

Querschnittsuntersuchung über das Vorkommen
von Porzinem Circovirus Typ 2 (PCV2) in
erdrückten Saugferkeln aus deutschen
Schweinebeständen

von Roland Maurer

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

Querschnittsuntersuchung über das Vorkommen von
Porzinem Circovirus Typ 2 (PCV2) in erdrückten
Saugferkeln aus deutschen Schweinebeständen

von Roland Maurer

aus Wels

München 2020

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 der 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: Univ.-Prof. Dr. Michael H. Erhard

Tag der Promotion: 8. Februar 2020

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Morphologie, spezifische Eigenschaften und Genotypen des Porzinen Circovirus Typ 2	3
1.1.	Morphologie und spezifische Eigenschaften	3
1.2.	Genotypen	3
2.	Porcine circovirus diseases (PCVD)	4
2.1.	PCV2-subclinical infection (PCV2-SI)	5
2.2.	PCV2-systemic disease (PCV2-SD)	5
2.3.	PCV2-lung disease (PCV2-LD)	7
2.4.	PCV2-enteric disease (PCV2-ED)	7
2.5.	PCV2-reproductive disease (PCV2-RD)	8
2.6.	Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)	8
3.	PCV2-Diagnostik	10
3.1.	Nachweis von PCV2-Antikörpern	10
3.1.1.	Antikörpernachweis mittels ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	11
3.1.2.	Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenztest (IIFT) oder indirektem Immunperoxidasetest (IIPT)	12
3.2.	Methoden zum Nachweis von PCV2-Genom und PCV2-Antigen ..	13
3.2.1.	Nachweis von PCV2-Nukleinsäuren mittels PCR (Polymerase Chain-Reaction)	13
3.2.2.	Nachweis von PCV2-Genom mittels In-Situ Hybridisierung (ISH) ..	14
3.2.3.	Nachweis von PCV2-Antigen mittels Immunhistochemie (IHC) ...	14
3.2.4.	Nachweis von PCV2 durch Virusisolation	15
3.2.5.	Nachweis von PCV2 mittels Elektronenmikroskop	15
4.	Nachweis von PCV2 aus unterschiedlichen Organen mit Hilfe unterschiedlicher Methoden.....	15
5.	PCV2-Serologie	18
5.1.	Serologie und Antikörpertiter-Verläufe in Ferkeln und Mastschweinen	18

5.2.	Serologie und Antikörpertiter-Verläufe in Sauen	19
6.	PCV2-Virämie	20
7.	Ausscheidung von PCV2	21
7.1.	PCV2-Ausscheidung über respiratorische und orale Sekrete sowie Kot und Urin	21
7.2.	PCV2-Ausscheidung im Ejakulat	22
7.3.	PCV2-Ausscheidung über Kolostrum und Milch	22
7.4.	Einflussfaktoren auf die PCV2-Ausscheidung	23
7.5.	Mögliche PCV2-Infektion durch PCV2-Ausscheidungen	23
7.6.	Diagnostische Bedeutung von Kaustrick-Sammelspeichelproben	24
8.	Übertragung von PCV2	25
8.1.	Horizontale Übertragung	25
8.2.	Vertikale Übertragung	26
9.	Bekämpfungsstrategien	28
9.1.	Immunprophylaxe	28
9.1.1.	Impfung der Ferkel	28
9.1.2.	Impfung der Muttersauen	29
9.2.	Management	30
III.	MATERIAL UND METHODEN	33
1.	Anzeige des Tierversuchsvorhabens	33
2.	Ziel der Arbeit	34
3.	Auswahl der Studienbestände	34
3.1.	Einschlusskriterien	35
3.2.	Lungenscoring am Schlachthof	35
4.	Auswahl der Studientiere	36
5.	Bestandsbesuch und Probenentnahme	38
5.1.	Lebend geborene erdrückte Saugferkel	38
5.2.	Speichelprobenentnahme bei den Sauen	39
5.3.	Blutprobenentnahme bei den Sauen	39
5.4.	Sammelspeichelproben bei Absetzferkeln und Mastschweinen (6./12./16./20. Lebenswoche)	39

6.	Verarbeitung und Lagerung der Proben.....	40
6.1.	Lebend geborene erdrückte Saugferkel	40
6.2.	Speichelproben der Sauen und Sammelspeichelproben der Absetzferkel und Mastschweine	41
6.3.	Blutproben der Sauen.....	41
7.	Labordiagnostische Untersuchungen	42
7.1.	Molekularbiologische Untersuchungen	42
7.1.1.	Extraktion viraler DNA aus Organproben	42
7.1.2.	Extraktion viraler DNA aus Speichelproben	42
7.1.3.	PCR	43
7.2.	Untersuchung auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper.....	43
8.	Statistische Auswertung	44
IV.	ERGEBNISSE	45
1.	Darstellung der Studienpopulation	45
1.1.	Geschlecht, Paritäten der Muttersauen und Alter der untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel	45
1.2.	Beprobte Muttersauen im Abferkelstall, Absetzferkel und Mastschweine	46
2.	Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen auf PCV2 spezifische Genomfragmente und PCV2 spezifische IgG- Antikörper.....	48
3.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	49
3.1.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	49
3.1.1	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Bestandesebene.....	49
3.1.2.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Wurf- und Einzeltierebene in Abhängigkeit vom Lebensalter der Ferkel.....	50
3.2.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in	

	Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	53
3.2.1.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Bestandsebene.....	53
3.2.2.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Einzeltierebene in Abhängigkeit vom Lebensalter der Ferkel	55
4.	Assoziation verschiedener unabhängiger Faktoren mit dem Nachweis PCV2 spezifischer Genomfragmente in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	56
4.1.	Geschlecht	56
4.2.	Parität der Muttersau.....	58
4.3.	Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2.....	61
4.4.	Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichelproben der Sauen im Bestand	64
4.5.	PCV2-Infektionsstatus der Sauen im Bestand	67
4.6.	Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben.....	70
V.	DISKUSSION	73
1.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	73
1.1.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	73
1.2.	Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	77
2.	Assoziation verschiedener unabhängiger Faktoren mit dem Nachweis PCV2 spezifischer Genomfragmente in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln	82
2.1.	Geschlecht	82
2.2.	Parität der Muttersau.....	84

2.3.	Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2.....	87
2.4.	Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichelproben der Sauen im Bestand.....	91
2.5.	PCV2-Infektionsstatus der Sauen im Bestand	95
2.6.	Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick- Sammelspeichelproben.....	97
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	101
VII.	SUMMARY	105
VIII.	TABELLENVERZEICHNIS	109
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	113
X.	LITERATURVERZEICHNIS	115
XI.	DANKSAGUNG.....	135

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µl	Mikroliter
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FISH	Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IHC	Immunhistochemie
IIFT	indirekter Immunfluoreszenztest
IIPT	indirekter Immunperoxidasetest
Ing. Ln.	Inguinal Lymphknoten
ISH	In-Situ Hybridisierung
kb	Kilo-Basenpaare
Max	Maximalwert
Min	Minimalwert
n.d.	no detection
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OD	optical density
ORF	open reading frame
PCR	Polymerase-Chain-Reaction
PCV1	Porzines Circovirus Typ 1
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
PCVD	porcine circovirus diseases
PDNS	porcine dermatitis and nephropathy syndrome
PK-15	porcine kidney 15
PMWS	postweaning multisystemic wasting syndrome
PPV	porzines Parvovirus
PRDC	porcine respiratory disease complex
PRRSV	porcine reproductive and respiratory syndrome virus
S/P-ratio	sample to positive ratio
StabW	Standardabweichung
U/min	Umdrehungen pro Minute
VI	Virusisolation

I. EINLEITUNG

Das Porzine Circovirus Typ 2 ist weltweit ubiquitär in der Schweinepopulation verbreitet (SEGALES et al., 2005; OPRIESSNIG et al., 2007; ROSE et al., 2012) und stellt als Verursacher erheblicher wirtschaftlicher Einbußen, eines der bedeutendsten Pathogene in der Hausschweinehaltung dar (SEGALÉS et al., 2013).

Seit den ersten Berichten über klinische Erkrankungsbilder im Zusammenhang mit PCV2 in den 1990er-Jahren beschäftigten sich zahlreiche Untersuchungen mit der Übertragung von PCV2 und der möglichen Bedeutung früher Infektionen für die Verbreitung dieses Erregers. In Arbeiten aus den USA wird eine hohe Prävalenz PCV2-virämisch geborener Saugferkel nachgewiesen (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Des Weiteren wird das Virus auch regelmäßig in Feten oder älteren Ferkeln detektiert (KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016). PARK et al. (2005) infizieren trächtige Sauen mit PCV2 und weisen eine darauffolgende transplazentare intrauterine Infektion der Ferkel nach. Außerdem ist PCV2 in zahlreichen Ausscheidungen von Muttersauen und in der Haltungsumgebung von neugeborenen Saugferkeln zu finden (GERBER et al., 2011; DVORAK et al., 2013), wodurch überdies die Möglichkeit einer frühen postpartalen Infektion der Nachkommen mit PCV2 besteht.

Obwohl in einer vorausgegangenen Untersuchung PCV2-Virämien überwiegend bei Sauen in der Frühträchtigkeit gefunden wurden (EDDICKS et al., 2019), die damit einhergehende intrauterine Infektionen vermuten lassen, werden in europäischen Untersuchungen, im Gegensatz zu Studien aus den USA keine zum Geburtszeitpunkt virämischen Saugferkel detektiert (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). Die ubiquitäre Verbreitung des Virus in der weltweiten Hausschweinepopulation sowie das Vorkommen von PCV2-Virämie während der Trächtigkeit weisen dennoch darauf hin, dass eine mögliche intrauterine Infektion einen relevanten Pfad der Erregerübertragung darstellen könnte.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten folgende Hypothesen überprüft werden:

In der vorliegenden Untersuchung werden Organproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht. Beruhend auf zahlreichen Berichten über die intrauterine Übertragung von PCV2 und den hohen PCV2-Infektionsdruck in der Umgebung der Saugferkel, wird angenommen, dass PCV2-Genom in einem Großteil der hier untersuchten erdrückten Saugferkel gefunden werden kann. Des Weiteren werden Kaustrick-Sammelspeichelproben von Schweinen desselben Bestandes auf den Gehalt von PCV2-Genom untersucht. Es wird erwartet, dass das Vorkommen früher PCV2-Infektionen bei Saugferkeln die Nachweishäufigkeit von PCV2 in Kaustrick-Sammelspeichelproben in nachgelagerten Produktionsstufen positiv beeinflusst.

Die Untersuchung von erdrückten Saugferkeln, anstatt eigens zum Zwecke der Diagnostik euthanasierter Ferkel, entspricht dem Grundsatz einer anzustrebenden Reduktion von Versuchstierzahlen in Tierversuchen im Sinne der 3R (Reduction, Refinement, Replacement) und bewahrt diese Arbeit vor dem Zwiespalt zwischen ethisch-moralischen bzw. finanziellen Erwägungen und der Klärung wissenschaftlicher Fragestellungen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Morphologie, spezifische Eigenschaften und Genotypen des Porzinen Circovirus Typ 2

1.1. Morphologie und spezifische Eigenschaften

Das Porzine Circovirus ist ein kleines, unbehülltes Virus mit zirkulär geschlossenem, einzelsträngigen DNA-Genom (TISCHER et al., 1982). Das Kapsid von PCV2 ist unbehüllt, ikosahedral geformt, besteht aus 60 identischen Kapsidproteinen und umgibt mit einem Durchmesser von 20,5nm das kovalent geschlossene zirkuläre DNA-Genom bestehend aus 1,76kb (CROWTHER et al., 2003). Das Genom von PCV2 besitzt 11 Open-Reading-Frames (ORFs) (HAMEL et al., 1998), allerdings ist eine Proteinsynthese bisher nur bei 3 dieser ORFs beschrieben (SEGALÉS et al., 2012). Die Kapsidproteine werden vom Open-Reading-Frame 2 (ORF2) des PCV2-Genoms kodiert (NAWAGITGUL et al., 2000). Der Open-Reading-Frame 1 (ORF1) kodiert Replikationsproteine (MANKERTZ et al., 1998; CHEUNG, 2003) und der Open-Reading-Frame 3 (ORF3) ein Protein, das in der viralen Pathogenese involviert ist (LIU et al., 2006).

1.2. Genotypen

Das Porzine Circovirus wird erstmals von TISCHER et al. (1974) in porzinen PK-15 Nierenzelllinien nachgewiesen und als Picornavirus-ähnliches Virus beschrieben. Nachfolgende Studien zeigen, dass die experimentelle Infektion von Schweinen mit diesem Virus weder zu einer klinischen Erkrankung der Tiere, noch zu pathologischen Veränderungen führt (TISCHER et al., 1986; ALLAN et al., 1995).

In den 1990er Jahren finden ALLAN et al. (1998) ein neues Porzines Circovirus in Schweinen die Kümmern zeigen, welches sich vom bereits bekannten Porzinen Circovirus unterscheidet (ALLAN et al., 1999). Um die beiden Viren zu unterscheiden, wird das neu entdeckte pathogene Porzine Circovirus als PCV2 und das zuerst beschriebene nicht pathogene Virus als PCV1 bezeichnet (MEEHAN et al., 1998).

Im Zusammenhang mit einem deutlichen Anstieg der Mortalität bei PCV2-SD Erkrankungen in der kanadischen Schweinepopulation und einer steigenden Zahl von Erkrankungsfällen in den Jahren 2004 und 2005, können GAGNON et al. (2007) einen neuen Genotyp von PCV2 finden und vermuten eine höhere Virulenz dieses Genotyps. Die Autoren bezeichnen den neuen Genotyp als PCV2b und berichten vom häufigeren Auftreten dieses Genotyps gegenüber dem ursprünglichen Genotyp PCV2a in Probenmaterial aus ganz Kanada aus den Jahren 2005 und 2006 (GAGNON et al., 2007). Auch in China wird ein Shift von PCV2a zu PCV2b als dominierender Genotyp in klinischen Fällen von PCV2-SD beschrieben (GUO et al., 2010).

In einer retrospektiven Untersuchung von Lungengewebe und Serumproben aus den Jahren 1980-1996 aus Dänemark (DUPONT et al., 2008) wird ein dritter Genotyp von PCV2 gefunden und als PCV2c bezeichnet (SEGALES et al., 2008). Während PCV2a und PCV2b weltweit vorkommen (SEGALES et al., 2008), kann PCV2c nur in diesen archivierten dänischen Proben nachgewiesen werden (DUPONT et al., 2008).

Ein weiterer neuer Genotyp wird 2010 von GAGNON et al. (2010) beschrieben welche vorschlagen, diesen Genotyp als PCV1/2a zu bezeichnen (GAGNON et al., 2010).

GUO et al. (2010) untersuchen Gewebeproben und Blutserum von an PCV2-SD erkrankten Tieren aus China, und können neben den bereits bekannten Genotypen PCV2a und PCV2b einen weiteren neuen Genotyp identifizieren, welchen sie als PCV2d bezeichnen. XIAO et al. (2015) vermuten abermals eine Verschiebung des dominierenden Genotyps in der Schweinepopulation von PCV2b zu PCV2d.

2. Porcine circovirus diseases (PCVD)

Die mit PCV2 in Zusammenhang stehenden Krankheitsbilder werden in der bestehenden internationalen Literatur mit verschiedenen Namen bezeichnet (SEGALÉS, 2012). SEGALÉS (2012) schlägt die Verwendung

einer einheitlichen Nomenklatur vor und bezeichnet die mit PCV2 assoziierten Krankheitsbilder zusammenfassend als porcine circovirus diseases (PCVD). In der vorliegenden Arbeit wird diese Nomenklatur verwendet. Eine Infektion mit dem Porzinem Circovirus Typ 2 kann verschiedene Verläufe zeigen und zu diversen Krankheitsbildern führen (SEGALÉS, 2012).

2.1. PCV2-subclinical infection (PCV2-SI)

PCV2 kommt ubiquitär vor und die meisten PCV2-Infektionen sind subklinisch (SEGALÉS et al., 2012). Obwohl subklinisch infizierte Schweine keine Symptome einer PCVD zeigen, scheint die Infektion dennoch einen negativen Einfluss auf die biologische Funktionsweise der Tiere zu haben, was sich in einer nicht optimalen Entwicklung der Produktionsparameter zeigt (YOUNG et al., 2011). Diese Produktionsparameter wie etwa die durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahmen, Schlachtkörpergewicht und Magerfleischanteil können in einem Bestand mit bestehender subklinischer PCV2-Infektion durch eine PCV2-Impfung von 3 Wochen alten Ferkeln positiv beeinflusst werden (YOUNG et al., 2011).

2.2. PCV2-systemic disease (PCV2-SD)

Die PCV2-systemic disease oder auch postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (SEGALÉS, 2012) betrifft zumeist Tiere zwischen 2 und 4 Lebensmonaten (SEGALÉS et al., 2012) und zeigt sich klinisch in Form von Kümern, Blässe, Atemnot sowie gelegentlich Diarrhoe und Ikterus (HARDING & CLARK, 1997). Vergrößerte Unterhautlymphknoten können in der frühen klinischen Phase häufig gefunden werden (SEGALÉS et al., 2012). Die Morbidität in betroffenen Beständen liegt zwischen 4-30%, während sich die Mortalität etwa zwischen 4-20% beläuft (SEGALÉS & DOMINGO, 2002). Die Morbidität und die Mortalität dieser Erkrankung können abhängig vom Management in den betroffenen Betrieben variieren und sind in endemisch infizierten Herden geringer als bei einem akuten Ausbruch (ALLAN & ELLIS, 2000; MADEC et al., 2000). Jedoch kommt es nicht nur durch direkte Tierverluste, sondern auch durch die geringeren täglichen Gewichtszunahmen, sowie

die höhere Anfälligkeit gegenüber anderen Infektionserregern von infizierten Tieren zu einem großen finanziellen Schaden in von PCVD betroffenen Betrieben (ALARCON et al., 2013). Zugluft, Überbelegung, schlechte Luftqualität sowie das Vermischen Tiere unterschiedlicher Altersgruppen verschlimmern die Schwere der Erkrankung (HARDING & CLARK, 1997).

PALLARÉS et al. (2002) können in vielen Fällen von PCV2-SD zusätzlich zu einer PCV2-Infektion andere virale oder bakterielle Infektionen finden. Auch experimentelle Studien, die sich die Reproduktion der PCV2-SD zum Ziel gesetzt haben, zeigen, dass eine alleinige Infektion mit PCV2 dieses Krankheitsbild nur gelegentlich und nur bei einem Teil der experimentell infizierten Tiere auslösen kann (BOLIN et al., 2001; OKUDA et al., 2003). Eine zusätzliche Inokulation der Versuchstiere beispielsweise mit porzinem Parvovirus (PPV), dem porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) oder mit *Mycoplasma hyopneumoniae* kann die Erkrankung häufiger induzieren (KRAKOWKA et al., 2000; ROVIRA et al., 2002; OPRIESSNIG et al., 2004a). Auch die zusätzliche Verabreichung von immunsuppressiven Stoffen kann nach experimenteller Infektion mit PCV2 das Erkrankungsbild auslösen (KLAUSMANN et al., 2015). Aus diesem Grund wird PCV2 zwar als notwendiger, aber alleine oft nicht ausreichender Faktor für die Entstehung der klinischen PCV2-SD betrachtet (OPRIESSNIG et al., 2007; TOMÁS et al., 2008).

Die pathomorphologische Untersuchung betroffener Tiere ist essentiell zur Diagnose von PCV2-SD auf Herdenebene (HARDING & CLARK, 1997). In der Sektion lassen sich bei betroffenen Tieren häufig vergrößerte Lymphknoten, sowie nicht kollabierte, gräulich marmorierte Lungen finden (HARDING & CLARK, 1997). Die Nieren können entweder diffus verstreute weiße Herde auf der Nierenrinde und Ödeme des Nierenbeckens aufweisen, oder sie sind derb vergrößert und ödematös mit wachsartiger Erscheinung (HARDING & CLARK, 1997). Gelegentlich werden auch Magenulcera sowie Magenwandödeme beschrieben (HARDING & CLARK, 1997).

Histologische Veränderungen sind gekennzeichnet durch eine

Lymphozytendepletion im lymphatischen Gewebe, sowie lymphohistiozytäre bis granulomatöse Entzündungen im lymphatischen Gewebe und/oder in Lunge, Leber, Niere, Herz und Darm (OPRIESSNIG et al., 2007). SEGALÉS (2012) gibt 3 Kriterien für die Diagnose einer PCV2-SD an: 1.) das Vorhandensein von klinischen Symptomen bei den betroffenen Tieren; 2.) moderate bis hochgradige Lymphozytendepletion mit granulomatöser Entzündung in lymphatischen Geweben, sowie granulomatöse Entzündung in anderen Geweben; 3.) moderate bis hohe Menge an PCV2-Genom oder PCV2-Antigen in den betroffenen Geweben.

2.3. PCV2-lung disease (PCV2-LD)

Eine Infektion mit PCV2 kann sich klinisch auch ausschließlich in Form von respiratorischen Symptomen wie etwa Atemnot zeigen (SEGALÉS, 2012). Der Unterschied zur PCV2-SD besteht darin, dass bei der PCV2-LD ausschließlich respiratorische Symptome auftreten und, dass das lymphatische Gewebe in der histologischen Untersuchung keine Läsionen aufweist (SEGALÉS, 2012). Die histologischen Läsionen beschränken sich ausschließlich auf den Respirationstrakt und zeigen sich in Form von lymphohistiozytärer bis granulomatöser interstitieller oder broncho-interstitieller Pneumonie, peribronchiolärer Fibroplasie, milder bis hochgradiger nekrotisierender und ulzerativer Bronchiolitis oder proliferativer nekrotisierender Pneumonie, wobei hier moderate bis hohe Mengen von PCV2 in der Lunge zu finden sind (OPRIESSNIG et al., 2007; SEGALÉS, 2012).

2.4. PCV2-enteric disease (PCV2-ED)

Obwohl Diarrhoe auch Teil des Krankheitsbildes der PCV2-SD sein kann (OPRIESSNIG et al., 2007), berichten KIM et al. (2004b) von PCV2 assoziierten Durchfallerkrankungen, auf die die diagnostischen Kriterien der PCV2-SD nicht zutreffen und sprechen von PCV2 assoziierter Enteritis. Die klinische Symptomatik in diesen Fällen beschränkt sich ausschließlich auf Durchfall und das lymphatische Gewebe zeigt, mit Ausnahme der Peyer'schen Platten im Ileum, keine mikroskopischen Läsionen, was dieses Krankheitsbild von der PCV2-SD unterscheidet (KIM et al., 2004b). Bei der histologischen Untersuchung des Darms der

betroffenen Tiere kann eine granulomatöse Entzündung der Peyer'schen Platten festgestellt werden, wobei auch PCV2 in großen Mengen in diesen Läsionen nachgewiesen wird (KIM et al., 2004b). SEGALÉS (2012) bezeichnet dieses Krankheitsbild als PCV2-ED.

