

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

Porzines Circovirus Typ 2 (PCV2)-Infektionen in
oberbayerischen Schweinemastbeständen mit
routinemäßiger Impfung gegen PCV2
und deren Bedeutung für das Auftreten von
Lungenveränderungen

von Ina Nickoll

aus Stendal

München 2018

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

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Matthias Eddicks

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann
Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Bianka Schulz

Tag der Promotion: 27. Juli 2018

Meinen Lieben

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT.....	3
1.	Porzines Circovirus Typ 2.....	3
1.1	Klassifizierung, Taxonomie und genomische Struktur.....	3
1.2	Porcine circovirus diseases.....	4
1.3	Porcine respiratory disease complex.....	9
1.3.1	Ätiologie, Klinik und pathologische Veränderungen.....	9
1.3.2	Nicht-infektiöse Risikofaktoren für das Auftreten von PRDC.....	12
1.4	Diagnostik von PCV2-Infektionen.....	13
1.4.1	Genomnachweis mittels PCR.....	14
1.4.2	Antikörpernachweis mittels ELISA.....	16
1.4.3	Weitere diagnostische Verfahren.....	17
1.5	Vakzination gegen PCV2.....	17
2.	Monitoring der Lungengesundheit am Schlachthof (visuelle „Lungenchecks“).....	21
2.1	Beurteilung von Lungenläsionen.....	21
2.2	Pleuritis bei Schlachtschweinen.....	24
III.	ERGEBNISSE.....	27
IV.	DISKUSSION.....	57
1.	PCV2-DNA-Nachweis bei geimpften Mastschweinen.....	57
2.	PCV2-DNA-Nachweis und Lungenläsionen.....	59
3.	PCV2-DNA-Nachweis und Pleuritis.....	64
4.	Diskussion der Methoden: Methodenkritik.....	67
V.	ZUSAMMENFASSUNG.....	71
VI.	SUMMARY.....	73
VII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	75
VIII.	DANKSAGUNG	97

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µl	Mikroliter
AK	Antikörper
APP	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
<i>B. bronchiseptica</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
C ₁ QBP	complement component 1, q subcomponent binding protein
Ct	cycle treshold
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EP	Enzootische Pneumonie
g	g-Kraft, Lastvielfaches
ges.	gesamt
ggr.	geringgradig
hgr.	hochgradig
HPS	<i>Haemophilus parasuis</i>
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IHC	Immunhistochemie
ISH	in-situ-Hybridisierung
kDa	Kilodalton
km	Kilometer
L.	Lobus
<i>L. intracellularis</i>	<i>Lawsonia intracellularis</i>
LS	Lungenscore
LW	Lebenswoche
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
<i>M. hyorhinis</i>	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>
mgr.	mittelgradig
Max	Maximum
Min	Minimum
ml	Milliliter
n	Anzahl
OR	odds ratio

ORF	open reading frame
p. i.	post infectionem
<i>P. multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
PCR	polymerase chain reaction
PCVD	porcine circovirus diseases
PCV2	Porzines Circovirus Typ 2
PCV2-ED	PCV2 enteric disease
PCV2-LD	PCV2 lung disease
PCV2-RD	PCV2 reproductive disease
PCV2-SD	PCV2 systemic disease
PCV2-SI	PCV2 subclinical infection
PDNS	porcine dermatitis and nephropathy syndrome
PMWS	post-weaning multisystemic wasting syndrome
PNP	proliferative and necrotizing pneumonia
PPE	Porzine proliferative Enteropathie
PPV	Porzines Parvovirus
PRCV	porcine respiratory coronavirus
PRDC	porcine respiratory disease complex
PRRSV	porcine reproductive and respiratory syndrome virus
qPCR	quantitative PCR
RNA	ribonucleic acid
SIV	Schweineinfluenza-Virus
SK	Serokonversion
SPES	slaughterhouse pleurisy evaluation system
<i>S. suis</i>	<i>Streptococcus suis</i>
ST	Serotyp(en)
<i>T. pyogenes</i>	<i>Trueperella pyogenes</i>
T1	Zeitpunkt Mastinstallation (10.-12. LW)
T2	Zeitpunkt Mittelmast (16.-18. LW)
T3	Zeitpunkt Endmast (22. LW)
T4	Zeitpunkt Schlachtung

I. EINLEITUNG

Das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) wird in der Hausschweinepopulation als ubiquitär verbreitet angesehen (SHIBATA et al., 2003; SEGALES et al., 2005). Es stehen verschiedene Krankheitsbilder bei Schweinen mit einer PCV2-Infektion im Zusammenhang, die unter dem Begriff porcine circovirus diseases (PCVD) zusammengefasst werden (SEGALES, 2012). Neben dem post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), der Darmerkrankung (enteric disease, ED), der Reproduktionsstörung (reproductive disease, RD) und dem porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (ALLAN & ELLIS, 2000) werden auch Lungenerkrankungen (lung disease, LD) mit einer PCV2-Infektion in Verbindung gebracht (SEGALES, 2012). Hierzu zählen die proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) und der porcine respiratory disease complex (PRDC) (KIM et al., 2003; HARDING, 2004; SEGALES et al., 2005; SEGALES, 2012).

An der Entstehung des PRDC, einem multifaktoriellen, komplexen Erkrankungsbild der Lunge, ist neben Management- oder tierspezifischen Faktoren, das gleichzeitige Vorhandensein von Mehrfachinfektionen mit bakteriellen oder viralen Erregern beteiligt (OPRIESSNIG et al., 2011; OPRIESSNIG & HALBUR, 2012). HANSEN et al. (2010) konnten neben obligat und fakultativ pathogenen bakteriellen Erregern häufig auch eine PCV2-Infektion im Zusammenhang mit dem PRDC nachweisen. In einer Untersuchung von Schweinen aus Beständen, die in der Vergangenheit immer wieder von PRDC-Ausbrüchen betroffen waren, konnte PCV2 neben anderen viralen Kopathogenen (porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Porzines Parvovirus (PPV), Schweineinfluenza-Virus (SIV)) in der Mehrheit der Untersuchungen nachgewiesen werden (KIM et al., 2003). Auch FABLET et al. (2012b) diskutieren neben den in ihrer Studie als relevant identifizierten Erregern (*Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, PRRSV und SIV) die Beteiligung von PCV2 an der Entstehung von Lungenveränderungen. Das Bild der beim PRDC auftretenden makroskopischen Lungenläsionen wird durch die an der Pneumonie beteiligten Infektionserreger bestimmt (HARMS et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009). Pleuritiden an Schlachtlungen werden vor allem im

Zusammenhang mit Infektionen mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (ENØE et al., 2002; MEYNS et al., 2011; FABLET et al., 2012b; FABLET et al., 2012a). WELLENBERG et al. (2010) konnten jedoch auch die Bedeutung hoher PCV2-Virusgehalte im Lungengewebe von Mastschweinen ohne klinische Anzeichen von PMWS für das Auftreten von Pleuritiden darstellen.

Die Vakzination gegen PCV2 zählt zu den wichtigsten Kontrollmaßnahmen der PCVD. Eine aktive Immunisierung der Ferkel führt in der Regel zu einer signifikanten Reduktion der Viruslast im Blut sowie zu einer verringerten Tierzahl virämischer Schweine und reduziert folglich das Auftreten klinischer Anzeichen von PCVD (KIXMÖLLER et al., 2008; OPRIESSNIG et al., 2008; SHEN et al., 2010; HAAKE et al., 2014). Entsprechende Ergebnisse konnten auch nach dem Einsatz einer kommerziellen PCV2-Vakzine in einer PRDC positiven Herde beobachtet werden (FACHINGER et al., 2008). Die Impfung gegen PCV2 führt jedoch nicht zu PCV2 negativen Herden. Das Virus kann in PCV2 geimpften Schweinen in unterschiedlichem Maße, hauptsächlich aber in der Mittel- und Endmast, nachgewiesen werden (HAAKE et al., 2014; WALHÖFER, 2015). Auch FENG et al. (2014) bestätigen in ihrem Eradikationsversuch von PCV2 mittels Massenvakzination, dass es nach dem Absetzen der Impfung wieder zu einer deutlichen Serokonversion und zu Virusnachweisen kam.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung von PCV2-Infektionen für die Ausprägung von Lungenveränderungen im Rahmen der Schlachttierkörperuntersuchung von routinemäßig gegen PCV2 geimpften Mastschweinen zu bestimmen und mit weiteren relevanten Infektionserregern von Respirationserkrankungen in Beziehung zu setzen. Es wurden Mastbestände miteinbezogen, dessen Schweine im Vorfeld rezidivierend auffällige Lungenbefunde während der Schlachttierkörperuntersuchung in Form von Pneumonien oder Pleuritiden zeigten.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Porzines Circovirus Typ 2

1.1 Klassifizierung, Taxonomie und genomische Struktur

Porzine Circoviren (PCV) werden der Familie Circoviridae zugeordnet (LUKERT et al., 1995). Die Vertreter dieser Virusfamilie besitzen ein kleines, kovalent geschlossenes, zirkuläres, Einzelstrang-DNA-Genom (TISCHER et al., 1982; CROWTHER et al., 2003) und werden zu den kleinsten bekannten Tierviren, die sich autonom in Säugetierzellen vermehren können, gezählt (MANKERTZ, 2008; BREITBART et al., 2017). Die Mitglieder dieser Familie werden in die zwei Gattungen Circoviren und Cycloviren eingeteilt (ICTV (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES), 2017), welche sich durch die Lage des Replikationsursprungs (Origin) zu den kodierenden Bereichen und die Länge der Zwischengenregionen unterscheiden (BREITBART et al., 2017; ROSARIO et al., 2017).

In der Erstbeschreibung der porzinen Circoviren von TISCHER et al. (1974) konnten diese als Kontaminanten einer Schweinenierenzelllinie (PK-15) isoliert werden. Auf der Grundlage phylogenetischer Untersuchungen schlugen MEEHAN et al. (1998) für diese Viruspartikel aus den Schweinenierenzelllinien die Bezeichnung porzines Circovirus Typ 1 (PCV1) vor. Der Vergleich von Ergebnissen aus Sequenzanalysen des Gesamtgenoms verschiedener PCV-Isolate von diversen Ausbrüchen eines neuartigen Erkrankungsbildes in Kanada, den USA und Europa (ALLAN et al., 1998; ELLIS et al., 1998) ergab eine 20%-ige Abweichung von der Nukleotidsequenz der PCV1-Isolate aus den PK-15-Zelllinien (ALLAN et al., 1998; MEEHAN et al., 1998). Dementsprechend erfolgte die Benennung derer PCV-Isolate, die im Zusammenhang mit einem klinischen Erkrankung standen, in porzines Circovirus Typ 2 (PCV2).

PCV2 weist ein unbehülltes, ikosahedral geformtes Nukleokapsid auf und hat einen Durchmesser von 20,5 Nanometern (CROWTHER et al., 2003). Das

1,76 kb große Virusgenom umfasst 11 offene Leserahmen (open reading frames, ORFs) und mindestens sieben potentielle ORF-kodierende Proteine, die größer als 5 kDa sind. Derzeit sind jedoch nur fünf viral kodierte Proteine (Rep, Rep', Cap, ORF3 und ORF4) für die Replikation identifiziert (LV et al., 2014), wobei die beiden Proteine Rep und Rep' für die Virusreplikation essentiell sind (CHEUNG, 2012). Sowohl der Genomstrang (verpackt im Viruspartikel) als auch der Komplementärstrang (synthetisiert im neuen Wirt) kodieren virale Proteine. In ORF2 sind die 60 Kapsidproteine zu je 30 kDa verschlüsselt (NAWAGITGUL et al., 2000). Weiterhin ist ORF2 in der Lage, die Phagozytoseaktivität der Wirtsmakrophagen zu verstärken, indem es den Abbau einer Komplementkomponente (C1QBP) hemmt (CHOI et al., 2015). Der offene Leserahmen 3 (ORF3) kodiert ein nicht essentielles Protein, dessen Funktion beim Apoptoseprozess in der viralen Pathogenese liegt (LIU et al., 2005; LIU et al., 2006). ORF4 wurde während der Transkription und Translation identifiziert und verschlüsselt ein virales Protein, welches für die PCV2-Replikation nicht essentiell ist und eine repressive Rolle bei der virus-induzierten Apoptose während einer PCV2-Infektion spielt (HE et al., 2013; GAO et al., 2014).

1.2 Porcine circovirus diseases

Den ersten Zusammenhang zwischen einem klinischen Erkrankungsbild, welches mit progressivem Gewichtsverlust, Tachypnoe, Dyspnoe und Ikterus bei jungen Schweinen einhergeht, und einer PCV-Infektion vermuteten HARDING (1996) und DAFT et al. (1996) und gaben diesem die Bezeichnung post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). Dieser Zusammenhang wird durch die kanadische Arbeitsgruppe um ELLIS et al. (1998) erstmals publiziert. SEGALLES (2012) fasst die mit einer PCV2-Infektion zusammenhängenden Erkrankungsbilder einheitlich unter dem Begriff porcine circovirus diseases (PCVD) zusammen (Tabelle 1). Demnach beinhalten die PCVD das PMWS oder auch PCV2 systemic disease (PCV2-SD), die PCV2 subclinical infection (PCV2-SI), das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (ALLAN et al., 2000a), die PCV2 reproductive disease (PCV2-RD) (SANCHEZ et al., 2001), die PCV2 lung disease (PCV2-LD) (KIM et al., 2003) und die PCV2 enteric disease (PCV2-ED) (KIM et al., 2004; SEGALLES, 2012).

Tabelle 1: Übersicht zu porcine circovirus diseases (PCVD) - klinische Symptome und labordiagnostische Befunde (SEGALES, 2012)

PCVD	Klinische Symptome	Labordiagnostische Befunde
PCV2-SD/ PMWS	Kümmern, Gewichtsverlust, Hautblässe, Husten, Durchfall, erhöhte Mortalitätsrate	mgr. bis hgr. Lymphozytendepletion mit granulomatöser Entzündung in lymphatischen Geweben granulomatöse Entzündungen in anderen Gewebearten mgr. bis hgr. PCV2-Nachweis in den Gewebläsionen (IHC, ISH) >10 ⁶ Genomkopien/ml Serum (qPCR)
PDNS	Rot-violette Primäreffloreszenzen (Makula, Papula) der Haut, besonders an den Hintergliedmaßen und im Perinealbereich	Hämorrhagisch-nekrotisierende Hautläsionen und/oder geschwollene aufgehellte Nieren mit multiplen Petechien im Rindbereich Nekrotisierende Vaskulitis, nekrotisierende und fibrinöse Glomerulonephritis
PCV2-RD	Aborte oder Mumien in der Hochträchtigkeit; regelmäßiges Umrauschen	Fibröse bis nekrotisierende Myokarditis der abortierten Feten mit mgr.-hgr. PCV2-Nachweis im fetalen Myokard (IHC, ISH, qPCR): >10 ⁷ Genomkopien/ml Serum (qPCR)
PCV2-LD	Atemnot, Husten	Lymphohistiozytäre bis granulomatöse oder bronchio-interstitielle Pneumonie mit/ohne peribrochiolärer Fibroplasie; nekrotisierende und ulzerative Bronchiolitis oder proliferative Pneumonie in Abwesenheit PCV2-SD-typischer Läsionen in lymphatischen Geweben mgr. bis hgr. PCV2-Nachweis im Lungengewebe (IHC, ISH, qPCR), kein oder ggr. PCV2-Gehalt im Lymphgewebe
PCV2-ED	Durchfall	Granulomatöse Enteritis und Lymphozytendepletion in Peyersche Platten, keine mikroskopischen Läsionen in anderen Lymphgeweben mgr. bis hgr. PCV2-Nachweis in Darmmukosa/ Peyersche Platten (IHC, ISH), kein Nachweis in anderen Lymphgeweben
PCV2-SI	Reduzierte Tageszunahmen ohne weitere sichtbare Krankheitserscheinungen	Keine oder ggr. histopathologische Läsionen (hauptsächlich Lymphgewebe) ggr. PCV2-Nachweis (IHC, IHS oder qPCR) hauptsächlich im Lymphgewebe

ggr. = geringgradig, mgr. = mittelgradig, hgr. = hochgradig, IHC = Immunhistochemie, ISH = in-situ-Hybridisierung

Die Symptome der PCV2 systemic disease (PCV2-SD) sind unspezifisch und sehr vielfältig (CHAE, 2004). Das Erkrankungsbild ist auch unter dem Begriff post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) bekannt (SEGALES, 2012). Am häufigsten betroffen sind Aufzuchttiere zwei bis drei Wochen nach dem Absetzen

oder im Alter von fünf bis zwölf Wochen (ALLAN & ELLIS, 2000). Sie zeigen Kümmern, Dyspnoe, vergrößerte Lymphknoten, Blässe, Ikterus, struppiges Borstenkleid und profus wässrigen Durchfall (HARDING & CLARK, 1997). Eine negative Assoziation zum Schweregrad der PCV2-SD-Ausprägung wird den nicht optimalen Haltungsbedingungen (z.B. Überbelegung, schlechte Luftqualität, Mischen verschiedener Altersgruppen) und Stress (z. B. durch Umstallung oder Transport) zugeschrieben (HARDING & CLARK, 1997). Zudem führen Mehrfachinfektionen mit bakteriellen und viralen Erregern zu einer Erhöhung der Mortalitätsrate von 1-2 % auf 10-25 % (CHAE, 2004). Zu den charakteristischen histopathologischen Läsionen von PCV2-SD zählen die granulomatöse Entzündung in Lymphknoten, Leber, Milz, Tonsillen, Thymus und den Peyerschen Platten. Oftmals sind große, multiple, basophile, traubenartig auftretende intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen in Makrophagen und vielkernigen Riesenzellen zu finden (CHAE, 2004).

Die PCV2-ED tritt bei Schweinen häufig in einem Alter zwischen 40 und 70 Tagen auf und ist anhand des klinischen Auftretens in Form von antibiotikaresistentem Durchfall, verminderten Tageszunahmen und einer erhöhten Mortalitätsrate oftmals nicht von der durch *Lawsonia (L.) intracellularis* verursachten porzinen proliferativen Enteropathie (PPE) zu unterscheiden (CHAE, 2005; JENSEN et al., 2006). JENSEN et al. (2006) schlussfolgern aus ihren Studienergebnissen, dass die PCV2-ED bei Schweinen mit einem Durchfallgeschehen in einem Alter von zwei bis vier Monaten bei der Differenzialdiagnostik zu einer *L. intracellularis*-Infektion berücksichtigt werden sollte. Als histopathologische Veränderungen werden Lymphozytendepletion mit granulomatöser Inflammation in den Peyerschen Platten gesehen (KIM et al., 2004). In diesen Läsionen der Darmmukosa lässt sich PCV2-DNA mittel- bis hochgradig nachweisen (OPRIESSNIG et al., 2007). Die Studienergebnisse von BARO et al. (2015) könnten möglicherweise darauf hindeuten, dass die PCV2-ED als Bestandteil des PMWS zu sehen ist, da beide Erkrankungsformen nicht klar voneinander abgegrenzt werden können.

Von einer PCV2-assoziierten Lungenerkrankung (PCV2-LD) betroffene Schweine zeigen klinisch Atemnot und schwere respiratorische Störungen (HARMS et al., 2002). Das Bild der makroskopischen Lungenläsionen wird durch die beteiligten Infektionserreger bestimmt (HARMS et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009).

Oftmals findet man eine kranio-ventral betonte Konsolidierung (Gewebeverdichtung) der Lunge mit Verfärbungen und fehlender Retraktionsfähigkeit in diesen Lungenbereichen (HARMS et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009; HANSEN et al., 2010). Histopathologisch lassen sich lymphohistiozytäre bis granulomatöse oder bronchio-interstitielle Pneumonien mit oder ohne peribrochiolärer Fibroplasie nachweisen (KIM et al., 2003; HANSEN et al., 2010; SEGALES, 2012). In den betroffenen Lungenläsionen kann vermehrt PCV2-Antigen dargestellt werden (KIM et al., 2003). Die Unterscheidung einer PCV2-LD von einer PCV2-SD erfolgt anhand des Fehlens typischer Läsionen in lymphatischem Gewebe und anderen Organen (SEGALES, 2012). Oftmals werden neben einer Infektion mit PCV2 in PCV2-LD-typischen Läsionen Mehrfachinfektionen mit unterschiedlichen bakteriellen oder viralen Erregern gefunden (KIM et al., 2003; HANSEN et al., 2010). Die Autoren vermuten einen Synergismus zwischen PCV2 und den anderen Pathogenen im Respirationstrakt (CHOI et al., 2003). SEGALES (2012) fasst unter der Bezeichnung PCV2-LD das Krankheitsbild des porcine respiratory disease complex (PRDC) und der proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) zusammen.

Klinisch hinweisend auf das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) sind vor allem multifokale, rote bis lilafarbene, zum Teil konfluierende, Flecken und Papeln auf der Haut betroffener Schweine, die vor allem an den Hintergliedmaßen und in der Perinealregion, aber auch in benachbarten Abdominal- und Thoraxbereichen und an den Ohrrändern, auftreten (THIBAUT et al., 1998). Die Nieren erkrankter Tiere stellen sich generell vergrößert und die Nierenrinde blass dar (CHOI & CHAE, 2001). Die renalen Läsionen deuten auf eine Glomerulonephritis mit fibrinösen Ablagerungen und in geringerem Maße auf eine interstitielle Nephritis hin (WELLENBERG et al., 2004). Die Veränderungen der Haut stellen sich histopathologisch als Hämorrhagien dar, die Folge einer nekrotisierenden und leukozytoklastischen Vaskulitis der Arteriolen und Venolen sind (THIBAUT et al., 1998; MAJZOUB et al., 2005). Diese Vaskulitiden können auch in extrakutanen Bereichen wie dem Nierenbecken (THIBAUT et al., 1998), Nierenmark, Magen, Milz und der Leber (CHOI & CHAE, 2001) nachgewiesen werden. Aufgrund der weitreichenden Beteiligung verschiedener anderer Organe, neben den Nieren und der Haut, wird die Bezeichnung des PDNS bemängelt. Zudem sind die Nieren nicht in jedem PDNS-Geschehen am Krankheitsbild beteiligt (THIBAUT et al., 1998). Als

primäres Agens des PDNS wird PCV2 in Betracht gezogen (ROSELL et al., 2000; CHOI & CHAE, 2001; WELLENBERG et al., 2004), wobei sowohl die genaue Pathogenese des PDNS, als auch die Fragestellung, ob das PCV2 tatsächlich der alleinige Auslöser für das PDNS ist, bislang nicht abschließend geklärt sind (CHAE, 2005; MAJZOUB et al., 2005). Möglicherweise spielen zusätzliche Faktoren wie Überbelegung der Ställe, Stress, schlechte Luftqualität und bakterielle oder virale Koinfektionen eine nicht unbeträchtliche Rolle in der Pathogenese des PDNS (CHAE, 2005). Vermutlich ist eine Doppelinfektion von PCV2 mit dem porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) notwendig (THIBAUT et al., 1998; CHOI und CHAE, 2001).

JOHNSON et al. (2002) können eine PCV2 bedingte Reproduktionsstörung (PCV2-RD) in einer experimentellen Studie an intrauterin infizierten Ferkeln in der Hochträchtigkeit (86. bis 92. Trächtigkeitstag) in Form einer erhöhten Anzahl mumifizierter Ferkel, Totgeburten und einer hohen neonatalen Sterblichkeitsrate reproduzieren. WEST et al. (1999) weisen bei einigen spät abortierten, mumifizierten Ferkeln einen Zusammenhang zwischen der Mortalität der Ferkel und einer bestehenden PCV2-Infektion nach. In den abortierten Ferkeln, bei denen eine Myokarditis festgestellt wird, kann PCV2-DNA nachgewiesen werden. Es wird ein direkter Zusammenhang zwischen dem Abort der Ferkel und einer PCV2-Infektion angenommen, nachdem andere Aborterreger (u.a. PPV und PRRSV) ausgeschlossen werden konnten (WEST et al., 1999).

Werden in einem Bestand neben reduzierten Tageszunahmen keine weiteren sichtbaren klinischen Krankheitserscheinungen bei den betroffenen Tieren beobachtet, gelingen jedoch geringe PCV2-Nachweise in lymphatischen Geweben, so spricht SEGALLES (2012) von einer PCV2 subclinical infection (PCV2-SI). SEGALLES (2012) beschreibt die PCV2-SI als die global am häufigsten auftretende Manifestation einer PCVD. Diverse serologische Studien zeigen, dass PCV2 weltweit bei Schweinen in allen Altersgruppen gefunden werden kann, jedoch fällt die Prävalenz der klinisch manifesten Erkrankungen relativ gering aus (SEGALLES et al., 2005; SEGALLES, 2012).

