R, Truong C, Le Dimna M, Arnauld C, Rose N, Eveno E, Albina E, Madec F, Jestin A. An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Microbiol* 2003; 94: 183-94.

Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GP, Hamel AL. Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 185-94.

Brunborg IM, Moldal T, Jonassen CM. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *J Virol Methods* 2004; 122: 171-8.

Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 368-75.

Brunborg IM, Fossum C, Lium B, Blomqvist G, Merlot E, Jorgensen A, Eliasson-Selling L, Rimstad E, Jonassen CM, Wallgren P. Dynamics of serum antibodies to and load of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs in three finishing herds, affected or not by postweaning multisystemic wasting syndrome. *Acta Vet Scand* 2010; 52: 22.

Bügener B. Untersuchungen über die quantitativen Veränderungen von Lactoferrin, Lysozym und der Immunglobulinfraktionen im Blut und in der Milch von Sauen sowie im Blut ihrer Ferkel. Diss. agr. 1982. Justus Liebig-Universität Gießen.

Calsamiglia M, Segales J, Quintana J, Rosell C, Domingo M. Detection of porcine

circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1848-50.

Calsamiglia M, Fraile L, Espinal A, Cuxart A, Seminati C, Martin M, Mateu E, Domingo M, Segales J. Sow porcine circovirus type 2 (PCV2) status effect on litter mortality in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Res Vet Sci* 2007; 82: 299-304.

Carasova P, Celer V, Takacova K, Trundova M, Molinkova D, Lobova D, Smola J. The levels of PCV2 specific antibodies and viremia in pigs. *Res Vet Sci* 2007; 83: 274-8.

Chae C. Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. *Vet J* 2004; 168: 41-9.

Chae C. An emerging porcine circovirus type 2b mutant (mPCV2b) originally known as PCV2d. *Vet J* 2015; 203: 6-9.

Cheung AK, Lager KM, Kohutyuk OI, Vincent AL, Henry SC, Baker RB, Rowland RR, Dunham AG. Detection of two porcine circovirus type 2 genotypic groups in United States swine herds. *Arch Virol* 2007; 152: 1035-44.

Chiou MT, Yang CY, Chang TC, Chen C, Lin CF, Ye LJ. Shedding pattern and serological profile of porcine circovirus type 2 infection in cesarean-derived, colostrum-deprived and farm-raised pigs. *J Vet Med Sci* 2011; 73: 521-5.

Choi C, Chae C. In-situ Hybridization for the Detection of Porcine Circovirus in Pigs with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome. *J Comp Pathol* 1999; 121: 265-70.

Choi C, Chae C. Distribution of Porcine Parvovirus in Porcine Circovirus 2-infected Pigs with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome as shown by

In-situ Hybridization. *J Comp Pathol* 2000; 123: 302-5.

Choi C, Chae C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephrology syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol* 2001; 38: 436-41.

Chung WB, Chan WH, Chaung HC, Lien Y, Wu CC, Huang YL. Real-time PCR for quantitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in naturally-infected and challenged pigs. *J Virol Methods* 2005; 124: 11-9.

de Boissesson C, Beven V, Bigarre L, Thiery R, Rose N, Eveno E, Madec F, Jestin A. Molecular characterization of Porcine circovirus type 2 isolates from post-weaning multisystemic wasting syndrome-affected and non-affected pigs. *J Gen Virol* 2004; 85: 293-304.

Dias AS, Gerber PF, Araújo AS, Auler PA, Gallinari GC, Lobato ZIP. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Res Vet Sci* 2013; 94: 341-5.

Dupont K, Nielsen EO, Baekbo P, Larsen LE. Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Vet Microbiol* 2008; 128: 56-64.

Dvorak CM, Lilla MP, Baker SR, Murtaugh MP. Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Vet Microbiol* 2013; 166: 365-74.

Eddicks M, Fux R, Szikora F, Eddicks L, Majzoub-Altweck M, Hermanns W, Sutter G, Palzer A, Banholzer E, Ritzmann M. Detection of a new cluster of porcine circovirus type 2b strains in domestic pigs in Germany. *Vet Microbiol* 2015. [dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.013](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.013)

Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Todd D, Haines D. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 1998; 39: 44-51.