2.5. PCV2-reproductive disease (PCV2-RD)

Zahlreiche Autoren beschreiben das Vorkommen von PCV2 assoziierten Reproduktionsstörungen (WEST et al., 1999; LADEKJAER-MIKKELSEN et al., 2001; O'CONNOR et al., 2001; BRUNBORG et al., 2007). Das relativ seltene Auftreten dieser Reproduktionsstörungen in Sauenherden kann vermutlich mit der hohen Seroprävalenz von PCV2 in adulten Schweinen erklärt werden (SEGALÉS, 2012). Vor allem betroffen sind neu aufgebaute Sauenherden mit einem hohen Anteil an Jungsauen oder serologisch PCV2 negative Bestände (OPRIESSNIG et al., 2007; TOGASHI et al., 2011). Die Klinik zeigt sich in Form von höheren Abortraten, mehr Totgeburten, einem vermehrten Auftreten von Mumien, sowie einer erhöhten Saugferkelsterblichkeit (OPRIESSNIG et al., 2007).

Neben diesen vor allem die Spätträchtigkeit und frühe postpartale Phase betreffenden Störungen, zeigt eine andere Arbeit, dass sich PCV2 in Embryonen replizieren kann, was möglicherweise zum embryonalen Fröhrtod und so in weiterer Folge zum Verlust der Trächtigkeit und zum Umrauschen der Sauen führen kann (MATEUSEN et al., 2007).

Makroskopisch können bei betroffenen Ferkeln Ödeme, eine gestaute vergrößerte Leber, kardiale Hypertrophie sowie Aszites, Hydrothorax und Hydroperikard gefunden werden (SEGALÉS, 2012). Histologisch stellt man bei der Untersuchung des Herzens eine nichteitrig bis nekrotisierende oder fibrosierende Herzmuskelentzündung fest (SEGALÉS, 2012). Die Leber zeigt Anzeichen einer chronischen passiven Stauung und in der Lunge kann eine milde Pneumonie gefunden werden (SEGALÉS, 2012). PCV2-Antigen kann man dabei in hohen Mengen im Myokard, der Leber und der Milz feststellen (BRUNBORG et al., 2007).

2.6. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)

Das porcine dermatitis and nephropathy syndrome ist eine die Blutgefäße betreffende Erkrankung, welche bei Absetzferkeln, Mastschweinen und

Zuchttieren vorkommt (DROLET et al., 1999) und deren Prävalenz in betroffenen Herden unter 1% liegt (SEGALES et al., 1998; THIBAUT et al., 1998). Als eine mögliche infektiöse Komponente dieser Erkrankung wird PCV2 vermutet (WELLENBERG et al., 2004), aber auch PRRSV wird in Betracht gezogen (THIBAUT et al., 1998). Die genaue Pathogenese und Ätiologie von PDNS sind noch weitgehend unbekannt (DROLET et al., 1999) wobei aber die Vermutung nahe liegt, dass die Schädigung der Blutgefäße Immunkomplex vermittelt ist (DROLET et al., 1999). Die Mortalität der Erkrankung kann bei Schweinen die älter als 3 Monate sind bis zu 100% betragen, bei jüngeren Tieren liegt sie bei etwa 50% (SEGALÉS, 2012). Schwer betroffene Tiere sterben innerhalb weniger Tage nach Beginn der klinischen Anzeichen (SEGALÉS, 2012). Die Prognose hängt vermutlich vom Ausmaß und der Schwere der Gefäßläsionen in den inneren Organen, vor allem den Nieren, ab (DROLET et al., 1999).

Die offensichtlichsten klinischen Symptome dieser Erkrankung, vor allem in der akuten Phase, sind Hautläsionen in Form von runden bis unregelmäßigen, roten bis violetten Flecken oder Papeln, die gelegentlich konfluieren und große, unregelmäßige Beläge bilden können (THIBAUT et al., 1998). Mit fortlaufender Erkrankungsdauer bilden sich braune Krusten auf den Läsionen, die bei überlebenden Tieren abheilen und vernarben können (THIBAUT et al., 1998). Typischerweise betreffen diese Läsionen vor allem die Bereiche des Perineums und der unteren Hintergliedmaßen (THIBAUT et al., 1998), schließen aber gelegentlich auch Teile des Abdomens, des Thorax oder der Ohren mit ein und können in seltenen Fällen auch multifokal auf dem gesamten Körper vorkommen (DROLET et al., 1999). Während weniger schwer betroffene Tiere bis auf die Hautläsionen ein ungestörtes Allgemeinbefinden zeigen können und sich zum Teil auch ohne Therapie wieder erholen, kann bei schwerer betroffenen Tieren eine Vielzahl von zusätzlichen Symptomen wie etwa Anorexie, Depression, Fieber, einen steifen Gang, Gewichtsverlust, Dyspnoe oder Tachypnoe sowie subkutane Ödeme beobachtet werden (DROLET et al., 1999).

Bei der Sektion sind neben den augenscheinlichen Hautveränderungen

häufig vergrößerte Inguinal Lymphknoten und gelegentlich Milzinfarkte sowie beidseits vergrößerte Nieren mit kleinen punktförmigen Blutungen in der Nierenrinde und einem Ödem im Nierenbecken festzustellen (SEGALÉS, 2012).

Die Hautläsionen stellen sich unter dem Mikroskop als ausgeprägte diffuse Hautblutungen in Verbindung mit einer hochgradigen nekrotisierenden, leukozytoklastischen Vaskulitis, die vor allem die kleinen postkapillären Venolen der oberen Dermis betrifft, dar (THIBAULT et al., 1998). Häufig beinhalten diese Gefäße Thromben und es kann zu einer fokalen ischämischen Koagulationsnekrose der darüber liegenden Dermis kommen (THIBAULT et al., 1998). Die mikroskopische Untersuchung der veränderten Nieren akut betroffener Schweine ergibt eine fibrino-nekrotisierende Glomerulitis in Verbindung mit einer nichteitrigen interstitiellen Nephritis, während bei Tieren, die sich von der akuten Phase erholt haben, eine chronische fibröse interstitielle Nephritis mit Glomerulosklerose gefunden werden kann (SEGALÉS, 2012). Die lymphatischen Gewebe erkrankter Tiere weisen meist keine oder nur eine milde bis moderate Lymphozytendepletion mit milder granulomatöser Entzündung auf und bei der Untersuchung mittels In-situ-Hybridisierung (ISH) beziehungsweise Immunhistochemie (IHC) lassen sich keine oder nur geringe Mengen von PCV2 in diesen Geweben finden (SEGALÉS, 2012).

3. PCV2-Diagnostik

PCV2 kommt ubiquitär in der globalen Schweinepopulation vor (SEGALÉS et al., 2012) und PCV2 kann sowohl in gesunden, als auch in erkrankten Schweinen gefunden werden (ALLAN & ELLIS, 2000), weshalb der Auswahl und der Interpretation von diagnostischen Tests zur Bestätigung von PCVDs eine große Bedeutung zukommt (OPRIESSNIG et al., 2007).

3.1. Nachweis von PCV2-Antikörpern

Serologische Studien zeigen, dass PCV2-Antikörper in nahezu allen

getesteten Schweineherden weltweit vorkommen und hier in bis zu 100% der getesteten Tiere innerhalb einer Herde (MAGAR et al., 2000; WALKER et al., 2000; OPRIESSNIG et al., 2004b). Eine Infektion von Schweinen mit PCV2 führt nicht zwangsläufig zu einer klinischen Erkrankung (WALKER et al., 2000) und die Serokonversionsmuster in von PCV2-SD betroffenen und nicht betroffenen Beständen sind relativ ähnlich (LAROCHELLE et al., 2003), weshalb die Verwendung von serologischen Methoden zur Diagnose von PCVD problematisch ist (SEGALÉS et al., 2012).

Da maternale Antikörper allerdings die Wirksamkeit einer PCV2-Vakzine beeinflussen können, kommt der Bestimmung von PCV2-Antikörpern bei der Ermittlung des optimalen Impfzeitpunktes von Ferkeln eine mögliche Rolle zu (FACHINGER et al., 2008).

3.1.1. Antikörpernachweis mittels ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

WALKER et al. (2000) beschreiben den ersten ELISA für die Detektion von Antikörpern gegen PCV2 in Serumproben und berichten von einer hohen Sensitivität dieser Technik. Diese diagnostische Methode macht sich die Antigen-Antikörperbindung zunutze, wobei sie es ermöglicht, durch die photometrische Messung einer Farbreaktion, die durch die enzymatische Markierung von gebundenen Antigen-Antikörperkomplexen entsteht, über die Ermittlung der optischen Dichte bei einer bestimmten Wellenlänge, auf die Höhe der Antikörpertiter zurückzuschließen (WALKER et al., 2000). Verschiedene andere Autoren beschreiben ebenfalls die Verwendung von PCV2-ELISAs (NAWAGITGUL et al., 2002; BLANCHARD et al., 2003; LIU et al., 2004). Es sind sowohl IgG, als auch IgM spezifische PCV2-ELISAs kommerziell erhältlich (Ingezim Circovirus IgM/IgG[®], Eurofins Technologies Ingenasa, Madrid, Spanien), und der Vergleich des Verhältnisses von IgM und IgG kann Aufschluss über den Infektionszeitpunkt mit PCV2 geben (OPRIESSNIG et al., 2007). Tabelle 1 zeigt die Interpretation der möglichen Ergebnisse der IgM- und IgG Bestimmung.

Tabelle 1: Interpretation der Ergebnisse der Bestimmung von IgM und IgG (Gebrauchsanleitung Ingezim Circovirus IgM/IgG®, Eurofins Technologies Ingenasa, Madrid, Spanien)

Nachweis von IgM	Nachweis von IgG	Verhältnis IgM zu IgG	Interpretation
nein	nein	/	kein Kontakt
ja	ja	IgM > IgG	aktive Infektion
ja	ja	IgM < IgG	kürzlich erfolgter PCV2-Kontakt
nein	ja	/	alter PCV2-Kontakt

3.1.2. Antikörpernachweis mittels indirektem Immunfluoreszenztest (IIFT) oder indirektem Immunperoxidasetest (IIPT)

Vor der Entwicklung der ELISA-Technik erfolgte der Nachweis von PCV2-Antikörpern mittels IIFT oder IIPT (WALKER et al., 2000). Dabei werden mit PCV2 infizierte Zellkulturen mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert, und anschließend wird die Bindung der eventuell im Serum vorhandenen Antikörper an das Antigen mittels fluoreszenzmarkierten sekundären Antikörpern sichtbar gemacht (ALLAN et al., 1998). Beim IIFT verwendet man UV-Bestrahlung (ALLAN et al., 1998), beim IIPT eine Farbreaktion (MCNEILLY et al., 1999) zur Sichtbarmachung der Antikörperbindung.

Aufgrund einer geringfügigen Kreuzreaktivität zwischen PCV2 und PCV1 (ALLAN et al., 1998), sind diese Tests in einer einfachen Verdünnung jedoch nicht PCV2 spezifisch und wegen der zeitintensiven Arbeit ungeeignet, um eine große Anzahl an Seren zu untersuchen (WALKER et al., 2000).

3.2. Methoden zum Nachweis von PCV2-Genom und PCV2-Antigen

3.2.1. Nachweis von PCV2-Nukleinsäuren mittels PCR (Polymerase Chain-Reaction)

Die PCR ist ein Verfahren, mit dem DNA kopiert und vervielfältigt werden kann (POWLEDGE, 2004). Dabei wird, in einer sich ständig wiederholenden Abfolge von Arbeitszyklen, ein ganz bestimmter spezifischer Abschnitt der DNA vermehrt, wobei sich die vorhandene Anzahl dieser identischen DNA-Stücke nach jedem Zyklus verdoppelt (VALASEK & REPA, 2005). Die PCR besitzt eine sehr große Sensitivität beim Nachweis von Nukleinsäuren, was es erlaubt auch geringste Mengen von DNA in einer Probe zu detektieren (VALASEK & REPA, 2005). Verschiedene Arbeiten beschreiben PCR-Assays für die Detektion von PCV2 spezifischer Nukleinsäure (HAMEL et al., 2000; SHIBATA et al., 2003; GRIERSON et al., 2004).

GRAU-ROMA et al. (2009) finden mittels PCR eine deutlich größere Menge PCV2-DNA in Tieren mit klinischen PCV2-SD Symptomen, verglichen mit gesunden Tieren der gleichen Herde. Auch OLVERA et al. (2004) und BRUNBORG et al. (2004) zeigen einen Zusammenhang zwischen der im Serum und in Gewebe gefundenen Menge an PCV2-Genom und dem klinischen Bild einer PCV2-Infektion. Mittels Quantifizierung der vorhandenen PCV2 spezifischen Genomsequenzen kann eine Aussage über die klinische Relevanz einer PCV2-Infektion getroffen werden, wobei ein Wert von 10^7 oder mehr PCV2-Genomkopien pro ml Serum mit schwerer PCV2 assoziierter Erkrankung, schweren PCV2 assoziierten mikroskopischen Läsionen und schlechter Prognose korreliert (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004). Basierend auf diesen Ergebnissen schließen OPRIESSNIG et al. (2007), dass eine Unterscheidung zwischen PCV2 positiven und an PCVD erkrankten Schweinen mit Hilfe der Bestimmung der vorhandenen PCV2-Menge durch quantitative PCR erfolgen kann (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Interpretation der Ergebnisse einer quantitativen PCV2-PCR nach (OPRIESSNIG et al., 2007)

Menge PCV2-DNA Kopien in der PCR	Interpretation der PCR	Interpretation bezüglich PCVD
keine	negativ	kein PCVD
<10 ⁶	positiv	kein PCVD
10 ⁶	positiv	PCVD verdächtig
>10 ⁷	positiv	PCVD

3.2.2. Nachweis von PCV2-Genom mittels In-Situ Hybridisierung (ISH)

Mit diesem Nachweisverfahren kann PCV2-Genom in mittels Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten von Organen wie zum Beispiel Lymphknoten, Tonsille, Milz, Leber, Lunge, Pankreas oder Niere detektiert werden (MCNEILLY et al., 1999). Dabei binden spezifische, mit Digoxigenin markierte, einzelsträngige DNA-Oligonukleotidsonden an die komplementären Nukleotidsequenzen des PCV2-Genoms im Gewebe (ROSELL et al., 1999). Nach einigen Waschschritten wird die Bindung der DNA-Sonde mit Hilfe eines enzymmarkierten Anti-Digoxigenin-Antikörpers und einer anschließenden Farbreaktion sichtbar gemacht (ROSELL et al., 1999).

3.2.3. Nachweis von PCV2-Antigen mittels Immunhistochemie (IHC)

Diese Methode nutzt polyklonale Antikörper, beispielweise gewonnen aus Kaninchenserum, um PCV2-Antigen in gefärbten mittels Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten nachzuweisen (MCNEILLY et al., 1999; SORDEN et al., 1999). Geeignete Gewebe sind unter anderem Lymphknoten, Tonsille, Milz, Leber, Lunge, Pankreas oder Niere (MCNEILLY et al., 1999). Mit Hilfe eines gegen den primären Antikörper gerichteten sekundären Antikörpers und einer enzymatischen Reaktion kann die Antikörperbindung an das PCV2-Antigen in den Schnitten sichtbar gemacht und so das Virus im Gewebe lokalisiert werden (MCNEILLY et al., 1999).

Sowohl die IHC, als auch die ISH eignen sich für den Nachweis von PCV2

in Gewebeschnitten (MCNEILLY et al., 1999), und beide Methoden können zur Bestätigung der histopathologischen Diagnose einer PCV2-SD verwendet werden (KIM & CHAE, 2004).

3.2.4. Nachweis von PCV2 durch Virusisolation

Bei der Virusisolation werden Schweinenierenzellen (PK-15 Zellen) mit den zu untersuchenden Probenmaterialien, in der Regel Organhomogenaten, inokuliert und anschließend für mehrere Tage inkubiert (ALLAN et al., 1998). Da PCV2 keinen zytopathischen Effekt in den PK-15 Zellen verursacht erfolgt der Nachweis der Vermehrung dieses Virus in der Zellkultur mittels Elektronenmikroskopie, indirekter Immunfluoreszenz oder In-Situ-Hybridisierung (ISH) (ALLAN et al., 1998). Die Virusisolation in Zellkultur wird nicht routinemäßig durchgeführt, da diese Methode sehr zeitaufwendig (KIM & CHAE, 2004) und außerdem nicht immer erfolgreich ist, da dafür vermehrungsfähiges Virus benötigt wird, was bedingt durch Autolyse in eingesendeten Gewebeproben nicht immer der Fall ist (OPRIESSNIG et al., 2007). Da PCV2 auch in gesunden Tieren gefunden werden kann (BRUNBORG et al., 2004) ist es nicht möglich mit dieser Methode eine PCV2-SD Diagnose zu bestätigen (KIM & CHAE, 2004).

3.2.5. Nachweis von PCV2 mittels Elektronenmikroskop

Mit dieser Methode können Circovirus-ähnliche Strukturen direkt innerhalb einer Zelle dargestellt, sowie deren Form und Größe beurteilt werden (OPRIESSNIG et al., 2007). Auf Grund des hohen Zeitaufwandes, der hohen Kosten dieser Untersuchungsmethode, und der geringen Sensitivität bei zu geringen Virusmengen in der Probe, wird diese nicht routinemäßig durchgeführt (OPRIESSNIG et al., 2007).

4. Nachweis von PCV2 aus unterschiedlichen Organen mit Hilfe unterschiedlicher Methoden

Viele Arbeiten untersuchen das Vorkommen von PCV2 in experimentell und natürlich mit PCV2 infizierten Schweinen verschiedenen Alters und verwenden dazu eine Reihe unterschiedlicher Organe und diverse

Untersuchungsmethoden. Tabelle 3 gibt einen Überblick über einige dieser Arbeiten.

Tabelle 3: Nachweis von PCV2 aus unterschiedlichen Organen mit Hilfe verschiedener Untersuchungsmethoden

Untersuchungsmethode	Alter (PCV2-Status der Tiere)	untersuchte Organe/Gewebe	häufigste PCV2 positive Organe	Quelle
PCR (Polymerase Chain Reaction)	tot geborene Ferkel	inguinale Lymphknoten, mesenteriale Lymphknoten, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Tonsillen, Herz, verschiedene Darmabschnitte	Lunge, Jejunum, inguinale Lymphknoten	(DVORAK et al., 2013)
	lebensschwach geborene Ferkel (bis 3 Tage alt)	wie oben	Milz	(DVORAK et al., 2013)
	6-21 Wochen (experimentell am 20. Lebenstag mit PCV2 infizierte Tiere)	Gehirn, Milz, Lunge, Herz, mesenteriale Lymphknoten, Tonsille, Bronchiallymphknoten, Pankreas, Thymus, Leber, Knochenmark, Ileum, Nieren, Nebennieren	PCV2-DNA in allen untersuchten Organen nachweisbar	(BOLIN et al., 2001)
	6-9 Wochen alt (an PCV2-SD erkrankte Tiere)	Lymphknoten, Milz, Thymus, Tonsille, Leber, Lunge, Nieren, Ileum, Jejunum, und Myokard	PCV2-DNA in allen untersuchten Organen nachweisbar	(BRUNBORG et al., 2004)
	Feten verschiedenen Alters	unbekannt	unbekannt	(SYDLER et al., 2016)
IHC	ca. 12 Wochen	Tonsille, Thymus,	Tonsille, Thymus,	(KLAUSMANN et al.,

(Immunhistochemie)	(experimentell mit 4 Wochen mit PCV2 infiziert)	Lymphknoten, Ileum, Milz, Nieren, Lunge, Herz, Leber, Darmabschnitte	Lymphknoten, Ileum, Milz, Lunge, Leber, Darmabschnitte	2015)
	ca. 200 Tage	Lymphknoten, Tonsille, Milz, Ileum, Thymus	Tonsille, Lymphknoten	(PATTERSON et al., 2011a)
	lebend- und totgeborene Ferkel (nach experimenteller Infektion der Muttersauen mit PCV2)	Lunge, Herz, Inguinal Lymphknoten, Tonsille, Thymus, Milz, Leber, Niere	Lymphknoten, Milz, Tonsille, Thymus	(PARK et al., 2005)
FISH (Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung)	ca. 12 Wochen (experimentell mit 4 Wochen infiziert und nicht infizierte Kontrolltiere)	Tonsille, Thymus, Lymphknoten, Ileum, Milz, Nieren, Lunge, Herz, Leber, Darmabschnitte	Thymus	(KLAUSMANN et al., 2015)
	Feten verschiedenen Alters	Thymus, Milz, mesenteriale Lymphknoten, Ileum, Plazenta, Leber, Herz	Thymus (zu 100% positiv) mesenteriale Lymphknoten, Leber, Milz, Plazenta, Herz	(SYDLER et al., 2016)
ISH (In-Situ-Hybridisierung)	lebend- und totgeborene Ferkel (nach experimenteller Infektion der Muttersauen mit PCV2)	Lunge, Herz, Inguinal Lymphknoten, Tonsille, Thymus, Milz, Leber, Niere	Lymphknoten, Milz, Tonsille, Thymus	(PARK et al., 2005)
VI (Virusisolation)	experimentell intrauterin mit PCV2 infizierte Feten unterschiedlichen Alters	Herz, Lunge, Leber, Milz, Lymphknoten, Gehirn, Nieren	Herz, Leber, Milz, Lymphknoten, Lunge	(SANCHEZ et al., 2001)
	lebend- und totgeborene	Pool aus Lunge,	Pool aus Lunge,	(PARK et al., 2005)

	Ferkel (nach experimenteller Infektion der Muttersauen mit PCV2)	Lymphknoten, Thymus, Milz, Tonsille und Leber	Lymphknoten, Thymus, Milz, Tonsille und Leber	
	Im Alter von 1 bzw. 7 Tagen experimentell mit PCV2 infiziert und zu verschiedenen Zeitpunkten euthanasiert	Herz, Lunge, Thymus, Niere, Leber, Milz, verschiedene Lymphknoten, Tonsille, Pankreas, Gehirn uvm.	Thymus, Lunge, Milz	(ALLAN et al., 1995)

5. PCV2-Serologie

Serologische Studien zeigen, dass PCV2-Antikörper weltweit, in nahezu allen getesteten Schweineherden und hier in bis zu 100% der untersuchten Tiere der Herden, nachweisbar sind (WALKER et al., 2000; OPRIESSNIG et al., 2004b). Obwohl sich PCV2 spezifische Antikörper gegen Kapsidproteine richten, können diese weder eine sterile Immunität gegen PCV2 vermitteln, noch die Infektion permissiver Zellen in Zellkultur verhindern (DVORAK et al., 2013). Auch andere Arbeiten beschreiben das gleichzeitige Vorkommen von PCV2-DNA und PCV2 spezifischen Antikörpern in Schweinen und unterstützen diese Annahme (SHEN et al., 2010; PUVANENDIRAN et al., 2011).