1.3 Porcine respiratory disease complex

1.3.1 Ätiologie, Klinik und pathologische Veränderungen

Neben bereits beschriebenen Erkrankungsbildern werden auch Lungenerkrankungen (lung disease, PCV2-LD) mit einer PCV2-Infektion in Verbindung gebracht (SEGALES, 2012). Hierzu zählen die proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) und der porcine respiratory disease complex (PRDC) (KIM et al., 2003; HARDING, 2004; SEGALES et al., 2005; SEGALES, 2012).

An der Entstehung des PRDC, werden neben Management-, Haltungs- oder tierspezifischen Faktoren, das gleichzeitige Vorhandensein von Mehrfachinfektionen mit verschiedenen (sowohl obligat als auch fakultativ pathogenen) bakteriellen oder viralen Erregern diskutiert (OPRIESSNIG et al., 2011; OPRIESSNIG & HALBUR, 2012) (Abbildung 1). Im Zusammenhang mit dem Auftreten von PRDC werden vor allem PRRSV, SIV, PCV2, *M. hyopneumoniae*, *Pasteurella (P.) multocida*, *Streptococcus (S.) suis* und *Mycoplasma (M.) hyorhinis* isoliert (PALZER, 2006; FACHINGER et al., 2008; HANSEN et al., 2010; FABLET et al., 2012b). HANSEN et al. (2010) konnten neben obligat und fakultativ pathogenen bakteriellen Erregern häufig eine PCV2-Infektion im Zusammenhang mit PRDC nachweisen. In einer Untersuchung von Schweinen aus Betrieben, die in der Vergangenheit von stetig wiederkehrenden PRDC-Ausbrüchen betroffen waren, konnte PCV2 neben anderen viralen Kopathogenen (PRRSV, PPV, SIV) in der Mehrheit der Untersuchungen nachgewiesen werden und scheint eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von PRDC zu spielen (KIM et al., 2003). Auch FABLET et al. (2012b) diskutieren neben den in ihrer Studie als relevant identifizierten Erregern (*M. hyopneumoniae*, PRRSV und SIV) die Beteiligung von PCV2 an der Entstehung von makroskopisch sichtbaren Lungenveränderungen. Eine finnische Feldstudie konnte neben APP, *Ascaris suum*, SIV und bestimmten opportunistischen Bakterien auch PCV2 als häufige Ursache für akute respiratorische Ausbrüche bei Mastschweinen identifizieren (HAIMI-HAKALA et al., 2017). Im Vergleich zu PCV2-negativen Schweinen weisen PCV2-PCR-positive Schweine eine höhere Wahrscheinlichkeit auf Koinfektionen mit SIV Typ A und *M. hyopneumoniae* auf (DORR et al., 2007). Zudem konnten DORR et al. (2007) bei PCV2-PCR-

positiven Schweinen höhere PRRSV-IgG-Werte und schwerere Lungenläsionen als bei Tieren ohne PCV2-DNA-Nachweis feststellen. In einer Feldstudie schien der Beginn der PCV2-Virämie dem Auftreten von PRDC-ähnlichen klinischen Anzeichen leicht vorauszugehen, woraus die Autoren eine mögliche Assoziation von PCV2 mit PRDC schlussfolgern (FACHINGER et al., 2008).

Charakteristische klinische Anzeichen bei einem Ausbruch einer PCV2-LD sind Atemnot und respiratorische Störungen (HARMS et al., 2002). Die Ausprägung der klinischen Symptome variiert je nach Erregerkombination und nach Betrieb bzw. Produktionssystem. Bei einer Koinfektion mit PCV2 treten diese ausgeprägter auf (HARMS et al., 2002). In großen Betrieben mit kontinuierlichem Produktionssystem ist die Möglichkeit zum Austausch von Mikroflora günstiger (WOESTE & GROSSE BEILAGE, 2007). Der PRDC kommt häufig bei Schweinen zwischen der 15. (16.) und 18. (22.) Lebenswoche vor (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Die von PRDC betroffenen Schweine zeigen eine erschwerte Atmung, Fieber, Lethargie, Husten mit variablem Charakter und Schweregrad, eine schlechte Futterwertung und folglich ein verlangsamtes Wachstum.

Das Bild der beim PRDC auftretenden makroskopischen Lungenläsionen wird durch die beteiligten Infektionserreger bestimmt (HARMS et al., 2002; HANSEN et al., 2010). Die makroskopischen Läsionen stellen sich als violett bis grau gefärbte Verdichtung der ventralen Anteile der kranialen und mittleren Lungenlappen, des akzessorischen Lungenlappens sowie der kranialen Anteile der kaudalen Lungenlappen dar (DESROSIERS, 2001; THACKER & MINION, 2012). Das betroffene Lungengewebe zeigt eine verfestigte, fleischige Konsistenz, eine fehlende Retraktionsfähigkeit und die Lungenstücke gehen bei der Schwimmprobe unter (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007). Bei unkomplizierten Infektionen beschränken sich die Läsionen auf einen kleineren, gut begrenzten Teil der Lunge (THACKER & MINION, 2012). Die Läsionen sind durch eine scharfe Linie, die den interlobulären Septen folgt, klar von benachbartem normalem Gewebe abgegrenzt (VAN ALSTINE, 2012). Im Anschnitt zeigt sich das Parenchym relativ homogen gefärbt und von der feuchten Schnittfläche fließt unter Druck ein trübes, schleimig-weißes oder mehr zähflüssiges Exsudat ab (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007). Im Gegensatz dazu zeigen die Lungen von

Schweinen mit Enzootischer Pneumonie, die neben *M. hyopneumoniae* durch bakterielle Sekundärinfektionen verkompliziert sind, großflächigere Läsionen und sind aufgrund der Bildung von fibrösem Gewebe fester und schwerer (THACKER & MINION, 2012; VAN ALSTINE, 2012). Die entzündlichen Prozesse konfluieren in späteren Stadien der Erkrankung und führen zu Läsionen in größeren Anteilen der kranio-ventralen Abschnitte der Lungenlappen bzw. können auf die Hauptlappen übergreifen. Das Aussehen des Exsudats ist im Wesentlichen von der Art der beteiligten Erreger abhängig und zeigt dementsprechend von Fall zu Fall eine unterschiedliche Farbe und Konsistenz (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007). Infolge einer Geweberetraktion entstandene narbige Fissuren in den kranio-ventralen Lungenparenchymabschnitten sprechen für eine zwischenzeitlich ausgeheilte *M. hyopneumoniae*-Infektion und sind 90 Tage p. i. noch erkennbar (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Die beschriebenen EP-Typ-Läsionen werden vor allem mit *M. hyopneumoniae*-Infektionen in Verbindung gebracht, können aber auch beim Vorliegen einer Influenza-Infektion festgestellt werden: Die makroskopischen Lungenveränderungen bei SIV-infizierten Schweinen sind ebenfalls durch gut abgegrenzte violett-rote Läsionen der kranio-ventralen Lungenlappen charakterisiert (GAUGER et al., 2012; VAN REETH et al., 2012). Pleuritiden an Schlachtlungen werden vor allem im Zusammenhang mit Infektionen mit APP oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (ENØE et al., 2002; MEYNS et al., 2011; FABLET et al., 2012b; FABLET et al., 2012a; MERIALDI et al., 2012). WELLENBERG et al. (2010) konnten jedoch auch die Bedeutung hoher PCV2-DNA-Gehalte im Lungengewebe von Mastschweinen ohne klinische Anzeichen einer PCV2-SD für das Auftreten von Pleuritiden darstellen.

Die mit dem PRDC einhergehenden (histo)pathologischen Veränderungen sind vielfältig und unspezifisch, auch sie sind eine Kombination aus der Wirkung der verschiedenen an dem Komplex beteiligten Pathogene. Häufige histologische Befunde sind eine lymphohistiozytäre bis granulomatöse oder bronchio-interstitielle Pneumonie mit oder ohne peribrochiolärer Fibroplasie des Lungenparenchyms (KIM et al., 2003).

1.3.2 Nicht-infektiöse Risikofaktoren für das Auftreten von PRDC

Neben den genannten infektiösen Agenzien spielen nachteilige Umwelt- und Managementbedingungen eine wichtige Rolle in der multifaktoriellen Genese der Atemwegserkrankungen bei Schweinen (Abbildung 1). Diese nicht-infektiösen Faktoren beeinflussen die Anfälligkeit der Tiere für Krankheitserreger und können eine vermehrte Übertragung und Ausbreitung der Pathogene begünstigen. Stallklimatische Faktoren, wie zu hohe Ammoniakkonzentration, führen zu einer Beeinträchtigung der Zilientätigkeit. Eine Überbelegung bzw. hohe Bestandsdichte verursacht Stress, infolge einer erhöhten Katecholamin- und Glukokortikoid-Sekretion kommt es zu einer Immunsuppression und Funktionseinschränkung physiologischer Abwehrmechanismen (SALAK-JOHNSON et al., 1997). FLESJA und SOLBERG (1981) weisen einen Prävalenzanstieg von Pneumonien bei einer Belegung von mehr als 12 Tieren pro Bucht nach. Die Übertragung der genannten PRDC-Pathogene (PRRSV, SIV, PCV2, *M. hyopneumoniae*, APP) zwischen Schweineherden erfolgt hauptsächlich über den Kontakt zwischen infizierten und naiven Schweinen (WOESTE & GROSSE BEILAGE, 2007). Das Risiko der Erregerübertragung durch Insemination mit kontaminiertem Sperma spielt nur eine relevante Rolle bei der Infektion mit PRRSV (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 1996; BENFIELD et al., 2000; MAES et al., 2016) und PCV2 (LAROCHELLE et al., 2000; MCINTOSH et al., 2006; MAES et al., 2016). Die Möglichkeit für die aerogene Erregerübertragung zwischen Herden über eine bestimmte Entfernung ist für Distanzen bis 9,2 km für *M. hyopneumoniae* und PRRSV beschrieben (OTAKE et al., 2010). Bei Influenzavirus kann diese Distanz bis zu 4 km oder auch weiter betragen (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Die PRDC-Erreger werden in der Wildschweinpopulation häufig nachgewiesen. Damit können auch Wildschweine einen Risikofaktor der PCVD Erkrankungen von Hausschweinpopulationen darstellen (KNELL et al., 2005) und bei engem Kontakt ist eine Übertragung zwischen Wild- und Hausschweinen denkbar. Die Übertragung via kontaminierter Schutzkleidung ist für PRRSV und *M. hyopneumoniae* nachgewiesen. Die konsequente Einhaltung üblicher Biosicherheits- und Hygienemaßnahmen vermittelt aber einen ausreichenden Schutz (PITKIN et al., 2011). Anderen Tierarten (z.B. Schadnager oder Vögel) als belebte Vektoren werden für die Übertragung der Erreger des PRDC keine besondere Bedeutung zugemessen (WOESTE & GROSSE BEILAGE, 2007). Der Betriebsstandort und die

Möglichkeit z.B. einer PCV2-Infektion werden vor allem auf die Tierdichte und das damit einhergehende intensivere Tiertransportaufkommen (pig flow) der jeweiligen Region zusammen geführt. So lassen sich in tierdichten Regionen z.B. mehr Tiere mit PCV2-Infektion nachweisen als in weniger intensiv bewirtschafteten Regionen (RITZMANN et al., 2002). Ebenso steigt das Risiko für PCV2-virämische Tiere in reinen Mastbetrieben im Vergleich zu geschlossenen Betriebssystemen (STOIBER, 2017). Auch die Bestandsgröße und das Belegungssystem stellen Einflussfaktoren auf die Tiergesundheit dar. So kann das Risiko für das Auftreten PCV2-virämischer Schweine durch ein stallweises Rein-Raus-Verfahren im Vergleich zu einer kontinuierlichen Belegung gesenkt werden (STOIBER, 2017).

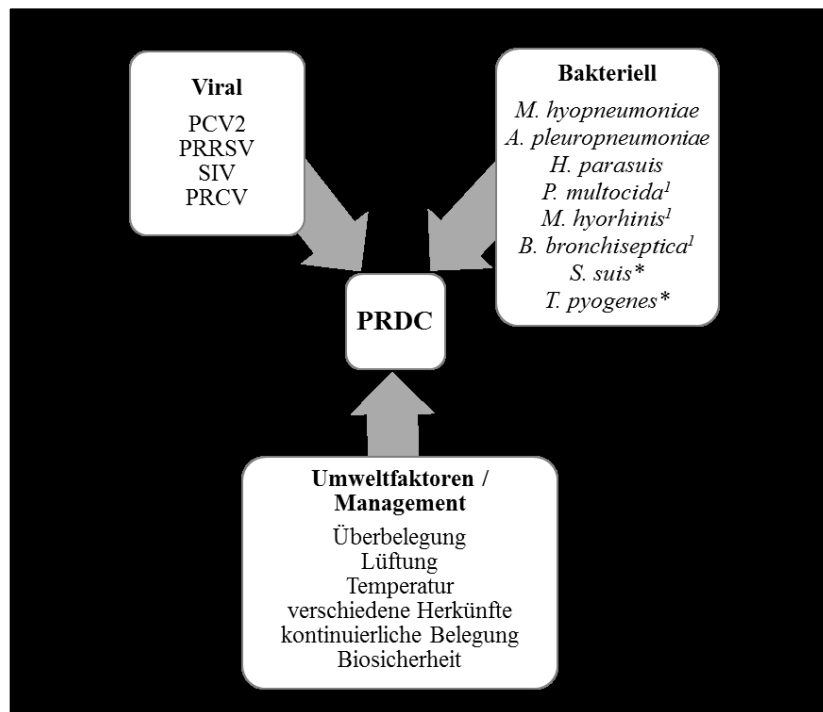


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Interaktionen von obligat und fakultativ infektiösen (¹fakultativ pathogen; *Sekundärerreger) und nicht-infektiösen Faktoren beim PRDC (modifiziert nach BROCKMEIER et al., 2002).

1.4 Diagnostik von PCV2-Infektionen

Zur Diagnosestellung von PCV2-Infektionen ist die Kombination aus klinischen Anzeichen, (histo-)pathologischen Befunden und der Labordiagnostik empfehlenswerter Standard (SEGALES, 2012). Typische klinische Befunde oder Läsionen allein sind zu unspezifisch um zur Diagnose einer PCVD zu gelangen

(ALLAN & ELLIS, 2000; SORDEN, 2000). So müssen bei PCV2-SD neben klinischen Symptomen (Abmagerung oder verminderte Gewichtszunahme mit oder ohne Dyspnoe und Ikterus) in der histopathologischen Untersuchung eine lymphozytäre Depletion und eine histiozytäre Proliferation vor allem in den lymphatischen Organen vorliegen. Zusätzlich muss Virus in den Läsionen nachweisbar sein (SORDEN, 2000). Durch den Nachweis spezifischer Antikörper gegen das ubiquitär verbreitete PCV2 allein kann keine Aussage zu einem PCV2-SD-Geschehen getätigt werden (ALLAN & ELLIS, 2000; SEGALES, 2012). Eine Serokonversion lässt sich in PCV2-SD positiven als auch negativen Beständen nachweisen (LAROCHELLE et al., 2003). SEGALES (2012) empfiehlt grundsätzlich die Kombination aus histopathologischer Untersuchung betroffener Organproben und lymphatischer Gewebe und der PCV2-Detektion z.B. mittels quantitativer PCR oder semiquantitativ mittels IHC oder ISH aus diesen Organ- bzw. Gewebeveränderungen in Verbindung mit dem klinischen Bild zur Diagnosestellung sowohl auf Einzeltier- als auch Bestandsebene. Nicht immer können alle oben aufgeführten klinischen Symptome einer PCV2-SD bei einem Einzeltier beobachtet werden, bei einer Untersuchung auf Bestandsebene ist aber oftmals das gesamte klinische Bild vorhanden (HARDING, 2004). Treten in der Ferkelaufzucht ein signifikanter Anstieg der Mortalitätsrate in Verbindung mit klinischen Anzeichen einer PCV2-SD auf, so sollte zur endgültigen Diagnosestellung einer PCV2-SD in mindestens einem bis drei von fünf (histo-) pathologisch untersuchten Schweinen ein PCV2-Nachweis erfolgen (SEGALES, 2012). Oftmals lässt sich beobachten, dass der Ausprägungsgrad der histologischen Läsionen meistens, jedoch nicht immer, mit der gemessenen Menge an PCV2-Antigen oder Nukleinsäuren einhergeht (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; WELTI et al., 2012). Klinisch relevante Mengen im Serum infizierter Tiere von 10^5 bis 10^7 Genomkopien/ml Serum gelten als Referenzbereich einer klinischen PCV2-Infektion (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; FORT et al., 2007; HARDING et al., 2008).

1.4.1 Genomnachweis mittels PCR

Die Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) ist eine probate Methode zum Nachweis von Nukleinsäuren des porcinen Circovirus Typ 2 (HAMEL et al., 2000; SHIBATA et al., 2003; CHUNG et al., 2005). Die Primer

basieren auf PCV2-spezifischen DNA-Abschnitten (HAMEL et al., 2000). Ein simples und schnelles Verfahren zur DNA-Detektion stellt die real time PCR dar. Der quantitative Nachweis erfolgt durch die Bestimmung des Ct-Wertes (cycle threshold), bei dem das PCR-Produkt zum ersten Mal nachgewiesen wird (CHUNG et al., 2005).

Als Material zum Nachweis der PCV2-DNA mittels PCR eignen sich verschiedene Gewebe erkrankter Schweinen wie Lunge, Lymphknoten, Tonsillen (HAMEL et al., 2000), diverse Ex- und Sekrete sowie Blutserum (LAROCHELLE et al., 2000; CALSAMIGLIA et al., 2002; SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005; PRICKETT et al., 2011). CALSAMIGLIA et al. (2002) definieren die PCR aus dem lymphatischen Gewebe des oberflächlichen Inguinallymphknoten als sensitivste Methode für die Diagnostik einer PCV2-SD. Für epidemiologische Untersuchungen wird das Serum als primäres Probenmaterial empfohlen (CALSAMIGLIA et al., 2002). SEGALÉS et al. (2005) vergleichen zur Bestimmung der Viruslast bei einer PCV2-SD verschiedene Probenmatrizen: respiratorisch (nasal und tracheobronchial) und oral (tonsillar) gewonnene Tupferproben mit Serum-, Harn- und Kotproben. In dieser Vergleichsuntersuchung weisen die Tracheobronchial-Tupferproben von Schweinen mit klinischen Anzeichen einer PCV2-SD die höchste Menge an PCV2-DNA auf, gefolgt von Serum, Tonsillar-, Nasentupfer, sowie Kot- und schließlich Harnproben (SEGALÉS et al., 2005).

Im Vergleich zu anderen Nachweismethoden wie der in-situ-Hybridisierung (ISH) (CALSAMIGLIA et al., 2002; KIM & CHAE, 2004), immunhistochemischen Techniken (KIM & CHAE, 2004) und der Virusisolation (MAGAR et al., 2000; KIM & CHAE, 2004) erweist sich die PCR in verschiedenen Untersuchungen als sensitiveres diagnostisches Mittel zum Nachweis von PCV2-DNA.

Verschiedene Studien können belegen, dass die mittels (semi-) quantitativer Methoden ermittelten PCV2-Nukleinsäure- bzw. Antigenmengen mit dem Grad der klinischen und histopathologischen Läsionen stark korrelieren (ROVIRA et al., 2002; BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004) und dass zur sicheren Diagnose einer PCVD alle drei Diagnostika in Kombination interpretiert werden sollten. OLVERA et al. (2004) konnten einen Zusammenhang zwischen der mittels quantitativer TaqMan-PCR ermittelten DNA-Menge von PCV2 im Blutserum und den verschiedenen Ausprägungsformen der charakteristischen histologischen PCV2-SD-Läsionen in Lymphgeweben und bei PDNS darstellen.

So zeigten Tiere mit hochgradigen PCV2-SD Läsionen signifikant höhere Durchschnittsmengen an PCV2-Genomkopien pro ml Serum als Tiere mit geringgradigen, mikroskopisch darstellbaren PCV2-SD-Veränderungen oder mit PDNS ($3,9 \times 10^5$ bis $1,8 \times 10^{12}$ bzw. 2×10^3 bis $8,1 \times 10^7$ Genomkopien pro ml Serum) (OLVERA et al., 2004). Auch BAUMGARTNER et al. (2012) konnten bei an PCV2-SD erkrankten Schweinen signifikant höhere DNA-Mengen mit durchschnittlich $1,8 \times 10^8$ Genomkopien pro ml Serum nachweisen als bei PCV2-SD klinisch unauffälligen Schweinen aus den Kontrollbetrieben, welche 1×10^6 Genomkopien pro ml Serum aufwiesen. Eine Untersuchung von BRUNBORG et al. (2004) ergibt ebenfalls eine positive Korrelation zwischen der Stärke der Läsionen einer PCVD und der Menge nachgewiesener PCV2-Genomkopien pro ml Serum. Die Ergebnisse stellen die quantitative PCR als geeigneten Indikator für die Feststellung der klinischen Relevanz einer diagnostizierten PCV2-Infektion dar.

Die qualitative PCR hingegen wird zur Diagnosestellung einer PCVD nicht empfohlen (MCNEILLY et al., 2002), da oftmals subklinische PCV2-Infektionen auftreten und überdies PCV2 ubiquitär in der Hausschweinepopulation verbreitet zu finden ist (MCNEILLY et al., 2002; SEGALÉS et al., 2005).

1.4.2 Antikörpernachweis mittels ELISA

Der Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 ist mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) möglich (WALKER et al., 2000). Dafür steht zum einen ein blocking ELISA zur diagnostischen Verfügung, mit dem zwischen spezifischen Immunglobulinklassen, IgM und IgG, unterschieden werden kann. Mittels Ingezim® Circovirus IgG/IgM ELISA (Firma INGENASA, Madrid, Spanien) können durch die Bestimmung der relativen Mengen von IgM- und IgG-Antikörpern Schlussfolgerungen zum Zeitpunkt der Infektion bzw. zum Infektionsgeschehen gezogen werden (SEGALES et al., 2005). Beim Nachweis von IgG und IgM gibt das Verhältnis beider Immunglobulinklassen zueinander Hinweise auf den Infektionszeitpunkt: Liegt der detektierte IgM-Wert über dem IgG-Wert, liegt eine aktive Infektion (circa 7-14 Tage p. i.) vor. Wird ein starker IgG-Wert und schwacher IgM-Wert ermittelt, liegt eine subakute Infektion vor, die ein bis zwei Monate zurück liegt. Lassen sich nur IgG- aber keine IgM-Antikörper nachweisen, geht man von einer alten oder chronischen Infektion aus,

die vor mindestens acht bis zehn Wochen stattfand (Gebrauchsanleitung des Ingezim® Circovirus IgG/IgM ELISA). Zudem kommen indirekte ELISAs bei der quantitativen Bestimmung der Gesamtmenge der Antikörper zum Einsatz (z.B. SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking, Synbiotics, Lyon, Frankreich) (SEGALES & DOMINGO, 2002; SEGALES, 2012).

1.4.3 Weitere diagnostische Verfahren

Um fixierte Gewebeproben auf PCV2 zu untersuchen, stehen zusätzliche Methoden zur Verfügung: die in-situ-Hybridisierung (ISH) und die Immunhistochemie (IHC). Beide Verfahren werden an Formalin-fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebsschnitten durchgeführt. MCNEILLY et al. (1999) konnten mit beiden Methoden in allen untersuchten Geweben PCV2-Antigen nachweisen. Die IHC wies aber eine größere Anzahl an positiven Zellen und ein stärkeres Signal auf. Ähnliche Resultate zeigt eine Untersuchung von SZCZOTKA et al. (2011), die der IHC neben einer höheren Sensitivität und Spezifität im Vergleich zur ISH auch eine einfachere Interpretierbarkeit aufgrund einer besseren Bildqualität nach der Färbung zuweisen konnten (SZCZOTKA et al., 2011). Eine koreanische Vergleichsstudie konnte zeigen, dass die in-situ-Hybridisierung sensitiver als die Immunhistochemie für den Nachweis von PCV2-Antigen in Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Lymphknotengeweben war (KIM et al., 2009). Es wurden signifikant mehr PCV2-positive Signale sowohl bei experimentell als auch bei natürlich infizierten Schweinen durch ISH im Vergleich zur IHC nachgewiesen (KIM et al., 2009).