Farnham MW, Choi YK, Goyal SM, Joo HS. Isolation and characterization of porcine circovirus type-2 from sera of stillborn fetuses. *Can J Vet Res* 2003; 67: 108-13.

Feng H, Blanco G, Segales J, Sibila M. Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Vet Microbiol* 2014; 172: 92-9.

Fraile L, Grau-Roma L, Sarasola P, Sinovas N, Nofrarias M, Lopez-Jimenez R, Lopez-Soria S, Sibila M, Segales J. Inactivated PCV2 one shot vaccine applied in 3-week-old piglets: improvement of production parameters and interaction with maternally derived immunity. *Vaccine* 2012a; 30: 1986-92.

Fraile L, Sibila M, Nofrarías M, López-Jimenez R, Huerta E, Llorens A, López-Soria S, Pérez D, Segalés J. Effect of sow and piglet porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on piglet mortality, viraemia, antibody titre and production parameters. *Vet Microbiol* 2012b; 161: 229-34.

Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne MH, Houde A, Elahi SM. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 2007; 48: 811-9.

Gagnon CA, Music N, Fontaine G, Tremblay D, Harel J. Emergence of a new type of porcine circovirus in swine (PCV): a type 1 and type 2 PCV recombinant. *Vet Microbiol* 2010; 144: 18-23.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AM, Lobato ZI. Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *Vet J* 2011; 188: 240-2.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AM, Lobato ZI. Fetal infections and antibody profiles in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Can J Vet Res* 2012; 76: 38-44.

Grau-Roma L, Segales J. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) in Spain. *Vet Microbiol* 2007; 119: 144-51.

Grau-Roma L, Hjulsgaard CK, Sibila M, Kristensen CS, Lopez-Soria S, Enoe C, Casal J, Botner A, Nofrarias M, Bille-Hansen V, Fraile L, Baekbo P, Segales J, Larsen LE. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet Microbiol* 2009; 135: 272-82.

Guo L, Fu Y, Wang Y, Lu Y, Wei Y, Tang Q, Fan P, Liu J, Zhang L, Zhang F, Huang L, Liu D, Li S, Wu H, Liu C. A porcine circovirus type 2 (PCV2) mutant with 234 amino acids in capsid protein showed more virulence in vivo, compared with classical PCV2a/b strain. *PLoS One* 2012; 7: e41463.

Guo LJ, Lu YH, Wei YW, Huang LP, Liu CM. Porcine circovirus type 2 (PCV2): genetic variation and newly emerging genotypes in China. *Virology* 2010; 7: 273.

Ha Y, Lee YH, Ahn KK, Kim B, Chae C. Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Vet Pathol* 2008; 45: 842-8.

Haake M, Palzer A, Rist B, Weissenbacher-Lang C, Fachinger V, Eggen A, Ritzmann M, Eddicks M. Influence of age on the effectiveness of PCV2 vaccination in piglets with high levels of maternally derived antibodies. *Vet Microbiol* 2014; 168: 272-80.

Hamel AL, Lin LL, Nayar GP. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol* 1998; 72: 5262-7.

Hamel AL, Lin LL, Sachvie C, Grudeski E, Nayar GP. PCR detection and characterization of type-2 porcine circovirus. *Can J Vet Res* 2000; 64: 44-52.

Hansen MS, Pors SE, Jensen HE, Bille-Hansen V, Bisgaard M, Flachs EM, Nielsen OL. An Investigation of the Pathology and Pathogens Associated with Porcine Respiratory Disease Complex in Denmark. *J Comp Pathol* 2010; 143: 120-31.

Harding JCS, Clark EG. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Swine Health Prod* 1997; 5: 201-3.

Heinze A, Rau K. Steigende Wurfgrößen - mehr verwertbare Ferkel? Thüringer Ministerium für Landwirtschaft, Naturschutz und Umwelt 2007: <http://www.tll.de/ainfo/pdf/wurf0807.pdf>. Zugriff am 17.02.2015.

Ilyina TV, Koonin EV. Conserved sequence motifs in the initiator proteins for rolling circle DNA replication encoded by diverse replicons from eubacteria, eucaryotes and archaeobacteria. *Nucleic Acids Res* 1992; 20: 3279-85.