5.1. Serologie und Antikörpertiter-Verläufe in Ferkeln und Mastschweinen

Nach experimenteller PCV2-Infektion 3 Wochen alter, PCV2 naiver Ferkel, erfolgt die Serokonversion 11 bis 21 Tage nach der Infektion (PATTERSON et al., 2011b). Eine ähnliche Dauer wird mit 14 bis 21 Tagen nach experimenteller Infektion auch von ANDRAUD et al. (2008) berichtet. Verschiedene Feldstudien zeigen den Verlauf der PCV2-Antikörpertiter und PCV2-Genomengen im Blutserum von Ferkeln, nach natürlicher PCV2-Infektion. Während maternale PCV2-Antikörpertiter in den Ferkeln von der 1. bis zur 8. Lebenswoche

kontinuierlich sinken, kommt es ab der 8. Lebenswoche zu einem deutlichen Anstieg der detektierbaren PCV2-DNA Mengen im Blutserum, gefolgt von einer Zunahme PCV2 spezifischer IgM-Antikörper etwa ab der 10. Lebenswoche (CARASOVA et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). Ab der 12. Lebenswoche steigen auch die PCV2 spezifischen IgG-Antikörper kontinuierlich an, erreichen maximale Titer in der 16. Lebenswoche und sinken anschließend bis zur 25. Lebenswoche wieder ab (CARASOVA et al., 2007). Basierend auf diesen Titerverläufen vermuten die Autoren eine Infektion der Tiere mit PCV2 um den Zeitpunkt des Absetzens (CARASOVA et al., 2007). GRAU-ROMA et al. (2009) berichten von Unterschieden betreffend der PCV2 spezifischen Antikörpertiter, zwischen an PCV2-SD erkrankten und klinisch gesunden Tieren derselben Herde. Erkrankte Tiere zeigen bereits initial niedrigere Titer maternaler PCV2 spezifischer Antikörper und entwickeln auch später eine deutlich geringere humorale Immunantwort gegen PCV2 als gesunde Artgenossen (GRAU-ROMA et al., 2009). Dies ist auch schon mehrere Wochen vor dem Auftreten erster klinischer Erkrankungssymptome in Form von insgesamt niedrigeren Antikörpertitern detektierbar (GRAU-ROMA et al., 2009). Ähnliche Beobachtungen machen auch OPRIESSNIG et al. (2004a) und ROVIRA et al. (2002).

Möglicherweise spielt das Fehlen, bzw. die gestörte Bildung von neutralisierenden Antikörpern gegen PCV2 bei der Entstehung der PCV2-SD eine entscheidende Rolle (MEERTS et al., 2006). Erkrankte Tiere zeigen nur einen geringen Titeranstieg, der nach wenigen Tagen wieder abnimmt (MEERTS et al., 2006), woraus FORT et al. (2008) schließen, dass neutralisierende Antikörper ein Schlüsselement für den Schutz vor einer PCV2-SD darstellen. Für die Unterschiede in der Entwicklung der humoralen Immunantwort zwischen subklinisch mit PCV2 infizierten und klinisch an PCV2-SD erkrankten Schweinen, vermuten MEERTS et al. (2006) auch teilweise genetische Ursachen.

5.2. Serologie und Antikörpertiter-Verläufe in Sauen

Während Studien aus Amerika von sehr hohen Prävalenzen PCV2 spezifischer IgG-Antikörper in Blutserumproben von Muttersauen

berichten (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2011; DVORAK et al., 2013), scheint das Vorkommen von PCV2 spezifischen Antikörpern in Muttersauen in europäischen Beständen geringer zu sein (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018; EDDICKS et al., 2019). Die Parität hat dabei keinen Einfluss auf die Prävalenz PCV2 spezifischer IgG-Antikörper im Blutserumproben von Sauen, jedoch kann ein deutlicher Unterschied der Seroprävalenz in den verschiedenen Produktionsstufen gefunden werden (EDDICKS et al., 2019). Demnach ist die PCV2-Seroprävalenz in frühträchtigen Sauen deutlich höher, als in hochträchtigen Sauen und in Sauen, die vor kurzem Ferkel geboren haben, was mit einem vermehrten Übergang der PCV2 spezifischen Antikörper vom Blutserum ins Kolostrum zum Zeitpunkt der Geburt begründet werden kann (BOURNE & CURTIS, 1973; DEVILLERS et al., 2004; MARKOWSKA-DANIEL et al., 2010; EDDICKS et al., 2019).

6. PCV2-Virämie

Eine PCV2-Virämie kann bereits 7 Tage nach experimenteller Infektion mit PCV2 festgestellt werden (ROVIRA et al., 2002; ANDRAUD et al., 2008), erreicht ihren Höhepunkt nach 14 Tagen mit einem Wert von durchschnittlich 10^6 Genomkopien pro ml Serum und nimmt danach wieder ab (ANDRAUD et al., 2008). Untersuchungen im Feld zeigen, dass eine PCV2-Virämie schon bei wenige Tage alten Ferkeln vorkommt und, dass die Menge der PCV2-Genomkopien pro ml Serum parallel mit dem Schwinden maternaler PCV2 spezifischer Antikörper zunimmt (GRAU-ROMA et al., 2009). Dabei sind die höchsten Mengen von bis zu 10^8 Genomkopien pro ml Serum zum Zeitpunkt des Auftretens klinischer Erscheinungen einer PCV2-SD in der 11. bis 15. Lebenswoche detektierbar (GRAU-ROMA et al., 2009). Andere Arbeiten berichten vom häufigen Vorkommen von bereits PCV2 virämisch geborenen Saugferkeln, weshalb die Autoren der intrauterinen Übertragung von PCV2 eine wichtige Rolle zuschreiben (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013).

In ihren Untersuchungen können PATTERSON et al. (2011a) zeigen, dass

eine Infektion mit PCV2 zu einer lange andauernden, wenn auch intermittierend detektierbaren Virämie von bis zu 181 Tagen führt. Diese lang andauernde Virämie kann die Übertragung beeinflussen und zur Persistenz dieses Virus in einem Bestand beitragen (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Das gleichzeitige Vorfinden von PCV2-Genom und PCV2 spezifischen Antikörpern in Schweinen (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013) lässt darauf schließen, dass eine PCV2-Infektion auch in Präsenz einer robusten Antikörperantwort bestehen bleibt, weshalb vermutet werden kann, dass diese Infektion persistent und lebenslang ist (DVORAK et al., 2013).

LIU et al. (2000) zeigen, dass die Menge an PCV2-DNA im Blutserum von Tieren die an PCV2-SD erkrankt sind höher ist, als in klinisch gesunden Tieren, woraus die Autoren schließen, dass für das Entstehen der klinischen Symptome eine bestimmte PCV2-Genommenge notwendig sein könnte. Auch BRUNBORG et al. (2004) finden, dass sich der Virus-Load im Blutserum bzw. Blutplasma und in mesenterialen Lymphknoten zwischen an PCV2-SD erkrankten Tieren und gesunden Tieren deutlich unterscheidet. Sie finden in keinem gesunden Tier mehr als 10^6 Genomkopien pro ml Blutserum bzw. 500 ng Gewebe, hingegen in jedem Tier mit PCV2-SD Symptomatik mehr als 10^7 Genomkopien pro ml Blutserum bzw. 500 ng Gewebe (BRUNBORG et al., 2004). Auch OLVERA et al. (2004) beschreiben eine positive Korrelation zwischen der Menge an PCV2-DNA im Blutserum und der Schwere der klinischen Symptome von Schweinen mit PCV2-SD. Auch der Grad der mit PCV2-SD assoziierten mikroskopischen Läsionen in den lymphatischen Geweben nimmt mit steigender PCV2-Virus-Load im Blutserum zu (OLVERA et al., 2004).

7. Ausscheidung von PCV2

7.1. PCV2-Ausscheidung über respiratorische und orale Sekrete sowie Kot und Urin

SEGALÉS et al. (2005) können eine Ausscheidung von PCV2 über respiratorische und orale Sekrete, Urin und Kot zeigen, wobei sie einen

Zusammenhang zwischen höheren detektierbaren Virusmengen in den Probenmaterialien und dem Vorhandensein von stärkeren PCV2-SD-Läsionen in der Sektion finden. Von einem ähnlichen Zusammenhang berichten auch GRAU-ROMA et al. (2009), die in Nasen- und Rektaltupfern von an PCV2-SD erkrankten Tieren signifikant mehr PCV2-Genom finden können, als in Proben von klinisch unauffälligen Tieren. PATTERSON et al. (2011a) stellen fest, dass sich die mittels PCR nachgewiesenen PCV2-Genommengen in Nasentupfern, Maultupfern und Kottupfern nicht wesentlich voneinander unterscheiden, dass die Detektion von PCV2-DNA in diesen Proben die PCV2-DNA Detektion in Blutserumproben widerspiegelt und, dass eine PCV2-Ausscheidung über einen Zeitraum von 181 Tagen möglich ist.

Die Untersuchung der PCV2-Ausscheidung von Muttersauen zum Zeitpunkt des Abferkelns liefert deutlich divergierende Ergebnisse. Während DVORAK et al. (2013) PCV2-Genom in 80% der Speichelproben und in 42% der Kotproben untersuchter Muttersauen finden können, berichten andere von deutlich geringeren Prävalenzen einer PCV2-Ausscheidung über Speichel und Kot, wobei die Ausscheidung bei Jungsaugen deutlich häufiger vorkommt, als bei Altsauen (EDDICKS et al., 2016; EDDICKS et al., 2019).

7.2. PCV2-Ausscheidung im Ejakulat

PCV2 kann auch im Samen von experimentell und natürlich infizierten Ebern gefunden werden (LAROCHELLE et al., 2000; SCHMOLL et al., 2008). Nach intranasaler Inokulation von 4 Ebern mit PCV2, kann PCV2-Genom im Ejakulat von 2 Ebern bereits 5 Tage nach der Infektion nachgewiesen werden und wird anschließend intermittierend im Samen aller 4 infizierten Eber gefunden (LAROCHELLE et al., 2000). In einer anderen Arbeit werden Samenproben von 472 Ebern untersucht, und eine Prävalenz von PCV2-Genom in 18,2% der Proben angegeben, wobei auch Tiere ohne PCV2 spezifische Antikörper im Blutserum PCV2 mit dem Ejakulat ausschieden (SCHMOLL et al., 2008).

7.3. PCV2-Ausscheidung über Kolostrum und Milch

Die Ausscheidung von PCV2 über die Milch von Muttersauen wird

erstmalig von SHIBATA et al. (2006) beschrieben. Andere Studien berichten ebenfalls von einem häufigen Nachweis von PCV2-Genom aus Kolostrumproben gesunder Sauen, auch in Beständen ohne vorberichtlicher PCV2-SD-Problematik (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). GERBER et al. (2011) können PCV2-Genom in Kolostrum- und Milchproben von gegen PCV2 geimpften und nicht geimpften Sauen nachweisen. HA et al. (2009) detektieren eine Ausscheidung von PCV2 über die Milch vom 1. bis zum 27. Tag der Laktation.

7.4. Einflussfaktoren auf die PCV2-Ausscheidung

Eine Studie von FORT et al. (2008) zeigt, dass die fäkale und nasale Ausscheidung von PCV2 durch eine Two-Shot-PCV2-Impfung von Ferkeln im Alter von 4 und 6 Wochen deutlich reduziert wird. Dabei kommt es sowohl zu einer Reduktion der virusausscheidenden Schweine, als auch zu einer Reduktion der ausgeschiedenen Virusmengen (FORT et al., 2008). Auch GERBER et al. (2011) beschreiben, dass sowohl die Häufigkeit der PCV2-Ausscheidung, als auch die ausgeschiedenen Mengen in Kolostrumproben von gegen PCV2 geimpften Sauen deutlich geringer sind, als in Proben nicht gegen PCV2 geimpfter Tiere. Im Gegensatz dazu können DVORAK et al. (2013) keinen Effekt einer PCV2-Impfung von Muttersauen auf deren orale oder kolostrale Virusausscheidung finden. Weder SEGALÉS et al. (2005), noch DVORAK et al. (2013) finden einen Zusammenhang zwischen dem PCV2-Virämiestatus der Tiere und der PCV2-Ausscheidung. So wird in beiden Arbeiten beschrieben, dass auch nicht PCV2 virämische Tiere PCV2 ausscheiden können (SEGALÉS et al., 2005; DVORAK et al., 2013).

7.5. Mögliche PCV2-Infektion durch PCV2-Ausscheidungen

In den meisten Studien die sich mit der Ausscheidung von PCV2 befassen, wird PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen, wobei aber meist keine Aussage über das Potenzial dieser Se- und Exkrete bezüglich der Infektion empfänglicher Tiere gemacht wird (ROSE et al., 2012). Während DVORAK et al. (2013) kein replizierendes Virus in Kolostrumproben finden können, weisen sie die Replikation in Zellkultur von PCV2 aus Sauenspeichelproben nach und bestätigen damit die

potenzielle Infektionsmöglichkeit naiver Tiere durch dieses Sekret. Auch PATTERSON et al. (2011b) zeigen, dass sowohl nasale, als auch orale und fäkale Ausscheidungen von experimentell mit PCV2 infizierten Schweinen geeignet sind, empfängliche Tiere mit PCV2 zu infizieren.

7.6. Diagnostische Bedeutung von Kaustrick-Sammelspeichelproben

Die Möglichkeit der Gewinnung von Sammelspeichelproben mittels Kaustricken gewinnt zunehmend an diagnostischer Bedeutung, als eine kosten- und zeitsparende Methode, die zudem das Tierwohl berücksichtigt (NIELSEN et al., 2018). Die Beprobung von Schweinen mittels Sammelspeichelproben aus Kaustricken stellt eine einfache und effiziente Methode dar und wird durch das natürliche Verhalten der Tiere, neue Objekte in der Bucht zu erkunden und daran zu kauen, positiv beeinflusst (PRICKETT et al., 2008a). Gewonnene Kaustrick-Sammelspeichelproben können sowohl mittels PCR auf das Vorkommen von Genomsequenzen spezifischer Krankheitserreger untersucht werden, als auch für die Untersuchung auf spezifische Antikörper mittels ELISA verwendet werden (KIM, 2010; FINLAISON & COLLINS, 2014). Die Verwendung von Kaustrick-Sammelspeichelproben, im Vergleich zu Blutserumproben im Rahmen des Gesundheitsmonitorings in Schweinebeständen stellt einerseits eine einfache und nicht invasive Untersuchungsmethode dar, repräsentiert die Population besser als Einzelproben und ist außerdem eine kostengünstigere Alternative (KIM, 2010; HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017).

Die regelmäßige Gewinnung von Kaustrick-Sammelspeichelproben zur Überwachung von PCV2-Infektionen in Schweinebeständen wird erstmals von PRICKETT et al. (2008b) beschrieben. Auch andere berichten über die Zweckmäßigkeit der Verwendung von Kaustrick-Sammelspeichelproben für die Herdendiagnostik verschiedener respiratorischer Krankheitserreger und finden unter anderem für PCV2, entsprechend seiner ubiquitären Verbreitung in der Schweinepopulation, hohe Prävalenzen und konstante Nachweishäufigkeiten in untersuchten Schweinebeständen (RAMIREZ et al., 2012; HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017). FINLAISON and COLLINS (2014) berichten, dass die

Untersuchung von Kaustrick-Sammelspeichelproben einer Bucht, verglichen mit Blutserumproben einer Stichprobe von Tieren derselben Bucht, eine höhere Sensitivität für den Nachweis einer PCV2-Infektion aufweist. KIM (2010) und NIELSEN et al. (2018) finden einen früheren Nachweis einer PCV2-Infektion mittels Kaustrick-Sammelspeichelproben, verglichen mit der Untersuchung gepoolter Blutserumproben einer Auswahl von Tieren derselben Bucht und heben den Vorteil dieser Untersuchung, besonders bei einer niedrigen PCV2-Prävalenz hervor (NIELSEN et al., 2018). Während einige Autoren eine positive Korrelation, sowohl zwischen dem Nachweis von PCV2-Genom, als auch von PCV2-Antikörpern in Kaustrick-Sammelspeichelproben und Blutserumproben beschreiben (KIM, 2010; FINLAISON & COLLINS, 2014), berichten andere von einem häufigeren Virusnachweis und von höheren nachgewiesenen Virusmengen in Kaustrick-Sammelspeichelproben, verglichen mit Blutserumproben von Tieren aus derselben Bucht (OLIVER-FERRANDO et al., 2016; NIELSEN et al., 2018).

Trotz zahlreicher Vorteile, stellt die Kaustrick-Sammelspeichelprobe eine Poolprobe von mehreren verschiedenen Tieren innerhalb derselben Bucht dar, weshalb die individuelle Erregerausscheidung und die unterschiedlichen Interaktionen der Tiere mit dem Kaustrick, mit möglichen Einschränkungen der Sensitivität dieser Methode verbunden sein können (HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017).

8. Übertragung von PCV2

8.1. Horizontale Übertragung

BOLIN et al. (2001) können in einer Studie die Übertragung von PCV2 von experimentell mit PCV2 infizierten Schweinen auf PCV2 naive Schweine durch direkten Kontakt nachweisen, und detektieren eine Serokonversion in allen naiven Tieren innerhalb von 3 Wochen nach Beginn des Kontaktes. Auch ALBINA et al. (2001) berichten von der Infektion spezifisch pathogenfreier Ferkel durch direkten Kontakt mit Tieren aus einem Bestand mit PCVD-Symptomatik. Sowohl ANDRAUD et

al. (2008), als auch DUPONT et al. (2009) können die Übertragung von PCV2 zwischen Tieren innerhalb einer Bucht, sowie zwischen Tieren in getrennten Buchten nachweisen. DUPONT et al. (2009) beschreiben auch die Übertragung von PCV2 über nasalen Kontakt zwischen Tiergruppen, was mit einer Untersuchung von PATTERSON et al. (2011b) konform ist, wonach der nasale Übertragungsweg effektiver zu sein scheint, als der ebenfalls beschriebene orale Infektionsweg. Außerdem können diese Autoren die Übertragung von PCV2 auch durch den Gebrauch gemeinsamer Injektionskanülen bestätigen (PATTERSON et al., 2011b).

ANDRAUD et al. (2008) zeigen erstmals, dass die Übertragung von PCV2 auch ohne direkten Tierkontakt zwischen infektiösen und empfänglichen Schweinen möglich ist, wobei die Übertragungsrate zwischen Tieren in komplett voneinander getrennten Buchten deutlich geringer ist, als zwischen Tieren, die in einer gemeinsamen Bucht gehalten werden. Basierend auf ihren Ergebnissen vermuten diese Wissenschaftler, dass eine PCV2-Übertragung zwischen verschiedenen Schweinebeständen, ohne den Zukauf von infektiösen Tieren aus infizierten Herden, sehr limitiert ist (ANDRAUD et al., 2008).

8.2. Vertikale Übertragung

Einige Studien bestätigen den Zusammenhang zwischen PCV2 und reproduktiven Störungen, verursacht durch die Replikation dieses Virus in den Feten während der späten Trächtigkeit, wobei eine Myocarditis in den abortierten, mumifizierten und totgeborenen Ferkeln im Vordergrund steht (WEST et al., 1999; BRUNBORG et al., 2007). Andere Arbeiten weisen in 13,1% bzw. in 27,1% der untersuchten abortierten und totgeborenen Ferkel aller Trächtigkeitsstadien PCV2 nach, was auf eine mögliche Beteiligung von PCV2 an reproduktiven Störungen schließen lässt (KIM et al., 2004a; RITZMANN et al., 2005).

Dass eine vertikale Übertragung von PCV2 durch transplazentale Infektion möglich ist, kann in einer Arbeit von PARK et al. (2005) gezeigt werden, die durch intranasale Infektion von trächtigen Sauen mit PCV2 Aborte und vorzeitiges Abferkeln auslösen können und anhand nachfolgender Untersuchungen der Ferkel deren Infektion mit PCV2 und

die Replikation dieses Virus in den Ferkeln bestätigen können (PARK et al., 2005). MADSON et al. (2009a) berichten, dass das Virus auch im Serum und im Herzmuskel von lebend geborenen Ferkeln zu finden ist, was darauf schließen lässt, dass es trotz einer intrauterinen Infektion zur Geburt von klinisch unauffälligen, mit PCV2 infizierten Ferkeln kommen kann (SHEN et al., 2010). Arbeiten aus Nordamerika finden in präkolostral gewonnenen Blutserumproben neugeborener Ferkel in 39,9% bzw. 63% der untersuchten Proben PCV2-Genom, was die Vermutung bekräftigt, dass die vertikale intrauterine Infektion eine wichtige Möglichkeit der PCV2-Übertragung in klinisch unauffälligen Herden darstellt (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Basierend auf einer PCV2-Virämieprävalenz in 63% der neugeborenen Ferkel, bei gleichzeitigem Nachweis von PCV2 spezifischen Antikörpern in nur 5% der Ferkel, kann für die Mehrheit der Tiere von einem frühen Infektionszeitpunkt während der fetalen Entwicklung, noch vor Erlangung der Immunkompetenz ausgegangen werden (DVORAK et al., 2013). Auch die Arbeit von EDDICKS et al. (2019) spricht für einen frühen Infektionszeitpunkt mit PCV2 während der fetalen Entwicklung, da diese Autoren PCV2-Virämien vermehrt bei frühträchtigen Sauen feststellen können. Weder SHEN et al. (2010), noch DVORAK et al. (2013) finden einen Zusammenhang zwischen dem PCV2-Virämie-Status der Muttersauen und dem PCV2-Virämie-Status der dazugehörigen neugeborenen Saugferkel. Während diese Studien eine hohe Prävalenz von PCV2-Virämien in neugeborenen Ferkeln angeben, liefern Arbeiten aus Europa gegensätzliche Ergebnisse (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). In diesen Studien können in keinem der eingeschlossenen Bestände neugeborene Ferkel mit einer PCV2-Virämie gefunden werden, woraus diese Autoren schließen, dass die Häufigkeit einer diaplazentaren Infektion mit PCV2 in europäischen Beständen als gering einzuschätzen ist (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). Neben der Möglichkeit einer intrauterinen Infektion der Ferkel mit PCV2, bestehen eine Reihe anderer möglicher postpartaler Infektionswege, wie etwa die Übertragung dieses Virus auf die Ferkel während der Geburt, durch die Aufnahme von Kolostrum, durch den Kontakt mit der Muttersau und ihren Ausscheidungen, sowie die

kontaminierte Haltungsumgebung (DVORAK et al., 2013).