1.5 Vakzination gegen PCV2

Die Vakzination gegen PCV2 zählt zu den wichtigsten Kontrollmaßnahmen der PCVD und macht gegenwärtig den größten Anteil aller Impfstoffe, die in der weltweiten Schweineproduktion zur prophylaktischen Intervention bei Infektionskrankheiten eingesetzt werden, aus (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017). Die derzeit auf dem Markt verfügbaren kommerziellen Impfstoffe basieren auf dem Genotyp PCV2a oder dem entsprechenden Kapsidprotein (OPRIESSNIG et al., 2007). Diese Vakzine induzieren eine humorale und zellvermittelte Immunität gegen PCV2 (FORT et al., 2009;

KEKARAINEN et al., 2010; FORT et al., 2012; SEO et al., 2014). Verschiedene kontrollierte experimentelle Studien und Feldversuche zeigen, dass PCV2a-basierte Impfstoffe und eine PCV2b-basierte Vakzine eine angemessene Kreuzprotektion gegen klinische Erkrankungen nach einer Infektion mit PCV2a-, PCV2b- und PCV2d-Genotypen bieten und die durchschnittlich täglichen Gewichtszunahmen verbessern (BEACH et al., 2010; CHAE, 2012; JEONG et al., 2015; ROSE et al., 2016; OPRIESSNIG et al., 2017). Diese Studien belegen, dass die gegenwärtig verfügbaren Impfstoffe in den meisten Fällen geeignet sind, um den Ausbruch einer klinischen Erscheinung einer PCVD zu verhindern (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017).

Die aktive Immunisierung der Ferkel führt in der Regel zu einer signifikanten Reduktion der Viruslast im Serum und in den lymphatischen Geweben (SINHA et al., 2010; PARK et al., 2014b; OPRIESSNIG et al., 2017). Die Vakzination gegen PCV2 führt zu einer signifikanten Reduktion der Virämie, zu einer reduzierten Anzahl virämischer Schweine und Koinfektionen treten signifikant weniger häufig auf (FACHINGER et al., 2008; KIXMÖLLER et al., 2008; OPRIESSNIG et al., 2008; GILLESPIE et al., 2009; SHEN et al., 2010; HAAKE et al., 2014; PARK et al., 2014b). Entsprechende Ergebnisse konnten beispielsweise nach dem Einsatz einer kommerziellen PCV2-Vakzine in einer PRDC positiven Herde beobachtet werden (FACHINGER et al., 2008). Durch die Vakzination gegen PCV2 konnten eine signifikante Reduktion der Viruslast im Serum und Verkürzung der mittleren Virämiedauer um 50 % gezeigt werden. Diese Ergebnisse können auch in dem Vergleich von vier kommerziellen PCV2-Vakzinen in einer Challenge-Studie mit PCV2 und PRRSV unter koreanischen Feldbedingungen bestätigt werden. Die Impfung der Ferkel führte zu einer signifikanten Reduktion der PCV2-Virämie und zu signifikant reduzierten PCV2-assoziierten Läsionen in der Mastperiode, die bei einem PRDC-Geschehen, verursacht durch eine Koinfektion mit PCV2 und PRRSV, auftreten (PARK et al., 2014b). Die Vakzinierung gegen PCV2 ist nach wie vor ein effektives prophylaktisches Instrument bei PRDC (DARWICH & MATEU, 2012) und steht besonders im Hinblick auf Interaktionen mit anderen Koinfektionen im Vordergrund (CHAE, 2015). Die Impfung gegen PCV2 führt jedoch nicht zu PCV2 negativen Herden. FENG et al. (2014) bestätigten in einem Eradikationsversuch von PCV2 mittels Massenvakzination über einen längeren Zeitraum, dass es nach dem Absetzen der Impfung wieder zu einer deutlichen Serokonversion und zu Virusnachweisen in diesem Bestand kam.

Das Virus kann in PCV2 geimpften Schweinen in unterschiedlichem Maße, hauptsächlich aber in der Mittel- und Endmast, nachgewiesen werden (HAAKE et al., 2014; WALHÖFER, 2015). Die Vakzination gegen PCV2 führt zu einer protektiven aber nicht zu einer sterilen Immunität d.h. zur vollständigen Vermeidung einer erneuten Replikation des Erregers mit dem Ziel, dass das Tier weder Virusträger noch -ausscheider ist. Trotz der Impfung gegen PCV2 kommt es zu Nachweisen virämischer Schweine (FACHINGER et al., 2008; KIXMÖLLER et al., 2008; MARTELLI et al., 2011; HAAKE et al., 2014). GERBER et al. (2013) vermuten bei einer Koinfektion mit den Genotypen PCV2a und PCV2b eine potenzierende Komponente. Schon geringfügige Variationen des Kapsidproteins haben zudem das Potenzial, kumulativ supprimierend auf eine impfstoffinduzierte Immunantwort zu wirken (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017). Die derzeit verfügbaren Impfstoffe sind in den meisten Fällen geeignet, um eine klinische Erkrankung zu verhindern; KARUPPANNAN und OPRIESSNIG (2017) diskutieren jedoch eine sogenannte "leaky vaccine"-Situation. Diese Terminologie stammt aus dem Gebiet der Immunologie und bezeichnet Impfstoffe, welche die Übertragungs- und Infektionsrate bei geringer und einmaliger Exposition mit einem Pathogen reduzieren, aber bei wiederholter Exposition und unter Einfluss anderer Parameter keinen ausreichenden Schutz bieten (EDLEFSEN, 2014). READ et al. (2015) diskutieren bei diesen Impfstoffen eine Anpassung des Erregers an geimpfte Wirte und demzufolge die Verbreitung virulenterer Erreger (hier definiert als jene, die bei ungeimpften Wirten eine höhere oder schnellere Mortalität verursachen). Eine Immunität, die durch aktive Impfung oder durch maternale Antikörper hervorgerufen wird, verlängert das Überleben des Wirtes, verhindert jedoch keine Infektion, virale Replikation oder Übertragung und verlängert somit die infektiösen Perioden von Stämmen, welche sonst zu letal für den Wirt und somit auch das Virus wären, um weiterhin bestehen und übertragen werden zu können (READ et al., 2015). Die Autoren schlussfolgern, dass diese Impfstoffe durch Verhindern der klinischen Erkrankung die Wirte zwar am Leben erhalten, aber dennoch eine Übertragung des Pathogens ermöglichen und somit virulenterer Stämme in einer Population zirkulieren können. READ et al. (2015) zeigen in einer experimentellen Studie, dass die Immunisierung von Hühnern gegen das Virus der Marek-Krankheit das Auftreten stärker virulenterer Stämme erhöhte und die Übertragung dieser Stämme nicht verhindert wurde und bei ungeimpften Wirten eine schwerwiegendere

Erkrankung verursachte. Ähnliche „leaky-vaccine“-Situationen können auch bei der Impfung gegen das Newcastle-Virus (VAN BOVEN et al., 2008) und die aviäre Influenza in Asien (SAVILL et al., 2006; DESVAUX et al., 2013) beobachtet werden.

Die Immunisierung mit einem derzeit verfügbaren Impfstoff basierend auf dem Genotyp PCV2a oder dem entsprechenden Kapsidprotein kann eine Virusreplikation von PCV2d minimieren jedoch nicht vollständig ausräumen. Eine experimentelle Studie legt nahe, dass ein homologer Impfstoff basierend auf dem Genotyp PCV2b eine stärkere Reduktion der Virämie nach PCV2a und PCV2b-Exposition erzielt als eine heterologe Vakzine basierend auf den Genotypen PCV2a und PCV2b (OPRIESSNIG et al., 2013). Ein ähnliches Virämieverhalten bzw. virale Ausscheidung nach heterologer Genotyp-Exposition nach PCV2a- oder PCV2b-basierter Impfung konnte auch in anderen Studien beobachtet werden (FORT et al., 2008; BEACH et al., 2010).

2. Monitoring der Lungengesundheit am Schlachthof (visueller „Lungencheck“)

Befunde aus der Schlachttierkörperuntersuchung sind neben der Überwachung des ökonomischen Erfolgs ein wertvolles Rückmeldesystem zur mittel- bis langfristigen Entwicklung der Tiergesundheit in der Bestandsbetreuung. Durch sogenannte visuelle Lungenchecks oder durch Rückmeldung der erhobenen Befunde in der Schlachttierkörperuntersuchung an den Mastbetrieb werden Parameter wie Pneumonien, Pleuritiden, Perikarditiden und Leberläsionen erhoben. Diese Daten sind zum einen primär Teil der Qualitätssicherung und können zum anderen in Kombination mit weiteren Leistungsdaten und Managementmaßnahmen, den Ergebnissen der tierärztlichen Diagnostik sowie Arzneimittelanwendungen oder Impfungen, wertvolle Informationen zum Monitoring der Tiergesundheit eines Bestandes liefern.

Grundsätzlich bietet ein „Lungencheck“ bzw. „Schlachthofcheck“ durch den bestandsbetreuenden Tierarzt sehr gute Möglichkeiten zur generellen Beurteilung des Ausmaßes an Läsionen und insbesondere eine gute Ergänzung zur kontinuierlichen Überwachung der Lungengesundheit einer Herde (MUES et al., 2014). Die daraus gewonnenen Erkenntnisse können zielgerichtete Anpassungen in Bezug auf Lüftung, Impfprophylaxe sowie Behandlungs- und Belegstrategie nach sich ziehen und der Erfolg der Maßnahmen wiederum durch Lungenchecks geprüft werden (MUES et al., 2014).

Für die Beurteilung von Lungenläsionen am Geschlinge am Schlachtband werden unterschiedliche Bewertungssysteme und entsprechende Modifikationen angewendet (Tabelle 2 und 3). Die Veränderungen werden üblicherweise durch eine visuelle Untersuchung erfasst und entsprechend ihrem Ausmaß mit einem Befundschlüssel klassifiziert (GROSSE BEILAGE et al., 2013).

2.1 Beurteilung von Lungenläsionen

Die Befunderhebung des Lungenscores nach CHRISTENSEN et al. (1999) basiert auf einer makroskopischen Adspektion und Palpation des Lungenparenchyms. Bei der Bewertung wird der prozentuale Anteil veränderten Lungengewebes pro Lungenlappen ermittelt. Bezogen auf den Anteil der einzelnen Lungenlappen an

der Gesamtlungenmasse werden die Lungenscores anschließend berechnet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Berechnung des Lungenscores (CHRISTENSEN et al., 1999) an einem Beispeltier.

Lungenlappen	L. cran. sin.	L. med. sin.	L. caud. sin.	L. cran. dex.	L. med. dex.	L. caud. dex.	L. acc.	Pleuritis	LS
% Gewichtung	5	5	30	10	10	35	5		
% Veränderung	50	20	0	50	10	0	0	nein	-
% Gesamtlunge	2,5	1	0	5	1	0	0	0	9,5

L. = Lobus, cran. = cranialis, sin. = sinister, med. = medialis, caud. = caudalis, dex. = dexter, acc. = accessorius; LS = Lungenscore

Bei dem Befundschlüssel nach MADEC und KOBISCH (1982) werden die pathologisch-anatomischen Veränderungen der einzelnen Lungenlappen jeweils mit Punkten von 0 bis 4 bewertet (Tabelle 3). Dabei steht 0 für keine pathologisch-anatomische Veränderung in diesem Lungenlappen erkennbar, 1 entspricht Veränderungen kleiner als eine 2-Euro-Münze (circa 3 x 3 cm), 2 steht für bis zu 50 % Veränderung des Lungenlappens, 3 bedeutet 50-75 % des Lungenlappens verändert und 4 steht für mehr als 75 % makroskopische Veränderung der Oberfläche des Lungenlappens. Bei dieser Bewertung kann jede Lunge mit 0 bis 28 Punkten bewertet werden (7 Lungenlappen zu je 4 maximalen Punkten).

Tabelle 3: Bewertungssystem für EP-Typ Läsionen betroffener Lungenbereiche eines jeden Lungenlappens (MADEC & KOBISCH, 1982).

Score	Ausmaß EP-like Läsion pro Lungenlappen
0	keine Läsionen
1	1–25%
2	26–50%
3	51–75%
4	76–100%

Um eine ausreichende Aussagekraft auf Bestandesebene zu erzielen, sollte eine Stichprobe von mindestens 30 Tieren eines Betriebes bzw. einer Altersgruppe bewertet werden (STRAW et al., 1989; DAVIES et al., 1995).

Das Bild der beim PRDC auftretenden makroskopischen Lungenläsionen wird durch die beteiligten Infektionserreger bestimmt (HARMS et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009). Oftmals findet man eine kranio-ventral betonte Konsolidierung (Gewebeverdichtung) der Lunge mit roten bis lila Verfärbungen und fehlender Retraktionsfähigkeit in diesen Lungenbereichen und Pleuritis (HARMS et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009; HANSEN et al., 2010). Diese makroskopischen Läsionen stellen sich als violett bis grau gefärbte Verdichtung der ventralen Anteile der kranialen und mittleren Lungenlappen, des akzessorischen Lungenlappens sowie der kranialen Anteile der kaudalen Lungenlappen dar (DESROSIERS, 2001; THACKER & MINION, 2012). Das betroffene Lungengewebe zeigt eine verfestigte, fleischige Konsistenz und die Lungenstücke gehen bei der Schwimmprobe unter (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007). Bei unkomplizierten Infektionen beschränken sich die Läsionen auf einen kleineren, gut begrenzten Teil der Lunge (THACKER & MINION, 2012). Die Läsionen sind durch eine scharfe Linie, die den interlobulären Septen folgt, klar von benachbartem normalem Gewebe abgegrenzt (VAN ALSTINE, 2012). Im Anschnitt zeigt sich das Parenchym relativ homogen gefärbt und von der feuchten Schnittfläche fließt ein unter Druck ein trübes, schleimig-weißes oder mehr zähflüssiges Exsudat ab (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007). Im Gegensatz dazu zeigen die Lungen von Schweinen mit Enzootischer Pneumonie (EP), die neben *M. hyopneumoniae* durch bakterielle Sekundärinfektionen verkompliziert sind, großflächigere Läsionen und sind aufgrund der Bildung von fibrösem Gewebe fester und schwerer (THACKER & MINION, 2012; VAN ALSTINE, 2012). Die entzündlichen Prozesse konfluieren in späteren Stadien der Erkrankung und führen zu Läsionen in größeren Anteilen der kranio-ventralen Abschnitte der Lungenlappen bzw. können auf die Hauptlappen übergreifen. Das Aussehen des Exsudats ist im Wesentlichen von der Art der beteiligten Erreger abhängig und zeigt dementsprechend von Fall zu Fall eine unterschiedliche Farbe und Konsistenz (HEWICKER-TRAUTWEIN, 2007).

Auf Grundlage der makroskopischen Lungenveränderungen ist nur in wenigen Fällen ein Rückschluss auf auslösende Pathogene möglich. Am häufigsten wird das oben beschriebene Kriterium der „typischen Läsion einer EP“ (EP-like lesion) in den kranio-ventralen Lungenabschnitten im Rahmen des PRDC-Monitorings klassifiziert. Die makroskopischen Lungenläsionen sind der visuellen Beurteilung gut zugänglich und das veränderte Gewebe ist farblich markant von

unverändertem Gewebe abgrenzt. Allerdings sind diese Läsionen in den kranio-ventralen Bereichen der Lunge schon allein aufgrund ihrer anatomischen Lage und dem Gesetz der Schwerkraft nicht pathognomonisch (WHITTLESTONE, 1967). Zudem stellen sich die Lungenveränderungen gerade bei Mehrfachinfektionen des PRDC überlappend und mehrdeutig dar.

2.2 Pleuritis bei Schlachtschweinen

Die chronische Pleuritis ist ein sehr häufiger Befund bei der makroskopischen Beurteilung des Geschlinges am Schlachtband (LIUM & FALK, 1991; ENØE et al., 2002; FRAILE et al., 2010; JIRAWATTANAPONG et al., 2010; Merialdi et al., 2012) und gilt in Kombination mit Lungenläsionen als ein Indikator für respiratorische Erkrankungen wie dem PRDC (Merialdi et al., 2012). Die Prävalenz von Pleuritiden an Schlachtlungen variiert je nach Region und Land zwischen 14 und 48%. In Europa ist ein Anstieg der Prävalenzen (Tabelle 4) über die letzten Jahre zu beobachten.

Eine Pleuritis kann primär oder sekundär bedingt sein. Verschiedene bakterielle Infektionen mit Schweinepathogenen werden mit dem Auftreten von Pleuritis beobachtet: APP, *Haemophilus parasuis* (HPS), *Streptococcus (S.) suis* und *M. hyorhinis* können zu einer primären Pleuritis (und Polyserositis) führen (ENØE et al., 2002; JIRAWATTANAPONG et al., 2010; MEYNS et al., 2011). Eine sekundäre Pleuritis oder eine parapneumonische Pleuritis geht in der Regel mit einer Pneumonie einher. APP und *M. hyopneumoniae* können Pleuraergüsse und Pleuritis induzieren (JIRAWATTANAPONG et al., 2010). In einer Untersuchung infektiöser Ursachen für das Auftreten von Pleuritis bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung konnten ENØE et al. (2002) in 51% bzw. 29% der Fälle mit einer Seroprävalenz auf Bestandesebene für APP Serotyp (ST) 2 und *M. hyopneumoniae* nachweisen. WELLENBERG et al. (2010) konnten jedoch auch die Bedeutung hoher PCV2-Virusgehalte im Lungengewebe von Mastschweinen ohne klinische Anzeichen einer PCV2-SD für das Auftreten von Pleuritiden darstellen. Als Folge der PCV2-induzierten Modulation bzw. Schädigung des Wirtsimmunsystems (KIM et al., 2003; OPRIESSNIG et al., 2007) treten vermehrt Koinfektionen auf. Durch seine immunmodulierenden Eigenschaften könnte PCV2 als Wegbereiter für andere Lungenpathogene, wie APP und *M. hyopneumoniae* dienen, in dem es die Tiere empfänglicher für

Mehrfachinfektionen (VINCENT et al., 2007) mit diesen bakteriellen Pathogenen macht und demzufolge die Ausprägung und Prävalenz von Pleuritiden an Schlachtlungen verstärken bzw. erhöhen könnte.

Pleuritiden können in kranio-ventralen oder dorso-kaudalen Lungenbereichen lokalisiert sein (MERIALDI et al., 2012) sein. Kranio-ventrale Pleuraläsionen werden stark mit komplizierten EP-Typ Läsionen assoziiert, während dorso-kaudale Läsionen als Anzeichen einer rezidivierenden Pleuropneumonie gelten (CHRISTENSEN & ENØE, 1999; CHRISTENSEN et al., 1999; MERIALDI et al., 2012). Durch das Fortschreiten einer Pneumonie bis in die viszerale Pleura kommt es hier zu einer lokalen Freisetzung an Entzündungsmediatoren, welche die vaskuläre Permeabilität verstärken. Dieser Prozess umfasst Fibrin-Extravasation und bakterielle Translokation (HAMM & LIGHT, 1997). Überwiegend in den dorso-kaudalen Lungenbereichen entsteht zunächst eine fibrinöse Pleuritis, die sich in ausgedehnten Fibrinauflagerungen auf der Pleuroberfläche als sogenannte Pseudomembranen zeigt (ANDREASEN et al., 2001; THOMAS et al., 2005; JIRAWATTANAPONG et al., 2010). Die fibröse Pleuritis stellt die chronische Form oder Spätfolge einer akuten fibrinösen Pleuritis dar. Makroskopisch sieht man strangförmige oder flächenhafte Verwachsungen zwischen den beiden Pleurablättern (THOMAS et al., 2005). Diese Adhäsionen werden auch zwischen den kranialen und mittleren Lungenlappen beobachtet (JIRAWATTANAPONG et al., 2010).

Tabelle 4: Übersicht zu Prävalenzen von Pleuritiden bei Schlachtschweinen in Europa.

Prävalenz	Jahr	Land	Quelle
14,0%	1967	Dänemark	ENØE et al. (2002)
41,0%	1991	Norwegen	LIUM & FALK (1991)
24,0%	1998	Dänemark	CHRISTENSEN und ENØE (1999)
16,0%	2000	Belgien	MAES et al. (2001)
29,5%	2005	GB	JÄGER et al. (2012)
45,4%	2005	Niederlande	JIRAWATTANAPONG et al. (2010)
44,0%	2007	Frankreich	FABLET et al. (2012b)
47,5%	2008	Italien	MERIALDI et al. (2012)
20,8%	2009	Belgien	MEYNS et al. (2011b)
26,8%	2009	Spanien	FRAILE et al. (2010)

Mittels slaughterhouse pleurisy evaluation system (SPES) nach DOTTORI et al. (2007) können Pleuraläsionen auf Bestandesebene standardisiert während der Schlachtlungenuntersuchung beurteilt werden. Mit diesem Bewertungssystem wird jedem Tier unter Berücksichtigung des Vorhandenseins, der Ausdehnung und der Lokalisation von Pleuraläsionen einer von fünf möglichen Scores zugewiesen (MERIALDI et al., 2012). Die gesamte Lunge wird je nach Pleuritisgrad in einem Scorebereich von 0 bis 4 eingeteilt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Bewertungsschema von Pleuritiden nach DOTTORI et al. (2007).

Score SPES	Ausmaß der Pleuraläsionen
0	keine Anzeichen für Pleuritis
1	kranio-ventrale Läsion: Pleuritis in Spitzenlappen und Herzlappen
2	einseitige dorso-kaudale fokale Pleuritis
3	bilaterale dorso-kaudale fokale Pleuritis oder ausgedehnte einseitige Pleuritis (mind. 1/3 eines Zwerchfelllappens)
4	hochgradige, ausgedehnte bilaterale Pleuritis (mind. 1/3 beider Zwerchfelllappen)

SPES = slaughterhouse pleurisy evaluation system

III. ERGEBNISSE

Nickoll I, Striegl J, Fux R, Sutter G, Ritzmann M, Eddicks M.

**Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) - Infektionen in oberbayerischen
Schweinemastbeständen mit routinemäßiger Impfung gegen PCV2 -
Bedeutung für das Auftreten von Lungenveränderungen bei
Schlachtierkörpern /**

**Porcine circovirus type 2 (PCV2)-infections in Upper Bavarian fattening pig
herds with routine vaccination against PCV2 - relevance for the occurrence
of lung lesions at slaughter.**

Tierärztl Umsch 2016; 71: 360-370.

**Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) – Infektionen in oberbayerischen
Schweinemastbeständen mit routinemäßiger Impfung gegen PCV2
– Bedeutung für das Auftreten von Lungenveränderungen bei
Schlachttierkörpern –**

Ina Nickoll¹, Julia Striegl¹, Robert Fux², Gerd Sutter², Mathias Ritzmann¹,
Matthias Eddicks^{1*}

¹ Klinik für Schweine, Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, Sonnenstraße 16, 85764 Oberschleißheim

² Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen, Veterinärwissenschaftliches Department der Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstraße 13, 80539 München

* Korrespondenzadresse:

Dr. Matthias Eddicks, Klinik für Schweine der LMU München,
Sonnenstraße 16, 85764 Oberschleißheim

E-Mail: m.eddicks@lmu.de, Tel.: +4989/218078903, Fax: +4989/218078902

Zusammenfassung

Die vorliegende Studie untersucht die Bedeutung von PCV2-Infektionen für die Ausprägung von Lungenveränderungen bei den Schlachttierkörpern von routinemäßig gegen PCV2 geimpften Mastschweinen. Von 300 Einzeltieren aus zehn vorausgewählten oberbayerischen Betrieben, in denen im Vorfeld gehäuft Lungenveränderungen in Form von Pleuritiden oder Pneumonien am Schlachthof auftraten, wurden die Lungen nach der Schlachtung makroskopisch auf pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht und deren Art und Schweregrad bewertet. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Mast gewonnene Serumproben wurden mittels real-time PCR bzw. ELISA auf PCV2-DNA sowie IgM und IgG Antikörper gegen PCV2 untersucht. Zusätzlich erfolgten weitere serologische Untersuchungen auf andere relevante Atemwegsinfektionserreger. Zur Masteinstellung (10.-12. Lebenswoche), in der Mittelmast (16.-18. LW) und in der Endmast (22. LW) wurden Blutproben auf Antikörper gegen *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, Schweineinfluenza-Virus, Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus und Porzines Circovirus Typ 2 untersucht. Des Weiteren wurden 20 % aller *Actinobacillus pleuropneumoniae* und Schweineinfluenza-Virus seropositiven Proben pro Bestand serotypisiert. Am Schlachthof wurde jede Lunge adspektorisch sowie palpatorisch auf Lungenveränderungen untersucht und je eine Gewebeprobe von Tonsille und Lunge zur molekularbiologischen Untersuchung auf PRRSV entnommen. Anhand der labordiagnostischen Ergebnisse wurde jedem Einzeltier sowie jedem Bestand ein Infektionsstatus bezüglich der untersuchten Infektionserreger zugewiesen. Die statistische Auswertung mittels logistischer Regression ergab, dass eine PCV2-Infektion, gemeinsam mit anderen Infektionserregern, sowohl auf Einzeltier- als auch auf Bestandsebene signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis sowie überdurchschnittlich hohen Lungenscores assoziiert war. Bestände mit auffälligen Lungenbefunden am Schlachthof sollten neben der Kontrolle von bereits als relevant für Lungenveränderungen beschriebenen Erregern, wie PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP, zusätzlich eine Überprüfung des Bestandes hinsichtlich des PCV2-Status in Betracht ziehen, um ggf. durch die Optimierung der Immunprophylaxe gegen PCV2 das Auftreten von Pleuritiden zu verringern

und das Ausmaß von Pneumonieerscheinungen in Form von Lungenläsionen zu reduzieren.