Kennedy S, Moffett D, McNeilly F, Meehan B, Ellis J, Krakowka S, Allan GM. Reproduction of Lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by Infection of Conventional Pigs with Porcine Circovirus Type 2 Alone or in Combination with Porcine Parvovirus. *J Comp Pathol* 2000; 122: 9-24.

Kim J, Chae C. Differentiation of porcine circovirus 1 and 2 in formalin-fixed, paraffin-wax-embedded tissues from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome by in-situ hybridisation. *Res Vet Sci* 2001; 70: 265-9.

Kim J, Han DU, Choi C, Chae C. Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1

and PCV-2 in boar semen using a multiplex nested polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2001; 98: 25-31.

Kim J, Chung HK, Chae C. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet J* 2003; 166: 251-6.

Kim J, Chae C. A comparison of virus isolation, polymerase chain reaction, immunohistochemistry, and in situ hybridization for the detection of porcine circovirus 2 and porcine parvovirus in experimentally and naturally coinfecting pigs. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 45-50.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* 2004a; 68: 218-21.

Kim J, Jung K, Chae C. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *Vet Rec* 2004b; 155: 489-92.

Kixmüller M, Ritzmann M, Eddicks M, Saalmüller A, Elbers K, Fachinger V. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 2008; 26: 3443-51.

Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F, Allan G. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Vet Pathol* 2000; 37: 254-63.

Kurmann J, Sydler T, Brugnera E, Bürgi E, Haessig M, Suter M, Sidler X. Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 1644-9.

Larochelle R, Magar R, D'Allaire S. Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting

syndrome. *Can J Vet Res* 2003; 67: 114-20.

Liu J, Chen I, Du Q, Chua H, Kwang J. The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo. *J Virol* 2006; 80: 5065-73.

Lopez-Soria S, Segales J, Nofrarias M, Calsamiglia M, Ramirez H, Minguez A, Serrano IM, Marin O, Callen A. Genetic influence on the expression of PCV disease. *Vet Rec* 2004; 155: 504.

López-Soria S, Segales J, Nofrarias M, Calsamiglia M, Ramirez A, Mínguez A, Serrano JM, Marín O, Callén A (2005) Evidence of genetics influence on the expression of porcine circovirus disease (PCVD) in postweaning pigs. 36th Annual Meeting of the American Association Of Swine Veterinarians. Toronto, Kanada. 391-3.

Lukert P, de Boer GF, Dale JL, Keese P, McNulty MS, Randles JW, Tisher I. The Circoviridae. In: *Virus Taxonomy. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martelli GP, Mayo MA, Summers MD, eds.: Springer Verlag 1995: 166-8.

Madec F, Enevo E, Morvan P, Hamon L, Morvan H, Albina E, Truong C, Hutet E, Cariolet R, Arnault C, Jestin A. La maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) en France. 1. Aspects descriptifs, impact en élevage. *Journées de la Rech. Porcine en France* 1999; 31: 347-54.

Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Blanchard P, Cariolet R, Amenna N, Morvan H, Truong C, Mahé D, Albina E, Jestin A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. *Livest Prod Sci* 2000; 63: 223-33.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Effect of natural or vaccine-induced porcine circovirus type 2 (PCV2) immunity on fetal infection after artificial insemination with PCV2 spiked semen.

Theriogenology 2009a; 72: 747-54.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 2009b; 46: 707-16.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of the dam on PCV2 replication in utero. *Clin Vaccine Immunol* 2009c; 16: 830-4.

Magar R, Larochelle R, Thibault S, Lamontagne L. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study. *J Comp Pathol* 2000; 123: 258-69.

Majzoub M, Ritzmann M, Truyen U, Matiasek K, Heinritzi K, Hermanns W. Porzines Dermatitis-Nephropathie-Syndrom (PDNS) – eine Übersicht über pathomorphologische Veränderungen. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2005; 33: 169-41.

Mankertz A, Domingo M, Folch JM, LeCann P, Jestin A, Segales J, Chmielewicz B, Plana-Duran J, Soike D. Characterisation of PCV-2 isolates from Spain, Germany and France. *Virus Res* 2000; 66: 65-77.

Mateusen B, Maes DGD, Van Soom A, Lefebvre D, Nauwynck HJ. Effect of a porcine circovirus type 2 infection on embryos during early pregnancy. *Theriogenology* 2007; 68: 896-901.