9. Bekämpfungsstrategien

9.1. Immunprophylaxe

Nach der weltweiten Beschreibung von PCV2 als bedeutendes Pathogen für Schweine in den 1990er Jahren, konnte mit der Einführung von effektiven Impfstoffen das Auftreten von PCVDs reduziert werden und die flächendeckende Impfung gegen PCV2 konnte das Vorkommen dieses Virus in der US-amerikanischen Schweinepopulation deutlich vermindern (DVORAK et al., 2013; DVORAK et al., 2016). Dennoch ist es aber nicht möglich, diesen Erreger allein durch die Einführung einer Bestandsimpfung bei Sauen und Ferkeln vollkommen eliminieren zu können (FENG et al., 2014).

9.1.1. Impfung der Ferkel

Eine PCV2-Impfung von Ferkeln im Alter von 4 Wochen schützt die Ferkel davor, nach experimenteller Infektion eine Virämie zu entwickeln (FORT et al., 2008). Des Weiteren führt die Impfung zur Bildung neutralisierender Antikörper gegen PCV2 und reduziert sowohl die fäkale und nasale PCV2-Ausscheidung, als auch die PCV2-SD typischen Läsionen im lymphatischen Gewebe deutlich (FORT et al., 2008). In einer Feldstudie in einem Bestand mit PCV2-SD Symptomatik kann gezeigt werden, dass die Ferkelimpfung sowohl die Häufigkeit, als auch die Intensität und die Dauer einer PCV2-Virämie, sowie die Mortalität reduziert und mit höheren täglichen Gewichtszunahmen und einem selteneren Auftreten PCV2-SD assoziierter klinischer Symptome einher geht (KIXMÖLLER et al., 2008). Außerdem kann eine Ferkelimpfung gegen PCV2 auch die Häufigkeit von Co-Infektionen mit PRRSV, *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* und *Pasteurella multocida* reduzieren (FACHINGER et al., 2008; KIXMÖLLER et al., 2008). Eine Verbesserung der Produktionsparameter in Form einer geringeren Mortalitätsrate, sowie höherer täglicher Gewichtszunahmen durch eine Ferkelimpfung gegen PCV2 wird auch in anderen Arbeiten beschrieben (FACHINGER et al., 2008; MARTELLI et al., 2011; FRAILE et al., 2012a).

KIXMÖLLER et al. (2008) zeigen eine gute Wirksamkeit einer PCV2-Impfung von 4 Wochen alten Ferkeln, auch bei hohen Titern maternaler PCV2 spezifischer Antikörper, während FRAILE et al. (2012a) von einer negativen Korrelation zwischen hohen maternalen Antikörpertitern zum Zeitpunkt der PCV2-Impfung von 3 Wochen alten Ferkeln und der Ausbildung der humoralen Immunantwort nach der Impfung berichten. Eine Arbeit, die den Effekt einer PCV2-Impfung in 1 Woche bzw. 3 Wochen alten Saugferkeln, in Anwesenheit hoher Titer maternaler PCV2 spezifischer Antikörper zum Zeitpunkt der Impfung vergleicht, findet eine gute Wirksamkeit dieser Impfung nur bei 3 Wochen alten Tieren (HAAKE et al., 2014). Dieser altersabhängige Unterschied in der Wirksamkeit kann eventuell durch maternale Lymphozyten und Zytokine aus dem Kolostrum, oder erhöhte Cortisol Werte in Neugeborenen Ferkeln erklärt werden, die die Immunantwort auf eine PCV2-Impfung in jüngeren Tieren negativ beeinflussen können (HAAKE et al., 2014).

Neben der humoralen Immunantwort scheint aber auch die zelluläre Immunantwort einen entscheidenden Beitrag zur Effektivität einer PCV2-Impfung zu leisten (MARTELLI et al., 2011; FRAILE et al., 2012a). Die Induktion der zellulären Immunantwort als Folge einer Vakzination gegen PCV2 zeigt sich in Form eines Anstieges von Interferon-Gamma sezernierenden Zellen und wird, im Unterschied zur humoralen Immunantwort, nicht negativ von hohen maternalen Antikörpertitern zum Impfzeitpunkt beeinflusst (MARTELLI et al., 2016).

9.1.2. Impfung der Muttersauen

KURMANN et al. (2011) zeigen, dass eine Impfung der Muttersauen gegen PCV2 vor dem Abferkeln durch die nachfolgende Übertragung maternaler Antikörper über das Kolostrum auf die Ferkel, zu einem Schutz der Nachkommen vor der Entwicklung einer PCV2-SD führt. Außerdem weisen Ferkel von geimpften Sauen signifikant höhere Antikörpertiter gegen PCV2 auf, als Ferkel von nicht geimpften Muttertieren, und erreichen höhere tägliche Gewichtszunahmen, die sich in einer reduzierten Mastdauer widerspiegeln (KURMANN et al., 2011; O'NEILL et al., 2012). Eine PCV2-Impfung von Muttersauen während der Trächtigkeit führt zur Bildung neutralisierender Antikörper und schützt

die Sauen davor, nach experimenteller Infektion mit PCV2 eine Virämie zu entwickeln und reduziert die kolostrale Ausscheidung von PCV2 signifikant (MADSON et al., 2009b). Dennoch kann die PCV2-Vakzination nicht die vertikale Übertragung von PCV2 während der Trächtigkeit auf die Ferkel verhindern, da auch gegen PCV2 geimpfte Sauen PCV2 virämische Ferkel gebären (MADSON et al., 2009b). Ebenso kann eine PCV2-Sauenimpfung und die dadurch übertragenen maternalen Antikörper die Ferkel nicht von einer späten Infektion mit PCV2 schützen (FACHINGER et al., 2008).

Ferkel von gegen PCV2 geimpften Muttertieren weisen im Alter von 4 Wochen höhere Titer PCV2 spezifischer Antikörper auf, als Ferkel von nicht geimpften Sauen (FRAILE et al., 2012b). Diese höheren Antikörpertiter scheinen zwar die aktive humorale Immunantwort der Ferkel nach einer PCV2-Impfung zu beeinflussen, dennoch zeigen diese Ferkel höhere tägliche Gewichtszunahmen als Ferkel von nicht geimpften Muttertieren (FRAILE et al., 2012b).

9.2. Management

MADEC et al. (1999) befassen sich ausführlich mit der Bekämpfung der PCV2-SD und veröffentlichen einen 20 Punkte umfassenden Plan, zur Kontrolle dieser Erkrankung. Neben allgemeinen Hygienemaßnahmen beinhaltet dieser Plan auch Vorgaben zur Auf- und Zusammenstallung der Tiere, zur Immunprophylaxe, zu stallklimatischen Bedingungen, zum individuellen Platzangebot und zur Futterqualität (MADEC et al., 1999). Zu den wichtigsten Hygienemaßnahmen gehören laut dieser Autoren die strikte Einhaltung eines Rein-Raus-Prinzips mit Reinigung und Desinfektion zwischen den einzelnen Durchgängen sowie das Waschen und Entwurmen der Sauen vor der Umstallung in die Abferkelställe (MADEC et al., 1999). Unter anderem wird auch empfohlen, das Versetzen von Ferkeln auf ein Minimum zu beschränken, kleine Buchten im Flatdeck zu verwenden, eine Vermischung verschiedener Durchgänge, sowie eine Neugruppierung in der Mast zu vermeiden, betriebsindividuelle Impfprogramme einzuführen, Quarantänemaßnahmen für Neuzukäufe einzuhalten, Überbelegung zu vermeiden, ein optimales Stallklima zu gewährleisten, sowie auf

hochwertige Eiweißkomponenten und Vitaminversorgung zu achten (MADEC et al., 1999). Die Autoren empfehlen die Einhaltung von 16 der 20 im Plan genannten Punkte, um ein effektives Ergebnis zu erzielen (MADEC et al., 1999).

III. MATERIAL UND METHODEN

Die Studie wurde in insgesamt 10 Schweinebeständen, aufgeteilt auf die Bundesländer Bayern, Baden-Württemberg, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein, durchgeführt. Die Probenentnahme in diesen Beständen fand im Zeitraum von Juli 2018 bis Dezember 2018 statt. Jeder Bestand wurde einmalig zur Probenentnahme besucht.

1. Anzeige des Tierversuchsvorhabens

Das Versuchsvorhaben wurde gemäß §8a des Tierschutzgesetzes unter dem Titel „Evaluierung der Bedeutung vertikaler Übertragung von *Mycoplasma hyopneumoniae* und Porcinem Circovirus Typ 2 von Sauen auf deren Nachkommen für die Verbreitung dieser Pathogene in nachgelagerten Produktionsstufen.“ bei den zuständigen Behörden der verschiedenen Bundesländer angezeigt und bestätigt. Die Durchführung des Versuches wurde bei den zuständigen Behörden der Landkreise, in denen die Studienbetriebe lagen, gemeldet. Tabelle 4 zeigt die zuständigen Behörden im jeweiligen Bundesland, sowie das Aktenzeichen und das Datum der Bestätigung der Tierversuchsanzeige.

Tabelle 4: Tierversuchsanzeigen in den verschiedenen Bundesländern

Bundesland	Zuständige Behörde	Aktenzeichen	Datum der Bestätigung
Bayern	Regierung von Oberbayern	ROB-55.2-2532.Vet_03-18-43	05.06.2018
	Regierung von Unterfranken	RUF-55.2.2-2532-2-742-4	26.06.2018
Baden-Württemberg	Regierungspräsidium Tübingen	35//9185.82-4	03.07.2018
	Regierungspräsidium Stuttgart	35-9185.82/0352	26.06.2018
Nordrhein-Westfalen	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz	81-02.05.40.18.056	07.06.2018

Niedersachsen	Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit	33.19-42502-05-18A303	28.05.2018
Schleswig-Holstein	Ministerium für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt, Natur und Digitalisierung	V244-23216/2018	11.05.2018

2. Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, das Vorkommen und die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom in erdrückten Saugferkeln aus deutschen ferkelerzeugenden Betrieben zu untersuchen und dabei auch die am häufigsten PCV2-Genom positiven Organe zu identifizieren. Zusätzlich wurde versucht, durch Einbeziehung von Informationen zu den erdrückten Saugferkeln und der Untersuchung von Muttersauen im Abferkelstall, die Rolle einer vertikalen Infektion vom Muttertier auf die Saugferkel zu beleuchten. Das Weiteren sollte untersucht werden, ob es Zusammenhänge zwischen der Häufigkeit des Vorfindens PCV2-Genom positiver erdrückter Saugferkel und der Detektion von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen gibt.

3. Auswahl der Studienbestände

Basierend auf Zahlen des Statistischen Bundesamtes (STATISTISCHES BUNDESAMT, 2017) wurden Betriebe aus den 5 Bundesländern mit den meisten schweinehaltenden Betrieben in Deutschland für die Studie ausgewählt. Die 10 in den Versuch eingeschlossenen Bestände befanden sich in folgenden Bundesländern: Bayern, Baden-Württemberg, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der Bestandsdaten der 10 untersuchten Bestände.

3.1. Einschlusskriterien

Da für PCV2 ein ubiquitäres Vorkommen in der Schweinepopulation angenommen wird (SEGALÉS, 2012) wurde die Probenentnahme zur gleichen Zeit und auf den gleichen Beständen durchgeführt wie die Beprobung im Rahmen einer anderen Studie zum Thema Frühinfektionen und Übertragung von *Mycoplasma hyopneumoniae*. Die Einschlusskriterien für die Bestandsauswahl waren auf die Bedürfnisse der Mycoplasmenstudie ausgerichtet und lauteten wie folgt:

- geschlossene Bestände oder Teilmastbestände oder direkte 1:1 Anbindung zwischen Ferkelerzeugungs- und Mastbetrieb
- mindestens 10 Sauen pro Abferkelgruppe
- einmalige Ferkelimpfung gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* erst mit einem Alter von 3 Wochen (frühestens 19. Lebenstag)
- vorberichtlich Auftreten von Husten in der Aufzucht und/oder Mast bzw. bereits bestehende *Mycoplasma hyopneumoniae* Befunde
- kein metaphylaktischer oder therapeutischer Einsatz von gegen Mycoplasmen wirksamen Antibiotika bei Sauen, Saugferkeln, Absetzferkeln oder Mastschweinen

3.2. Lungenscoring am Schlachthof

Von jedem potentiellen Studienbestand wurde bei einer Gruppe Endmastschweinen eine Untersuchung von Schlachtlungen (Lungenscoring) am Schlachthof durchgeführt, um so das Vorhandensein und die Schwere eventueller Lungenläsionen ermitteln zu können, die auf eine Beteiligung von *Mycoplasma hyopneumoniae* am respiratorischen Erkrankungsgeschehen hinweisen. Insgesamt wurde von 20 Beständen die Schwere der Lungenläsionen erhoben. Aus diesem Pool wurden entsprechend der Schlachthofbefunde 10 Studienbestände mit Lungenscores im mittleren und hohen Bereich ausgewählt. Beim Vorhandensein mehrerer gleichwertiger geeigneter Bestände in einem Bundesland erfolgte die Auswahl zufällig. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig.

Ein Bestand (Bestand 9) der in Nordrhein-Westfalen lag wurde auf

Wunsch der Genehmigungsbehörde (Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz) bereits bei der Anzeige des Tierversuchsvorhabens vor der Erhebung eines aktuellen Lungenscores in den Versuch eingeschlossen.

4. Auswahl der Studientiere

Bei Einschluss eines Bestandes in die Studie wurden die Betriebsleiter gebeten, künftig bis zum Bestandsbesuch möglichst viele lebend geborene, in den ersten Lebenstagen und Lebenswochen erdrückte Saugferkel zu sammeln und diese umgehend bei -20°C einzufrieren. Die genaue Anzahl der gesammelten untersuchten Saugferkel pro Bestand ist in Tabelle 5 angeführt. Beim Besuch des Bestandes wurden außerdem die Paritäten und die Leistungsdaten der Muttertiere der erdrückten Ferkel erhoben. Die Ferkel wurden tiefgefroren in die Klinik für Schweine der LMU München transportiert.

Zusätzlich zu den erdrückten Saugferkeln wurden 10 Muttersauen unterschiedlicher Paritäten, etwa 3 Wochen nach dem letzten Abferkeltermin in die Studie eingeschlossen. Soweit möglich wurden je 5 Jungsau (1. Parität) und 5 ältere Sauen (≥ 2 . Parität) beprobt (siehe Tabelle 5). Bei Abferkelgruppen mit mehr als 10 Tieren wurden die zu beprobenden Muttersauen zufällig ausgewählt. Dies wurde gewährleistet, indem beim Betreten des Abferkelabteils mit dem Tier in der ersten Abferkelbucht auf der rechten Seite begonnen wurde und die Auswahl der Tiere anschließend gegen den Uhrzeigersinn im Abteil fortgesetzt wurde.

Außerdem wurden beim Bestandsbesuch Absetzferkel im Alter von ca. 6 Wochen sowie Mastschweine mit einem ungefähren Alter von 12, 16 und 20 Wochen buchtenweise mittels Kaustricken (Gewinnung von Sammelspeichelproben) beprobt. Pro Bestand sollten, wenn möglich 10 Kaustrick-Sammelspeichelproben in jeder der 4 Altersklassen gewonnen werden. Tabelle 5 zeigt die Anzahl der gewonnenen Sammelspeichelproben pro Bestand. Waren mehr Tiere bzw. Buchten

vorhanden, als vorgesehen, erfolgte die Auswahl der zu beprobenden Buchten zufällig. Dabei wurde mit der Probengewinnung ebenfalls in der ersten rechten Bucht des Raumes begonnen und im Abteil gegen den Uhrzeigersinn fortgesetzt.

Tabelle 5: Übersicht zu Bestandsdaten der 10 Studienbestände und Anzahl untersuchter Tiere/Proben pro Bestand

Bestand	Bundesland	Betriebsart	Betriebsgröße (Anzahl Zucht-sauen)	Anzahl untersuchter erdrückter Saugferkel	Anzahl beprobter Jungsaunen/Alt-sauen im Abferkelstall	Anzahl untersuchter Sammel-speichelproben
1	Bayern	Teilmast	180	13	5/5	32
2	Bayern	Teilmast	180	20	5/5	35
3	Nordrhein-Westfalen	1:1 Anbindung	470	9	1/9	36
4	Niedersachsen	1:1 Anbindung	400	30	5/5	36
5	Baden-Württemberg	Teilmast	360	16	1/9	37
6	Schleswig-Holstein	geschlossen	160	8	3/7	32
7	Niedersachsen	geschlossen	160	13	2/8	35
8	Baden-Württemberg	Teilmast	120	18	2/8	32
9	Nordrhein-Westfalen	geschlossen	320	21	5/5	34
10	Bayern	Teilmast	250	15	5/5	28
Gesamt			Ø 260	163	34/66	337

5. Bestandsbesuch und Probenentnahme

In dieser Querschnittsuntersuchung wurde jeder Bestand einmalig besucht. Bedingt durch die Bestandsauswahl und Probenentnahme in Zusammenarbeit mit einer anderen Studie zum Thema *Mycoplasma hyopneumoniae* fanden der Bestandsbesuch und die Probenentnahme an jenem Tag statt, an dem eine Abferkelgruppe mit Ferkeln im Alter von 21 Tagen (± 3 Tage) vorhanden war. Die Probenentnahme erfolgte einmalig bei jedem in die Studie eingeschlossenen Tier.

Über einen längeren Zeitraum vor dem Bestandsbesuch wurden lebend geborene, erdrückte Saugferkel gesammelt und tiefgefroren. Am Tag der Beprobung im Bestand wurden Speichelproben (Salivette®, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) und Blutserumproben von 10 Muttersauen in den Abferkelabteilen, 21 Tage (± 3 Tage) nach der Geburt der letzten Ferkel, gewonnen. Eine direkte Zuordnung der erdrückten Saugferkel zu den beprobten Muttersauen im Abferkelstall ist auf Grund der zeitlichen Divergenz zwischen dem Sammelzeitraum der erdrückten Saugferkel und dem Beprobungstermin nicht möglich. Außerdem wurden buchtenweise Sammelspeichelproben von 6, 12, 16 und 20 Wochen alten Tieren in der Aufzucht bzw. Mast mittels Kaustricken gewonnen. Im Anschluss an die Probenentnahme wurden Informationen zur Betriebsstruktur, zum Management und zu Leistungsdaten des Bestandes erhoben, wozu der Betriebsleiter einen Fragebogen beantwortete. Insgesamt wurden 163 erdrückte Saugferkel gesammelt, 34 Jungsauen, sowie 66 Altsauen beprobt und 337 Sammelspeichelproben gewonnen (Tabelle 5).

5.1. Lebend geborene erdrückte Saugferkel

Die erdrückten Saugferkel wurden umgehend nach dem Auffinden in einem Gefrierbeutel eingepackt und bei -20 °C vom Landwirt tiefgefroren. Des Weiteren wurden das Datum des Auffindens und die Nummer der Muttersau des erdrückten Saugferkels vermerkt. Mit Hilfe dieser Informationen konnte von jedem erdrückten Ferkel das Alter bestimmt werden. Außerdem wurden die Parität und die Leistungsdaten des Muttertieres erhoben. Die Ferkel wurden nach dem Bestandsbesuch

tiefgefroren in die Klinik für Schweine der LMU München transportiert.

5.2. Speichelprobenentnahme bei den Sauen

Vor der Probenentnahme wurde bei den Tieren eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt sowie die Parität notiert. Nur klinisch gesunde Tiere wurden in die Studie eingeschlossen. Zur Gewinnung einer Speichelprobe wurde den Tieren eine Watterolle (Salivette®, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) in einer Klemme so lange zum Kauen angeboten, bis die Rolle gut eingespeichelt war.

5.3. Blutprobenentnahme bei den Sauen

Die Blutentnahme erfolgte im Anschluss an die Gewinnung der Speichelprobe. Dazu wurden die unter dem Ferkelschutzkorb stehenden Sauen von einer Hilfsperson durch Ansprache und Berührung abgelenkt. In Ausnahmefällen wurden sehr aggressive Sauen durch die Hilfsperson mit Hilfe einer Oberkieferschlinge fixiert. Die Blutentnahme erfolgte aus der rechten *Vena jugularis externa* unter Verwendung einer Serummonovette (Primavette® V Serum 10 ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) sowie einer sterilen Einmalkanüle (1,2 x 100 mm, SUPRA®, Erhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) unter Aspiration.

5.4. Sammelspeichelproben bei Absetzferkeln und Mastschweinen (6./12./16./20. Lebenswoche)

Die Gewinnung der Speichelproben bei den Absetzferkeln und Mastschweinen erfolgte mittels Kaustricken aus Baumwolle (Oral Fluid Sample Collection Accessory Kit 5 Count, IDEXX, Westbrook, Maine, USA). Pro Altersklasse wurden, wenn möglich 10 Kaustrick-Sammelspeichelproben genommen. Die Aufteilung der Kaustricke in den Buchten erfolgte in Abhängigkeit von der Buchtengröße. Es befanden sich maximal 25 Tiere pro Kaustrick in einer Bucht. Die Baumwollstricke wurden von Futter und Wasser entfernt so an geeigneten Stellen der Bucht fixiert, dass sich das untere Ende in etwa auf Schulterhöhe der Tiere befand und dann für 20-30 Minuten in den Buchten belassen. Danach wurden die Kaustricke nacheinander, unter Verwendung von

Einweghandschuhen abgenommen, das feuchte Ende des Baumwollstricks wurde in einer Einwegtüte aus Kunststoff ausgewrungen und die so gewonnene Flüssigkeit wurde in einem Kunststoffröhrchen gesammelt. Bedingt durch zu kleine Tierzahlen, bzw. das Abreißen der Kaustricke in der Bucht und der dadurch entstehenden Verschmutzung, wurden häufig weniger als 10 Sammelspeichelproben je Altersklasse gewonnen (Tabelle 5).

Tabelle 6 fasst die gewonnenen Proben zusammen, die in den jeweiligen Tiergruppen eines jeden Studienbestandes gewonnen wurden.

Tabelle 6: Probenentnahmeplan für jeden Studienbestand

Tiergruppe	Alter/Zeitpunkt bei/der Beprobung	Art der gewonnenen Proben	Anzahl der gewonnenen Proben/Ferkel
lebend geborene erdrückte Saugferkel	1-18 Tage	Organproben aus Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten, Thymus	so viele wie möglich
Sauen im Abferkelstall	ca. 21 Tage nach letzter Abferkelung	Speichelproben	10
		Blutproben	10
Absetzferkel	ca. 6 Wochen	Sammelspeichelproben	10 (wenn möglich)
Mastschweine	ca. 12 Wochen	Sammelspeichelproben	10 (wenn möglich)
Mastschweine	ca. 16 Wochen	Sammelspeichelproben	10 (wenn möglich)
Mastschweine	ca. 20 Wochen	Sammelspeichelproben	10 (wenn möglich)

6. Verarbeitung und Lagerung der Proben

6.1. Lebend geborene erdrückte Saugferkel

Die gesammelten erdrückten Ferkel wurden bis zur Organentnahme und weiteren Probengewinnung tiefgefroren bei -20°C gelagert. Die Sektion und Organprobenentnahme erfolgte nach dem Auftauen der Ferkel im Institut für Tierpathologie der LMU München. Von jedem Tier wurde das Geschlecht bestimmt und das Gewicht mittels einer digitalen Waage (Panther BBA330-CC150, Mettler-Toledo GmbH, Albstadt, Deutschland) ermittelt.