Abstract

The present investigation examines the meaning of PCV2 infections for lung lesions at slaughter of routinely PCV2 vaccinated pigs from preselected fattening farms under consideration of other relevant pathogens. All of the farms had a known history of noticeable lung lesions at slaughter. In total 300 fattening pigs from 10 Upper Bavarian fattening farms were included in this study. Pigs were individually signed by ear tags. Blood samples were collected at placement (age of 10-12 weeks), in the midst of fattening (16-18 weeks) and at the end of fattening/before slaughtering (22 weeks). All serum samples were examined for the presence of PCV2 DNA and serologically tested for the presence of antibodies against PCV2, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, swine influenza virus, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2. Furthermore 20 % of all *Actinobacillus pleuropneumoniae* and swine influenza virus seropositive samples per farm were serotyped. At abattoir all lungs were checked for lung lesions by palpatory and visual examination. Additional tonsil and lung tissue were collected at abattoir for PRRSV RNA testing by PCR. Based on the laboratory diagnostics an infection status was assigned to each single pig as well as to each farm. By the means of logistic regression analysis it could be shown that PCV2 infections, together with other pathogens like PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP, in fattening pigs can be significantly associated with the occurrence of pleurisy and the extent of pneumonic lesions at abattoir. Animal stocks with conspicuous lung lesions at slaughter should consider checking their PCV2 status to possibly reduce the frequency of pleurisy and extent of pneumonic lung lesions at slaughter by optimizing their PCV2 prophylaxis/ prevention measures.

1. Einleitung

Basierend auf serologischen Untersuchungen wird das Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) in der Hausschweinepopulation als ubiquitär verbreitet angesehen (Segales et al., 2005). Erkrankungen bei Schweinen, die mit PCV2-Infektionen im Zusammenhang stehen, werden als „porcine circovirus diseases“ (PCVD) zusammengefasst. Neben dem post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), Darmerkrankung (enteric disease, ED) und Reproduktionsstörung (reproductive disease, RD), werden auch Lungenerkrankungen mit PCV2 in Verbindung gebracht (Segales, 2012). Hierzu zählen die lung disease (LD) und der sogenannte „porcine respiratory disease complex“ (PRDC) (Kim et al., 2003; Harding, 2004; Segales et al., 2005; Segales, 2012).

Bei dem PRDC handelt es sich um eine multifaktorielle, komplexe Erkrankung der Lunge. Für dessen Entstehung werden, neben Management- oder tierspezifischen Faktoren (z. B. Alter oder Genetik), das gleichzeitige Vorhandensein von verschiedenen sowohl obligat als auch fakultativ-pathogenen Erregern verantwortlich gemacht (Opriessnig et al., 2011a). In Untersuchungen aus Dänemark konnte, neben *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* und *Pasteurella (P.) multocida*, PCV2 als einer der am häufigsten im Zusammenhang mit PRDC nachgewiesenen Erreger dargestellt werden (Hansen et al., 2010). Die Bedeutung von PCV2 für die Entstehung des PRDC betonen Kim et al. (2003) in einer Untersuchung von Schweinen aus Betrieben, die in der Vergangenheit immer wieder von PRDC-Ausbrüchen betroffen waren. In Lungenläsionen klinisch erkrankter Schweine, die auf den PRDC zurückzuführen waren, wurde PCV2 neben anderen viralen Erregern (Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom-Virus (PRRSV), Porzines Parvovirus (PPV), Schweineinfluenza-Virus (SIV)) in der Mehrheit der Untersuchungen nachgewiesen. Auch Fablet et al. (2012a) diskutieren neben den in ihrer Studie als relevant identifizierten Erregern (*M. hyopneumoniae*, PRRSV und das Schweineinfluenza-Virus (SIV) H1N1) die Beteiligung von PCV2 an der Entstehung von makroskopischen Lungenveränderungen. Das Bild von makroskopischen Lungenläsionen, die mit dem PRDC einhergehen können, hängt stark von den an der Pneumonie beteiligten Erregern ab. Oftmals findet man eine kranio-ventral betonte Konsolidierung (Gewebeverdichtung) der Lunge mit

Verfärbungen und fehlender Retraktionsfähigkeit in diesen Lungenbereichen (*Harms et al., 2002; Martínez et al., 2009*).

Im Zusammenhang mit dem Auftreten von Pleuritiden an Schlachtlungen werden vor allem Infektionen mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (*Enøe et al., 2002; Meyns et al., 2011; Fablet et al., 2012a; Fablet et al., 2012b*). Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass der Nachweis von hohen PCV2-Viruslasten im Lungengewebe von Mastschweinen ohne klinische Anzeichen von PMWS für das Auftreten von Pleuritis von Bedeutung sein kann (*Wellenberg et al., 2010*).

Heutzutage stellt die Impfung gegen PCV2 eine der wichtigsten Kontrollmaßnahmen der PCVD dar. Die aktive Immunisierung von Ferkeln führt in der Regel zu einer signifikanten Reduktion der Viruslast im Blut sowie zu einer verringerten Anzahl PCV2-infizierter Schweine und mindert somit das Auftreten klinischer Anzeichen von PCVD (*Kixmüller et al., 2008; Opriessnig et al., 2008; Shen et al., 2010; Haake et al., 2014*). Entsprechende Ergebnisse konnten auch nach dem Einsatz einer PCV2-Vakzine in einer PRDC positiven Herde beobachtet werden (*Fachinger et al., 2008*). Die Impfung gegen PCV2 führt jedoch nicht dazu, dass das Virus in geimpften Herden nicht mehr nachweisbar ist. In eigenen Untersuchungen unter Feldbedingungen konnte das Virus in PCV2 geimpften Schweinen in unterschiedlichem Maße, vor allem aber in der Mittel- und Endmast, nachgewiesen werden (*Haake et al., 2014; Walhöfer, 2015*). Diese Ergebnisse werden auch durch die Untersuchung von Feng et al. (2014) bestätigt. Bei dem Eradikationsversuch von PCV2 mittels Massenvakzination über einen Zeitraum von einem Jahr gelang es nicht, das Virus aus dem Bestand zu eradikieren. Nach dem Absetzen der Impfung kam es wieder zu einer deutlichen Serokonversion und zu Nachweisen des Virus.

Die vorliegende Studie untersucht, unter Berücksichtigung weiterer relevanter Infektionserreger, die Bedeutung von PCV2-Infektionen bei routinemäßig gegen PCV2 geimpften Mastschweinen aus Beständen, bei denen am Schlachthof regelmäßig auffällige Lungenbefunde in Form von Pleuritiden oder Pneumonien erhoben wurden.

2. Material und Methoden

Die verwendeten Proben stammen aus dem Tierversuch AZ 55.2-1-54-2532.2-30-12 (Regierung von Oberbayern).

2.1. Betriebe

In der vorliegenden Studie nahmen 10 oberbayerische Mastbestände mit vorberichtlich auffälligen Schlachtlungenbefunden teil. Die Tierhaltung erfolgte entsprechend den Anforderungen gemäß der Schweinehaltungshygieneverordnung. Alle Betriebe mästeten Schweine, die als Saugferkel routinemäßig aktiv gegen PCV2 immunisiert wurden. Die Größe der Bestände und das jeweilige Impfregime der in den Betrieben gemästeten Schweine sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Übersicht über die Bestandsgrößen sowie durchgeführte Impfungen bei den untersuchten Tieren.

Betrieb	Mastplätze	Impfungen als Saugferkel	Impfungen bei Masteinstellung
1	600	PCV2, M. hyo.	–
2	1.300	PCV2, M. hyo., PRRSV, HPS	APP
3	1.000	PCV2, M. hyo.	–
4	1.600	PCV2	–
5	1.200	PCV2, M. hyo.	–
6	1.400	PCV2, M. hyo.	–
7	750	PCV2, M. hyo., PRRSV	–
8	800	PCV2, M. hyo.	APP
9	1.500	PCV2, M. hyo.	PRRSV, APP
10	860	PCV2, M. hyo.	PRRSV

2.2. Tiere

Die Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Tiere wurde so gewählt, dass die Stichprobengröße pro Betrieb den Nachweis einer Infektion bei einer minimalen Prävalenz von 10 % mit einem Konfidenzintervall von 95 % ermöglicht. Um

mögliche Tierverluste durch Mortalität sowie Ohrmarkenverluste während der Mast bzw. während des Schlachtprozesses auszugleichen, wurden pro Betrieb zunächst 40 Mastschweine eingeschlossen. In die Auswertung flossen jeweils die ersten 30 lückenlos nachverfolgbaren Tiere pro Betrieb ein.

Die Tiere wurden innerhalb der ersten drei Tage nach Masteinstellung in die Studie aufgenommen und mittels individueller Ohrmarke gekennzeichnet, um eine Zuordnung und Nachverfolgbarkeit zu gewährleisten. Die Tiere wurden so ausgewählt, dass alle Schweine möglichst gleichmäßig auf die innerhalb eines Abteils vorhandenen Buchten verteilt waren.

2.3. Probenentnahme

Den Tieren wurde an drei Zeitpunkten (T1: Masteinstellung in der 10.-12. Lebenswoche (LW); T2: Mittelmast, 16.-18. LW; T3: Endmast, 22. LW) Vollblut zur Serumgewinnung entnommen.

Im Rahmen der Schlachtung erfolgte die individuelle Untersuchung der Lungen auf Lungenveränderungen und die Entnahme von Gewebeproben aus den Tonsillen sowie aus dem Hauptlappen der Lungen zur molekularbiologischen Untersuchung (T4).

2.4. Labordiagnostische Untersuchungen

Das Serum der Schweine von allen drei Zeitpunkten (T1, T2, T3) wurde im Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen (Lehrstuhl für Virologie, Tierärztliche Fakultät der LMU München) auf PCV2- DNA (Zhao *et al.*, 2010) und im Labor der Klinik für Schweine (LMU München) auf Antikörper (AK) gegen PCV2 (INgezim CIRCOVIRUS IgG/IgM[®], Ingenasa, Madrid, Spanien) untersucht. In einem kommerziellen Fremdlabor erfolgte die Untersuchung von ebenfalls allen drei Zeitpunkten auf AK gegen PRRSV (IDEXX[®] PRRS-X3-Ab-Test, IDEXX Laboratories Inc. One IDEXX Drive Westbrook, ME, USA) und *M. hyopneumoniae* (IDEXX[®] ELISA *M. hyopneumoniae* Ab-Test, IDEXX Laboratories Inc. One IDEXX Drive Westbrook, ME, USA) sowie vom Zeitpunkt T3 auf Antikörper gegen SIV (ID Screen[®] Influenza A Antibody Competition multi-species ELISA, ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, Frankreich) und

APP (ID Screen[®] APP Screening Indirect serotypes 1 through 12, ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, Frankreich).

Von 20 % der APP und SIV seropositiven Proben wurde eine Serotypisierung mittels folgenden Tests durchgeführt: SIV: IDEXX[®] Herd Chek ELISA für H1N1 und H3N2 (IDEXX Laboratories Inc. One IDEXX Drive Westbrook, ME, USA) bzw. mittels Hämagglutinationshemmtest (HAH) für H1N2 und APP: Swinecheck[®] APP 1-9-11, 2, 3-6-8, 4-7, 5, 10 and 12 indirect ELISA (nach Serogruppen) (BIOVET inc., Bloomington, MN, USA). Außerdem wurde die am Schlachthof (T4) entnommene Poolprobe aus Tonsillen- und Lungengewebe auf PRRSV-RNA (Kleiboeker *et al.*, 2005) getestet.

2.5 Lungenscore und Pleuritis

Die Beurteilung der Lungen erfolgte mittels eines validierten Bewertungssystems (Lungenscore nach Christensen *et al.* (1999)). Dazu wurden diese mit der individuellen Ohrmarke des jeweiligen Tieres versehen und unabhängig von der Schlachtbandgeschwindigkeit nach Abschluss der Schlachtung adspektorisch und palpatorisch untersucht.

Bei der Bewertung wurde der prozentuale Anteil verändertes Lungengewebe pro Lungenlappen ermittelt und diese Werte anschließend, bezogen auf den Anteil der einzelnen Lungenlappen an der Gesamtlungenmasse, berechnet (Tab. 2). Außerdem wurde auf das Vorkommen von Pleuritiden untersucht.

Tabelle 2: Berechnung des Lungenscores (Christensen *et al.*, 1999) am Beispiel Tier Nr. 104.

Lungenlappen	L. cran. sin.	L. med. sin.	L. caud. sin.	L. cran. dex.	L. med. dex.	L. caud. dex.	L. acc.	Pleuritis	LS
% Gewichtung	5	5	30	10	10	35	5		
% Veränderung	50	20	0	50	10	0	0	nein	-
% Gesamtlunge	2,5	1	0	5	1	0	0	0	9,5

Legende: L. = Lobus, cran. = cranialis, sin. = sinister, med. = medialis, caud. = caudalis, dex. = dexter, acc. = accessorius; LS = Lungenscore

2.6. Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics® (Version 24.0, IBM SPSS Inc., Illinois, USA) und Microsoft Excel® (2016 Microsoft Office) durchgeführt. Werte von $p < 0,05$ galten als signifikant. Das Konfidenzintervall betrug 95 %.

Als Zielgrößen (abhängige Variablen) dienten die binären Variablen „Pleuritis“ (vorhanden/nicht vorhanden) sowie „überdurchschnittlich hoher Lungenscore“ (ja/nein). Als durchschnittlicher Lungenscore wurde der Mittelwert des Lungenscores aller in die Studie einbezogener Schweine angenommen. Die getesteten Einflussfaktoren (unabhängige Variablen) und deren Definitionen sind in den Tabellen 3 und 4 angegeben.

Die Auswertungen erfolgten auf Einzeltier- (Teil A) und Bestandsebene (Teil B). Basierend auf den Ergebnissen der labordiagnostischen Untersuchungen wurde jedem Tier für die Auswertung auf Einzeltierebene von jedem untersuchten Parameter der entsprechende Status zugeordnet (Tab. 3). Für die Auswertung auf Bestandsebene wurde den Tieren jeweils der für den Bestand ermittelte Infektionsstatus zugewiesen (Tab. 4).

Tabelle 3: Definitionen der gewählten unabhängigen erklärenden Variablen für statistische Auswertung auf Einzeltierebene.

Erklärende Variable	Definition
PCV2 PCR positiv T1	Nachweis von PCV2 DNA im Serum T1
PCV2 PCR positiv T2	Nachweis von PCV2 DNA im Serum T2
PCV2 PCR positiv T3	Nachweis von PCV2 DNA im Serum T3
PCV2 PCR positiv gesamt	Nachweis von PCV2 DNA im Serum T1, T2 oder T3
PCV2 IgM positiv T1	Nachweis von IgM-AK gegen PCV2 im Serum T1
PCV2 IgM positiv T2	Nachweis von IgM-AK gegen PCV2 im Serum T2
PCV2 IgM positiv T3	Nachweis von IgM-AK gegen PCV2 im Serum T3
PCV2 IgM positiv gesamt	Nachweis von IgM-AK gegen PCV2 im Serum T1, T2 oder T3
PRRSV IgG positiv T1	Nachweis von IgG-AK gegen PRRSV im Serum T1
PRRSV IgG positiv T2	Nachweis von IgG-AK gegen PRRSV im Serum T2
PRRSV IgG positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen PRRSV im Serum T3
PRRSV IgG positiv gesamt	Nachweis von IgG-AK gegen PRRSV im Serum T1, T2 oder T3
PRRSV SK1 positiv	PRRSV Serokonversion negativ zu positiv T1-T2
PRRSV SK2 positiv	PRRSV Serokonversion negativ zu positiv T2-T3
PRRSV SK positiv gesamt	PRRSV Serokonversion negativ zu positiv T1-T2 oder T2-T3
PRRSV PCR positiv T4	Nachweis von PRRSV-RNA in Lungengewebe T4
SIV positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen SIV im Serum T3
M hyo positiv T1	Nachweis von IgG-AK gegen <i>M. hyopneumoniae</i> im Serum T1
M hyo positiv T2	Nachweis von IgG-AK gegen <i>M. hyopneumoniae</i> im Serum T2
M hyo positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen <i>M. hyopneumoniae</i> im Serum T3
M hyo positiv gesamt	Nachweis von IgG-AK gegen <i>M. hyopneumoniae</i> im Serum T1, T2 oder T3
M hyo SK1 positiv	<i>M. hyopneumoniae</i> Serokonversion negativ zu positiv T1-T2
M hyo SK2 positiv	<i>M. hyopneumoniae</i> Serokonversion negativ zu positiv T2-T3
M hyo SK positiv gesamt	Serokonversion negativ zu positiv T1-T2 oder T2-T3
APP positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP im Serum T3
APP ST 1,9,11 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 1, 9, 11 im Serum T3
APP ST 2 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serotyp 2 im Serum T3
APP ST 3,6,8 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 3, 6, 8 im Serum T3
APP ST 4,7 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 4, 7 im Serum T3
APP ST 5a, b positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serotypen 5a, b im Serum T3
APP ST 10 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serotyp 10 im Serum T3
APP ST 12 positiv T3	Nachweis von IgG-AK gegen APP Serotyp 12 im Serum T3

Legende: AK = Antikörper, SK = Serokonversion, ST = Serotyp(en), IgM = Immunglobulin M, IgG = Immunglobulin G, PCR = polymerase chain reaction, M hyo = M. hyopneumoniae

In einem ersten Schritt erfolgte eine univariate Untersuchung der Einflussfaktoren gegen die Zielgrößen mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson. Anschließend wurde eine multiple binär-logistische Regressionsanalyse unter Einbeziehung der im ersten Schritt ermittelten signifikanten Einflussparameter durchgeführt. Als statistische Einheit diente in beiden Fällen das Einzeltier. Mit Hilfe der multiplen binär-logistischen Regression wurde der Einfluss erklärender Variablen (Risikofaktoren) auf die binären Zielvariablen (z. B. Pleuritis vorhanden/nicht vorhanden) untersucht. Aus den Regressionskoeffizienten wurden die Odds Ratios (OR) als Maß für die Stärke des Zusammenhangs berechnet.

Tabelle 4: Definitionen der gewählten unabhängigen erklärenden Variablen für die statistische Auswertung auf Betriebsebene.

Erklärende Variable	Definition
Betrieb PCV2 PCR positiv	Im Betrieb mindestens ein Tier mit PCV2-DNA-Nachweis im Serum
Betrieb PCV2 IgM positiv	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgM-AK gegen PCV2 im Serum
Betrieb PRRSV positiv	Impfbetriebe: mind. ein Tier mit PRRSV-RNA-Nachweis im Lungengewebe und/oder positive Serokonversion Nicht-Impfbetriebe: mind. ein Tier mit PRRSV-RNA-Nachweis im Lungengewebe oder positive Serokonversion
Betrieb PRRSV unverdächtig	Impfbetriebe: kein Tier mit PRRSV-RNA-Nachweis im Lungengewebe, keine positive SK2 (bei Impfung zu T1), keine positive SK gesamt (bei Ferkelimpfung) Nicht-Impfbetriebe: weder ein Tier mit PRRSV-RNA-Nachweis im Lungengewebe noch positive SK gesamt
Betrieb SIV T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen SIV im Serum T3
Betrieb SIV H1N1	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen SIV H1N1 im Serum T3
Betrieb SIV H3N2	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen SIV H3N2 im Serum T3
Betrieb SIV H1N2	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen SIV H1N2 im Serum T3
Betrieb M hyo positiv	Impf-/Nicht-Impfbetrieb: positive SK gesamt
Betrieb M hyo unverdächtig	Nicht-Impfbetrieb: weder Nachweis von AK gegen M. hyopneumoniae bei mind. einem Tier noch positive SK Impfbetrieb: keine positive, nur negative Serokonversion
Betrieb APP positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen APP im Serum T3
Betrieb APP ST 1,9,11 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 1,9,11
Betrieb APP ST 2 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen APP Serotyp 2
Betrieb APP ST 3,6,8 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 3, 6, 8
Betrieb APP ST 4,7 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen APP Serogruppe 4,7
Betrieb APP ST 5a, b positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen Serotyp 5a, b
Betrieb APP ST 10 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen Serotyp 10
Betrieb APP ST 12 positiv T3	Im Betrieb mindestens ein Tier mit Nachweis von IgG-AK gegen Serotyp 12

Legende: AK = Antikörper, SK = Serokonversion, ST = Serotyp(en), IgM = Immunglobulin M, IgG = Immunglobulin G, PCR = polymerase chain reaction

3. Ergebnisse

3.1. Teil A – Assoziationen zwischen Lungenveränderungen und Infektionsstatus der Einzeltiere

Insgesamt wurden die Lungen von 300 Mastschweinen in die Auswertung einbezogen. In Tabelle 5 ist der Anteil der für die jeweilige Kategorie positiven Schweine dargestellt. In der Einzeltierauswertung wurden die APP- und SIV-Serotypen nicht berücksichtigt, da aus ökonomischen Gründen nicht alle APP und SIV positiven Serumproben serotypisiert wurden.

Tabelle 5: Kategorisierung der Variablen und Berechnung auf Einzeltier-ebene unter Angabe der Tierzahlen (n) und dem Anteil (in %) an der Gesamtzahl ($n_{\text{ges.}} = 300$) sowie der Betriebe ($n_{\text{ges.}} = 10$).

Kategorie	Tiere in Kategorie n (%)	Betriebe n
PCV2 PCR positiv T1	6 (2%)	3
PCV2 PCR positiv T2	12 (4%)	3
PCV2 PCR positiv T3	9 (3%)	3
PCV2 PCR positiv gesamt	24 (8%)	5
PCV2 IgM positiv T1	36 (12%)	8
PCV2 IgM positiv T2	5 (1,7%)	3
PCV2 IgM positiv T3	10 (3,3%)	4
PCV2 IgM positiv gesamt	46 (15,3%)	9
PRRSV IgG positiv T1	109 (36,3%)	4
PRRSV IgG positiv T2	202 (67,3%)	7
PRRSV IgG positiv T3	204 (68%)	7
PRRSV IgG positiv gesamt	210 (70%)	7
PRRSV SK1 positiv	98 (32,7%)	4
PRRSV SK2 positiv	5 (1,7%)	3
PRRSV SK positiv gesamt	103 (34,3%)	5
PRRSV PCR positiv T4	22 (7,3%)	3
SIV positiv T3	122 (40,7%)	7
M hyo positiv T1	110 (36,7%)	8
M hyo positiv T2	166 (55,3%)	9
M hyo positiv T3	178 (59,3%)	9
M hyo positiv gesamt	204 (68%)	9
M hyo SK1 positiv	79 (26,3%)	6
M hyo SK2 positiv	21 (7%)	5
M hyo SK positiv gesamt	100 (33,3%)	8
APP positiv T3	201 (67%)	10

3.1.1 Pleuritis

Insgesamt konnte bei 37 % der Schweine eine Pleuritis festgestellt werden. Dabei lag die Nachweisrate von Pleuritis je nach Betrieb zwischen 6,7 % bis 80 % (Abb. 1). Die univariate Untersuchung aller Einflussgrößen ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Pleuritis bei Schlachtlungen von Mastschweinen und dem Einzeltierstatus „PCV2 IgM-Antikörper positiv T1“, „SIV IgG-Antikörper positiv T3“, „PRRSV IgG-Antikörper positiv T1“, „*M. hyopneumoniae* IgG-Antikörper positiv T1“ sowie „APP IgG-Antikörper positiv T3“.

Die mit diesen Einflussgrößen anschließend durchgeführte multiple binär-logistische Regressionsanalyse ergab, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Pleuritis am Schlachthof und dem Infektionsstatus „PCV2 IgM-Antikörper positiv T1“ und „SIV IgG-Antikörper positiv T3“ bestand. Die Chance für das Auftreten von Pleuritis für die in die vorliegende Untersuchung einbezogenen Tiere war demnach für Schweine, die in der Endmast SIV seropositiv waren, 6,89-mal höher und für die Schweine, die zum Einstellen in die Mast PCV2-IgM seropositiv waren, 4,96-mal höher, als für Tiere ohne entsprechende Nachweise. Die Ergebnisse der univariaten sowie binär-logistischen Regression sind aus Tabelle 6 zu entnehmen.