McIntosh KA, Harding JC, Ellis JA, Appleyard GD. Detection of Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in naturally infected pigs in a farrow-to-finish barn. *Can J Vet Res* 2006; 70: 58-61.

McIntosh KA, Harding JC, Parker S, Krakowka S, Allan G, Ellis JA. Quantitative polymerase chain reaction for Porcine circovirus-2 in swine feces in a Porcine

circovirus disease-affected commercial herd and a nonaffected commercial herd. *Can Vet J* 2008; 49: 1189-94.

McKeown NE, Opriessnig T, Thomas P, Guenette DK, Elvinger F, Fenaux M, Halbur PG, Meng XJ. Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1347-51.

McNeilly F, Kennedy S, Moffett D, Meehan BM, Foster JC, Clarke EG, Ellis JA, Haines DM, Adair BM, Allan GM. A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Virol Methods* 1999; 80: 123-8.

Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol* 1998; 79: 2171-9.

Müller K, Müller U, Begrfeld U. Ergebnisse aus einem Jahr Ferkelwiegen. *Schweinezucht aktuell* 2006; 28: 33-4.

Nawagitgul P, Morozov I, Bolin SR, Harms PA, Sorden SD, Paul PS. Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. *J Gen Virol* 2000; 81: 2281-7.

Nielsen J, Ronsholt L, Sorensen KJ. Experimental in utero infection of pig foetuses with porcine parvovirus (PPV). *Vet Microbiol* 1991; 28: 1-11.

O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G, Ellis JA. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can Vet J* 2001; 42: 551-3.

Oh Y, Seo HW, Han K, Park C, Chae C. Protective effect of the maternally derived porcine circovirus type 2 (PCV2)-specific cellular immune response in piglets by dam vaccination against PCV2 challenge. *J Gen Virol* 2012; 93: 1556-62.

Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Domingo M. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virol Methods* 2004; 117: 75-80.

Ostanello F, Caprioli A, Di Francesco A, Battilani M, Sala G, Sarli G, Mandrioli L, McNeilly F, Allan GM, Prosperi S. Experimental infection of 3-week-old conventional colostrum-fed pigs with porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus. *Vet Microbiol* 2005; 108: 179-86.

Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim JK, Kim SH, Chae C. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J Comp Pathol* 2005; 132: 139-44.

Park JS, Ha Y, Kwon B, Cho KD, Lee BH, Chae C. Detection of porcine circovirus 2 in mammary and other tissues from experimentally infected sows. *J Comp Pathol* 2009; 140: 208-11.

Patterson AR, Madson DM, Halbur PG, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after natural exposure. *Vet Microbiol* 2011a; 149: 225-9.

Patterson AR, Ramamoorthy S, Madson DM, Meng XJ, Halbur PG, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Vet Microbiol* 2011b; 149: 91-8.

Pensaert MB, Sanchez RE, Jr., Ladekjaer-Mikkelsen AS, Allan GM, Nauwynck HJ. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet Microbiol* 2004; 98: 175-83.

Quiniou N, Dagorn J, Gaudré D. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science* 2002; 78: 63-70.

Ritzmann M, Wilhelm S, Zimmermann P, Etschmann B, Bogner KH, Selbitz HJ, Heinritzi K, Truyen U. Prävalenz sowie Assoziation von porzinem Circovirus Typ 2 (PCV2), porzinem Parvovirus (PPV) und porzinem reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in abortierten Feten, mumifizierten Feten, totgeborenen und lebensschwach geborenen Ferkeln. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2005; 112: 348-51.

Ritzmann M (2007) Verlauf der PCV2-Infektion bei Aufzuchtferkeln unter Berücksichtigung infektiöser sowie nichtinfektiöser Einflussfaktoren, Habilitationsschrift, München. V, 244 S.

Rodriguez-Arrijo GM, Segales J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Duran J, Casal J, Domingo M. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am J Vet Res* 2002; 63: 354-7.

Röhe R, Kalm E. Ansätze zur Verbesserung der Überlebensrate von Ferkeln. *Lohmann Information* 2004; 2: 1-3.

Rose N, Opriessnig T, Grasland B, Jestin A. Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res* 2012; 164: 78-89.

Rosell C, Segales J, Plana-Duran J, Balasch M, Rodriguez-Arrijo GM, Kennedy S, Allan GM, McNeilly F, Latimer KS, Domingo M. Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J Comp Pathol* 1999; 120: 59-78.