Nach dem Eröffnen der Brusthöhle wurde mit einem Stück der Lunge

eines jeden Ferkels eine Schwimmprobe durchgeführt um sicher zu gehen, dass das Ferkel nicht tot geboren wurde. Dazu wurde ein Stück Lunge in ein Behältnis mit Wasser gegeben. Die Lunge von Ferkeln, die geatmet haben ist belüftet und schwimmt im Wasser oben auf, während unbelüftete Lungen tot geborener Tiere nach unten sinken. Die Entnahme der einzelnen Organe erfolgte immer in der gleichen Reihenfolge: Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten und Thymus. Zwischen der Entnahme der einzelnen Organproben wurde das Sektionsbesteck zur Sterilisation abgeflammt. Die Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C tiefgefroren.

6.2. Speichelproben der Sauen und Sammelspeichelproben der Absetzferkel und Mastschweine

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

Mit den Sammelspeichelproben in den Kunststoffröhrchen wurde ebenso verfahren. Der Überstand wurde ebenfalls in Reaktionsgefäße mit einem Fassungsvermögen von 1,5 ml (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt. Die Speichelproben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C tiefgefroren.

6.3. Blutproben der Sauen

Die Serummonovetten wurden im Labor der Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians-Universität München bei 20°C und 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Das überstehende Serum wurde anschließend in 2 bis 3 Reaktionsgefäße mit einem Fassungsvermögen von je 1,5ml (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert. Die Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C tiefgefroren.

7. Labordiagnostische Untersuchungen

7.1. Molekularbiologische Untersuchungen

7.1.1. Extraktion viraler DNA aus Organproben

Die molekularbiologische Untersuchung der entnommenen Organproben auf PCV2 spezifische Genomfragmente erfolgte im Labor des Lehrstuhls für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München mittels Multiplex PCR (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland) nach Herstellerangaben. Es wurde von jedem der 163 erdrückten Saugferkel zunächst eine Organpoolprobe bestehend aus Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten und Thymus untersucht. Anschließend wurden je Bestand 5 bis 6 Ferkel mit den niedrigsten PCV2-Ct-Werten in der Organpoolprobe ausgewählt und die Organe dieser Tiere wurden einzeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht. Insgesamt wurden die Organproben von 54 der 163 Ferkel einzeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht.

Die Isolierung der viralen DNA aus den Organproben erfolgte mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen DNA-Extraktionskits (QIAamp® DNA Mini Kit, QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben.

7.1.2. Extraktion viraler DNA aus Speichelproben

Die molekularbiologische Untersuchung der gewonnenen Speichelproben auf PCV2 spezifische Genomfragmente erfolgte ebenfalls im Labor des Lehrstuhls für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München mittels Multiplex PCR (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland) nach Herstellerangaben. Die Speichelproben der Sauen sowie die Sammelspeichelproben der Absetzferkel und Mastschweine wurden einzeln untersucht.

Für die Isolierung der viralen DNA aus den Speichelproben wurde ein DNA-Extraktionskits (QIAamp® DNA Mini Kit, QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben verwendet.

7.1.3. PCR

Zum Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten wurde ein kommerzielles PCR-Kit nach Herstellerangaben verwendet (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland).

Es wurden je Reaktion 5µl Eluat mit 18µl virotype® Mix +IC-DNA und 2µl virotype® PCV2/PCV3 Primers/Probes in eine Vertiefung des PCR-Kits pipettiert und anschließend im Thermocycler (AriaMx Real-Time PCR G8830A®, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) untersucht.

Zur Validierung des Tests wurden bei jedem PCR-Lauf eine Positiv- und Negativkontrolle mitgeführt. Zur Auswertung der gemessenen Ergebnisse wurde die AriaMx Software (Version 1.3) der Thermocycler verwendet. Proben mit einem Ct-Wert von < 35 wurden als positiv bewertet, Proben mit einem Ct-Wert von ≥ 35 galten als negativ. Zur Auswertung der quantitativen PCR können die Ct-Werte herangezogen werden. Je niedriger ein PCV2-Ct-Wert einer Probe war, desto mehr PCV2 spezifische Genomfragmente befanden sich in der untersuchten Probe.

7.2. Untersuchung auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper

Die tiefgefrorenen Serumproben der Sauen wurden auf Trockeneis per Overnight-Express an das IZSLER (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna) in Reggio Emilia, Italien, verschickt, wo die Untersuchung der Proben auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper stattfand. Es wurde ein indirekter ELISA zum Nachweis von PCV2-Antikörpern (Ingezim Circo IgG®, Ingenasa, Madrid, Spanien) nach Herstellerangaben durchgeführt. Zur Auswertung der Ergebnisse wurden die OD-Werte (optical-density) der Verdünnungsstufen bestimmt und von jeder Probe das Verhältnis der Probe (sample) zur Positivkontrolle (positive control) (S/P-Ratio) ermittelt. Bei einem Verhältnis (S/P-Ratio) von $< 0,3$ galt die Probe als negativ für das Vorhandensein von PCV2 spezifischen IgG-Antikörpern. Lag das Verhältnis bei $> 0,3$ wurde die Probe als PCV2-IgG-Antikörper positiv betrachtet.

8. Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der Daten wurde das IBM SPSS® Statistics Version 25.0 (Fa. IBM Corp., Armonk, USA) verwendet. Die Grafiken wurden mit Microsoft Excel® 2010 (Fa. Microsoft, Redmond, USA) erstellt. Das Signifikanzniveau lag bei 5% ($p=0,05$) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Um quantitative Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurden die Mittelwerte bzw. die Mediane (je nach Normalverteilung der Daten) gebildet, sowie jeweils die Minimalwerte (Min), die Maximalwerte (Max) und die Standardabweichung (StabW) berechnet.

Zeigte der Kolmogorow-Smirnow-Test eine Normalverteilung der Daten, wurden die Daten mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) und einem T-Test ausgewertet. Lag keine Normalverteilung der Daten vor, wurden die Daten mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests und des Mann-Whitney-U-Tests untersucht. Bei mehreren aufeinanderfolgenden Paarvergleichen wurde das Signifikanzniveau nach Bonferroni-Holm korrigiert. Zur Überprüfung der Korrelation nominaler Variablen wurden Kreuztabellen und der Chi²-Test nach Pearson verwendet.

IV. ERGEBNISSE

1. Darstellung der Studienpopulation

1.1. Geschlecht, Paritäten der Muttersauen und Alter der untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel

Insgesamt wurden 163 lebend geborene erdrückte Saugferkel aus 116 Würfen aus 10 deutschen Schweinebeständen in die Studie eingeschlossen. Davon waren 43,6% (71/163) männlich und 56,4% (92/163) weiblich. Informationen zu den Muttersauen und dem Wurfdatum lagen von 160 Ferkeln vor. Der Anteil der auf PCV2-Genom untersuchten erdrückten Saugferkel in Abhängigkeit von der Parität des Muttertiers ist in Abbildung 1 dargestellt. Tabelle 7 zeigt die Anzahl und den Anteil der untersuchten Saugferkelorganpoolproben sowie der Ferkel, deren Organe einzeln untersucht wurden, in Abhängigkeit vom Alter der erdrückten Ferkel.

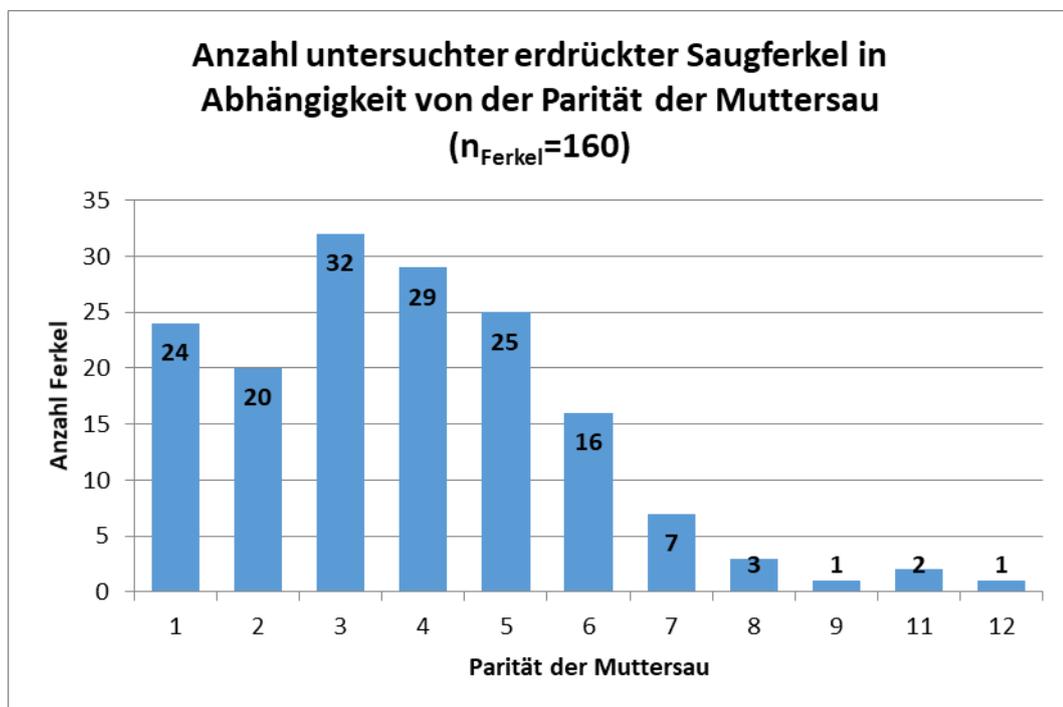


Abbildung 1: Anzahl der untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau (n=160)

Tabelle 7: Anzahl und Anteil der untersuchten Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie der Saugferkel, deren Organe einzeln untersucht wurden (n=54), in Abhängigkeit vom Alter in Lebensstagen

Lebensalter in Tagen	Anzahl und Anteil untersuchter Organpoolproben	Anzahl und Anteil auf Einzelorganebene aufgelöster Ferkelorganpoolproben
1	27 (16,3%)	11 (20,4%)
2	28 (17,2%)	15 (27,8%)
3	29 (17,8%)	7 (13%)
4	26 (16%)	6 (11,1%)
5	19 (11,7%)	6 (11,1%)
6	8 (4,9%)	2 (3,7%)
7	9 (5,5%)	3 (5,6%)
8	4 (2,5%)	0 (0%)
9	1 (0,6%)	1 (1,9%)
11	2 (1,2%)	1 (1,9%)
12	2 (1,2%)	0 (0%)
13	1 (0,6%)	1 (1,9%)
14	1 (0,6%)	0 (0%)
16	1 (0,6%)	0 (0%)
18	2 (1,2%)	1 (1,9%)
unbekannt	3 (1,8%)	0 (0%)
Gesamt	163 (100%)	54 (100%)

1.2. Beprobte Muttersauen im Abferkelstall, Absetzferkel und Mastschweine

In jedem der 10 Bestände wurden Blutserumproben und Speichelproben von 10 Sauen im Abferkelstall, etwa 3 Wochen nach der Geburt ihrer letzten Ferkel gewonnen und auf das Vorhandensein von PCV2 spezifischen IgG-Antikörpern, beziehungsweise PCV2-Genom untersucht. Außerdem wurde auf jedem Bestand mittels Kaustricken eine unterschiedliche Anzahl an Sammelspeichelproben von Absetzferkel- und Mastschweinegruppen gewonnen und auf das Vorkommen von PCV2-Genomfragmenten untersucht.

Insgesamt waren 34% (34/100) der untersuchten Sauen Jungsaunen in der 1. Parität. Weitere 34% (34/100) der untersuchten Tiere waren Altsauen in der 2.-4. Parität und 32% (32/100) der Tiere gehörten zur Gruppe der alten Altsauen mit 5 oder mehr Würfen.

Tabelle 8 zeigt die Anzahl und den Anteil der gewonnenen Kaustrick-Sammelspeichelproben in den unterschiedlichen Altersklassen bei Absetzferkeln und Mastschweinen.

Tabelle 8: Anzahl und Anteil gewonnener Kaustrick-Sammelspeichelproben (n=337) von Absetzferkel- und Mastschweinegruppen in den 10 Studienbeständen

Altersgruppe	Anzahl Speichelproben	Prozent
Absetzferkel 6. Lebenswoche	83	24,6
Mastschweine 12. Lebenswoche	88	26,1
Mastschweine 16. Lebenswoche	84	24,9
Mastschweine 20. Lebenswoche	82	24,3
Gesamt	337	100

2. Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen auf PCV2 spezifische Genomfragmente und PCV2 spezifische IgG-Antikörper

Die Ergebnisse der durchgeführten PCV2 spezifischen Untersuchungen der verschiedenen Probenmaterialien sind in Tabelle 9 für jeden der 10 Studienbestände zusammengefasst.

Tabelle 9: Ergebnisse der Untersuchung der Blutserumproben der Sauen im Abferkelstall auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper und Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Sauenspeichelproben, der Organpoolproben erdrückter Saugferkel und der Kaustriek-Sammelspeichelproben auf PCV2 spezifische Genomfragmente, in den 10 untersuchten Beständen, sowie Impfstatus der Sauen gegen PCV2

Bestand	PCV2-Sauenimpfung	PCV2-IgG-Antikörper in Sauenblutserumproben n (positiv)/n (gesamt)	PCV2-DNA in Sauenspeichelproben n (positiv)/n (gesamt)	PCV2-DNA in Organpoolproben erdrückter Ferkeln n (positiv)/n (gesamt)	PCV2-DNA in Sammelspeichelproben (6./12./16. und 20. Lebenswoche) n (positiv)/n (gesamt)
1	nein	10/10 (100%)	3/10 (30%)	5/13 (38,5%)	32/32 (100%)
2	nein	7/10 (70%)	1/10 (10%)	12/20 (60%)	19/35 (54,3%)
3	nein	10/10 (100%)	3/10 (30%)	7/9 (77,8%)	16/36 (44,4%)
4	nein	9/10 (90%)	0/10 (0%)	21/30 (70%)	21/36 (58,3%)
5	ja	10/10 (100%)	1/10 (10%)	4/16 (25%)	21/37 (56,8%)
6	ja	10/10 (100%)	2/10 (20%)	6/8 (75%)	15/32 (46,9%)
7	nein	10/10 (100%)	4/10 (40%)	11/13 (84,6%)	12/35 (34,3%)
8	nein	9/10 (90%)	9/10 (90%)	12/18 (66,7%)	30/32 (93,8%)
9	nein	9/10 (90%)	8/10 (80%)	16/21 (76,2%)	9/34 (26,5%)
10	nein	10/10 (100%)	10/10 (100%)	9/15 (60%)	16/28 (57,1%)
Gesamt		94/100 (94%)	41/100 (41%)	103/163 (63,2%)	191/337 (56,7%)

3. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

Alle 163 gesammelten erdrückten Saugferkel wurden mittels Multiplex PCR (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland) auf das Vorkommen von PCV2 spezifischen Genomfragmenten untersucht. Es wurde zunächst von jedem Ferkel eine Organpoolprobe, bestehend aus Gewebe von Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten und Thymus untersucht. Von 54 Tieren (je 5-6 Tiere pro Bestand) wurden diese 5 Organe anschließend einzeln untersucht, woraus sich eine Anzahl von 270 Einzelorganproben ergab.

3.1. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

3.1.1 Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Bestandsebene

In allen 10 Beständen, die an der Studie teilnahmen, konnten PCV2-Genom positive Organpoolproben von erdrückten Saugferkeln gefunden werden. Dabei lag die Prävalenz positiver Organpoolproben auf Bestandsebene zwischen 25% (4/16) und 84,6% (11/13) (Tabelle 10). Der Anteil PCV2-DNA positiver Saugferkel-Organpoolproben in jedem der 10 Bestände, sowie die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben, sowie die Standardabweichung der ermittelten PCV2-Ct-Werte, sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Anzahl und Anteil PCV2-DNA positiver Saugferkel-Organpoolproben (n=163) und Würfe mit Ferkeln deren Organpoolproben PCV2-DNA enthielten (n=116), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte, von erdrückten Saugferkeln aus den 10 Studienbeständen

Bestand	Würfe mit PCV2-DNA positiven Organpools n (positiv)/ n (gesamt)	PCV2-DNA positive Organpools n (positiv)/ n (gesamt)	Mittelwert/ Min/ Max/ StabW der PCV2-Ct-Werte in Organpools
1	5/12 (41,7%)	5/13 (38,5%)	32,1/ 29,6/ 33,9/ 1,8
2	12/18 (66,7%)	12/20 (60%)	31,5/ 26,7/ 33,9/ 2,1
3	6/8 (75%)	7/9 (77,8%)	33,7/ 32,5/ 34,2/ 0,6
4	15/17 (88,2%)	21/30 (70%)	32,3/ 28,9/ 34,9/ 1,7
5	3/12 (25%)	4/16 (25%)	33,0/ 30,8/ 34,7/ 1,6
6	3/4 (75%)	6/8 (75%)	32,8/ 31/ 34/ 1,2
7	9/9 (100%)	11/13 (84,6%)	32,0/ 30,5/ 34,6/ 1,5
8	8/8 (100%)	12/18 (66,7%)	32,5/ 30,2/ 34,3/ 1,4
9	15/19 (78,9%)	16/21 (76,2%)	32,5/ 30/ 34,9/ 1,7
10	5/9 (55,6%)	9/15 (60%)	33,5/ 32,8/ 34,5/ 0,6
Gesamt	81/116 (69,8%)	103/163 (63,2%)	32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6

3.1.2. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Wurf- und Einzeltierebene in Abhängigkeit vom Lebensalter der Ferkel

Informationen zum Alter der erdrückten Saugferkel lagen von 160 Tieren vor. Die Aufteilung der untersuchten Ferkel entsprechend ihrem Alter ist in Tabelle 7 dargestellt.

Insgesamt konnten in 69,8% (81/116) der untersuchten Würfe Ferkel mit PCV2-DNA positiven Organpoolproben gefunden werden. Auf Einzeltierebene lag die Prävalenz PCV2-Genom positiver

Organpoolproben bei 63,2% (103/163) (Tabelle 10).

Die Anzahl und der Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben aufgeteilt nach Lebensalter der Ferkel, sind in Tabelle 11 ersichtlich. Der Vergleich der Anteile PCV2-DNA positiver Organpoolproben in den unterschiedlichen Altersgruppen der erdrückten Ferkel zeigte keine signifikanten Unterschiede ($p=0,179$) (Kreuztabelle).

Tabelle 11: Anzahl und Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit vom Alter der erdrückten Saugferkel

Lebensalter in Tagen	Untersuchte Probe					
	Organpool n (positiv)/ n (gesamt)	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)
1	20/27 (74,1%)	8/11 (72,7%)	6/11 (54,5%)	6/11 (54,5%)	5/11 (45,5%)	7/11 (63,6%)
2	22/28 (78,6%)	11/15 (73,3%)	9/15 (60%)	11/15 (73,3%)	10/15 (66,7%)	13/15 (86,7%)
3	16/29 (55,2%)	3/7 (42,9%)	4/7 (57,1%)	4/7 (57,1%)	6/7 (85,7%)	4/7 (57,1%)
4	17/26 (65,4%)	4/6 (66,7%)	2/6 (33,3%)	3/6 (50%)	2/6 (33,3%)	3/6 (50%)
5	10/19 (52,6%)	2/6 (33,3%)	2/6 (33,3%)	3/6 (50%)	4/6 (66,7%)	2/6 (33,3%)
6	6/8 (75%)	2/2 (100%)	1/2 (50%)	1/2 (50%)	2/2 (100%)	0/2 (0%)
7	5/9 (55,6%)	1/3 (33,3%)	2/3 (66,7%)	1/3 (33,3%)	1/3 (33,3%)	2/3 (66,7%)
8	3/4 (75%)	/	/	/	/	/
9	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	1/1 (100%)
11	0/2 (0%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)
12	0/2 (0%)	/	/	/	/	/
13	1/1 (100%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)
14	0/1 (0%)	/	/	/	/	/
16	0/1 (0%)	/	/	/	/	/
18	1/2 (50%)	0/1 (0%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)

un- bekannt	1/3 (33,3%)	/	/	/	/	/
Gesamt	103/163 (63,2%)	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben von Ferkeln unterschiedlichen Alters, sind in Tabelle 12 dargestellt. Die mittleren PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben bei unterschiedlich alten Ferkeln unterschieden sich nicht signifikant ($p=0,884$) (einfaktorielle Anova).