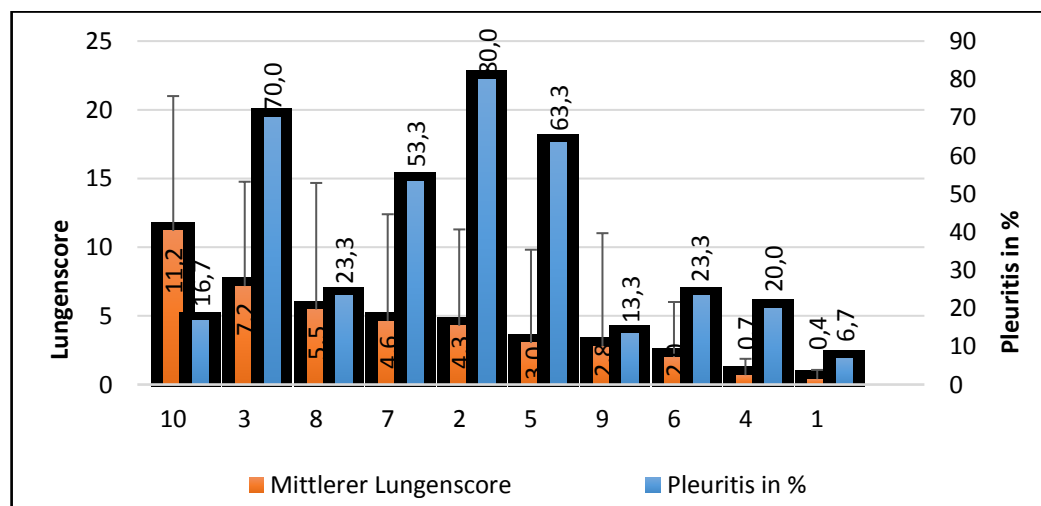


Abbildung 1: Mittlerer Lungenscore und Nachweisrate von Pleuritis für die einzelnen Betriebe (absteigende Anordnung nach mittlerem Lungenscore).

Tabelle 6: Darstellung statistisch signifikanter Ergebnisse der univariaten Analysen und der binär-logistischen Regressionsanalyse für das Auftreten von "Pleuritis" auf Einzeltierebene.

Faktor	Univariate Analyse				Binär-logistische Regressionsanalyse			
	OR	untere	obere	p-Wert	OR	untere	obere	p-Wert
PCV2 IgM positiv T1	2,38	1,18	4,81	0,017	4,97	2,20	11,20	< 0,001
SIV positiv T3	1,69	1,05	2,71	0,038	6,89	3,86	12,31	< 0,001
PRRSV IgG positiv T1	4,98	2,99	8,29	< 0,001				
M hyo positiv T1	2,55	1,56	4,15	< 0,001				
APP positiv T3	1,78	1,06	3,00	0,031				

Legende: OR = Odds Ratio; untere = unteres Konfidenzintervall für OR; obere = oberes Konfidenzintervall für OR.

3.1.2 Lungenscores

Insgesamt gingen die Untersuchungsergebnisse von 292 Lungen in die Auswertung des Lungenscores ein. Bei acht Lungen war das Ausmaß der Pleuritis so groß, dass keine vollständige Erhebung des Lungenscores möglich war. Insgesamt konnten bei 68,8 % aller untersuchter Lungen makroskopisch Anzeichen für eine Pneumonie festgestellt werden. Der mittlere Lungenscore aller in die Studie eingeschlossenen Schweine lag bei 4,28. Dieser Wert diente für die nachfolgenden Berechnungen als Indikator für die Zielgröße „überdurchschnittlicher Lungenscore“ (= Lungenscore > 4,28), in der 28 % der beurteilten Lungen einzuordnen waren. Der mittlere Lungenscore variierte je nach Bestand von 0,4 bis 11,1 (Abb. 1). Unter Einbeziehung aller Einflussgrößen ergaben sich bei der univariaten Analyse sechs signifikante Einflussfaktoren auf die Zielgröße „überdurchschnittlicher Lungenscore“ (PCV2 PCR positiv T3, SIV positiv T3, *M. hyopneumoniae* SK2 sowie PRRSV IgG positiv T1, T2 und T3). Alle signifikanten Einflussfaktoren aus der univariaten Untersuchung wurden für die multiple binär-logistische Regression berücksichtigt. Diese ergab, dass der Nachweis einer PCV2-Virämie in der Endmast, Antikörpernachweis gegen SIV in der Endmast, sowie eine Serokonversion bezüglich *M. hyopneumoniae* zwischen Mittel- und Endmast signifikant mit dem Auftreten über durchschnittlich hoher Lungenscores am Schlachthof assoziiert waren. Die Chance für das Auftreten überdurchschnittlich hoher Lungenscores für die Schweine in dieser Untersuchung

lag für Tiere mit PCV2-DNA-Nachweis im Serum in der Endmast 6,08-mal höher, für Schweine mit SIV-Antikörpernachweis in der Endmast 5,93-mal höher und für Schweine, die zwischen der Mittel- und Endmast *M. hyopneumoniae* seropositiv wurden, 3,6-mal höher als bei Tieren ohne entsprechende Nachweise. Die genauen Ergebnisse der univariaten sowie multiplen binär-logistischen Regression sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Darstellung statistisch signifikanter Ergebnisse der univariaten Analysen und der binär-logistischen Regressionsanalyse für die Zielgröße "überdurchschnittlicher Lungenscore" auf Einzeltierebene.

Faktor	Univariate Analyse				Binär-logistische Regressionsanalyse			
	OR	untere	obere	p-Wert	OR	untere	obere	p-Wert
PCV2 PCR positiv T3	12,22	2,48	60,31	0,001	6,08	1,09	3,76	0,039
IV positiv T3	6,21	3,41	11,31	< 0,001	5,93	3,19	1,03	< 0,001
M. hyo SK 2 positiv	3,20	1,30	7,89	0,015	3,6	1,28	10,16	0,016
PRRSV IgG T1	2,59	1,50	4,50	0,001				
PRRSV IgG T2	6,02	2,64	13,75	< 0,001				
PRRSV IgG T3	6,87	2,85	16,56	< 0,001				

Legende: OR = Odds Ratio; untere = unteres Konfidenzintervall für OR; obere = oberes Konfidenzintervall für OR

3.2. Teil B - Assoziationen zwischen Lungenveränderungen und Infektionsstatus der Schweine auf Bestandsebene

Im Folgenden werden allen Einzeltieren die Ergebnisse des jeweiligen Bestandes zugeordnet. Dies berücksichtigt nun auch APP- und SIV-Serotypen, die auf Basis der jeweils 20 % der APP- oder SIV- seropositiver Proben für jeden Bestand ermittelt wurden. War in einem Bestand z. B. ein Tier APP Serotyp 2 seropositiv, wurde dem Bestand der Status „Betrieb APP ST 2 positiv“ zugewiesen. Entsprechend wurde jedem Einzeltier des Bestandes die Einflussgröße „Betrieb APP ST 2 positiv“ zugewiesen unabhängig davon, wie viele der Tiere in diesem Betrieb zum Untersuchungszeitpunkt tatsächlich APP ST 2 seropositiv waren.

In Tabelle 8 sind die Anzahl der Bestände, denen jeweils eine der Einflussgrößen zugeordnet werden konnte, sowie die Anzahl der unter dieser Kategorie zusammengefassten Einzeltiere dargestellt. Es erfolgte zunächst eine univariate Analyse der Einflussfaktoren auf die Zielgrößen „Pleuritis“ und

„überdurchschnittlicher Lungenscore“. Anschließend wurde eine multiple binär-logistische Regressions-analyse durchgeführt, welche die signifikanten Faktoren aus der univariaten Analyse berücksichtigt.

Tabelle 8: Darstellung der Kategorisierung der Variablen und Berechnung auf Betriebsebene unter Angabe der Tierzahlen (n) und dem Anteil (in %) an der Gesamt-tierzahl (n_{ges.}= 300) sowie der Betriebe (n_{ges.}=10).

Kategorie	Betriebe n	Tiere n (%)
Betrieb PCV2 PCR positiv	5	150 (50%)
Betrieb PCV2 IgM positiv	9	270 (90%)
Betrieb <i>M. hyopneumoniae</i> positiv	8	240 (80%)
Betrieb PRRSV positiv	6	180 (60%)
Betrieb SIV H1N1 positiv	4	120 (40%)
Betrieb SIV H3N2 positiv	1	30 (10%)
Betrieb SIV H1N2 positiv	1	30 (10%)
Betrieb APP ST 1,9,11 positiv	6	180 (60%)
Betrieb APP ST 2 positiv	5	150 (50%)
Betrieb APP ST 3,6,8 positiv	10	300 (100%)
Betrieb APP ST 4,7 positiv	5	150 (50%)
Betrieb APP ST 5 positiv	0	0 (0%)
Betrieb APP ST 10 positiv	1	30 (10%)
Betrieb APP ST 12 positiv	3	90 (30%)

3.2.1 Pleuritis

Die univariate Analyse aller Einflussfaktoren auf die Zielgröße „Pleuritis“ ergab vier mit dem Auftreten von Pleuritis am Schlachthof signifikant assoziierte Faktoren („Betrieb PCV2 PCR positiv“, „Betrieb APP ST 2 positiv“, „Betrieb APP ST 10 positiv“, „Betrieb APP ST 12 positiv“). Die Durchführung der multiplen logistischen Regression unter Berücksichtigung dieser signifikanten Einflussfaktoren auf die Zielgröße „Pleuritis“ ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Pleuritis und dem Betriebsstatus „Betrieb APP Serotyp 2 positiv“, „Betrieb APP Serotyp 12 positiv“ und „Betrieb PCV2 PCR positiv“. Die Chance für Mastschweine zum Zeitpunkt der Schlachtung Pleuritis positiv zu sein, lag bei dieser Untersuchung für Tiere aus APP ST 2 seropositiven Betrieben 4,91-mal höher und für Tiere von APP ST 12 seropositiven Betrieben sowie Betrieben mit PCV2-PCR positiven Betrieben 1,82-mal höher, als für Tiere von Betrieben ohne entsprechende Nachweise. Die

Ergebnisse der univariaten sowie multiplen logistischen Regressionsanalyse sind aus Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Statistisch signifikante Ergebnisse der univariaten Analysen und der multiplen binär-logistischen Regressionsanalyse für die Zielgröße „Pleuritis“ auf Betriebsebene.

Faktor	Univariate Analyse				Binär-logistische Regressionsanalyse			
	OR	untere	obere	p-Wert	OR	untere	obere	p-Wert
Betrieb APP ST 2	5,8	3,42	9,82	< 0,001	4,91	2,86	8,43	< 0,001
Betrieb PCV2 PCR positiv	2,47	1,52	4,01	< 0,001	1,82	1,07	3,089	0,027
Betrieb APP ST 12	2,47	1,52	4,01	< 0,001	1,82	1,07	3,09	0,027
Betrieb APP ST 10	3,34	1,53	7,32	0,002				

Legende: OR = Odds Ratio; untere = unteres Konfidenzintervall für OR; obere = oberes Konfidenzintervall für OR

3.2.2 Lungenscore

Unter Berücksichtigung aller Einflussfaktoren konnten in der univariaten Analyse sieben signifikante Einflussfaktoren auf die Zielgröße „überdurchschnittlicher Lungenscore“ ermittelt werden („Betrieb PRRSV positiv“, „Betrieb APP ST 12 positiv“, „Betrieb PCV2-PCR positiv“, „Betrieb H1N1 positiv“, „Betrieb H3N2 positiv“, „Betrieb *M. hyopneumoniae* positiv“ und „Betrieb APP ST 1, 9, 11 positiv“). Diese Einflussfaktoren wurden in die multiple binär-logistische Regression mit einbezogen. Hier konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten überdurchschnittlich hoher Lungenscores und dem Bestandsstatus „Betrieb PRRSV positiv“, „Betrieb APP ST 12 positiv“ sowie „Betrieb PCV2-PCR positiv“ ermittelt werden. In der vorliegenden Untersuchung lag die Chance, einen überdurchschnittlich hohen Lungenscore bei der Schlachttierkörperuntersuchung aufzuweisen, für Schweine aus PRRSV positiven Beständen 12,96-mal höher, für Schweine aus APP ST 12 positiven Betrieben 8,75-mal höher und für Schweine aus PCV2-PCR positiven Beständen 4,19-mal höher als für Schweine ohne entsprechende Nachweise. Die Ergebnisse der univariaten sowie der multiplen binär-logistischen Regression sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Statistisch signifikante Ergebnisse der univariaten Analysen und der binär-logistischen Regressionsanalyse von „hoher Lungenscore“ auf Betriebsebene.

Faktor	Univariate Analyse				Binär-logistische Regressionsanalyse			
	OR	untere	obere	p-Wert	OR	untere	obere	p-Wert
Betrieb PRRSV positiv	3,66	1,90	7,07	< 0,001	12,96	5,55	30,29	< 0,001
Betrieb APP ST 12	3,12	1,75	5,55	< 0,001	8,75	4,14	18,49	< 0,001
Betrieb PCV2 PCR positiv	3,47	1,94	6,21	< 0,001	4,19	2,091	8,401	< 0,001
Betrieb SIV H3N2	15	6,09	37,08	< 0,001				
Betrieb SIV H1N1	4,26	2,40	7,55	< 0,001				
Betrieb M hyo positiv	3,35	1,37	8,16	0,006				
Betrieb APP ST 1, 9, 11	2,46	1,34	4,52	0,003				

Legende: OR = Odds Ratio; untere = unteres Konfidenzintervall für OR; obere = oberes Konfidenzintervall für OR

4. Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung sollte die Bedeutung von PCV2-Infektionen für das Auftreten von Lungenveränderungen bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung in Form von Pleuritis sowie Anzeichen von Pneumonie in vorausgewählten Betrieben in Oberbayern eruiert werden. Die ausgewählte Stichprobe ist daher nicht für Deutschland repräsentativ. Sowohl auf Einzeltier- als auch auf Bestandsebene konnten PCV2-Infektionen signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis und überdurchschnittlich hohen Lungenscores bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert werden. Auf Einzeltierbasis konnte eine signifikante Assoziation des Auftretens überdurchschnittlich hoher Lungenscores mit dem Nachweis einer PCV2-Virämie am Ende der Mast, SIV-Antikörpern am Ende der Mast sowie einer Serokonversion zwischen der Mittel- und Endmast bezüglich *M. hyopneumoniae* festgestellt werden. Auf Bestandsebene war der Status „Betrieb PCV2-PCR positiv“, „Betrieb PRRSV positiv“ sowie „Betrieb APP ST 12 positiv“ signifikant mit dem Auftreten von überdurchschnittlich hohen Lungenveränderungen assoziiert.

Obwohl bereits in verschiedenen Untersuchungen zum Vorkommen von Lungenveränderungen bei Mastschweinen ein signifikanter Zusammenhang zwischen SIV, *M. hyopneumoniae* oder PRRSV und dem Vorkommen von Lungenveränderungen gezeigt werden konnte (Enøe et al., 2002; Martínez et al., 2009; Fablet et al., 2012a), haben bis jetzt nur wenige Autoren die Vermutung geäußert bzw. bestätigen können, dass PCV2-Infektionen in Bezug auf das Auftreten von Pneumonien oder Pleuritiden bei Schlachtschweinen eine Rolle spielen können (Harms et al., 2002; Wellenberg et al., 2010; Fablet et al., 2012a). In der vorliegenden Untersuchung sind die Vorauswahl der Betriebe sowie das Vorhandensein von Mehrfachinfektionen, sowohl bei Einzeltieren als auch auf Bestandesebene, für die Studienergebnisse von Bedeutung. Unter diesen Voraussetzungen sind die hier festgestellten Assoziationen am ehesten im Zusammenhang mit dem PRDC zu sehen, dem PCV2 eine relevante kausale Rolle zugestanden wird (Kim et al., 2003; Hansen et al., 2010).

Dass eine PCV2-Infektion allein zu makroskopisch sichtbaren Lungenveränderungen führt, ist nicht anzunehmen. So war es in experimentellen Studien meist nur durch Koinfektionen möglich, PCVD zu reproduzieren (Kennedy et al., 2000; Rovira et al., 2002; Opriessnig et al., 2011b). Auch unter Praxisbedingungen kommen PCV2-Monoinfektionen in Fällen von PCVD sehr selten vor. Während in einer retrospektiven Untersuchung von PCVD-Fällen in den USA Monoinfektionen mit PCV2 nur in 1,9 % aller Fälle nachweisbar waren, konnten Koinfektionen mit PRRSV in 51,9 %, mit *M. hyopneumoniae* in 35,5 %, mit anderen bakteriellen Pathogenen in 7,6 % und mit SIV in 5,4 % aller Fälle nachgewiesen werden. In Bezug auf Lungenveränderungen berichten Harms et al. (2002) über drei Fälle von PRDC, die mit PCV2 assoziiert waren. Jedoch waren auch in diesem Bericht zeitgleich jeweils PRRSV, *M. hyopneumoniae* oder SIV als Infektionserreger nachweisbar.

In der vorliegenden Untersuchung waren auf Einzeltierebene der Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern im Serum zum Zeitpunkt der Einstellung sowie der Nachweis von SIV-Antikörpern am Ende der Mast signifikant mit dem Auftreten von Pleuritiden bei Lungen von Schlachttierkörpern assoziiert. In Bezug auf das Vorkommen von Pleuritis bei Lungen am Schlachthof, werden vor allem Infektionen mit APP oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (Enøe et al., 2002; Meyns et al., 2011; Fablet et al., 2012a; Fablet et al., 2012b). Wellenberg et al. (2010) vermuten jedoch, dass PCV2-Infektionen in der 10.-12. Lebenswoche zu einem

erhöhten Risiko für das Auftreten von Pleuritis führen könnten. Diese Vermutung deckt sich mit der Beobachtung in der vorliegenden Untersuchung, dass der Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern zur Mastinstallation signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert war. Der Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern zum Zeitpunkt der Einstallung (ca. 12. Lebenswoche) kann als Hinweis auf eine PCV2-Feldinfektion zu diesem Zeitpunkt gesehen werden. Ob es sich bei den zum Einstellen in die Mast nachgewiesenen IgM-Antikörpern jedoch nicht auch um impfinduzierte Antikörper handelt, kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden. In eigenen Untersuchungen konnten IgM-Antikörper nach der aktiven Immunisierung gegen PCV2 in der dritten Lebenswoche nur bis zur neunten Lebenswoche nachgewiesen werden (*Eisele, 2009*). Daher ist es als eher unwahrscheinlich anzunehmen, dass es sich bei den in der Studie nachgewiesenen PCV2-IgM-Antikörpern um impfinduzierte Antikörper handelt. Einen signifikanten Zusammenhang zwischen SIV und Pleuritis konnten sowohl Wellenberg et al. (2010) als auch Mousing et al. (1990) in ihren Untersuchungen auf Einzeltierebene feststellen. Wobei in der Untersuchung von Mousing et al. (1990) APP ST 2 den Faktor mit dem größten Einfluss auf das Auftreten von Pleuritis in der dänischen Schweinepopulation darstellt. Dieses Ergebnis deckt sich mit der in der vorliegenden Untersuchung gemachten Beobachtung, dass die Chance für Schweine aus einem APP ST 2-positiven Bestand für eine vorhandene Pleuritis am Schlachttierkörper 5,2-mal höher ist als für Tiere aus Betrieben ohne APP ST 2-Nachweis. Die Beobachtung, dass APP auf Einzeltierbasis nicht signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis assoziiert war, kann sehr wahrscheinlich der fehlenden Serotypisierung auf Einzeltierebene zugeschrieben werden. Denn auch wenig virulente APP-Serotypen führen zur nachweisbaren Serokonversion, ohne einen Einfluss auf das Auftreten von Pleuritis zu haben.

Im Gegensatz zu dem Bestandsstatus, bei dem PCV2-PCR positive Betriebe eine höhere Chance für das Auftreten von Pleuritis hatten, waren die PCV2-DNA-Nachweise bei den Einzeltieren nicht signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis bei Lungen zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert. Jedoch scheint eine PCV2-Infektion in beiden Fällen die Chance für das Auftreten von Pleuritis signifikant zu erhöhen. Brunborg et al. (2004) und Olvera et al. (2004) stufen PCV2-Virusmengen im Serum von $\geq 10^5$ bis $\geq 10^7$ Genomkopien pro ml Serum als

klinisch relevant für die Ausprägung von PMWS ein. Es wird ein positiver Zusammenhang zwischen nachweisbarer Virusmenge im Serum und der Ausprägung klinischer Symptome und entsprechender histopathologischer Läsionen ($>10^5$: geringgradig, $\geq 10^7$: hochgradig) beschrieben. In der vorliegenden Untersuchung lagen die PCV2- Virusgehalte bei 50% der positiven Tiere zwischen 10^5 und 10^7 Kopien/ml Serum (Daten nicht dargestellt), ohne dass bei den Tieren klinische Hinweise auf ein PMWS-Geschehen vorlagen.

Bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse sollte jedoch beachtet werden, dass bakteriologische Untersuchungen im Rahmen unserer Studie nicht durchgeführt wurden und somit der Einfluss möglicher weiterer bakterieller Infektionserreger nicht berücksichtigt wurde. Auch Haltung- oder Managementfaktoren wurden in dieser Auswertung nicht eingeschlossen. In der vorliegenden Studie sind die Ergebnisse der einzeltier- und bestandsbasierenden Untersuchungen nicht einheitlich. Für die Interpretation der Ergebnisse sollte berücksichtigt werden, dass bei der bestandsbasierenden Auswertung zum einen die APP- und SIV-Serotypisierungen berücksichtigt wurden und zum anderen, dass einem Großteil der Tiere ein Status zugewiesen wurde, der auf Einzeltierebene nicht zu überprüfen war. Die Auswertung auf Bestandsebene sollte jedoch der praxisnahen Fragestellung nach den Risiken für Tiere aus Beständen mit definiertem Erregerstatus gerecht werden.

5. Fazit

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass neben den bereits als relevant beschriebenen Erregern wie PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP, das Auftreten von PCV2-Infektionen bei Mastschweinen unter den beschriebenen Bedingungen einen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß von Lungenveränderungen sowie auf die Häufigkeit des Auftretens von Pleuritiden bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung haben kann. Beim Vorliegen erhöhter Lungenscores sowie dem vermehrten Auftreten von Pleuritiden als Lungenbefunde bei der Schlacht tieruntersuchung, sollten neben den bereits als relevant beschriebenen Infektionserregern und den Management-, Hygiene- und Haltungsfaktoren gegebenenfalls auch der PCV2-Status eines betroffenen Betriebes überprüft werden. Eine aus diesen Ergebnissen erhobene Anpassung der

PCV2-Präventionsmaßnahmen könnte möglicherweise zu einer Verbesserung hinsichtlich auffälliger Lungenbefunde am Schlachthof beitragen.

Literatur

1. Brunborg, I.M., T. Moldal, C.M. Jonassen (2004): 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. *Journal of Virological Methods*, 122 (2), 171-178.
2. Christensen, G., V. Sørensen, J. Mousing (1999): Diseases of the respiratory system. In: *Diseases of Swine* (Straw, B. E., Allaire, S. D., Mengeling, W. L. & Taylor, D. J.), Iowa State University Press, Ames, IA, 927-928.
3. Eisele, S. (2009): Bestimmung der Wirksamkeit eines inaktivierten One-Shot Impfstoffes bei Ferkeln in der 1. oder 3. Lebenswoche mit Porcilis® PCV gegen das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) in zwei süddeutschen Betrieben. Dissertation LMU München, Datum der Dissertation: 17.07.2009.
4. Enøe, C., J. Mousing, A.L. Schirmer, P. Willeberg (2002): Infectious and rearing-system related risk factors for chronic pleuritis in slaughter pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 54 (4), 337-349.
5. Fablet, C., C. Marois-Crehan, G. Simon, B. Grasland, A. Jestin, M. Kobisch, F. Madec, N. Rose (2012a): Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: a cross-sectional study. *Veterinary Microbiology*, 157 (1-2), 152-163.
6. Fablet, C., C. Marois, V. Dorenlor, F. Eono, E. Eveno, J.P. Jolly, L. Le Devendec, M. Kobisch, F. Madec, N. Rose (2012b): Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. *Research in Veterinary Science*, 93 (2), 627-630.
7. Fachinger, V., R. Bischoff, S.B., Jedidia, A. Saalmüller, K. Elbers (2008): The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine*, 26 (11), 1488-1499.
8. Feng, H., G. Blanco, J. Segales, M. Sibila (2014): Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Vet Microbiol*, 172 (1-2), 92-99.
9. Haake, M., A. Palzer, B. Rist, C. Weissenbacher-Lang, V. Fachinger, A. Eggen, M. Ritzmann, M. Eddicks (2014): Influence of age on the effectiveness of PCV2 vaccination in piglets with high levels of maternally derived antibodies. *Veterinary Microbiology*, 168 (2-4), 272-280.
10. Hansen, M.S., S.E. Pors, H.E. Jensen, V. Bille-Hansen, M. Bisgaard, E.M. Flachs, O.L. Nielsen (2010): An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *Journal of Comparative Pathology*, 143 (2-3), 120-131.
11. Harding, J. (2004): The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Veterinary Microbiology*, 98 (2), 131-135.