Saha D, Lefebvre DJ, Van Doorselaere J, Atanasova K, Barbé F, Geldhof M, Karniychuk UU, Nauwynck HJ. Pathologic and virologic findings in mid-

gestational porcine foetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. *Vet Microbiol* 2010; 145: 62-8.

Sanchez RE, Jr., Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol* 2001; 83: 169-76.

Schmoll F, Lang C, Steinrigl AS, Schulze K, Kauffold J. Prevalence of PCV2 in Austrian and German boars and semen used for artificial insemination. *Theriogenology* 2008; 69: 814-21.

Schröder C. Untersuchungen zur Immunglobulinversorgung und Entwicklung neugeborener Ferkel unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Geburtsparameter. Diss. med. vet. 2001. Tierärztlichen Hochschule Hannover.

Segales J, Domingo M. Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet Q* 2002; 24: 109-24.

Segales J. Update on postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome diagnostics. *Swine Health Prod* 2002; 10: 277-81.

Segales J, Calsamiglia M, Olvera A, Sibila M, Badiella L, Domingo M. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Microbiol* 2005a; 111: 223-9.

Segales J, Rodríguez J, Resendes A, Balasch M, Sanz A, Plana-Durán J, Venteo A (2005b) Humoral immune responses and correlation with viraemia in pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Proc Intern Conf "Animal Circoviruses and Associated Diseases"*. Belfast, UK. 61.

Segales J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Anim Health Res Rev* 2005c; 6: 119-42.

Segales J, Olvera A, Grau-Roma L, Charreyre C, Nauwynck H, Larsen L, Dupont K, McCullough K, Ellis J, Krakowka S, Mankertz A, Fredholm M, Fossum C, Timmusk S, Stockhofe-Zurwieden N, Beattie V, Armstrong D, Grassland B, Baekbo P, Allan G. PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet Rec* 2008; 162: 867-8.

Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res* 2012; 164: 10-9.

Segales J, Allan G, Domingo M. Porcine Circoviruses. In: *Diseases of swine*, 10. ed. edn. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, eds. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell 2012: 405-17.

Segalés J, Domingo M, Chianini F, Majó N, Domínguez J, Darwich L, Mateu E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Vet Microbiol* 2004a; 98: 151-8.

Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet Microbiol* 2004b; 98: 137-49.

Shen H, Wang C, Madson DM, Opriessnig T. High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev Vet Med* 2010; 97: 228-36.

Shibata I, Okuda Y, Yazawa S, Ono M, Sasaki T, Itagaki M, Nakajima N, Okabe Y, Hidejima I. PCR detection of Porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases. *J Vet Med Sci* 2003; 65: 405-8.

Steiner E, Balmelli C, Gerber H, Summerfield A, McCullough K. Cellular adaptive immune response against porcine circovirus type 2 in subclinically infected pigs. *BMC Vet Res* 2009; 5: 45.

Szeredi L, Szentirmai C. Proliferative and necrotising pneumonia and severe vascular lesions in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2. *Acta Vet Hung* 2008; 56: 101-9.

Thacker EL, Thanawongnuwech R. Porcine respiratory disease complex (PRDC). *Thai J Vet Med* 2002; 32: 125-34.

Thibault S, Drolet R, Germain MC, D'Allaire S, Larochelle R, Magar R. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Vet Pathol* 1998; 35: 108-16.

Thrusfield M. The transmission and maintenance of infection. In: *Veterinary epidemiology*, 1. edn, London: Butherwords 1995: 63-73.

Tico G, Segales J, Martinez J. The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. *Vet Microbiol* 2013; 163: 242-7.

Tischer I, Rasch R, Tochtermann G. Characterization of Papovavirus- and Picornavirus-like Particles in Permanent Pig Kidney Cell Lines. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abtl. Orig. A* 1974; 226: 153-67.

Tischer I, Gelderblom H, Vettermann W, Koch MA. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 1982; 295: 64-6.

Todd D, Niagro FD, Ritchie BW, Curran W, Allan GM, Lukert PD, Latimer KS, Steffens WL, 3rd, McNulty MS. Comparison of three animal viruses with circular single-stranded DNA genomes. *Arch Virol* 1991; 117: 129-35.