Tabelle 12: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben (n=163) und den Einzelorganproben (n=270), in Abhängigkeit vom Alter der erdrückten Saugferkel

Lebens- alter in Tagen	Untersuchte Probe					
	Organ- pool Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW	Lunge Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW	Herz Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW	Milz Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW	Thymus Mittel- wert/ Min/ Max/ StabW
1	32,2/ 29,3/ 34,6/ 1,4	33,1/ 30,2/ 34,9/1,5	33,3/ 31,6/ 34,9/ 1,3	32,9/ 28,9/ 34,2/ 2,0	32,2/ 31,4/ 33,4/ 0,8	33,1/ 31,6/ 34,9/ 1,2
2	32,4/ 26,7/ 34,4/ 1,9	33,1/ 30,7/ 34,8/ 1,2	32,2/ 30,0/ 34,6/ 1,6	32,9/ 30,4/ 34,9/ 1,4	33,6/ 30,5/ 34,9/ 1,3	33,5/ 31,6/ 34,9/ 1,1
3	32,4/ 29,3/ 34,9/ 1,7	32,7/ 32,1/ 33,1/ 0,5	33,0/ 32,0/ 33,7/ 0,8	32,8/ 27,9/ 34,9/ 3,2	33,5/ 31,2/ 34,2/ 1,1	34,2/ 32,9/ 34,9/ 0,9
4	32,8/ 29,8/ 34,9/ 1,5	32,3/ 30,7/ 33,7/ 1,3	33,3/ 33,2/ 33,3/0,1	34,0/ 33,2/ 34,8/ 0,8	31,6/ 30,5/ 32,7/ 1,6	33,1/ 31,6/ 34,5/ 1,4
5	31,9/ 28,9/ 33,3/ 1,6	32,4/ 31,9/ 32,8/ 0,6	33,5/ 33,1/ 33,9/ 0,6	32,1/ 30,6/ 34,2/ 1,9	33,7/ 32,4/ 34,5/ 0,9	34,5/ 34,1/ 34,9/ 0,6
6	33,2/ 30,5/ 34,2/ 1,4	34,5/ 34,1/ 34,9/ 0,6	33,0/ 33,0/ 33,0/ -	34,9/ 34,9/ 34,9/ -	32,0/ 31,9/ 32,1/ 0,1	n.d.
7	32,3/ 30,9/ 34,3/ 1,8	31,3/ 31,3/ 31,3/ -	33,5/ 32,8/ 34,3/ 1,1	32,9/ 32,9/ 32,9/ -	32,6/ 32,6/ 32,6/ -	33,8/ 33,0/ 34,5/ 1,1

8	33,2/ 32,2/ 34,5/ 1,2	/	/	/	/	/
9	33,6/ 33,6/ 33,6/ -	n.d.	33,0/ 33,0/ 33,0/ -	n.d.	33,3/ 33,3/ 33,3/ -	34,2/ 34,2/ 34,2/ -
11	n.d.	n.d.	33,9/ 33,9/ 33,9/ -	n.d.	33,8/ 33,8/ 33,8/ -	n.d.
12	n.d.	/	/	/	/	/
13	32,9/ 32,9/ 32,9/ -	32,4/ 32,4/ 32,4/ -	n.d.	30,9/ 30,9/ 30,9/ -	n.d.	33,7/ 33,7/ 33,7/ -
14	n.d.	/	/	/	/	/
16	n.d.	/	/	/	/	/
18	31,6/ 31,6/ 31,6/ -	n.d.	n.d.	33,7/ 33,7/ 33,7/ -	n.d.	33,8/ 33,8/ 33,8/ -
unbe- kannt	34,5/ 34,5/ 34,5/ -	/	/	/	/	/
Gesamt	32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

n.d. = kein Nachweis (no detection)

3.2. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

3.2.1. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Bestandsebene

In allen 10 Beständen konnte PCV2-Genom in den Einzelorganproben erdrückter Saugferkel gefunden werden. Die Prävalenz von PCV2-Genom in allen Einzelorganproben lag in den 10 untersuchten Beständen

zwischen 40% und 76% (Tabelle 13). In Tabelle 13 ist die Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in den einzelnen Organen für jeden Studienbestand dargestellt.

Tabelle 13: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) von erdrückten Saugferkeln aus den 10 Studienbeständen

Bestand	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)	Gesamt n (positiv)/ n (gesamt)
1	5/6 (83,3%)	3/6 (50%)	3/6 (50%)	5/6 (83,3%)	6/6 (100%)	22/30 (73,3%)
2	5/6 (83,3%)	2/6 (33,3%)	3/6 (50%)	5/6 (83,3%)	3/6 (50%)	18/30 (60%)
3	4/5 (80%)	3/5 (60%)	3/5 (60%)	2/5 (40%)	4/5 (80%)	16/25 (64%)
4	4/6 (66,7%)	3/6 (50%)	5/6 (83,3%)	5/6 (83,3%)	4/6 (66,7%)	21/30 (70%)
5	3/5 (60%)	3/5 (60%)	2/5 (40%)	2/5 (40%)	3/5 (60%)	13/25 (52%)
6	3/5 (60%)	5/5 (100%)	4/5 (80%)	3/5 (60%)	4/5 (80%)	19/25 (76%)
7	3/5 (60%)	2/5 (40%)	3/5 (60%)	3/5 (60%)	3/5 (60%)	14/25 (56%)
8	1/5 (20%)	3/5 (60%)	2/5 (40%)	1/5 (20%)	3/5 (60%)	10/25 (40%)
9	2/6 (33,3%)	2/6 (33,3%)	3/6 (50%)	4/6 (66,7%)	3/6 (50%)	14/30 (46,7%)
10	2/5 (40%)	2/5 (40%)	3/5 (60%)	2/5 (40%)	1/5 (20%)	10/25 (40%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)	157/270 (58,1%)

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

Tabelle 14 zeigt die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben von erdrückten Saugferkeln aus den 10 untersuchten Beständen.

Tabelle 14: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel in den 10 Studienbeständen

Bestand	Lunge Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
1	32,6/ 30,2/ 34,6/ 1,7	32,2/ 31,2/ 33,4/ 1,1	33,6/ 33,2/ 33,9/ 0,4	32,5/ 30,5/ 34,5/ 1,7	32,9/ 31,6/ 34,2/ 1,0
2	32,8/ 31,9/ 34,1/ 0,9	32,7/ 32,6/ 32,8/ 0,1	31,5/ 30,6/ 32,6/ 1,0	33,1/ 30,5/ 34,8/ 1,8	32,8/ 31,6/ 34,9/ 1,8
3	33,4/ 31,9/ 34,9/ 1,6	33,2/ 30,0/ 34,9/ 2,8	31,4/ 27,9/ 34,9/ 3,5	34,0/ 33,8/ 34,2/ 0,3	34,0/ 31,6/ 34,97 1,6
4	32,0/ 30,7/ 32,8/ 0,9	32,2/ 30,8/ 33,9/ 1,6	33,2/ 28,9/ 34,8/ 2,4	32,8/ 31,2/ 34,9/ 1,3	33,9/ 33,1/ 34,9/ 0,8
5	32,4/ 30,7/ 34,1/ 1,7	33,4/ 33,0/ 33,9/ 0,5	32,4/ 30,9/ 33,9/ 2,1	33,5/ 33,3/ 33,8/ 0,3	34,1/ 33,7/ 34,5/ 0,4
6	33,3/ 33,0/ 33,6/ 0,3	33,0/ 31,6/ 34,1/ 1,1	32,5/ 30,4/ 34,2/ 1,6	33,4/ 32,9/ 33,8/ 0,4	33,6/ 33,0/ 34,2/ 0,5
7	32,7/ 31,3/ 34,0/ 1,4	34,1/ 33,9/ 34,3/ 0,2	33,6/ 32,9/ 34,4/ 0,8	32,7/ 31,4/ 34,0/ 1,3	33,2/ 32,8/ 33,6/ 0,4
8	33,7/ 33,7/ 33,7/ -	32,9/ 31,0/ 34,3/ 1,7	33,7/ 33,7/ 33,8/ 0,0	32,9/ 32,9/ 32,9/ -	34,0/ 33,7/ 34,5/ 0,4
9	33,1/ 33,1/ 33,2/ 0,0	33,2/ 32,8/ 33,5/ 0,5	33,3/ 31,9/ 34,9/ 1,5	34,1/ 33,8/ 34,3/ 0,2	33,6/ 32,1/ 34,7/ 1,3
10	34,8/ 34,8/ 34,9/ 0,1	33,1/ 33,0/ 33,1/ 0,1	34,4/ 34,0/ 34,9/ 0,5	32,6/ 32,1/ 33,0/ 0,6	34,8/ 34,8/ 34,8/ -
Gesamt	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

3.2.2. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln auf Einzeltierebene in Abhängigkeit vom Lebensalter der Ferkel

Die Aufteilung der 54 Ferkel deren Organe einzeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht wurden, entsprechend ihrem Alter ist in Tabelle 7 dargestellt.

Bei der Untersuchung der 270 Einzelorganproben von 54 Tieren konnte PCV2-Genom in 58,1% (157/270) der Proben detektiert werden (Tabelle

13). Die Anzahl und der Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Einzelorganproben, aufgeteilt nach Lebensalter der Ferkel, sind in Tabelle 11 ersichtlich. Der Unterschied des Anteils PCV2-DNA positiver Einzelorganproben in den verschiedenen Altersgruppen war nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,291, für das Herz 0,777, für die Milz 0,744, für den Inguinal Lymphknoten 0,317 und für den Thymus 0,208 (Kreuztabellen).

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben von Ferkeln unterschiedlichen Alters, sind in Tabelle 12 dargestellt. In den einzelnen Organen konnte kein signifikanter Unterschied in der Höhe der mittleren PCV2-Ct-Werte in den unterschiedlichen Altersgruppen festgestellt werden. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,472, für das Herz 0,738, für die Milz 0,853, für den Inguinal Lymphknoten 0,185 und für den Thymus 0,713 (einfaktorielle Anova).

4. Assoziation verschiedener unabhängiger Faktoren mit dem Nachweis PCV2 spezifischer Genomfragmente in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

4.1. Geschlecht

Von den 163 in der Studie untersuchten Tieren waren 43,6% (71/163) männlich und 56,4% (92/163) weiblich. Unter den 54 Tieren, deren Organe einzeln auf das Vorhandensein von PCV2-Genomfragmenten untersucht wurden, waren 22 männliche und 32 weibliche Tiere. Insgesamt konnte in den Organpoolproben von 70,4% (50/71) der männlichen und in 57,6% (53/92) der weiblichen erdrückten Saugferkel PCV2-Genom gefunden werden (Abbildung 2). Der Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben und Einzelorganproben in den untersuchten männlichen und weiblichen erdrückten Saugferkeln, ist in Abbildung 2 dargestellt.

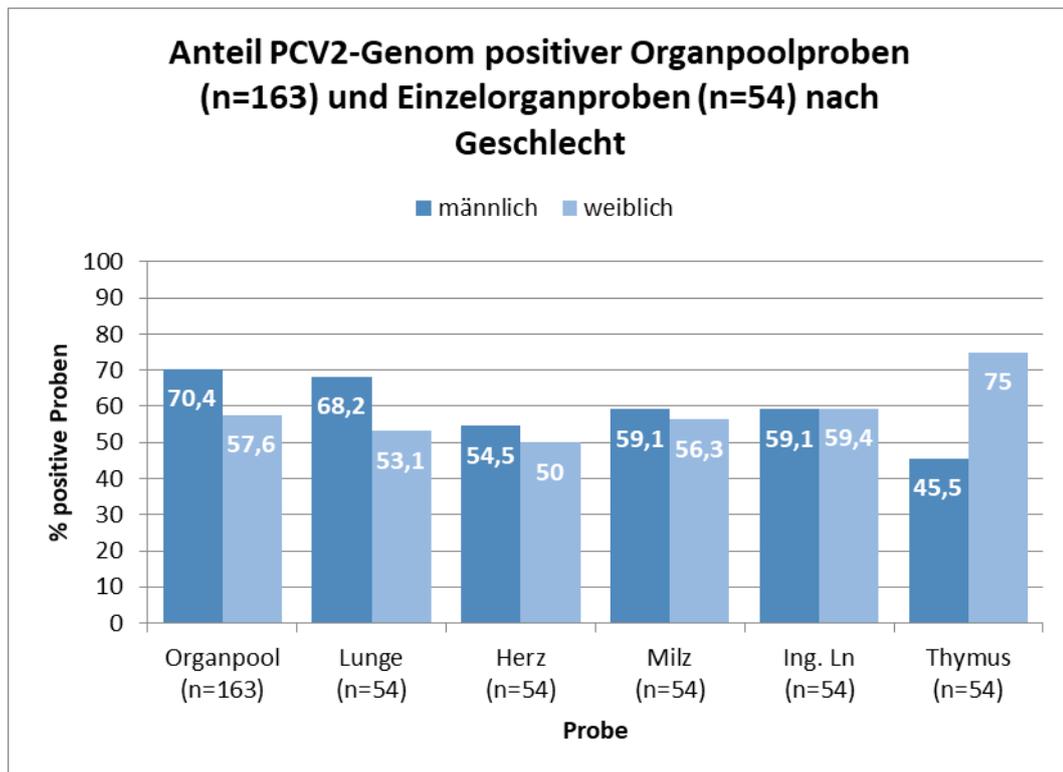


Abbildung 2: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n= 54 je Organ) in männlichen und weiblichen erdrückten Saugferkeln

Tendenziell konnte in Organpoolproben männlicher Ferkel häufiger PCV2-Genom nachgewiesen werden, als in weiblichen Ferkeln ($p=0,093$) (Kreuztabelle). Jedoch konnte in den Thymi weiblicher Ferkel signifikant häufiger PCV2-Genom nachgewiesen werden, als in den Thymi der männlichen Ferkel ($p=0,027$) (Kreuztabelle). Die Unterschiede in der Nachweishäufigkeit von PCV2-Genomfragmenten in den anderen Einzelorganproben, in männlichen bzw. weiblichen Ferkeln, waren nicht signifikant. Die p -Werte betragen für die Lunge 0,269, für das Herz 0,743, für die Milz 0,836 und für den Inguinal Lymphknoten 0,983 (Kreuztabelle).

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben und den Einzelorganproben untersuchter männlicher und weiblicher Saugferkel sind in Tabelle 15 ersichtlich.

Tabelle 15: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n=270) erdrückter männlicher und weiblicher Saugferkel

	Untersuchte Probe					
	Organ-pool (n=103) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Lunge (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
männlich	32,6/ 28,9/ 34,9/ 1,5	33,3/ 30,7/ 34,9/ 1,2	33,0/ 30,0/ 34,6/ 1,4	33,4/ 30,9/ 34,9/ 1,4	32,9/ 30,5/ 34,9/ 1,3	33,3/ 31,6/ 34,8/ 1,1
weiblich	32,4/ 26,7/ 34,9/1,7	32,6/ 30,2/ 34,9/ 1,2	32,9/ 31,0/ 34,9/ 1,1	32,6/ 27,9/ 34,9/ 2,0	33,2/ 30,5/ 34,8/ 1,2	33,7/ 31,6/ 34,9/ 1,0
Gesamt	32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

Es gab keine signifikanten Unterschiede in den mittleren PCV2-Ct-Werten in den untersuchten Proben zwischen männlichen und weiblichen Saugferkeln. Die p-Werte betragen für die Organpoolprobe 0,533, für die Lunge 0,161, für das Herz 0,956, für die Milz 0,269, für den Inguinal Lymphknoten 0,543 und für den Thymus 0,409 (t-Test).

4.2. Parität der Muttersau

Von 160 der insgesamt 163 untersuchten erdrückten Saugferkel lagen Informationen zum Muttertier vor. Die Ferkel wurden entsprechend der Parität ihrer Mutter in 3 Gruppen eingeteilt. 24 Tiere stammten von Jungsaunen in der 1. Parität, 81 Tiere wurden von Altsauen in der 2.-4. Parität geboren und 55 Ferkel stammten von alten Altsauen mit 5 oder mehr Würfen. Von 3 der untersuchten Saugferkel lagen keine Informationen zum Muttertier vor.

PCV2-Genom konnte in Organpoolproben von 75% (18/24) der Jungsaunenferkel, in 65,4% (53/81) der Altsauenferkel und in 56,4%

(31/55) der Ferkel von alten Altsauen gefunden werden (Abbildung 3). Des Weiteren wurde im Organpool von einem der 3 Ferkel, zu denen keine Informationen zum Muttertier vorlagen ebenfalls PCV2-Genom nachgewiesen. Der mittlere PCV2-Ct-Wert in Organpoolproben lag sowohl bei den Jungsauenferkeln, als auch bei den Altsauenferkeln bei 32,5. Die Organpoolproben der Ferkel alter Altsauen wiesen einen mittleren PCV2-Ct-Wert von 32,4 auf (Abbildung 3).

Der unterschiedliche Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben von Ferkeln in den 3 Paritätsgruppen der Muttersauen war nicht signifikant ($p=0,258$) (Kreuztabelle). Auch beim Vergleich der PCV2-Ct-Werte der Organpoolproben der 3 Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=1,000$) (einfaktorielle Anova).

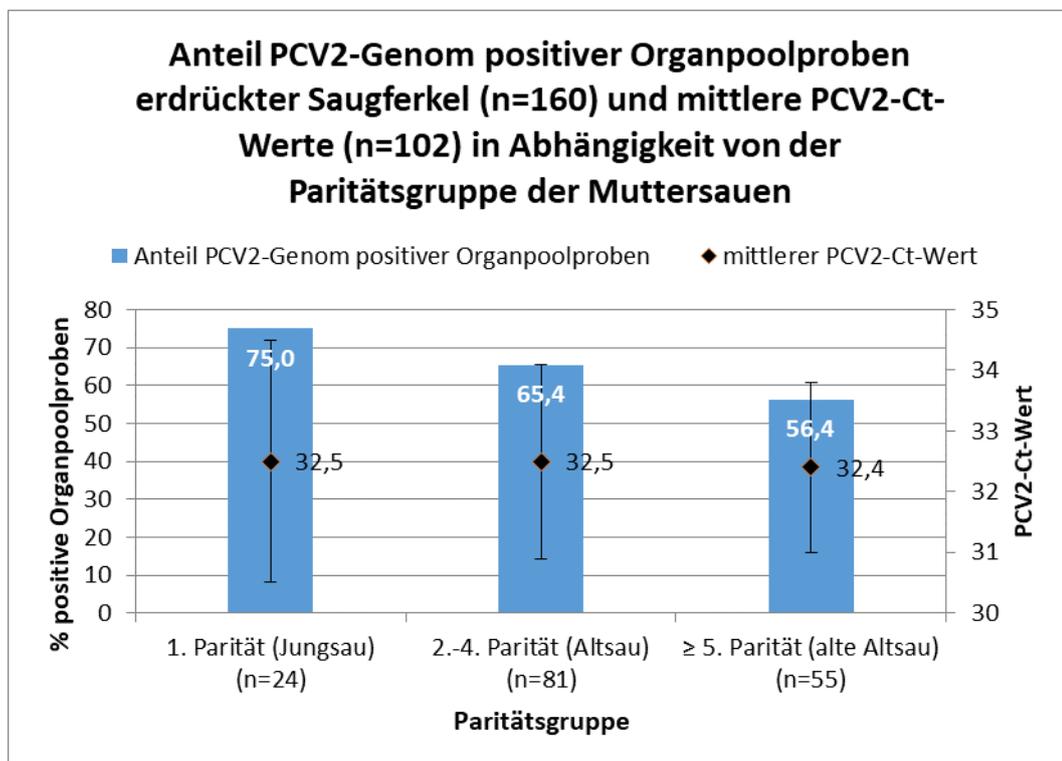


Abbildung 3: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=160), sowie die mittleren PCV2-Ct-Werte in den positiven Organpoolproben (n=102), in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe der Muttersauen

Von den 54 Ferkeln, deren Organe einzeln untersucht wurden gehörten 7 Tiere zur Gruppe der Jungsauenferkel, 28 Tiere waren Ferkel von Altsauen und 19 Ferkel gehörten zur Gruppe der Ferkel alter Altsauen.

Die Untersuchung der Einzelorganproben von Jungsauenferkeln ergab bei 57,1% (20/35) der Proben ein positives Ergebnis bezüglich des Vorkommens von PCV2-DNA. Des Weiteren waren 60% (84/140) der Organproben der Altsauenferkel und 55,8% (53/95) der Organproben der Ferkel alter Altsauen in der Untersuchung PCV2-DNA positiv (Tabelle 16). Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den 5 untersuchten Organen, in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe der Muttersau, sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 16: Anzahl und den Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel, in den 3 Paritätsgruppen der Muttersauen

	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)	Gesamt n (positiv)/ n (gesamt)
1. Parität (Jungsau)	4/7 (57,1%)	6/7 (85,7%)	2/7 (28,6%)	3/7 (42,9%)	5/7 (71,4%)	20/35 (57,1%)
2.-4. Parität (Altsau)	17/28 (60,7%)	13/28 (53,6%)	19/28 (67,9%)	17/28 (60,7%)	18/28 (64,3%)	84/140 (60%)
≥ 5. Parität (alte Altsau)	11/19 (57,9%)	9/19 (47,4%)	10/19 (52,6%)	12/19 (63,2%)	11/19 (57,3%)	53/95 (55,8%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)	157/270 (58,1%)

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

Die Häufigkeit eines PCV2-Genomnachweises war in keinem der 5 Organe signifikant mit der Paritätsgruppe der Muttersau assoziiert. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,974, für das Herz 0,157, für die Milz 0,149, für den Inguinal Lymphknoten 0,630 und für den Thymus 0,800 (Kreuztabellen). Auch die Höhe der PCV2-Ct-Werte in den verschiedenen Organen unterschied sich nicht signifikant zwischen Ferkeln aus den verschiedenen Paritätsgruppen der Muttertiere (einfaktorielle Anova). Die p-Werte betragen für die Lunge 0,140, für das Herz 0,880, für die Milz 0,237, für die Inguinal Lymphknoten 0,702 und für den Thymus 0,453.

Tabelle 17: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel, in den 3 Paritätsgruppen der Muttersauen

	Lunge (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
1. Parität (Jungsau)	34,1/ 33,1/ 34,9/ 0,9	33,0/ 31,0/ 34,9/ 1,5	33,2/ 32,6/ 33,8/ 0,9	33,1/ 31,6/ 34,8/ 1,6	33,4/ 31,8/ 34,9/ 1,4
2.-4. Parität (Altsau)	32,7/ 30,7/ 34,9/ 1,3	32,8/ 30,0/ 34,6/ 1,3	32,5/ 27,9/ 34,9/ 2,1	33,3/ 30,5/ 34,9/ 1,1	33,8/ 31,6/ 34,9/ 0,9
≥ 5. Parität (alte Altsau)	32,8/ 30,2/ 34,8/ 1,2	33,1/ 31,6/ 34,3/1,0	33,7/ 31,9/ 34,8/ 0,9	32,9/ 30,5/ 34,5/ 1,3	33,3/ 31,6/ 34,9/ 1,1
Gesamt	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

4.3. Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2

In 2 der 10 Studienbestände (Bestand 5 und 6) wurden die Sauen produktionsorientiert gegen PCV2 geimpft (Tabelle 9). Von den insgesamt 163 in der Studie untersuchten erdrückten Saugferkeln wurden 24 Tiere in den beiden Beständen mit PCV2-Sauenimpfung gesammelt wovon 17 Tiere von Altsauen in der 2.-4. Parität und 7 Tiere von alten Altsauen mit 5 oder mehr Würfen geboren wurden. Keines der Ferkel aus einem PCV2-Sauenimpfbestand wurde von einer Jungsau geboren. Die anderen 139 Studientiere kamen aus Beständen die keine PCV2-Impfung bei Sauen durchführten und setzten sich aus 24 Jungsaufenferkeln, 64 Altsauenferkeln, 48 Ferkeln von alten Altsauen und 3 Ferkeln ohne Information zum Muttertier zusammen.

Die Organpoolproben von erdrückten Ferkeln aus Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung waren mit 66,9% (93/139) signifikant häufiger PCV2-Genom positiv, als die Organpoolproben der Ferkel aus PCV2-

Sauenimpfbeständen, die in 41,7% (10/24) der Fälle ein positives Ergebnis aufwiesen ($p=0,018$) (Kreuztabelle). Die Verteilung PCV2-Genom positiver Organpoolproben in Abhängigkeit vom PCV2-Sauenimpfstatus des Bestandes, ist in Abbildung 4 dargestellt. Der mediane PCV2-Ct-Wert in Organpoolproben von erdrückten Ferkeln aus PCV2-Sauenimpfbeständen betrug 33,2, während er in Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung bei 32,7 lag (Abbildung 4). Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p=0,462$) (Mann-Whitney-U-Test).