12. Harms, P.A., P.G. Halbur, S.D. Sorden (2002): Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Swine Health and Production*, 10 (1), 27-30.
13. Kennedy, S., D. Moffett, F. Mcneilly, B. Meehan, J. Ellis, S. Krakowka, G.M. Allan (2000): 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*, 122 (1), 9-24.
14. Kim, J., H.K. Chung, C. Chae (2003): Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *The Veterinary Journal*, 166 (3), 251-256.
15. Kixmüller, M., M. Ritzmann, M. Eddicks, A. Saalmüller, K. Elbers, V. Fachinger (2008): Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine*, 26 (27-28), 3443-3451.
16. Kleiboeker, S.B., S.K. Schommer, S.M. Lee, S. Watkins, W. Chittick, D. Polson (2005): Simultaneous detection of North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome virus using real-time quantitative reverse transcriptase-PCR. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17 (2), 165-170.
17. Martínez, J., B. Peris, E.A. Gómez, J.M. Corpa (2009): The relationship between infectious and non-infectious herd factors with pneumonia at slaughter and productive parameters in fattening pigs. *The Veterinary Journal*, 179 (2), 240-246.
18. Meyns, T., J. Van Steelant, E. Rolly, J. Dewulf, F. Haesebrouck, D. Maes (2011): A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter. *Veterinary Journal*, 187 (3), 388-392.
19. Mousing, J., H. Lybye, K. Barfod, A. Meyling, L. Ronsholt, P. Willeberg (1990): Chronic Pleuritis in Pigs for Slaughter - an Epidemiologic- Study of Infectious and Rearing System-Related Risk-Factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 9 (2), 107-119.
20. Olvera, A., M. Sibila, M. Calsamiglia, J. Segalés, M. Domingo (2004): 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. *Journal of Virological Methods*, 117 (1), 75-80.
21. Opriessnig, T., L.G. Gimenez-Lirola, P.G. Halbur (2011a): Polymicrobial respiratory disease in pigs. In: *Animal health research reviews/ Conference of Research Workers in Animal Diseases* 12, 133-148.
22. Opriessnig, T., D.M. Madson, J.R. Prickett, D. Kuhar, J.K. Lunney, J. Elsener, P.G. Halbur (2008): Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Veterinary Microbiology*, 131 (1-2), 103-114.

23. Opriessnig, T., D.M. Madson, M. Roof, S.M. Layton, S. Ramamoorthy, X.J. Meng, P.G. Halbur (2011b): Experimental reproduction of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated enteritis in pigs infected with PCV2 alone or concurrently with *Lawsonia intracellularis* or *Salmonella typhimurium*. *Journal of Comparative Pathology*, 145 (2-3), 261-270.
24. Rovira, A., M. Balasch, J. Segales, L. Garcia, J. Plana-Duran, C. Rosell, H. Ellerbrok, A. Mankertz, M. Domingo (2002): Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J Virol*, 76 (7), 3232-3239.
25. Segales, J. (2012): Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research*, 164 (1-2), 10-19.
26. Segales, J., G.M. Allan, M. Domingo (2005): Porcine circovirus diseases. In: *Animal Health Research Reviews/Conference of Research Workers in Animal Diseases* 6, 119-142.
27. Shen, H.G., P.G. Halbur, T. Opriessnig, N.M. Beach, Y.W. Huang, X.J. Meng (2010): Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV). *Vaccine*, 28 (37), 5960-5966.
28. Walhöfer, N.F. (2015): Auswirkungen betriebsspezifischer Faktoren auf den Verlauf von Infektionen mit dem Porcinen Circovirus Typ 2. Dissertation LMU München, Datum der Dissertation: 31.01.2015.
29. Wellenberg, G.J., F.T. Bouwkamp, P.J. Van Der Wolf, W. a. J.M. Swart, M.J. Mombarg, A.L.W. De Gee (2010): A study on the severity and relevance of porcine circovirus type 2 infections in Dutch fattening pigs with respiratory diseases. *Veterinary Microbiology*, 142 (3-4), 217-224.
30. Zhao, K., F. Han, Y. Zou, L. Zhu, C. Li, Y. Xu, C. Zhang, F. Tan, J. Wang, S. Tao, X. He, Z. Zhou, X. Tang (2010): Rapid detection of porcine circovirus type 2 using a TaqMan-based real-time PCR. *Virology Journal*, 7, 374.

IV. DISKUSSION

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, die Bedeutung von PCV2-Infektionen für das Auftreten von Lungenveränderungen im Rahmen der Schlachttierkörperuntersuchung bei routinemäßig gegen PCV2 geimpften Mastschweinen zu evaluieren.

Die Ergebnisse, auf die im Folgenden eingegangen werden soll, indizieren signifikante Assoziationen einer PCV2-Infektion sowohl auf Einzeltier- als auch auf Bestandesebene mit dem Auftreten von überdurchschnittlich hohen Lungenscores und Pleuritis zum Zeitpunkt der Schlachtung bei PCV2-geimpften Mastschweinen.

1. PCV2-DNA-Nachweis im Serum der Mastschweine

Die aktive Immunisierung von Saugferkeln gegen PCV2 führt in der Regel zu einer signifikanten Reduktion der Viruslast im Serum und in den lymphatischen Geweben infizierter Schweine (SINHA et al., 2010; PARK et al., 2014b; OPRIESSNIG et al., 2017). Im Vergleich zu ungeimpften Tieren ist bei vakzinierten Schweinen die Dauer der Virämie deutlich verkürzt und es lassen sich signifikant niedrigere PCV2-DNA-Mengen im Serum geimpfter Tiere finden (FACHINGER et al., 2008; KIXMÖLLER et al., 2008; HEIßENBERGER et al., 2013; HAAKE et al., 2014). Weiterhin führt die Impfung gegen PCV2 zu einer reduzierten Anzahl virämischer Schweine (PARK et al., 2014b) und Koinfektionen treten weniger auf (OPRIESSNIG et al., 2008; SHEN et al., 2010). Entsprechende Ergebnisse konnten beispielsweise nach dem Einsatz einer kommerziellen PCV2-Vakzine in einer PRDC positiven Herde beobachtet werden (FACHINGER et al., 2008). Die Impfung gegen PCV2 führt jedoch nicht zu PCV2 negativen Herden. Das Virus kann in PCV2 geimpften Schweinen in unterschiedlichem Maße, hauptsächlich aber in der Mittel- und Endmast, nachgewiesen werden (HAAKE et al., 2014; WALHÖFER, 2015). In der vorliegenden Untersuchung konnten während der gesamten Mastperiode virämische Tiere (8%) beobachtet werden, wobei sich die Virämien ebenfalls in der Mittel- und Endmastphase (16. - 22. LW) konzentrierten (79% der PCV2-

DNA-Nachweise im Serum fanden sich zu T2 und T3). Die Vakzination gegen PCV2 führt zu einer protektiven, aber nicht zu einer sterilen Immunität d.h. zur vollständigen Vermeidung einer erneuten Replikation des Erregers mit dem Ziel, dass das Tier weder Virusträger noch -ausscheider ist. Trotz der Impfung gegen PCV2 kommt es auch in anderen Untersuchungen zu Nachweisen virämischer Schweine (FACHINGER et al., 2008; KIXMÖLLER et al., 2008; MARTELLI et al., 2011; HAAKE et al., 2014). Mögliche Erklärungen hierfür könnten sein: (1) Eine fehlende Impfung dieser Schweine, (2) mangelhafte Impffähigkeit der geimpften Tiere oder (3) Immunsuppression zum Zeitpunkt der PCV2-Impfung (KRAKOWKA et al., 2002; SINHA et al., 2010), (4) Probleme bei der Lagerung oder Verarbeitung und Verabreichung des Impfstoffes durch den Anwender sowie (5) Impfversagen z.B. durch verschiedene, zirkulierende Virusvarianten (GERBER et al., 2013). Schon geringfügige Variationen des Kapsidproteins haben zudem das Potenzial, kumulativ supprimierend auf eine impfstoffinduzierte Immunantwort zu wirken (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017). Aufgrund der Vielzahl an Möglichkeiten für die Nachweise von PCV2-DNA im Serum von PCV2-geimpften Schweinen in der Mittel- und Endmastphase kann in der vorliegenden Arbeit keine für alle einbezogenen Betriebe bzw. Schweine allgemein gültige Aussage getroffen werden.

In den meisten Fällen sind die derzeit im Handel verfügbaren Impfstoffe geeignet, um PCV2 assoziierte klinische Symptome zu verhindern. Dementgegen diskutieren KARUPPANNAN und OPRIESSNIG (2017) in diesem Zusammenhang eine „leaky vaccine“-Situation bei der es unter bestimmten Umständen, trotz Impfung, zu einer Virusvermehrung im Wirt kommen kann. Die Impfung gegen PCV2 kann weder eine Infektion abwenden noch die virale Replikation und Übertragung vollständig verhindern. READ et al. (2015) können in Bezug auf das Virus der Marekschen Krankheit beim Geflügel in einer experimentellen Studie zeigen, dass die kommerziell verfügbaren Impfstoffe gegen das Marek-Herpesvirus den Effekt haben können, für virulentere Stämme, welche ursprünglich zu letal wären, um weiterhin bestehen und übertragen werden zu können, Bedingungen zu schaffen, über einen längeren Zeitraum kursieren und verbreitet werden zu können. Die Autoren schlussfolgern, dass diese Impfstoffe durch Verhindern der klinischen Symptome die Wirte zwar am Leben erhalten, aber dennoch eine Übertragung des Pathogens ermöglichen und somit virulentere Stämme in einer Population zirkulieren können. In der vorliegenden Untersuchung

wurde eine Genotypisierung nicht eingeschlossen, weshalb nicht bewertet werden kann, um welche(n) PCV2-Genotyp(en) es sich in den virämischen Tieren handelt.

2. PCV2-DNA-Nachweis und Lungenläsionen

Auf Einzeltierbasis konnte eine signifikante Assoziation des Auftretens überdurchschnittlich hoher Lungenscores mit dem Nachweis einer PCV2-Virämie und dem Vorhandensein von Antikörpern gegen SIV in der Endmast sowie einer Serokonversion bezüglich *M. hyopneumoniae* zwischen der Mittel- und Endmast festgestellt werden.

Dass eine PCV2-Infektion allein zu makroskopisch sichtbaren Lungenveränderungen führt, ist nicht anzunehmen. So war es in experimentellen Studien meist nur durch Koinfektionen möglich, PCVD zu reproduzieren (KENNEDY et al., 2000; ROVIRA et al., 2002; OPRIESSNIG et al., 2011a). In verschiedenen Untersuchungen zum Vorkommen von Lungenveränderungen bei Mastschweinen konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen PRRSV, SIV oder *M. hyopneumoniae* und dem Auftreten von Lungenläsionen gezeigt werden (ENØE et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009; FABLET et al., 2012b). HARMS et al. (2002) weisen in einer Untersuchung von PRDC-Fällen häufig die Pathogene PCV2, PRRSV, SIV und *M. hyopneumoniae* nach. Auch andere Autoren können zeigen, dass PCV2-Infektionen bei vermehrtem Auftreten von Pneumonien oder Pleuritiden in Schlachtschweinen eine Rolle spielen können (HARMS et al., 2002; KIM et al., 2003; WELLENBERG et al., 2010; FABLET et al., 2012b). Im Vergleich zu PCV2-negativen Schweinen weisen PCV2-PCR-positive Tiere eine höhere Wahrscheinlichkeit auf Koinfektionen mit SIV Typ A und *M. hyopneumoniae* auf (DORR et al., 2007). Diese Beobachtung kann mittels der dargestellten Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

Eine Infektion mit PCV2 wird häufig bei Ausbrüchen von PRDC nachgewiesen und kann in diesen Fällen zur Schwere der Läsionen sowie zu einer stärker ausgeprägten, länger andauernden klinischen Erkrankung beitragen (HARMS et al., 2002). Der genaue Mechanismus einer PCV2-Infektion hinter einem PRDC-Ausbruch ist nicht vollständig geklärt. Die Bedeutung von PCV2 im Zusammenhang mit sichtbaren PRDC-assozierten Lungenveränderungen liegt möglicherweise in dessen immunmodulierenden Eigenschaften. In zahlreichen

experimentellen und klinischen Studien konnten für PCV2 immunsupprimierende beziehungsweise immunmodulierende Eigenschaften nachgewiesen werden (VINCENT et al., 2007; KEKARAINEN et al., 2008; ZHU et al., 2016). Diese virusinduzierte Modulation der angeborenen Immunantwort macht das Tier anfälliger für Koinfektionen (VINCENT et al., 2007). Die immunmodulierende Eigenschaft von PCV2, die Phagozytoseaktivität der Wirtsmakrophagen zu verstärken, und die Fähigkeit von *M. hyopneumoniae*, die Proliferation von Makrophagen zu stimulieren, führen synergistisch zu einem Anstieg des Schweregrades PRDC-assoziiierter Läsionen. Demzufolge wird PCV2 bei der Entstehung des PRDC ein Synergismus bzw. eine Wechselwirkung mit anderen beteiligten Lungenpathogenen zugeschrieben (KIM et al., 2003; CHAE, 2005). So könnte PCV2 in der vorliegenden Untersuchung das Maß der Ausprägung der Lungenläsionen als Immunmodulator insofern beeinflusst haben, als dass es die Tiere empfänglicher für eine Koinfektion mit den Pathogenen SIV und *M. hyopneumoniae* gemacht hat, welche wiederum zu den beobachteten überdurchschnittlich gehäuft aufgetretenen Lungenläsionen geführt haben. Ebenso wie *M. hyopneumoniae* kann auch SIV EP-Typ-Läsionen verursachen (GAUGER et al., 2012). Im Allgemeinen führt eine Infektion mit SIV zu einer akuten Entzündung (KHATRI et al., 2010; BARBE et al., 2011) und einer Immunantwort, welche die Ausbreitung des Virus begrenzt und innerhalb von sieben bis zehn Tagen eine vollständige Elimination aus der Lunge bewirkt (VAN REETH et al., 2012). Überwindet die Infektion die Abwehrmechanismen in der Schleimhautoberfläche (LARSEN et al., 2000) folgt eine zellvermittelte Immunantwort, die sich in einer starken Lymphozytose zeigt. Neben der humoralen Immunität ist die T-Zell-Antwort essentiell bei der Abwehr von SIV und spielt eine Hauptrolle bei der Beseitigung des Virus aus der Lunge (LARSEN et al., 2000; SUN et al., 2009; KHATRI et al., 2010). Postnatal verliert PCV2 seinen Tropismus für Herzzellen und fokussiert sich hauptsächlich auf Lymphoblasten und Makrophagen. Zwar nehmen Makrophagen hauptsächlich Viruspartikel auf, dennoch führt dies selten zu einer produktiven Virusinfektion (NAUWYNCK et al., 2012). Im Gegensatz dazu sind Lymphoblasten vollständig anfällige Ziele (SANCHEZ et al., 2004). Je größer die Anzahl der Lymphoblasten, desto schneller und stärker fällt die primäre Replikation von PCV2 in seinem Wirt aus. Im Rahmen einer Lymphozytenvermehrung während einer SIV-Infektion könnte es in der vorliegenden Untersuchung auch als Nebeneffekt zu einer PCV2-

Replikation gekommen sein und so zu einer Virämie von PCV2 bei den untersuchten Mastschweinen gekommen sein.

In dieser Arbeit waren auf Bestandesebene neben dem Status „Betrieb PCV2-PCR positiv“ auch „Betrieb PRRSV positiv“ und „Betrieb APP ST 12 positiv“ signifikant mit dem Auftreten überdurchschnittlich hoher Lungenveränderungen bei Mastschweinen assoziiert. In verschiedenen Untersuchungen zum Vorkommen von Lungenläsionen bei Mastschweinen konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen PRRSV, SIV oder *M. hyopneumoniae* und dem vermehrten Auftreten von Lungenveränderungen gezeigt werden (ENØE et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2009; FABLET et al., 2012b). In einer Untersuchung von PRDC-Fällen konnten HARMS et al. (2002) neben den bereits genannten Pathogenen PRRSV, SIV und *M. hyopneumoniae* auch häufig PCV2 nachweisen.

Aus der Literatur ist hinreichend bekannt, dass eine Koinfektion mit PRRSV die Ausprägung PCV2-assoziiertes Läsionen steigert (HARMS et al., 2001). Bei PRRSV-Infektionen können erhöhte PCV2-DNA-Mengen in den Seren koinfizierter Schweine (ROVIRA et al., 2002; OPRIESSNIG et al., 2008) und stärkere PCV2-Antigen-Nachweise in betroffenen Geweben (ALLAN et al., 2000b) dargestellt werden, woraus wiederum schwerere PCV2-assoziierte Läsionen resultieren (HARMS et al., 2001). DORR et al. (2007) konnten bei PCV2-positiven Schweinen höhere PRRSV-IgG-Werte und schwerere Lungenläsionen als bei Tieren ohne PCV2-Antigen-Nachweis feststellen. Die genauen Mechanismen, die zur Potenzierung der PCV2-Vermehrung in PCV2 / PRRSV koinfizierten Schweinen führen, sind bisher nicht vollständig geklärt, werden aber mit den gemeinsamen Zielzelltypen, den Monozyten bzw. Makrophagen, beider Viren im Wirtssystem in Zusammenhang gebracht (ALLAN et al., 2000b). PARK et al. (2013) können in einer experimentellen Studie darstellen, dass eine PCV2-Infektion die PRRSV-Replikation oder die Ausprägung PRRSV-assoziiertes Läsionen nicht beeinflusst. Unabhängig vom PCV2-Genotyp (PCV2a oder 2b) erhöht jedoch die Koinfektion mit PRRSV-2 (US-Typ) die PCV2-Virämie signifikant und verstärkt die Schwere von PCV2-assoziiertes Läsionen im Vergleich zu PRRSV-1 (EU-Typ) in einem dualen PCV2-PRRSV-Infektionsversuch (PARK et al., 2014a). Die geschilderten Ergebnisse aus der Literatur decken sich mit jenen aus der vorliegenden Untersuchung insofern, als dass PCV2 und PRRSV synergistisch bzw. wechselseitig dazu beitragen, eine stärker ausgeprägte klinische Manifestation von

PRDC unter Feldbedingungen zu induzieren. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Chance für das Auftreten überdurchschnittlich hoher Lungenveränderungen in PCV2 und PRRSV positiven Herden signifikant erhöht ist.

Oftmals folgt auf eine virale eine bakterielle Infektion (OPRIESSNIG et al., 2011). Eine virale Atemwegsinfektion geht typischerweise mit der Störung der mukoziliären Clearance und mit der Beeinflussung und Abnahme der Funktion von alveolären und intravaskulären Lungenmakrophagen einher. Bakterielle Pathogene tragen häufig zum PRDC bei, indem sie eine Entzündung über verstärkte Zytokinausschüttungen aktivieren (OPRIESSNIG et al., 2011) und somit makroskopische Lungenläsionen verursachen. In der vorliegenden Untersuchung war neben den viralen Pathogenen, PCV2 und PRRSV, auch APP ST 12 signifikant mit dem Auftreten überdurchschnittlich stark ausgeprägter Lungenläsionen bei Mastschweinen assoziiert. Durch die Interaktionen von Pathogenen und ihren Mechanismen der Krankheitsverstärkung kommt es bei viral und bakteriell kombinierten Infektionen zu schwereren Atemwegserkrankungen als bei einer Monoinfektion. Zwar wird neben den bereits erwähnten Pathogenen auch APP als häufige Ursache für akute respiratorische Ausbrüche bei Mastschweinen identifiziert (HAIMI-HAKALA et al., 2017), so lassen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung jedoch den Schluss zu, dass APP ST 12 eine eher untergeordnete, verstärkende Rolle im Krankheitsgeschehen zuzuschreiben ist. Die APP ST 12-Seroprävalenz in einem PRRSV- und PCV2-positiven Betrieb dieser Arbeit war signifikant mit dem Auftreten überdurchschnittlich hoher Lungenveränderungen assoziiert und ist in diesem Zusammenhang eher als Verstärker weniger als primäre Ursache für das Erkrankungsbild des PRDC zu interpretieren.

Wie bereits beschrieben, kann PCV2 durch seine immunmodulierenden Eigenschaften als Wegbereiter für andere Lungenpathogene dienen, in dem es die Tiere empfänglicher für eine Koinfektion mit den Pathogenen macht. Koinfektionen treten oftmals im Zusammenhang mit PCV2-positiven Fällen auf. Ursächlich wird angenommen, dass sie die Folge der bereits beschriebenen virus-induzierten Modulation bzw. Schädigung des Wirtsimmunsystems sind (KIM et al., 2003; OPRIESSNIG et al., 2007). In einer nordamerikanischen Studie konnte bei koinfizierten Schweinen mit PCV2 und PRRSV eine höhere odds ratio bzw. Chance für die Entstehung einer PCVD gezeigt werden (POGRANICHNIY et al.,

2002). Auch PRRSV besitzt immunmodulierende bzw. immunsupprimierende Eigenschaften. Das Virus hat einen sehr eingeschränkten Tropismus für Zellen der myeloiden Reihe (LUNNEY et al., 2016). Der vollständig ausdifferenzierte porcine Alveolarmakrophage dient als primäres Zellziel für die PRRSV-Infektion (DUAN et al., 1997). Es konnte gezeigt werden, dass auch dendritische Zellen in der Lage sind, die PRRSV-Replikation zu unterstützen (LOVING et al., 2007). Durch den Befall und die anschließende Zerstörung der Alveolarmakrophagen wird die lokale Immunität der Lunge gestört. Es kommt zu Veränderungen in T-Zell-Subpopulationen und möglicherweise zu einer verminderten Funktion von Antigen-präsentierenden Zellen (BROCKMEIER et al., 2002). Diese Immunsuppression ermöglicht weiteren Lungenpathogenen die Besiedelung des veränderten Lungengewebes. So könnte, bezugnehmend auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, APP ST 12 bei Schweinen aus PCV2- und PRRSV-positiven Herden durch die beschriebene Immunsuppression ebenfalls zu einer Verstärkung der Lungenläsionen führen. Diese Vermutung deckt sich mit den Beobachtungen von POL et al. (1997), die einen positiven Einfluss einer voran gegangenen PRRSV-Infektion auf die Ausprägungsstärke von APP-Läsionen nachweisen. THACKER et al. (1999) konnten zeigen, dass eine Infektion mit *M. hyopneumoniae* den Schweregrad und die Dauer der PRRSV induzierten Pneumonie unabhängig vom Zeitpunkt der Infektion mit einem der beiden Pathogene erhöhte.

In der vorliegenden Untersuchung sind die Vorauswahl der Betriebe sowie das Vorhandensein von Mehrfachinfektionen, sowohl bei Einzeltieren als auch auf Bestandesebene, für die Studienergebnisse von Bedeutung. Unter diesen Voraussetzungen sind die hier festgestellten Assoziationen am ehesten im Zusammenhang mit dem PRDC zu sehen, dem PCV2 eine relevante kausale Rolle zugestanden werden kann (KIM et al., 2003; HANSEN et al., 2010).

Durch die Bewertung der am PRDC beteiligten Pathogene in primäre und sekundäre Erreger wird oftmals die Komplexität zu einfach dargestellt. OPRIESSNIG et al. (2011) kategorisieren die allgemein anerkannten Krankheitserreger des PRDC aufgrund ihrer Fähigkeit, Atemwegserkrankungen und -läsionen selbst zu verursachen (größere Relevanz) oder nur unter bestimmten Bedingungen wie einer gleichzeitigen Infektion mit anderen Krankheitserregern

(geringe Relevanz). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen die Vermutung der genannten Felduntersuchungen, dass PCV2 in einigen Fällen bei der Entstehung von PRDC eine wichtige Rolle spielen könnte (HARMS et al., 2002; KIM et al., 2003). Neben der Überprüfung des Infektionsstatus der beschriebenen hauptsächlich am PRDC beteiligten Pathogene (PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP), sollte auch eine Überprüfung des PCV2-Status eines Bestandes mit PRDC durchgeführt werden.