Turner MJ, Medley GF, Woodbine KA, Slevin JA, Green LE. The relationship between porcine circovirus 2 antigen score and antibody titre and histology of lymph nodes in 375 euthanased sick and healthy pigs from 113 British pig farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Prev Vet Med* 2009; 88: 213-9.

Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA, McNair I, McNeilly F, Meehan BM, Cottrell TS, Ellis JA, Allan GM. Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 400-5.

Wellenberg GJ, Pesch S, Berndsen FW, Steverink PJ, Hunneman W, Van der Vorst TJ, Peperkamp NH, Ohlinger VF, Schippers R, Van Oirschot JT, de Jong MF. Isolation and characterization of porcine circovirus type 2 from pigs showing signs of post-weaning multisystemic wasting syndrome in The Netherlands. *Vet Q* 2000; 22: 167-72.

Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, de Jong MF, Boersma WJ, Elbers AR. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. *Vet Microbiol* 2004a; 99: 203-14.

Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, Boersma WJ, De Jong MF, Elbers AR. The presence of co-infections in pigs with clinical signs of PMWS in The Netherlands: a case-control study. *Res Vet Sci* 2004b; 77: 177-84.

Welti S, Sydler T, Wiederkehr D, Pospischil A, Hassig M, Burgi E, Sidler X. Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) und Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) in der Schweiz in den Jahren 2003 – 2006. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2012; 154: 417-27.

West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, Konoby C, Martin K, Ellis JA. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with

porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11: 530-2.

Wieland B, Wathes C, Pfeiffer D, Nevel A, Armstrong D, Cook A, Rycroft A, Towrie H, Done SH, Werling D. Investigation of risk factors following an outbreak of Post-weaning Multi-systemic Wasting Syndrome (PMWS) on a large commercial pig farm in the UK. Royal Veterinary College, University of London 2009: <http://smartstore.bpex.org.uk/index.asp?299336>. Zugriff am 03.02.2015.

Xiao CT, Halbur PG, Opriessnig T. Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *J Gen Virol* 2015;

Yang JS, Song DS, Kim SY, Lyoo KS, Park BK. Detection of porcine circovirus type 2 in feces of pigs with or without enteric disease by polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 2003; 15: 369-73.

Zhao K, Han F, Zou Y, Zhu L, Li C, Xu Y, Zhang C, Tan F, Wang J, Tao S, He X, Zhou Z, Tang X. Rapid detection of porcine circovirus type 2 using a TaqMan-based real-time PCR. *Virol J* 2010; 7: 374.

XI. DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung des interessanten Themas, sowie die stets angebotene Hilfe und Pflege des guten Arbeitsklimas der Klinik für Schweine.

Mein uneingeschränkter Dank gilt meinem Betreuer Dr. Matthias Eddicks für die wertvollen Inspirationen und vielen Stunden der wohlwollenden Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. Robert Fux und seinem Team des Lehrstuhls für Virologie der LMU München bedanke ich mich für die stets vorhandene und nette Hilfe bei allen Fragen und labordiagnostischen Tätigkeiten.

Vielen Dank an PD Dr. med. vet. Sven Reese für die Hilfe bei der statistischen Planung der vorliegenden Studie.

Ohne die Mithilfe meiner Mitdoktoranden bei der praktischen Durchführung wäre die Realisierung meiner Arbeit wohl kaum möglich gewesen und das Warten auf die Ferkel unerträglich lang geworden. Vielen Dank Euch für die tolle Zeit!

Mein besonderer Dank gilt allen Landwirten, die mir die Durchführung des Tierversuches ermöglicht haben und allen Mitarbeitern der verschiedenen Ferkelerzeugerverbände für die Kontaktvermittlung zu den Betrieben.

Meinem zukünftigen Schwiegervater Peter möchte ich für das wiederholte Korrekturlesen meiner Arbeit danken.

Auf diesem Wege möchte ich mich auch bei meiner Familie, meinen Eltern, Großeltern, meiner Tante Birgit, meinem Bruder Flo und meinem Verlobten Tom für die jahrelange Unterstützung während des Studiums und der Doktorarbeit bedanken. Ohne Euch wäre es nicht gegangen!

Zu guter Letzt gilt mein Dank all denjenigen nicht namentlich Erwähnten, die mit vielen kleinen Hilfestellungen und Gesten zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.