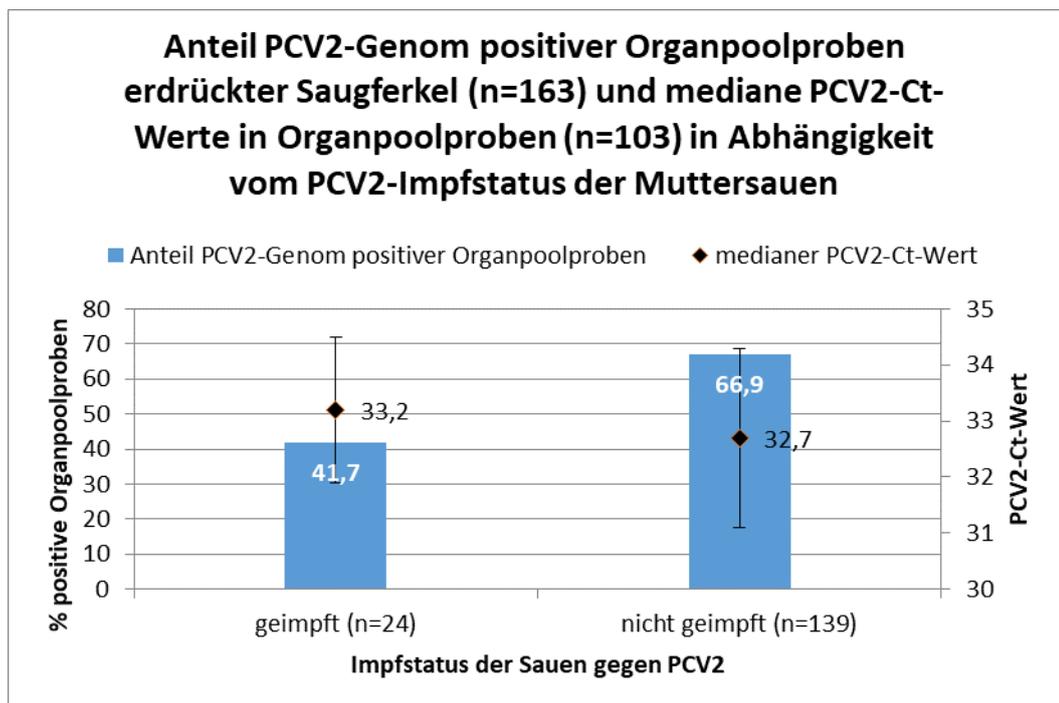


Abbildung 4: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mediane PCV2-Ct-Werte in den positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit vom PCV2-Impfstatus der Muttersauen

Von den 54 erdrückten Saugferkeln, deren Organe einzeln untersucht wurden, stammten 10 Tiere aus PCV2-Sauenimpfbeständen (6 Ferkel von Altsauen und 4 Ferkel von alten Altsauen) und 44 Tiere aus Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung (7 Ferkel von Jungsauen, 22 Ferkel von Altsauen und 15 Ferkel von alten Altsauen). Der Anteil und die Anzahl PCV2-Genom positiver einzelner Organe, sowie die ermittelten medianen PCV2-Ct-Werte, Minimalwerte, Maximalwerte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben von Ferkeln aus PCV2-

Sauenimpfbeständen und Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung sind in Tabelle 18 und in Tabelle 19 dargestellt.

In Proben aus dem Herz von Ferkeln aus Beständen mit PCV2-Sauenimpfung konnte signifikant häufiger PCV2-DNA nachgewiesen werden, als in den Herzen von Ferkeln aus Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung ($p=0,048$) (Kreuztabelle). Die unterschiedlichen Prävalenzen von PCV2-Genom in den anderen 4 Organen von Ferkeln aus PCV2-Sauenimpfbeständen und aus Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung waren nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,958, für die Milz 0,854, für den Inguinal Lymphknoten 0,509 und für den Thymus 0,610 (Kreuztabellen).

Die Unterschiede in der Höhe der medianen PCV2-Ct-Werte in den einzelnen Organen von Ferkeln aus PCV2-Sauenimpfbeständen und Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung waren nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,866, für das Herz 0,722, für die Milz 0,250, für den Inguinal Lymphknoten 0,775 und für den Thymus 0,639 (Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle 18: Anzahl und Anteil PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2

	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)
geimpft	6/10 (60,0%)	8/10 (80,0%)	6/10 (60,0%)	5/10 (50,0%)	7/10 (70,0%)
nicht geimpft	26/44 (59,1%)	20/44 (45,5%)	25/44 (56,8%)	27/44 (61,4%)	27/44 (61,4%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63,0%)

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

Tabelle 19: Median, Minimalwert und Maximalwert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2

	Lunge (n=32) Median/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Median/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Median/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Median/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Median/ Min/ Max/ StabW
geimpft	33,1/ 30,7/ 34,1/ 1,2	33,3/ 31,6/ 34,1/ 0,9	32,7/ 30,4/ 34,2/ 1,6	33,4/ 32,9/ 33,8/ 0,4	33,7/ 33,0/ 34,5/ 0,5
nicht geimpft	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	33,1/ 30,0/ 34,9/ 1,4	33,7/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,0/ 30,5/ 34,9/ 1,3	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,1
Gesamt	33,0/ 30,2/ 34,9/ 1,3	33,2/ 30,0/ 34,9/ 1,2	33,7/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,4/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,7/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

4.4. Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichelproben der Sauen im Bestand

In jedem Bestand wurden von 10 Sauen im Abferkelstall Speichelproben gewonnen und mittels PCR auf das Vorhandensein von PCV2-Genom untersucht. Eine direkte Zuordnung der beprobten Sauen zu den untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkeln ist nicht möglich.

In 9 von 10 Beständen konnte PCV2-DNA in Speichelproben der Sauen gefunden werden. In Bestand 4 waren alle untersuchten Sauenspeichelproben PCV2-DNA-negativ. In Bestand 10 lag die Prävalenz von PCV2-Genom in Sauenspeichelproben bei 100% (10/10). In den anderen 8 Beständen waren zwischen 10% (1/10) und 90% (9/10) der untersuchten Speichelproben positiv für das Vorkommen von PCV2-Genom (Tabelle 9). Der Median der 10 ermittelten bestandsspezifischen PCV2-Genomprävalenzen in Sauenspeichelproben betrug 30%. Je nachdem, ob die bestandsspezifische PCV2-Genomprävalenz in Speichelproben von Sauen $\leq 30\%$ oder $> 30\%$ lag, wurden die erdrückten Saugferkel des jeweiligen Bestandes einer von 2 Gruppen zugeordnet (Tabelle 20). Die Verteilung der untersuchten Ferkelorganpoolproben in die beiden Gruppen, sowie die Anzahl und der

Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben und die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte und die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte, in Abhängigkeit von der PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben sind in Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 20: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben

Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben	Anzahl Bestände	Organpoolproben n (positiv)/ n (gesamt) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
≤ Median (30%)	6	55/96 (57,3%) 32,4/ 26,7/ 34,9/ 1,7
> Median (30%)	4	48/67 (71,6%) 32,6/ 30,0/ 34,9/ 1,5
Gesamt	10	103/163 (63,2%) 32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6

In Organpoolproben von Saugferkeln aus Beständen, die eine Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben von über 30% (=Median) aufwiesen, konnte tendenziell häufiger PCV2-Genom gefunden werden, als in Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit einer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben von unter 30% ($p=0,062$) (Kreuztabelle). Die Höhe der mittleren PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit einer PCV2-DNA-Prävalenz in Sauenspeichelproben unter bzw. über dem Median von 30% unterschied sich nicht signifikant ($p=0,560$) (t-Test).

Die Verteilung der 54 Tiere, deren Organe einzeln auf das Vorhandensein von PCV2-Genom untersucht wurden, in die beiden Gruppen bezüglich PCV2-DNA-Prävalenz in Sauenspeichelproben ist in Tabelle 21 dargestellt. Die Anzahl und der Anteil PCV2-Genom positiver einzelner Organe von erdrückten Saugferkeln in den 2 verschiedenen Gruppen sind ebenfalls in Tabelle 21 zu sehen. In Lungenproben von Saugferkeln aus Beständen, die eine Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben von über 30% (=Median) aufwiesen, konnte

signifikant seltener PCV2-Genom gefunden werden, als in Lungenproben von Ferkeln aus Beständen mit niedrigerer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben ($p=0,012$) (Kreuztabelle). Ein ähnlicher, jedoch nicht signifikanter, aber dennoch tendenzieller Unterschied konnte in Thymusproben der beiden Gruppen festgestellt werden ($p=0,063$). Die Häufigkeit des Nachweises von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in den anderen Einzelorganproben unterschied sich in den beiden Gruppen nicht signifikant. Die p-Werte betragen für das Herz 0,291, für die Milz 0,557, für den Inguinal Lymphknoten 0,165 (Kreuztabellen).

Tabelle 21: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben

Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)	Gesamt n (positiv)/ n (gesamt)
≤ Median (30%)	24/33 (72,7%)	19/33 (57,6%)	20/33 (60,6%)	22/33 (66,7%)	24/33 (72,7%)	109/165 (66,1%)
> Median (30%)	8/21 (38,1%)	9/21 (42,9%)	11/21 (52,4%)	10/21 (47,6%)	10/21 (47,6%)	48/105 (45,7%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)	157/270 (58,1%)

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den einzelnen Organen in den beiden Gruppen sind in Tabelle 22 ersichtlich. Der mittlere PCV2-Ct-Wert in der Milz, von Ferkeln aus Beständen mit einer Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Sauenspeichelproben, die über dem Median lag, war signifikant höher, als der PCV2-Ct-Wert in der Milz von Ferkeln aus Beständen mit niedriger Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Sauenspeichelproben ($p=0,024$) (t-Test). Die mittleren PCV2-Ct-Werte in den anderen Organen unterschieden sich in den beiden Gruppen nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,149, für das Herz 0,372, für den Inguinal Lymphknoten 0,711 und für den Thymus

0,620 (t-Test).

Tabelle 22: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben

Nachweis- häufigkeit von PCV2- DNA in Sauen- speichel- proben	Lunge (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
≤ Median (30%)	32,7/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,8/ 30,0/ 34,9/ 1,3	32,5/ 27,9/ 34,9/ 2,0	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,3	33,5/ 31,6/ 34,9/ 1,1
> Median (30%)	33,5/ 31,3/ 34,9/ 1,2	33,3/ 31,0/ 34,3/ 1,0	33,7/ 31,9/ 34,9/ 0,9	33,2/ 31,4/ 34,3/ 1,0	33,7/ 32,1/ 34,8/ 0,9
Gesamt	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln. = Inguinal Lymphknoten

4.5. PCV2-Infektionsstatus der Sauen im Bestand

In jedem der 10 Studienbestände wurden Blutserumproben von Sauen im Abferkelstall gewonnen und mittels ELISA (Ingezim Circo IgG®, Ingenasa, Madrid, Spanien) auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper untersucht. Eine direkte Zuordnung der beprobten Sauen zu den untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkeln ist nicht möglich.

In allen 10 untersuchten Beständen waren PCV2 spezifische IgG-Antikörper im Blutserum von Sauen die vor 3 Wochen abgeferkelt hatten nachweisbar. Der Anteil der Sauen, bei denen PCV2 spezifische IgG-Antikörper gefunden werden konnten, variierte innerhalb der Bestände zwischen 70% und 100% der untersuchten Tiere (Tabelle 9).

Die erdrückten Ferkel wurden je nach bestandsspezifischer PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen in 2 Gruppen eingeteilt. Die Anzahl und der Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben, sowie die ermittelten mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte und die Standardabweichung der PCV2-Ct-

Werte in Organpoolproben der beiden Gruppen sind in Tabelle 23 dargestellt. Die Häufigkeit des PCV2-Genomnachweises in Organpoolproben erdrückter Saugferkel unterschied sich in den beiden Gruppen nicht signifikant ($p=0,120$) (Kreuztabelle). Die mittleren PCV2-Ct-Werte in Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit einer PCV2-IgG-Antikörperprävalenz von 100% bei Sauen waren tendenziell höher, als in Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit niedrigerer PCV2-IgG-Antikörperprävalenz ($p=0,065$) (t-Test).

Tabelle 23: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in PCV2-Genom positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen

PCV2-IgG-Antikörperprävalenz Sauen	Anzahl Bestände	Organpoolproben n (positiv)/ n (gesamt) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
< 100%	4	61/89 (68,5%) 32,2/ 26,7/ 34,9/ 1,7
100%	6	42/74 (56,8%) 32,8/ 29,6/ 34,7/ 1,4
Gesamt	10	103/163 (63,2%) 32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6

Tabelle 24 zeigt die Verteilung der auf Einzelorganebene untersuchten 54 Ferkel in die beiden Gruppen entsprechend der ermittelten PCV2-IgG-Antikörperprävalenz bei Sauen des jeweiligen Bestandes, sowie die Anzahl und den Anteil PCV2-Genom positiver einzelner Organe von Ferkeln in den beiden Gruppen. Die Häufigkeit des Nachweises von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in den Einzelorganproben unterschied sich in den beiden Gruppen nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,361, für das Herz 0,289, für die Milz 0,910, für den Inguinal Lymphknoten 0,443 und für den Thymus 0,399 (Kreuztabellen).

Tabelle 24: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen

PCV2-IgG-Antikörperprävalenz Sauen	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv)/ n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)	Gesamt n (positiv)/ n (gesamt)
<100%	12/23 (52,2%)	10/23 (43,5%)	13/23 (56,5%)	15/23 (65,2%)	13/23 (56,5%)	63/115 (54,7%)
100%	20/31 (64,5%)	18/31 (58,1%)	18/31 (58,1%)	17/31 (54,8%)	21/31 (67,7%)	94/155 (60,6%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)	157/270 (58,1%)

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den einzelnen Organen in den beiden Gruppen sind in Tabelle 25 dargestellt. Die mittleren PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Ferkeln der beiden Gruppen. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,366, für das Herz 0,448, für die Milz 0,937, für den Inguinal Lymphknoten 0,578 und für den Thymus 0,936 (t-Test).

Tabelle 25: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen

PCV2-IgG-Antikörperprävalenz Sauen	Lunge (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
<100%	32,7/ 30,7/ 34,1/ 0,9	32,7/ 30,8/ 34,3/ 1,2	32,9/ 28,9/ 34,9/ 1,8	33,2/ 30,5/ 34,9/ 1,3	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,1
100%	33,1/ 30,2/ 34,9/ 1,4	33,1/ 30,0/ 34,9/ 1,3	33,0/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,0/ 30,5/ 34,5/ 1,1	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0
Gesamt	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

4.6. Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben

In jedem Studienbestand wurden Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen in der 6., 12., 16. und 20. Lebenswoche gewonnen und mittels Multiplex PCR (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland) auf das Vorhandensein von PCV2-Genom untersucht. Insgesamt wurden 337 Kaustrick-Sammelspeichelproben aus den 10 Beständen in die Untersuchung eingeschlossen. In 56,7% (191/337) der untersuchten Kaustrick-Sammelspeichelproben konnten PCV2-Genomfragmente gefunden werden. Die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom positiven Kaustrick-Sammelspeichelproben variierte in den Beständen zwischen 26,5% (9/34) und 100% (32/32) der untersuchten Proben (Tabelle 9). Die mediane Gesamtprävalenz von PCV2-Genom positiven Kaustrick-Sammelspeichelproben über alle 10 Bestände lag bei 55,6%. Die erdrückten Saugferkel wurden entsprechend der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen in 2 Gruppen eingeteilt, je nachdem, ob die Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben im Bestand über oder unter dem Median (55,6%) lag.

Tabelle 26 zeigt sowohl die Verteilung der untersuchten erdrückten Saugferkel in die beiden Gruppen, als auch die Anzahl und den Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Organpoolproben, sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in PCV2-Genom positiven Organpoolproben, in den beiden Gruppen. In Beständen, in denen die Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben unter dem Median von 55,6% lag, konnte in Organpoolproben erdrückter Saugferkel signifikant häufiger PCV2-DNA gefunden werden, als in Beständen mit einer Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben über dem medianen Wert von 55,6% ($p=0,019$) (Kreuztabelle). Die mittleren PCV2-Ct-Werte in Organpoolproben der beiden Gruppen unterschieden sich nicht

signifikant ($p=0,429$) (t-Test).

Tabelle 26: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel ($n=163$), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in PCV2-DNA positiven Organpoolproben ($n=103$), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen

Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben	Anzahl Bestände	Organpoolproben n (positiv)/ n (gesamt) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
< Median (55,6%)	5	52/71 (73,2%) 32,4/ 26,7/ 34,9/ 1,7
> Median (55,6%)	5	51/92 (55,4%) 32,6/ 28,9/ 34,9/ 1,5
Gesamt	10	103/163 (63,2%) 32,5/ 26,7/ 34,9/ 1,6

Die Verteilung der auf Einzelorganebene untersuchten 54 Ferkel in die beiden Gruppen, entsprechend der ermittelten Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben des jeweiligen Bestandes, sowie die Anzahl und den Anteil PCV2-Genom positiver einzelner Organe von Ferkeln in den beiden Gruppen, sind in Tabelle 27 dargestellt. Die Häufigkeit des Nachweises von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in den Einzelorganproben unterschied sich in den beiden Gruppen nicht signifikant. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,580, für das Herz 1,000, für die Milz 0,783, für den Inguinal Lymphknoten 0,580 und für den Thymus 1,000 (Kreuztabellen).

Tabelle 27: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben ($n=270$) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen

Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben	Lunge n (positiv)/ n (gesamt)	Herz n (positiv)/ n (gesamt)	Milz n (positiv)/ n (gesamt)	Ing. Ln. n (positiv) / n (gesamt)	Thymus n (positiv)/ n (gesamt)	Gesamt n (positiv)/ n (gesamt)
< Median (55,6%)	17/27 (63%)	14/27 (51,9%)	16/27 (59,3%)	17/27 (63%)	17/27 (63%)	81/135 (60%)

> Median (55,6%)	15/27 (55,6%)	14/27 (51,9%)	15/27 (55,6)	15/27 (55,6%)	17/27 (63%)	76/135 (56,3%)
Gesamt	32/54 (59,3%)	28/54 (51,9%)	31/54 (57,4%)	32/54 (59,3%)	34/54 (63%)	157/270 (58,1%)

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

Die mittleren, minimalen und maximalen PCV2-Ct-Werte, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den einzelnen Organen in den beiden Gruppen sind in Tabelle 28 dargestellt. Die mittleren PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Ferkeln der beiden Gruppen. Die p-Werte betragen für die Lunge 0,541, für das Herz 0,371, für die Milz 0,111, für den Inguinal Lymphknoten 0,134 und für den Thymus 0,656 (t-Test).

Tabelle 28: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-Genomprävalenz in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen

Nachweis- häufigkeit von PCV2- Genom in Kaustrick- Sammel- speichel- proben	Lunge (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Herz (n=28) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Milz (n=31) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Ing. Ln. (n=32) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW	Thymus (n=34) Mittelwert/ Min/ Max/ StabW
< Median (55,6%)	33,0/ 31,3/ 34,9/ 1,0	33,2/ 30,0/ 34,9/ 1,3	32,5/ 27,9/ 34,9/ 1,9	33,4/ 30,5/ 34,8/ 1,2	33,5/ 31,6/ 34,9/ 1,2
> Median (55,6%)	32,8/ 30,2/ 34,9/ 1,5	32,7/ 30,8/ 34,3/ 1,1	33,5/ 28,9/ 34,9/ 1,6	32,8/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,7/ 31,6/ 34,9/ 0,9
Gesamt	32,9/ 30,2/ 34,9/ 1,3	32,9/ 30,0/ 34,9/ 1,2	32,9/ 27,9/ 34,9/ 1,8	33,1/ 30,5/ 34,9/ 1,2	33,6/ 31,6/ 34,9/ 1,0

Ing. Ln = Inguinal Lymphknoten

V. DISKUSSION

1. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

1.1. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Organpoolproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

In der vorliegenden Arbeit wurden Organpoolproben von 163 lebend geborenen erdrückten Saugferkeln mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht. Die Organpoolprobe jedes Ferkels setzte sich aus den 5 Organen Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten und Thymus zusammen. In der Literatur sind viele Studien zu finden, die sich dem Nachweis von PCV2-Genom, -Antigen oder Virus mittels verschiedenster Methoden aus den diversen Organen und Geweben, experimentell und natürlich mit PCV2 infizierter Schweine widmeten. Tabelle 3 gibt einen ausführlichen Überblick über diese Arbeiten. In einer Studie aus der Schweiz (KLAUSMANN et al., 2015) konnten in Thymusproben aller Schweine, sowohl der experimentell mit PCV2 infizierten Tiere, als auch der nicht infizierten Kontrolltiere PCV2-DNA positive Zellen gefunden werden. SYDLER et al. (2016) zeigten, dass ein Großteil der Hausschweinefeten Zellpools im Thymus besitzt, die mit PCV2 infiziert sind. Auf Grund dieser Berichte wurde der Thymus in dieser Arbeit in den zu untersuchenden Organpool eingeschlossen. PARK et al. (2005) beschrieben die Replikation von PCV2 bevorzugt in lymphatischen Organen von tot und lebend geborenen, mit PCV2 infizierten Ferkeln, weshalb hier außerdem die Milz und der Inguinal Lymphknoten mit zum Organpool beitrugen. Trotz bestehender Berichte, dass PCV2 in Proben aus dem Herz von postnatalen Ferkeln kaum zu finden war (SANCHEZ et al., 2003), vermuten andere Autoren, auf Grund der vermehrten Replikation von PCV2 in fetalen Herzzellen, dass dieses Gewebe am geeignetsten sei, um eine fetale PCV2-Infektion zu diagnostizieren (MADSON et al., 2009a). Da nicht ausgeschlossen werden konnte, dass es sich im Fall eines PCV2-Genomnachweises in

erdrückten Saugferkeln um eine bereits im Fetus erfolgte Infektion handelt, wurde das Herz in der vorliegenden Arbeit mit in den Organpool aufgenommen.

Basierend auf dem häufigen Vorkommen von PCV2 in der Lunge in anderen Arbeiten (ALLAN et al., 1995; DVORAK et al., 2013; KLAUSMANN et al., 2015), komplettierte dieses Organ den zu untersuchenden Organpool in der vorliegenden Studie. Gemäß der vor Beginn dieser Arbeit erfolgten Studienplanung sollte der Organpool und die sich daraus ergebende Einzelorganuntersuchung auf 5 Organe beschränkt bleiben, weshalb andere Organe wie etwa die Leber oder die Tonsillen, trotz häufigen Nachweises von PCV2 in der Literatur (PARK et al., 2005; PATTERSON et al., 2011a; KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016), in dieser Arbeit nicht untersucht wurden.