3. PCV2-DNA-Nachweis und Pleuritis

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass PCV2-Infektionen ebenfalls auf Einzeltier- und Bestandsebene signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert sind.

Auf Einzeltierbasis konnte eine signifikante Assoziation des Auftretens einer Pleuritis mit dem Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern bei MastEinstellung und SIV-Antikörpern am Mastende ermittelt werden. Der in dieser Untersuchung detektierte PCV2-IgM-Wert zu Mastbeginn legt eine aktive Infektion (circa 7-14 Tage p.i.) nahe. Bei diesen zu Mastbeginn PCV2-IgM-seropositiven Tieren lag die Chance für das Auftreten einer Pleuritis zum Schlachtzeitpunkt 4,96-mal höher als für Schweine ohne diesen Nachweis.

Pleuritiden an Schlachtungen werden vor allem im Zusammenhang mit Infektionen mit APP oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (ENØE et al., 2002; MEYNS et al., 2011; FABLET et al., 2012b; FABLET et al., 2012a). WELLENBERG et al. (2010) vermuten jedoch, dass PCV2-Infektionen in der 10.-12. Lebenswoche zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Pleuritis führen könnten. Diese Vermutung deckt sich mit der Beobachtung in der vorliegenden Untersuchung, dass der Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern zur MastEinstellung signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert war. Der Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern zum Zeitpunkt der Einstellung (circa 12. Lebenswoche) kann als Hinweis auf eine PCV2-Feldinfektion zu diesem Zeitpunkt gesehen werden. WALKER et al. (2000) beobachteten ebenfalls eine Serokonversion bei Mastschweinen nach PCV2-Infektion oftmals zwischen den Abschnitten Vor- und Mittelmast (WALKER et al., 2000). Die Tiere der vorliegenden Studienpopulation wurden als Saugferkel routinemäßig aktiv gegen PCV2 immunisiert. Ob es sich bei den

nachgewiesenen IgM-Antikörpern nach Masteinrichtung jedoch nicht auch um impfinduzierte Antikörper handelt, kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden. In einer Untersuchung zur Wirksamkeit einer inaktivierten One-Shot-Vakzine gegen PCV2 bei Ferkeln konnten IgM-Antikörper nach der aktiven Immunisierung in der dritten Lebenswoche nur bis zur neunten Lebenswoche nachgewiesen werden (EISELE, 2009). Daher ist es als eher unwahrscheinlich anzunehmen, dass es sich bei den in der Studie nachgewiesenen PCV2-IgM-Antikörpern um impfinduzierte Antikörper handelt.

Im Gegensatz zur Bestandsebene, auf deren Basis PCV2-PCR-positive Betriebe eine höhere Chance für das Auftreten von Pleuritis hatten, waren die PCV2-DNA-Nachweise bei den Einzeltieren nicht signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung assoziiert. Dass eine PCV2-Infektion allein zu makroskopisch sichtbaren Pleuritiden führt, ist nicht anzunehmen. Jedoch scheint eine PCV2-Infektion in der vorliegenden Arbeit in beiden Fällen die Chance für das Auftreten von Pleuritis signifikant zu erhöhen. BRUNBORG et al. (2004) und OLVERA et al. (2004) stufen PCV2-Virusmengen im Serum von $\geq 10^5$ bis $\geq 10^7$ Genomkopien pro ml Serum als klinisch relevant für die Ausprägung von PMWS ein. Es wird ein positiver Zusammenhang zwischen nachweisbarer Virusmenge im Serum und der Ausprägung klinischer Symptome und dem entsprechende histopathologische Läsionen ($>10^5$: geringgradig, $\geq 10^7$: hochgradig) beschrieben. In der vorliegenden Untersuchung lagen die PCV2-Virusgehalte im Serum bei 50% der positiven Tiere zwischen 10^5 und 10^7 Genomkopien/ml Serum, ohne dass bei den Tieren klinische Hinweise auf ein PMWS-Geschehen vorlagen. Mögliche Ursachen für diese Nachweise wurden bereits ausführlich diskutiert.

Die Chance für das Auftreten von Pleuritis für die in dieser Arbeit untersuchten Schweine mit einer SIV-Seroprävalenz in der Endmast war 6,89-mal höher als für Tiere ohne den entsprechenden Nachweis. Dieses Ergebnis entspricht den Beobachtungen von WELLENBERG et al. (2010) und MOUSING et al. (1990), die in ihren Untersuchungen auf Einzeltierebene ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang zwischen SIV und dem Auftreten von Pleuritis nachweisen konnten. Dass SIV eine primäre Pleuritis induziert, ist eher nicht anzunehmen. Einer sekundären Pleuritis geht jedoch in der Regel eine Pneumonie voraus.

Verkomplizierte EP-Typ Läsionen werden stark mit kranio-ventralen Pleuraläsionen assoziiert (CHRISTENSEN & ENØE, 1999; CHRISTENSEN et al., 1999; MERIALDI et al., 2012). Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich ebenfalls mit der bereits diskutierten Beobachtung erklären, dass eine virale Atemwegsinfektion eine Störung der mukoziliären Clearance und der Funktion von Lungenmakrophagen bedingt und bakterielle Pathogene somit einfacher ins Lungengewebe eindringen und eine Entzündung über verstärkte Zytokinausschüttung aktivieren (OPRIESSNIG et al., 2011) können. Durch das Fortschreiten makroskopischer Pneumonieläsionen kann es zu einer sekundären Pleuritis gekommen sein. Im Rahmen dieser Studie wurde keine bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Dementsprechend kann an dieser Stelle keine Aussage über den Einfluss möglicher bakterieller Infektionserreger auf das Auftreten von Pleuritis bei den untersuchten Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung getroffen werden.

Auf Bestandsebene waren in der vorliegenden Arbeit neben dem Status „Betrieb PCV2-PCR positiv“ auch „Betrieb APP ST 2 positiv“ und „Betrieb APP ST 12 positiv“ signifikant mit dem Auftreten von Pleuritiden assoziiert. Die Chance für Mastschweine zum Zeitpunkt der Schlachtung Pleuritis positiv zu sein, lag bei dieser Untersuchung für Tiere aus APP ST 2-seropositiven Betrieben 4,91-mal höher und für Tiere von APP ST 12-seropositiven Betrieben sowie Betrieben mit PCV2-PCR-positiven Betrieben 1,82-mal höher, als für Tiere von Betrieben ohne entsprechende Nachweise. In verschiedenen Untersuchungen wird das Auftreten von Pleuritiden an Schlachtungen vor allem im Zusammenhang mit Infektionen bezüglich APP oder *M. hyopneumoniae* diskutiert (ENØE et al., 2002; MEYNS et al., 2011; FABLET et al., 2012b; FABLET et al., 2012a). ENØE et al. (2002) konnten als infektiöse Ursachen für das Auftreten von Pleuritis bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung in 51% bzw. 29% der Fälle eine Seroprävalenz auf Bestandsebene für APP ST 2 und *M. hyopneumoniae* nachweisen. Zusammenhänge von PCV2-Infektionen mit dem Auftreten von Pleuritiden bei Schlachtschweinen wurden in der Literatur bisher nur wenig beschrieben. In der Untersuchung von MOUSING et al. (1990) stellt APP ST 2 ebenfalls den Faktor mit dem größten Einfluss auf das Auftreten von Pleuritis in der untersuchten dänischen Schweinepopulation dar. Dieses Ergebnis deckt sich mit der in der vorliegenden Untersuchung gemachten Beobachtung, dass die Chance für Schweine aus einem APP ST 2-positiven Bestand für eine vorhandene Pleuritis am Schlachtierkörper

4,91-mal höher ist, als für Tiere aus Betrieben ohne APP ST 2-Nachweis. Für das Auftreten einer Pleuritis an Schlachtlungen kommt somit in der vorliegenden Studie am ehesten APP ST 2 in Frage. Das Ausmaß der Veränderungen bzw. das Auftreten von Pleuritis bei den einbezogenen Tieren wurde am ehesten von PCV2 durch seine bereits beschriebenen immunmodulierenden Eigenschaften beeinflusst.

4. Diskussion der Methoden: Methodenkritik

Bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse sollte beachtet werden, dass die Bewertung der überdurchschnittlich hohen Lungenscores auf makroskopischer Ebene erfolgte. Histopathologische Befunde wurden in der vorliegenden Untersuchung nicht einbezogen. Die interstitielle Pneumonie steht oftmals im Zusammenhang mit viralen Infektionen (PRRSV, SIV, PCV2) und Septikämien durch gram-negative bakterielle Erreger (VAN ALSTINE, 2012). Die diffus verteilten Läsionen dieser Pneumonieform in den Alveolarsepten sind makroskopisch nicht erkennbar und können nur mikroskopisch erhoben werden. HARMS et al. (2002) beobachteten bei PRDC Fällen, die auf eine Koinfektion von PCV2 und PRRSV zurückzuführen waren, oftmals eine interstitielle Pneumonie mit peribronchialer Fibrose. Weiterhin ist zu bedenken, dass die makroskopischen Lungenläsionen bei Mehrfachinfektionen oftmals überlappend und mehrdeutig sind und durch histopathologische Methoden präzisiert werden können (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Ein Rückschluss auf die auslösenden Erreger auf Basis der makroskopischen Lungenveränderungen allein ist nur in Ausnahmefällen möglich (GROSSE BEILAGE et al., 2013).

Die ausgewählte Stichprobe beschränkt sich auf Betriebe in einer relativ schweinedichten Region in Süddeutschland und sollte daher nicht repräsentativ für die gesamte Bundesrepublik Deutschland gesehen werden. In der Literatur finden sich signifikante Unterschiede bezüglich der Zusammensetzung der beteiligten Pathogene am PRDC zwischen Ländern, Regionen, Produktionsstätten und sogar innerhalb eines Betriebes (GUTIERREZ-MARTIN et al., 2000; HARMS et al., 2002). Diese Variationen machen es ohnehin schwierig, allgemeingültige Aussagen und Empfehlungen zu beispielsweise Behandlungs- und Kontrollmaßnahmen von PRDC zu treffen. Der Schweregrad der Ausprägung einer PRDC hängt neben den Wechselwirkungen und Synergien der infektiösen Faktoren auch von den Umwelt- und Managementfaktoren, der Art des

Produktionssystem und tierindividuellen Faktoren (Genetik, Alter und immunologischer Status) ab. In der vorliegenden Untersuchung wurden diese Faktoren nicht einbezogen. Es war nicht das Ziel dieser Arbeit, die Bedeutung von nicht-infektiösen Faktoren auf den PRDC zu untersuchen.

Bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse sollte zudem beachtet werden, dass bakteriologische Untersuchungen im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt wurden und somit der Einfluss möglicher weiterer bakterieller Infektionserreger nicht berücksichtigt wurde. Zum einen wäre die Aussagekraft von bakteriologischen Untersuchungsergebnissen von am Schlachthof entnommenen Gewebe- oder Tupferproben zu hinterfragen, zum anderen würde es den finanziellen Rahmen dieser Arbeit sprengen.

In der vorliegenden Studie sind die Ergebnisse der einzeltier- und bestandsbasierenden Untersuchungen nicht einheitlich. Für die Interpretation der Ergebnisse sollte berücksichtigt werden, dass nur bei der bestandsbasierenden Auswertung die APP- und SIV-Serotypisierungen berücksichtigt wurden. In der Einzeltierauswertung wurden diese nicht eingeschlossen, da aus ökonomischen Gründen nicht alle APP- und SIV-positiven Serumproben serotypisiert wurden. So wurde einem Großteil der Tiere ein Status zugewiesen, der auf Einzeltierebene nicht zu überprüfen war. Dennoch sollte die vorliegende Auswertung auf Bestandsebene der praxisnahen Fragestellung nach den infektiösen Risikofaktoren für Tiere aus Beständen mit definiertem Erregerstatus gerecht werden.

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie Vergleichsdaten aus der Literatur, so wird die Vielschichtigkeit von Erregerassoziationen bei Mehrfachinfektionen klar ersichtlich. Es konnte in der vorliegenden Untersuchung gezeigt werden, dass neben den bereits als PRDC relevant beschriebenen Erregern, das Auftreten von PCV2-Infektionen bei Mastschweinen unter den beschriebenen Bedingungen einen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß von Lungenveränderungen und das Auftreten von Pleuritiden zum Zeitpunkt der Schlachtung haben kann. Treten erhöhte Lungenscores sowie vermehrt Pleuritiden als Lungenbefunde bei der Schlachtierkörperuntersuchung auf, sollte in dem betroffenen Bestand neben den Infektionsstatus von PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP auch der PCV2-Status überprüft werden. Eine aus diesen Ergebnissen erhobene Anpassung der PCV2-Präventionsmaßnahmen könnte möglicherweise zu einer Verbesserung hinsichtlich auffälliger

Lungenbefunde am Schlachthof und letztlich der Tiergesundheit des Bestandes beitragen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Porzines Circovirus Typ 2 (PCV2)-Infektionen in oberbayerischen Schweinemastbeständen mit routinemäßiger Impfung gegen PCV2 und deren Bedeutung für das Auftreten von Lungenveränderungen

Die vorliegende Studie untersucht die Bedeutung von Infektionen mit dem porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) für die Ausprägung von Lungenveränderungen bei den Schlachttierkörpern von routinemäßig gegen PCV2 geimpften Mastschweinen. Von 300 Einzeltieren aus zehn vorausgewählten oberbayerischen Betrieben, in denen im Vorfeld gehäuft Lungenveränderungen in Form von Pleuritiden oder Pneumonien am Schlachthof auftraten, wurden die Lungen nach der Schlachtung makroskopisch auf pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht und deren Art und Schweregrad bewertet. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Mast gewonnene Serumproben wurden mittels Real time PCR bzw. ELISA auf PCV2-DNA sowie IgM- und IgG-Antikörper gegen PCV2 untersucht. Außerdem wurden weitere serologische Untersuchungen auf andere relevante Atemwegs-Infektionserreger durchgeführt. Zur Masteinstellung (10.-12. Lebenswoche), in der Mittelmast (16.-18. LW) und in der Endmast (22. LW) wurden Blutproben auf Antikörper gegen *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, Schweineinfluenza-Virus (SIV), Porzines reproduktives und respiratorisches Syndrom-Virus (PRRSV) und PCV2 untersucht. Des Weiteren wurden 20 % aller APP- und SIV-seropositiven Proben pro Bestand serotypisiert. Am Schlachthof wurde jede Lunge adspektorisch sowie palpatorisch nach einem evaluierten Bewertungssystem auf Lungenveränderungen untersucht und je eine Gewebeprobe von Tonsille und Lunge zur molekularbiologischen Untersuchung auf PRRSV entnommen. Anhand der labordiagnostischen Ergebnisse wurde jedem Einzeltier sowie jedem Bestand ein Infektionsstatus bezüglich der untersuchten Infektionserreger zugewiesen. Die statistische Auswertung mittels logistischer Regression ergab, dass eine PCV2-Infektion, gemeinsam mit anderen Infektionserregern, sowohl auf Einzeltier- als auch auf Bestandsebene signifikant mit dem Auftreten von Pleuritis sowie überdurchschnittlich hohen Lungenscores assoziiert war. Bestände mit auffälligen Lungenbefunden am Schlachthof sollten, neben der Kontrolle von bereits als relevant für Lungenveränderungen beschriebenen Erregern wie PRRSV, SIV,

M. hyopneumoniae und APP, zusätzlich eine Überprüfung des Bestandes hinsichtlich des PCV2-Status in Betracht ziehen. Auf dieser Basis können Anpassungen wie die Optimierung der Immunprophylaxe gegen PCV2 zu einer Verringerung der Prävalenz von Pleuritiden und einem reduzierten Ausmaß von Pneumonieerscheinungen in Form von Lungenläsionen führen. In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass neben den bereits als relevant beschriebenen Erregern wie PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP, das Auftreten von PCV2-Infektionen bei Mastschweinen unter den beschriebenen Bedingungen einen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß von Lungenveränderungen sowie auf die Häufigkeit des Auftretens von Pleuritiden bei Mastschweinen zum Zeitpunkt der Schlachtung haben kann.

Beim Vorliegen erhöhter Lungenscores sowie dem vermehrten Auftreten von Pleuritiden als Befunde der Schlachtierkörperuntersuchung, sollten neben den bereits als relevant beschriebenen Infektionserregern und Management-, Hygiene- und Haltungsfaktoren gegebenenfalls auch der PCV2-Status eines betroffenen Betriebes überprüft werden. Eine aus diesen Ergebnissen bemessene risikoorientierte Anpassung der PCV2-Präventionsmaßnahmen könnte zu einer Verbesserung hinsichtlich auffälliger Lungenbefunde am Schlachthof und letztlich der Tiergesundheit des Bestandes beitragen.

VI. SUMMARY

Porcine circovirus type 2 (PCV2)-infections in Upper Bavarian fattening pig herds with routine vaccination against PCV2 - relevance for the occurrence of lung lesions at slaughter.

The present investigation examines the meaning of porcine circovirus type 2 (PCV2) infections for lung lesions at slaughter of routinely PCV2 vaccinated pigs from preselected fattening farms under consideration of other relevant pathogens. All of the farms had a known history of noticeable lung lesions at slaughter. In total 300 fattening pigs from ten Upper Bavarian fattening farms were included in this study. Pigs were individually signed by ear tags. Blood samples were collected at placement (age of 10-12 weeks), in the midst of fattening (16-18 weeks) and at the end of fattening/before slaughtering (22 weeks). All serum samples were examined for the presence of PCV2 DNA and serologically tested for the presence of antibodies against PCV2, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, swine influenza virus (SIV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2. Furthermore 20 % of all APP and SIV seropositive samples per farm were serotyped. At abattoir all lungs were checked for lung lesions by visual and palpatory examination. Additional tonsil and lung tissues were collected at abattoir for PRRSV RNA testing by PCR. Based on the laboratory diagnostics an infection status was assigned to each single pig as well as to each farm. By the means of logistic regression analysis it could be shown that PCV2 infections, together with other pathogens like PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae* und APP, in fattening pigs can be significantly associated with the occurrence of pleurisy and severity of pneumonic lesions at abattoir. Besides environmental conditions, population size, management strategies and pig-specific factors such as age and genetics and pathogens commonly associated with PRDC herds with conspicuous lung and pleural lesions at slaughter should consider to also check their PCV2 status in order to possibly reduce the frequency of pleurisy and extent of pneumonic lung lesions at slaughter by improving their PCV2 prophylaxis/ prevention measures and therefore enhancing animal health on farm level.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Allan G, Meehan B, Todd D, Kennedy S, McNeilly F, Ellis J, Clark EG, Harding J, Espuna E, Botner A, Charreyre C. Novel porcine circoviruses from pigs with wasting disease syndromes. *Vet Rec* 1998; 142: 467-468.

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

Allan GM, McNeilly E, Kennedy S, Meehan B, Moffett D, Malone F, Ellis J, Krakowka S. PCV-2-associated PDNS in Northern Ireland in 1990. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 2000a; 146: 711-712.

Allan GM, McNeilly F, Ellis J, Krakowka S, Meehan B, McNair I, Walker I, Kennedy S. Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Arch Virol* 2000b; 145: 2421-2429.

Andreasen M, Mousing J, Krosgaard Thomsen L. No simple association between time elapsed from seroconversion until slaughter and the extent of lung lesions in Danish swine. *Prev Vet Med* 2001; 52: 147-161.

Barbe F, Atanasova K, Van Reeth K. Cytokines and acute phase proteins associated with acute swine influenza infection in pigs. *Vet J* 2011; 187: 48-53.

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: 83-87.

Baumgartner M, Brugnera E, Sydler T, Bürgi E, Hässig M, Sidler X. Risk factors causing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) onset in Swiss pig farms. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2012; 154: 429-436.

Beach NM, Ramamoorthy S, Opriessnig T, Wu SQ, Meng X-J. Novel chimeric porcine circovirus (PCV) with the capsid gene of the emerging PCV2b subtype cloned in the genomic backbone of the non-pathogenic PCV1 is attenuated in vivo and induces protective and cross-protective immunity against PCV2b and PCV2a subtypes in pigs. *Vaccine* 2010; 29: 221-232.

Benfield DA, Nelson C, Steffen M, Rowland R. Transmission of PRRSV by artificial insemination using extended semen seeded with different concentrations of PRRSV. *Proc Annual meeting / AASP, USA 2000*: 405-408.

Breitbart M, Delwart E, Rosario K, Segalés J, Varsani A, Ictv Report C. ICTV Virus Taxonomy Profile: Circoviridae. *J Gen Virol* 2017; 98: 1997-1998.

Brockmeier SL, Halbur PG, Thacker EL. Porcine respiratory disease complex. In: *Polymicrobial Diseases 2002*. Brogden KA, Guthmiller JM (Hrsg). Washington (DC), USA, ASM Press: 231-258.

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: 171-178.

Calsamiglia M, Segalés 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: 1848-1850.

Chae C. Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. *Vet J* 2004; 168: 41-49.

Chae C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *Vet J* 2005; 169: 326-336.

Chae C. Commercial porcine circovirus type 2 vaccines: Efficacy and clinical application. *Vet J* 2012; 194: 151-157.

Chae C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet J* 2016; 212: 1-6.

Cheung AK. Porcine circovirus: transcription and DNA replication. *Virus Res* 2012; 164: 46-53.

Choi C, Chae C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephropathy syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol* 2001; 38: 436-441.

Choi CY, Oh HN, Lee SJ, Chun T. ORF2 protein of porcine circovirus type 2 promotes phagocytic activity of porcine macrophages by inhibiting proteasomal degradation of complement component 1, q subcomponent binding protein (C1QB) through physical interaction. *J Gen Virol* 2015; 96: 3294-3301.

Choi YK, Goyal SM, Joo HS. Retrospective analysis of etiologic agents associated with respiratory diseases in pigs. *Can Vet J* 2003; 44: 735-737.

Christensen G, Enøe C. The prevalence of pneumonia, pleuritis, pericarditis, and liver spots in Danish slaughter pigs in 1998, including comparison with 1994. *Dan J Vet* 1999: 1006-1015.

Christensen G, Sørensen V, Mousing J. Diseases of the respiratory system. In: *Diseases of Swine*, 8th edn 1999. Straw BE, Allaire SD, Mengeling WL, Taylor DJ (Hrsg). Ames, Iowa, USA, Iowa State University Press: 927-928.

Christopher-Hennings J, Nelson EA, Benfield DA. Detecting PRRSV in boar semen. *J Swine Health Prod* 1996; 4: 37-39.

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: 11-19.

Crowther RA, Berriman JA, Curran WL, Allan GM, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. *J Virol* 2003; 77: 13036-13041.

Daft B, Nordhausen RW, Latiner KS. Interstitial pneumonia and lymphadenopathy associated with circoviral infection in a six week-old pig. *Proc Am Assoc Vet Lab Diag* 1996; 39: 32.

Darwich L, Mateu E. Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res* 2012; 164: 61-67.

Davies PR, Bahnson PB, Grass JJ, Marsh WE, Dial GD. Comparison of methods for measurement of enzootic pneumonia lesions in pigs. *Am J Vet Res* 1995; 56: 09-14.

Desrosiers R. A review of some aspects of the epidemiology, diagnosis and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. *J Swine Health Prod* 2001; 9: 233-237.

Desvaux S, Grosbois V, Pham TTH, Dao DT, Nguyen TD, Fenwick S, Roger F, Ellis T, Peyre M. Evaluation of the vaccination efficacy against H5N1 in domestic poultry in the Red River Delta in Vietnam. *Epidemiol Infect* 2013; 141: 776-788.

Dorr PM, Baker RB, Almond GW, Wayne SR, Gebreyes WA. Epidemiologic assessment of porcine circovirus type 2 coinfection with other pathogens in swine. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230: 244-250.

Dottori M, Nigrelli AD, Bonilauri P, Gozio S, Cominotti F. Proposta di un nuovo sistema di punteggiatura delle pleuriti suine in sede di macellazione. La griglia S.P.E.S. (Slaughterhouse Pleuritis Evaluation System). *Large Anim Rev* 2007; 13: 161-165.

Duan X, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Effects of origin and state of differentiation and activation of monocytes/macrophages on their susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Arch Virol* 1997; 142: 2483-2497.

Edlefsen PT. Leaky vaccines protect highly exposed recipients at a lower rate: implications for vaccine efficacy estimation and sieve analysis. *Comput Math Methods Med* 2014; 2014: 813789.

Eisele S. Bestimmung der Wirksamkeit eines inaktivierten One-Shot Impfstoffes bei Ferkeln in der 1. oder 3. Lebenswoche mit Porcilis® PCV gegen das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) in zwei süddeutschen Betrieben. *Diss. med. vet.* 2009. Ludwig-Maximilians-Universität München.

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.

Enøe C, Mousing J, Schirmer AL, Willeberg P. Infectious and rearing-system related risk factors for chronic pleuritis in slaughter pigs. *Prev Vet Med* 2002; 54: 337-349.

Fablet C, Marois C, Dorenlor V, Eono F, Eveno E, Jolly JP, Le Devendec L, Kobisch M, Madec F, Rose N. Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. *Res Vet Sci* 2012a; 93: 627-630.

Fablet C, Marois-Crehan C, Simon G, Grasland B, Jestin A, Kobisch M, Madec F, Rose N. Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: a cross-sectional study. *Vet Microbiol* 2012b; 157: 152-163.

Fachinger V, Bischoff R, Jedidia SB, Saalmuller A, Elbers K. The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine* 2008; 26: 1488-1499.

Feng H, Blanco G, Segales J, Sibila M. Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Vet Microbiol* 2014; 172: 92-99.

Flesja KI, Solberg I. Pathological lesions in swine at slaughter. IV. Pathological lesions in relation to rearing system and herd size. *Acta Vet Scand* 1981; 22: 272-282.

Fort M, Olvera A, Sibila M, Segalés J, Mateu E. Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs. *Vet Microbiol* 2007; 125: 244-255.

Fort M, Sibila M, Allepuz A, Mateu E, Roerink F, Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins. *Vaccine* 2008; 26: 1063-1071.

Fort M, Sibila M, Pérez-Martín E, Nofrarías M, Mateu E, Segalés J. One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicits cell-mediated immunity and significantly reduces PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 2009; 27: 4031-4037.

Fort M, Sibila M, Nofrarías M, Pérez-Martín E, Olvera A, Mateu E, Segalés J. Evaluation of cell-mediated immune responses against porcine circovirus type 2 (PCV2) Cap and Rep proteins after vaccination with a commercial PCV2 sub-unit vaccine. *Vet Immunol Immunopathol* 2012; 150: 128-132.

Fraile L, Alegre A, López-Jiménez R, Nofrarias M, Segalés J. Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. *Vet J* 2010; 184: 326-333.

Gao Z, Dong Q, Jiang Y, Opriessnig T, Wang J, Quan Y, Yang Z. ORF4-protein deficient PCV2 mutants enhance virus-induced apoptosis and show differential expression of mRNAs in vitro. *Virus Res* 2014; 183: 56-62.

Gauger PC, Vincent AL, Loving CL, Henningson JN, Lager KM, Janke BH, Kehrli ME, Jr., Roth JA. Kinetics of lung lesion development and pro-inflammatory cytokine response in pigs with vaccine-associated enhanced respiratory disease induced by challenge with pandemic (2009) A/H1N1 influenza virus. *Vet Pathol* 2012; 49: 900-912.

Gerber PF, Johnson J, Shen H, Striegel D, Xiao CT, Halbur PG, Opriessnig T. Association of concurrent porcine circovirus (PCV) 2a and 2b infection with PCV associated disease in vaccinated pigs. *Res Vet Sci* 2013; 95: 775-781.

Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 1151-1163.

Grosse Beilage E, Nathues H, Grummer B, Hartung J, Kamphues J, Kietzmann M, Rohde J, Spindler B, Weissenböck H. Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand 2013. Grosse Beilage E, Wendt M (Hrsg). Stuttgart, Eugen Ulmer: 200-270.

Gutierrez-Martin CB, Rodriguez-Delgado O, Alvarez-Nistal D, De La Puente-Redondo VA, Garcia-Rioja F, Martin-Vicente J, Rodriguez Ferri EF. Simultaneous serological evidence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, PRRS, Aujeszky's disease and influenza viruses in Spanish finishing pigs. *Res Vet Sci* 2000; 68: 9-13.

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: 272-280.

Haimi-Hakala M, Hälli O, Laurila T, Raunio-Saarnisto M, Nokireki T, Laine T, Nykäsenoja S, Pelkola K, Segales J, Sibila M, Oliviero C, Peltoniemi O, Pelkonen S, Heinonen M. Etiology of acute respiratory disease in fattening pigs in Finland. *Porcine Health Manag* 2017; 3: 19.

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.

Hamm H, Light RW. Parapneumonic effusion and empyema. *Eur Respir J* 1997; 10: 1150.

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: 120-131.

Harding JC. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): preliminary epidemiology and clinical presentation. *Proc Western Can Assoc Swine Pract* 1996: 21.

Harding JC, Clark EG. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Swine Health Prod* 1997; 5: 201-203.

Harding JC. The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Vet Microbiol* 2004; 98: 131-135.

Harding JCS, Baker CD, Tumber A, McIntosh KA, Parker SE, Middleton DM, Hill JE, Ellis JA, Krakowka S. Porcine circovirus-2 DNA concentration distinguishes wasting from nonwasting pigs and is correlated with lesion distribution, severity, and nucleocapsid staining intensity. *J Vet Diagn Invest* 2008; 20: 274-282.

Harms PA, Sorden SD, Halbur PG, Bolin SR, Lager KM, Morozov I, Paul PS. Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Pathol* 2001; 38: 528-539.

Harms PA, Halbur PG, Sorden SD. Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *J Swine Health Prod* 2002; 10: 27-30.

He J, Cao J, Zhou N, Jin Y, Wu J, Zhou J. Identification and functional analysis of the novel ORF4 protein encoded by porcine circovirus type 2. *J Virol* 2013; 87: 1420-1429.

Heißenberger B, Weissenbacher-Lang C, Hennig-Pauka I, Ritzmann M, Ladinig A. Efficacy of vaccination of 3-week-old piglets with Circovac® against porcine circovirus diseases (PCVD). *Trials Vaccinol* 2013; 2: 1-9.

Hewicker-Trautwein H. Respirationstrakt. In: *Pathohistologie für die Tiermedizin*, 1 edn 2007. Baumgärtner W, Gröne A, Gruber AD, Hewicker-Trautwein M, Wohlsein P (Hrsg). Stuttgart, Enke Verlag: 122-147.

ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). Report on the taxonomy of the Circoviridae. 2017: Abgerufen von <http://www.ictv.global/report/circoviridae>.

Jensen TK, Vigre H, Svensmark B, Bille-Hansen V. Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *J Comp Pathol* 2006; 135: 176-182.

Jeong J, Park C, Choi K, Chae C. Comparison of three commercial one-dose porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in a herd with concurrent circulation of PCV2b and mutant PCV2b. *Vet Microbiol* 2015; 177: 43-52.

Jirawattanapong P, Stockhofe-Zurwieden N, van Leengoed L, Wisselink H, Raymakers R, Cruijssen T, van der Peet-Schwering C, Nielen M, van Nes A. Pleuritis in slaughter pigs: relations between lung lesions and bacteriology in 10 herds with high pleuritis. *Res Vet Sci* 2010; 88: 11-15.

Johnson CS, Joo HS, Direksin K, Yoon KJ, Choi YK. Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 507-512.

Karuppanan A, Opriessnig T. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in the context of current molecular epidemiology. *Viruses* 2017; 9: 99.

Kekarainen T, Montoya M, Dominguez J, Mateu E, Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) viral components immunomodulate recall antigen responses. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 124: 41-49.

Kekarainen T, McCullough K, Fort M, Fossum C, Segalés J, Allan GM. Immune responses and vaccine-induced immunity against Porcine circovirus type 2. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 136: 185-193.

Khatri M, Dwivedi V, Krakowka S, Manickam C, Ali A, Wang L, Qin Z, Renukaradhya GJ, Lee CW. Swine influenza H1N1 virus induces acute inflammatory immune responses in pig lungs: a potential animal model for human H1N1 influenza virus. *J Virol* 2010; 84: 11210-11218.

Kim D, Ha Y, Lee YH, Chae S, Lee K, Han K, Kim J, Lee JH, Kim SH, Hwang KK, Chae C. Comparative study of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of porcine circovirus 2 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J Vet Med Sci* 2009; 71: 1001-1004.

Kim J, Chung HK, Chae C. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet J* 2003; 166: 251-256.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi CY, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* 2004; 68: 218-221.

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.

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: 3443-3451.

Knell S, Willems H, Hertrampf B, Reiner G. Prävalenzen porziner Circoviren in ausgewählten deutschen Wildschweinpopulationen. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2005; 33: 247-253.

Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, Gilpin D, Meehan B, McCullough K, Allan G. Immunologic features of porcine circovirus type 2 infection. *Viral Immunol* 2002; 15: 567-582.

Larochelle R, Bielanski A, Muller P, Magar R. PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4629-4632.

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: 114-120.

Larsen DL, Karasin A, Zuckermann F, Olsen CW. Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Vet Microbiol* 2000; 74: 117-131.

Liu J, Chen I, Kwang J. Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. *J Virol* 2005; 79: 8262-8274.

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: 5065-5073.

Lium BM, Falk K. An abattoir survey of pneumonia and pleuritis in slaughter weight swine from 9 selected herds. I. Prevalence and morphological description of gross lung lesions. *Acta Vet Scand* 1991; 32: 55-65.

Loving CL, Brockmeier SL, Sacco RE. Differential type I interferon activation and susceptibility of dendritic cell populations to porcine arterivirus. *Immunology* 2007; 120: 217-229.

Lukert P, De Boer GF, Dale JL, Keese PK, McNulty MS, Randles JW, Tischer I. Family Circoviridae. In: *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. 6th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses edn 1995. Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martelli GP, Mayo MA, Summers MD (Hrsg). Wien, Springer 166-168.

Lunney JK, Fang Y, Ladinig A, Chen N, Li Y, Rowland B, Renukaradhya GJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): Pathogenesis and interaction with the immune system. *Annu Rev Anim Biosci* 2016; 4: 129-154.

Lv QZ, Guo KK, Zhang YM. Current understanding of genomic DNA of porcine circovirus type 2. *Virus Genes* 2014; 49: 1-10.

Madec F, Kobisch M. Bilan lésionnel des poumons des porcs charcutiers à l'abattoir. *J Rech Porcine France* 1982; 14: 405-412.

Maes D, Van Soom A, Appeltant R, Arsenakis I, Nauwynck H. Porcine semen as a vector for transmission of viral pathogens. *Theriogenology* 2016; 85: 27-38.

Magar R, Laroche R, Thibault S, Lamontagne L. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study. *J Comp Pathol* 2000; 123: 258-269.

Majzoub M, Ritzmann M, Truyen U, Matiasek K, Heinritzi K, Hermanns W. Porzines Dermatitis-Nephropathie-Syndrom (PDNS) – eine Übersicht über pathomorphologische Veränderungen. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2005; 33: 169-174.

Mankertz A. Molecular biology of porcine circoviruses. In: *Animal viruses: Molecular biology*. 2008. UK, Caister Academic Press: 355-374.

Martelli P, Ferrari L, Morganti M, De Angelis E, Bonilauri P, Guazzetti S, Caleffi A, Borghetti P. One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet Microbiol* 2011; 149: 339-351.

Martínez J, Peris B, Gómez EA, Corpa JM. The relationship between infectious and non-infectious herd factors with pneumonia at slaughter and productive parameters in fattening pigs. *The Veterinary Journal* 2009; 179: 240-246.

McIntosh KA, Harding JC, Parker S, Ellis JA, Appleyard GD. Nested polymerase chain reaction detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen with sperm morphological analysis from naturally infected boars. *J Vet Diagn Invest* 2006; 18: 380-384.

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: 123-128.

McNeilly F, McNair I, O'Connor M, Brockbank S, Gilpin D, Lasagna C, Boriosi G, Meehan B, Ellis J, Krakowka S, Allan GM. Evaluation of a porcine circovirus type 2-specific antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs: comparison with virus isolation, immunohistochemistry, and the polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 106-112.

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: 2171-2179.

Merialdi G, Dottori M, Bonilauri P, Luppi A, Gozio S, Pozzi P, Spaggiari B, Martelli P. Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. *Vet J* 2012; 193: 234-239.

Meyns T, Van Steelant J, Rolly E, Dewulf J, Haesebrouck F, Maes D. A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter. *Vet J* 2011; 187: 388-392.

Mousing J, Lybye H, Barfod K, Meyling A, Ronsholt L, Willeberg P. Chronic Pleuritis in Pigs for Slaughter - an Epidemiologic-Study of Infectious and Rearing System-Related Risk-Factors. *Prev Vet Med* 1990; 9: 107-119.

Mues G, Mesu AP, Tegeler R, Hewicker-Trautwein M, Kleinschmidt S, Schwittlick U, Meemken D. Aussagekraft von Lungenbefundungen am Schlachthof im Vergleich zur Befundung in der Pathologie unter Berücksichtigung weiterführender diagnostischer Methoden beim Schwein. *Prakt Tierarzt* 2014; 95: 634-644.

Nauwynck HJ, Sanchez R, Meerts P, Lefebvre DJ, Saha D, Huang L, Misinzo G. Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. *Virus Res* 2012; 164: 43-45.

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: 2281-2287.

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.

Opriessnig T, Meng X-J, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 591-615.

Opriessnig T, Madson DM, Prickett JR, Kuhar D, Lunney JK, Elsener J, Halbur PG. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Vet Microbiol* 2008; 131: 103-114.

Opriessnig T, Gimenez-Lirolo LG, Halbur PG. Polymicrobial respiratory disease in pigs. In: *Anim Health Res Rev / Conf of Res Workers in Anim Dis* 12 2011. 133-148.

Opriessnig T, Halbur PG. Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. *Virus Res* 2012; 164: 20-32.

Opriessnig T, O'Neill K, Gerber PF, de Castro AM, Gimenez-Lirola LG, Beach NM, Zhou L, Meng XJ, Wang C, Halbur PG. A PCV2 vaccine based on genotype 2b is more effective than a 2a-based vaccine to protect against PCV2b or combined PCV2a/2b viremia in pigs with concurrent PCV2, PRRSV and PPV infection. *Vaccine* 2013; 31: 487-494.

Opriessnig T, Xiao C-T, Halbur PG, Gerber PF, Matzinger SR, Meng XJ. A commercial porcine circovirus (PCV) type 2a-based vaccine reduces PCV2d viremia and shedding and prevents PCV2d transmission to naïve pigs under experimental conditions. *Vaccine* 2017; 35: 248-254.

Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet Microbiol* 2010; 145: 198-208.

Palzer A. Keimspektrum und Erregerassoziationen bei gesunden und an Pneumonie erkrankten Schweinen. Diss. med. vet. 2006. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Park C, Oh Y, Seo HW, Han K, Chae C. Comparative effects of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in a PCV2-PRRSV challenge model. *Clin Vaccine Immunol* 2013; 20: 369-376.

Park C, Seo HW, Park SJ, Han K, Chae C. Comparison of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated lesions produced by co-infection between two genotypes of PCV2 and two genotypes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Gen Virol* 2014a; 95: 2486-2494.

Park C, Seo HW, Han K, Chae C. Comparison of four commercial one-dose porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines administered to pigs challenged with PCV2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus at 17 weeks postvaccination to control porcine respiratory disease complex under Korean field conditions. *Clin Vaccine Immunol* 2014b; 21: 399-406.

Pitkin A, Otake S, Dee S. A one-night downtime period prevents the spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* by personnel and fomites (boots and coveralls). *J Swine Health Prod* 2011; 19: 345-348.

Pogranichniy RM, Yoon KJ, Harms PA, Sorden SD, Daniels M. Case-control study on the association of porcine circovirus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 449-456.

Pol JM, van Leengoed LA, Stockhofe N, Kok G, Wensvoort G. Dual infections of PRRSV/influenza or PRRSV/*Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. *Vet Microbiol* 1997; 55: 259-264.

Prickett JR, Johnson J, Murtaugh MP, Puvanendiran S, Wang C, Zimmerman JJ, Opriessnig T. Prolonged detection of PCV2 and anti-PCV2 antibody in oral fluids following experimental inoculation. *Transbound Emerg Dis* 2011; 58: 121-127.

Read AF, Baigent SJ, Powers C, Kgosana LB, Blackwell L, Smith LP, Kennedy DA, Walkden-Brown SW, Nair VK. Imperfect vaccination can enhance the transmission of highly virulent pathogens. *PLoS Biol* 2015; 13: e1002198.

Ritzmann M, Vorbuchner K, Majzoub M, Hermanns W, Heinritzi K, Geissler K, Truyen U. Untersuchungen zur Verbreitung des porzinen Circovirus Typ 2 in Bayern. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2002; 30: 386-391.

Rosario K, Breitbart M, Harrach B, Segales J, Delwart E, Biagini P, Varsani A. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. *Arch Virol* 2017; 162: 1447-1463.

Rose N, Andraud M, Bigault L, Jestin A, Grasland B. A commercial PCV2a-based vaccine significantly reduces PCV2b transmission in experimental conditions. *Vaccine* 2016; 34: 3738-3745.

Rosell C, Segales J, Ramos-Vara JA, Folch JM, Rodriguez-Arriola GM, Duran CO, Balasch M, Plana-Duran J, Domingo M. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 2000; 146: 40-43.

Rovira A, Balasch M, Segales J, Garcia L, Plana-Duran J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A, Domingo M. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J Virol* 2002; 76: 3232-3239.

Salak-Johnson JL, McGlone JJ, Whisnant CS, Norman RL, Kraeling RR. Intracerebroventricular porcine corticotropin-releasing hormone and cortisol effects on pig immune measures and behavior. *Physiol Behav* 1997; 61: 15-23.

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: 169-176.

Sanchez RE, Jr., Meerts P, Nauwynck HJ, Ellis JA, Pensaert MB. Characteristics of porcine circovirus-2 replication in lymphoid organs of pigs inoculated in late gestation or postnatally and possible relation to clinical and pathological outcome of infection. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 175-185.

Savill NJ, St Rose SG, Keeling MJ, Woolhouse ME. Silent spread of H5N1 in vaccinated poultry. *Nature* 2006; 442: 757.

Segales J, Domingo M. Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet Q* 2002; 24: 109-124.

Segales J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. In: *Anim Health Res Rev / Conf of Res Workers in Anim Dis* 6 2005. 119-142.

Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res* 2012; 164: 10-19.

Segalés 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* 2005; 111: 223-229.

Seo HW, Park C, Han K, Chae C. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on PCV2-viremic piglets after experimental PCV2 challenge. *Vet Res* 2014; 45: 13.

Shen HG, Halbur PG, Opriessnig T, Beach NM, Huang YW, Meng XJ. Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV). *Vaccine* 2010; 28: 5960-5966.

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: 405-408.

Sinha A, Shen HG, Schalk S, Beach NM, Huang YW, Halbur PG, Meng XJ, Opriessnig T. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection at the time of porcine circovirus type 2 vaccination has no impact on vaccine efficacy. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17: 1940-1945.

Sorden, S.D. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Swine Health Prod* 2000; 8: 133-136.

Stoiber J. Ermittlung von Einflussfaktoren für das Auftreten von Virämien des Porzinen Circovirus Typ 2 in Mastschweinen. Diss. med. vet. 2017. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Straw BE, Tuovinen VK, Bigras-Poulin M. Estimation of the cost of pneumonia in swine herds. *J Am Vet Med Assoc* 1989; 195: 1702-1706.

Sun J, Madan R, Karp CL, Braciale TJ. Effector T cells control lung inflammation during acute influenza virus infection by producing IL-10. *Nat Med* 2009; 15: 277-284.

Szczotka A, Stadejek T, Pejsak Z. A comparison of immunohistochemistry and in situ hybridization for the detection of porcine circovirus type 2 in pigs. *Pol J Vet Sci* 2011; 14: 565-571.

Thacker EL, Halbur PG, Ross RF, Thanawongnuwech R, Thacker BJ. *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 620-627.

Thacker EL, Minion FC. Mycoplasmosis. In: *Diseases of Swine*, 10th edn 2012. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW (Hrsg). Chichester, UK, Wiley-Blackwell (John Wiley & Sons, Inc.): 779-788.

Thibault S, Drolet R, Germain MC, D'Allaire S, Laroche R, Magar R. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Vet Pathol* 1998; 35: 108-116.

Thomas C, Adler CP, Büttner R, Hagedorn M, Mennel HD, Moll R, Rüschoff J. Atmungsorgane, Pleura. In: *Makro-pathologie- Lehrbuch und Atlas zur Befunderhebung und Differenzialdiagnostik*, 9th edn 2005. Stuttgart, Schattauer: 72-74.

Tischer I, Rasch R, Tochtermann G. Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 1974; 226: 153-167.

Tischer I, Gelderblom H, Vettermann W, Koch MA. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 1982; 295: 64-66.

Van Alstine WG. Respiratory System. In: *Diseases of Swine*, 10th edn 2012. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW (Hrsg). Chichester, UK, Wiley-Blackwell (John Wiley & Sons, Inc.): 348-362.

van Boven M, Bouma A, Fabri TH, Katsma E, Hartog L, Koch G. Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. *Avian Pathol* 2008; 37: 1-5.

Van Reeth K, Brown IH, Olsen CW. Influenza Virus. In: *Diseases of Swine* 2012. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW (Hrsg). Chichester, UK, Wiley-Blackwell (John Wiley & Sons, Inc.): 557-569.

Vincent IE, Balmelli C, Meehan B, Allan G, Summerfield A, McCullough KC. Silencing of natural interferon producing cell activation by porcine circovirus type 2 DNA. *Immunology* 2007; 120: 47-56.

Walhöfer NF. Auswirkungen betriebsspezifischer Faktoren auf den Verlauf von Infektionen mit dem Porcinen Circovirus Typ 2. Diss. med. vet. 2015. Ludwig-Maximilians-Universität München.

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: 400-405.

Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, de Jong MF, Boersma WJA, Elbers ARW. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. *Vet Microbiol* 2004; 99: 203-214.

Wellenberg GJ, Bouwkamp FT, van der Wolf PJ, Swart WAJM, Mombarg MJ, de Gee ALW. A study on the severity and relevance of porcine circovirus type 2 infections in Dutch fattening pigs with respiratory diseases. *Vet Microbiol* 2010; 142: 217-224.

Welti S, Sydler T, Wiederkehr DD, Pospischil A, Hässig M, Bürgi 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: 417-427.

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: 530-532.

Whittlestone P. Mycoplasma in Enzootic Pneumonia of pigs. *Ann N Y Acad Sci* 1967; 143: 271-280.

Woeste K, grosse Beilage E. Die Übertragung von Erregern des porcine respiratory disease complex (PRDC) zwischen Schweineherden: eine Literaturübersicht 2. Mitteilung-Übertragung durch Sperma, Luft und belebte/unbelebte Vektoren. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 2007; 114: 364-373.

Zhu X, Bai J, Liu P, Wang X, Jiang P. Suppressor of cytokine signaling 3 plays an important role in porcine circovirus type 2 subclinical infection by downregulating proinflammatory responses. *Sci Rep* 2016; 6: 325-338.

VIII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Professor Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung dieses interessanten und aktuellen Themas sowie die Möglichkeit, meine Doktorarbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München verfassen zu dürfen, ganz herzlich bedanken. Vielen Dank für deine hilfsbereite, motivierende Betreuung mit deiner stets freundlichen Art in den vergangenen Jahren. Danke für das Vertrauen und die diversen Schulterklopfer.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. Matthias Eddicks, nicht nur für die wertvollen Hinweise durch kritisches Hinterfragen - auch die moralische Unterstützung und kontinuierliche Motivation haben einen großen Teil zur Vollendung dieser Arbeit beigetragen. Ich weiß deine Geduld und deine sowohl fachlichen als auch persönlichen Ratschläge sehr zu schätzen.

Herrn Dr. Robert Fux und seinem Team danke ich für die Unterstützung in der Ausführung der labordiagnostischen Tätigkeiten.

Mein herzlicher Dank geht an das tolle Team der Klinik für Schweine für die Mithilfe bei der Durchführung und die freundliche Unterstützung bei der finalen Fertigstellung der Arbeit.

Ferner möchte ich allen teilnehmenden Landwirten und bestandsbetreuenden Tierärzten für das entgegengebrachte Vertrauen danken, ohne sie wäre die Durchführung dieser Untersuchung nicht möglich gewesen.

Meinen wunderbaren Freunden danke ich für ihre bedingungslose Unterstützung, ihren Humor, aber auch ihre Geduld und Ausdauer während meiner körperlichen und geistigen Abwesenheit vor allem in der Endphase. Danke für eure Freundschaft!

Ein ganz besonderes Dankeschön möchte ich meiner Familie für ihr in mich gesetztes Vertrauen sowie für ihre moralische Unterstützung während der Fertigstellung der Dissertation aussprechen.