In den Organpoolproben von insgesamt 63,2% (103/163) der in dieser Studie untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel, konnte PCV2-Genom mittels PCR detektiert werden. Die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in den einzelnen Organpoolproben variiert dabei in den 10 untersuchten Beständen von 25% (4/16) bis 84,6% (11/13). Von ähnlichen PCV2-Genom Prävalenzen in Organpoolproben ein Tag alter, lebend geborener Saugferkel, berichtete auch eine Arbeit aus Südamerika (RINCÓN MONROY et al., 2015). Die Autoren untersuchten 4 Bestände und wiesen, je nach Bestand, in 5% bis 85% der Ferkelorganpoolproben, bestehend aus Lunge, Herz, Milz, Lymphknoten, Leber, Niere und Gehirn PCV2-DNA mittels PCR nach (RINCÓN MONROY et al., 2015). Das Vorfinden ähnlicher bestandsweiser PCV2-Genom-Prävalenzen in Saugferkeln, sowohl in der vorliegenden Arbeit, als auch in der Studie von RINCÓN MONROY et al. (2015), zeigt einerseits, dass sich die Häufigkeit früher PCV2-Infektionen bei Saugferkeln in verschiedenen Beständen deutlich unterscheiden kann, und legt andererseits die Vermutung nahe, dass die gewählten Organe in beiden Arbeiten geeignet waren, um eine frühe PCV2-Infektion von Saugferkeln zu detektieren. Dennoch lagen die gefundenen PCV2-Genom Prävalenzen in Saugferkeln bei RINCÓN MONROY et al. (2015) in 2 von 4 untersuchten Beständen bei lediglich

5%, und waren damit deutlich geringer, als die niedrigste Prävalenz von 25% in der vorliegenden Studie. Eine mögliche Ursache dafür könnte das Fehlen des Thymus im Organpool der Vergleichsarbeit sein, da in diesem Organ in anderen Arbeiten der häufigste Nachweis von PCV2 gelang (KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016). Außerdem berücksichtigte die Arbeit von RINCÓN MONROY et al. (2015) ausschließlich Ferkel von Jungsauen. Auf die Mögliche Einflussnahme der Parität des Muttertieres auf die vertikale Übertragung von PCV2 und die dadurch ermittelten Ergebnisse, wird in einem späteren Punkt detaillierter eingegangen.

Ein weiterer bedeutender Unterschied zwischen der vorliegenden Arbeit und der Arbeit von RINCÓN MONROY et al. (2015) bestand in der Auswahl der untersuchten Saugferkel, was ebenfalls eine mögliche Begründung für die etwas niedrigeren Bestandsprävalenzen darstellen könnte. Während in der Arbeit aus Südamerika von jedem zu untersuchenden Wurf 2 zufällig ausgewählte Ferkel euthanasiert wurden, zielte die vorliegende Studie auf die Untersuchung von Ferkeln ab, die in den ersten Lebenstagen und -Wochen erdrückt wurden. Natürlich muss berücksichtigt werden, dass die Untersuchung von erdrückten Saugferkeln, eine gewisse Vorauswahl der Studientiere darstellt, denn der potenzielle Einfluss einer möglichen Schwächung des Ferkels durch eine eventuelle (möglicherweise auch PCV2 assoziierte) Erkrankungssituation auf den Vorgang des Erdrückens, kann nicht ausgeschlossen werden. Die Verwendung erdrückter Saugferkel, anstatt eigens zum Zwecke der Diagnostik euthanasierter Tiere, lieferte in der vorliegenden Studie allerdings einen wichtigen Beitrag zur Reduktion der verwendeten Versuchstierzahlen im Rahmen des Grundsatzes der 3R (Reduction, Refinement, Replacement) und trug maßgeblich zum verantwortungsvollen Umgang mit Tieren in Tierversuchen bei. DVORAK et al. (2013) vermuten, dass die Untersuchung von Blutserumproben mittels PCR möglicherweise ungeeignet sei, den PCV2-Infektionsstatus von Schweinen zu bestimmen und anderes Probenmaterial wie etwa der Thymus passender sein könnten, den PCV2-Infektionsstatus in neugeborenen Ferkeln zu evaluieren (DIESTE-PÉREZ et al., 2018), da latente Infektionen in diesem Organ bei einer Vielzahl von Individuen

vorkommen (KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016). In der vorliegenden Untersuchung konnte aber weder der ethische, noch der finanzielle Aspekt des Tötens gesunder Saugferkel für die PCV2-Untersuchung den Wert des Ergebnisses aufwiegen, weshalb aus Sicht der Autoren die Verwendung erdrückter Saugferkel in dieser Arbeit mehr als gerechtfertigt war.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie offenbaren eine große Breite, was die bestandsspezifische PCV2-Genom-Prävalenz in Organpoolproben erdrückter Saugferkel anbelangt (25% bis 84,6%). Zu versuchen, diese große Divergenz zwischen den untersuchten Beständen, mit einem oder einigen wenigen sich unterscheidenden, bestandsspezifischen Faktoren zu erklären erscheint nicht sinnvoll. Vielmehr ist anzunehmen, dass verschiedenste Faktoren, einen Schweinebestand definieren und von anderen Beständen unterscheiden (zum Beispiel die Lage, die Bestandsgröße, die Genetik und die Herkunft der Tiere, die Remontierungsrate, der Infektionsstatus, durchgeführte Impfungen, das Management etc.), die allesamt ihren Teil zur Übertragungshäufigkeit von PCV2 von Muttersauen auf die Nachkommen beitragen können. Dennoch werden im Folgenden unter Punkt 2 einige dieser Faktoren aufgegriffen und deren mögliche Rolle für die vertikale Übertragung von PCV2 diskutiert.

Außerdem zeigen die vorliegenden Daten, dass das Alter der untersuchten erdrückten Saugferkel die Häufigkeit des Vorfindens PCV2-Genom positiver Organpoolproben und die Menge detektierter PCV2-DNA in diesen Proben nicht signifikant beeinflusst. Dies erscheint wenig überraschend, berücksichtigt man die Ergebnisse von SYDLER et al. (2016), die in allen untersuchten Schweinefeten PCV2 finden konnten und deshalb eine latente PCV2-Infektion in allen Schweinen, bereits während der Embryonalentwicklung vermuten. Geht man davon aus, dass alle Ferkel bereits mit einer PCV2-Infektion geboren werden und berücksichtigt man diesen lebenslangen Viruspool in den Ferkeln (SYDLER et al., 2016), erscheint das Fehlen einer Einflussnahme des Alters auf den Nachweis von PCV2-Genom in Saugferkeln in der vorliegenden Studie schlüssig. Der Nachweis von PCV2-DNA in der

Mehrzahl der hier untersuchten erdrückten Saugferkel und das Vorkommen PCV2-DNA positiver Proben in sehr jungen erdrückten Saugferkeln in allen untersuchten Beständen, spricht für die Theorie von SYDLER et al. (2016), kann diese aber auf Grund der ebenfalls bestehenden Möglichkeit einer sehr frühen postpartalen PCV2-Infektion (DVORAK et al., 2013) nicht abschließend bestätigen. Eine weitere Arbeit, die außerdem die Theorie einer bereits intrauterin stattfindenden PCV2-Infektion anstelle einer frühen postpartalen Infektion mit PCV2 in den hier untersuchten erdrückten Saugferkeln unterstützt, veröffentlichten YU et al. (2007). Sie konnten nach experimenteller Infektion von Ferkeln mit PCV2 erst nach 6 Tagen eine PCV2-Virämie feststellen und berichteten gleichzeitig vom Fehlen PCV2 spezifischer Genomfragmente in Blutserumproben 2 Tage nach der Infektion (YU et al., 2007). Berücksichtigt man das Vorfinden von PCV2-Genom in mehreren Organen in einer Vielzahl sehr junger untersuchter erdrückter Saugferkel und beachtet man das Fehlen einer PCV2-Virämie in den ersten Tagen nach einer PCV2-Infektion (YU et al., 2007), scheint es unwahrscheinlich, dass das generalisierte Vorkommen von PCV2-Genom in erdrückten Saugferkeln in der vorliegenden Arbeit auf eine PCV2-Infektion nach der Geburt zurückzuführen ist.

Um den exakten Infektionszeitpunkt der Ferkel bzw. der Feten mit PCV2 endgültig zu klären, wäre es notwendig die Organe von Feten verschiedenen Alters sowie von neugeborenen Ferkeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom bzw. PCV2-Antigen zu untersuchen. Diese Arbeiten bleiben zukünftigen Studien vorbehalten.

1.2. Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten in Einzelorganproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

In der vorliegenden Studie wurden jeweils 5 Organe von insgesamt 54 erdrückten Saugferkeln einzeln auf das Vorkommen von PCV2-DNA untersucht. Dabei unterschied sich die Häufigkeit eines PCV2-DNA Nachweises in den einzelnen Organen insgesamt nur gering. Mit 63% (34/54) positiven Proben, konnte PCV2-Genom am häufigsten im Thymus erdrückter Saugferkel festgestellt werden, gefolgt vom Inguinal

Lymphknoten und der Lunge mit jeweils 59,3% (32/54), der Milz mit 57,4% (31/54) und dem Herz mit 51,9% (28/54).

Auch in anderen Arbeiten konnten ähnliche Ergebnisse gefunden werden. So berichteten PARK et al. (2005) etwa, dass sich PCV2 in Ferkeln von Sauen, die während der Hochträchtigkeit intranasal mit PCV2 infiziert wurden, vor allem in den lymphatischen Organen replizierte. Während der Virusnachweis am häufigsten aus Proben von Thymus, Lymphknoten, Milz und Tonsille und seltener aus Lunge und Leber gelang, konnte im Herz und in den Nieren kein Virus gefunden werden (PARK et al., 2005). Auch SANCHEZ et al. (2003) fanden im Herz postnatal mit PCV2 infizierter Ferkel die niedrigste Nachweishäufigkeit von PCV2, verglichen mit Lunge, Milz und Inguinal Lymphknoten. Die Autoren begründeten den fehlenden Nachweis von PCV2 in Herzzellen damit, dass PCV2 zur Replikation auf die DNA-Polymerase der Wirtszelle und damit auf sich noch teilende Zellen angewiesen ist (SANCHEZ et al., 2003). Da ausdifferenzierte Herzmuskelzellen nach der Geburt allerdings irreversibel postmitotisch sind (RIEDE et al., 2017), stellen sie keine geeigneten Zielzellen für die PCV2-Replikation dar (SANCHEZ et al., 2003). Dass die Detektion von PCV2 im Herz dennoch gelang, schreiben SANCHEZ et al. (2003) dem Vorkommen von mit PCV2 infizierten Makrophagen zu, die in allen untersuchten Geweben zu finden waren. Die Replikation von PCV2 in Makrophagen und Lymphozyten wurde auch von anderen beschrieben (YU et al., 2007). Diese Autoren fanden Hinweise für eine PCV2-Replikation in Immunzellen, die sowohl frei im Blutkreislauf zirkulierten, als auch in Organen angesiedelt waren (YU et al., 2007). Auf Grund dieser Berichte kann spekuliert werden, dass die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Nachweise von PCV2-Genom in den verschiedenen Organen nicht zwingendermaßen mit einer PCV2-Besiedelung der jeweiligen Gewebe selbst einhergehen müssen, sondern, dass auch hier möglicherweise PCV2 tragende Immunzellen in den Geweben für die Detektion PCV2 spezifischer Genomfragmente mittels PCR verantwortlich waren. Um Klarheit über die tatsächlich mit PCV2 infizierten Zellen zu erlangen, wäre eine Untersuchung von Gewebeschnitten mittels Immunhistochemie (IHC) oder Fluoreszenz-In-

Situ-Hybridisierung (FISH) nötig gewesen. Da die untersuchten Ferkel jedoch im Vorfeld tiefgefroren wurden, was eine Untersuchung mit den genannten Methoden ausschließt, und die Identifikation der PCV2 tragenden Zellen nicht Ziel der vorliegenden Arbeit war, wurden diese Untersuchungen hier nicht durchgeführt, weshalb diese Frage letztendlich nicht mit Sicherheit geklärt werden kann.

Auch SYDLER et al. (2016) wiesen PCV2 am häufigsten in fetalen Thymi nach und berichteten von der niedrigsten PCV2-Prävalenz im fetalen Herz. Weil sie in ihrer Studie in 100% der untersuchten fetalen Thymusproben PCV2 nachweisen konnten, gehen diese Autoren von einer PCV2-Infektion aller Feten während der frühen Individualentwicklung und einer daraus resultierenden Betrachtung des Virus durch das fetale Immunsystem als körpereigen aus, in deren Folge es zu einer persistenten PCV2-Infektion kommt (KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016). Obwohl, übereinstimmend mit den Arbeiten von PARK et al. (2005) und SYDLER et al. (2016), auch in der vorliegenden Studie der PCV2-Genomnachweis am häufigsten in Thymusproben gelang, sind die hier ermittelten Ergebnisse im Thymus weit von der von SYDLER et al. (2016) beschriebenen 100 prozentigen PCV2-Prävalenz entfernt. Eine mögliche Ursache dafür, könnte unter anderem in der Untersuchungsmethode liegen. SYDLER et al. (2016) ermittelten die 100 prozentige Prävalenz von PCV2 in fetalen Thymi mittels einer Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH) von Gewebeschnitten, während in der vorliegenden Arbeit eine PCR zum Nachweis von PCV2 spezifischen Genomfragmenten diente. Außerdem muss beachtet werden, dass hier Organproben von lebend geborenen erdrückten Saugferkeln und keine fetalen Organe untersucht wurden, was im Hinblick auf den beschriebenen Wechsel der PCV2-Zielzellen während der Entwicklung vom Fetus zum frühen postnatalen Tier (SANCHEZ et al., 2003), von besonderer Bedeutung sein könnte und die abweichenden Ergebnisse erklären könnte.

Neben den hier ermittelten, insgesamt sehr nahe beisammen liegenden Nachweishäufigkeiten von PCV2-Genom in den 5 verschiedenen Organen, unterschieden sich auch die ermittelten mittleren PCV2-Ct-Werte zwischen den verschiedenen untersuchten Organen nur wenig.

Der höchste mittlere PCV2-Ct-Wert wurde mit einem Wert von 33,6 im Thymus festgestellt. Somit konnte im Thymus im Mittel die geringste Menge an PCV2-Genom nachgewiesen werden, trotz des insgesamt vergleichsweise häufigeren Nachweises von PCV2-DNA in diesem Gewebe. Dieses Ergebnis deckt sich mit denen einer Arbeit von YU et al. (2007), die in den Thymi von früh mit PCV2 infizierten Ferkeln, verglichen mit anderen Organen, ebenfalls die geringsten Mengen PCV2-DNA nachweisen konnten. Außerdem schließen die Autoren auf Grund des Fehlens von PCV2 spezifischer Kapsid m-RNA im Thymus darauf, dass der Thymus keine wichtige Rolle für die PCV2-Replikation zu spielen scheint (YU et al., 2007). Auch KLAUSMANN et al. (2015) fanden in Schweinethymi antigenpräsentierende Zellen, die große Mengen PCV2-DNA, jedoch kein PCV2-Antigen enthielten was ebenfalls gegen eine Replikation von PCV2 in diesen Zellen spricht. Die Kombination aus, im Thymus reichlich vorkommenden Lymphozyten und damit Zellen mit potenzieller PCV2-Replikation und dem Fehlen einer nachweisbaren Replikation von PCV2 in diesem Organ (YU et al., 2007), erscheint erstaunlich und hebt den besonderen Charakter dieses Immunorgans hervor.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass PCV2 in infizierten Feten einen scheinbaren Tropismus für Thymuszellen besitzt (SYDLER et al., 2016). Weil in der vorliegenden Untersuchung das Vorkommen von PCV2-Genom in Thymusproben häufiger war (wenn auch nur gering), als in den anderen untersuchten Organen, und die Prävalenz positiver Thymusproben deutlich niedriger war, als die berichteten 100% in Feten (SYDLER et al., 2016), deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass dieser Tropismus im Laufe der weiteren intrauterinen Entwicklung der Feten und der frühen postnatalen Phase zwar schwindet, jedoch nicht ganz verloren geht. Des Weiteren ist die Replikation von PCV2 im Thymus, verglichen mit anderen Geweben reduziert, was die vorliegenden Ergebnisse ebenfalls vermuten lassen und andere Arbeiten bestätigen können (YU et al., 2007; KLAUSMANN et al., 2015). Nichtsdestotrotz scheint das im Thymus vorhandene PCV2 einen latenten persistierenden Viruspool darzustellen, dessen potenzielles Reaktivierungspotenzial bei geeigneten Umweltbedingungen zu

wiederkehrenden PCV2-Virämien und zur Entwicklung PCV2 assoziierter Erkrankungsbilder in späteren Lebensabschnitten führen kann (KLAUSMANN et al., 2015; SYDLER et al., 2016).

Zwischen den einzelnen untersuchten Beständen, gab es teils beträchtliche Unterschiede, nicht nur bezüglich der Häufigkeit des Vorfindens von PCV2-Genom in verschiedenen Organproben einzelner erdrückter Ferkel, sondern auch hinsichtlich der gefundenen mittleren PCV2-Ct-Werte in den verschiedenen Organproben. Auch innerhalb des gleichen Bestandes variierten die ermittelten PCV2-Ct-Werte zum Teil erheblich. Auch SANCHEZ et al. (2004) fanden, trotz gleicher Versuchsbedingungen, gleicher Genetik und vergleichbaren Haltungsbedingungen der Versuchstiere in ihrer Studie nur in einem Teil der experimentell mit PCV2 infizierten Ferkel hohe Virusmengen in Lymphknoten und Milz. Daraus kann geschlossen werden, dass es neben bereits beschriebenen genetisch bedingten Unterschieden in der Empfänglichkeit für eine PCV2-Infektion (OPRIESSNIG et al., 2006; OPRIESSNIG et al., 2009) und eventuellen Unterschieden in Haltung und Management, auch noch andere tierindividuelle Faktoren geben muss, die die Replikation von PCV2 in einzelnen Tieren beeinflussen und so zu Unterschieden in der Nachweishäufigkeit und der nachgewiesenen Menge von PCV2-Genom führen können. Die vorliegenden Daten gaben keinen Aufschluss über dafür eventuell verantwortliche Faktoren, weshalb diese zu klären Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein muss. Trotz der durchwegs hohen ermittelten mittleren PCV2-Ct-Werte in den hier untersuchten Organproben, zeigten einzelne Proben in manchen Beständen auffallend niedrige PCV2-Ct-Werte weshalb anzunehmen ist, dass in diesen Proben deutlich mehr PCV2-Genom vorhanden war, als in den anderen Proben. Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten klinischer Erscheinungen von PCVD und der nachweisbaren Menge von PCV2-Genom in lymphatischen Geweben infizierter Schweine wurde schon von anderen beschrieben (BRUNBORG et al., 2004). Da aber weder in der vorliegenden Untersuchung, noch in anderen Arbeiten (SANCHEZ et al., 2004), trotz hoher PCV2-Genom- bzw. Virusmengen in untersuchten lymphatischen Geweben klinische Symptome beobachtet

werden konnten, die auf eine PCVD hindeuten, kann angenommen werden, dass es neben dem Grad der Virusreplikation in den lymphatischen Organen noch andere Aspekte gibt, die zur Ausbildung einer PCVD Klinik führen können. An dieser Stelle muss allerdings auch kritisch festgehalten werden, dass die alleinige Detektion von PCV2-Genom in Organen mittels PCR lediglich das Vorhandensein von virusspezifischen Nukleinsäure Sequenzen bestätigt, nicht aber den tatsächlichen Nachweis von Virus widerspiegeln kann. Deshalb konnte mit der hier verwendeten Untersuchungsmethode letztlich nicht sicher geklärt werden, ob es sich in den untersuchten Proben um replizierendes, bzw. potentiell infektiöses Virus gehandelt hat, oder nicht.

2. Assoziation verschiedener unabhängiger Faktoren mit dem Nachweis PCV2 spezifischer Genomfragmente in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln

2.1. Geschlecht

In dieser Studie konnten PCV2 spezifische Genomfragmente in Organpoolproben von 70,4% (50/71) der männlichen und in 57,6% (53/92) der weiblichen erdrückten Saugferkel gefunden werden. Die Nachweisrate von PCV2-Genom war in Organpoolproben männlicher Ferkel damit tendenziell höher, als in Organpoolproben weiblicher Ferkel. Andere Arbeiten, die sich bisher mit der Übertragung von PCV2 auf Saugferkel beschäftigten, berücksichtigten dabei nicht das Geschlecht der untersuchten Ferkel (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013; RINCÓN MONROY et al., 2015; EDDICKS et al., 2016), jedoch gibt es Studien, die die geschlechtsabhängige Anfälligkeit für PCV2 assoziierte Erkrankungsbilder evaluierten. RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) untersuchten Tiere aller Altersklassen eines Bestandes, in dem Tiere Symptome einer PCV2-SD zeigten. Dabei beschrieben sie eine signifikant höhere PCV2-SD bedingte Mortalität von männlichen Tieren dieser Herde, verglichen mit weiblichen Artgenossen und begründeten

diese, basierend auf Ergebnissen von CORRÉGÉ et al. (2001), mit einem durch die Kastration männlicher Tiere bedingten höheren Infektionsrisiko für primäre und sekundäre Pathogene (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Eine spanische Studie fand keine Unterschiede in der PCV2-SD bedingten Mortalität zwischen weiblichen Tieren und nicht kastrierten Ebern, was den möglichen Einfluss einer Kastration für die Anfälligkeit gegenüber einer PCV2-SD unterstützt (LÓPEZ-SORIA et al., 2011). In der vorliegenden Studie wurden lediglich die Geschlechter der untersuchten erdrückten Saugferkel erhoben, nicht jedoch, ob männliche Tiere kastriert oder intakt waren. Da der Großteil der untersuchten Saugferkel aber noch relativ jung war (mehr als 50% der Ferkel waren 3 Tage alt oder jünger), und die Kastration in der Regel in der ersten Lebenswoche stattfindet, ist davon auszugehen, dass sich unter den untersuchten Ferkeln zumindest einige nicht kastrierte männliche Tiere befanden. Demnach kann die in dieser Studie ermittelte höhere Prävalenz von PCV2-Genom in Organpoolproben männlicher Ferkel nicht durch die Kastration alleine begründet werden. KLAUSMANN et al. (2015) entwickelten ein neues PCV2-Infektionsmodell an Schweinen und infizierten dazu 4 Wochen alte Ferkel mit PCV2 unter gleichzeitiger Verabreichung eines immunsuppressiven Medikamentes. Bei weiblichen, experimentell infizierten Tieren konnte im Unterschied zu den männlichen Tieren der Studie, ohne die gleichzeitige Verabreichung des immunsuppressiven Medikamentes kein PCV2-Genom nachgewiesen werden, woraus die Autoren auf eine generell geringere Anfälligkeit weiblicher Ferkel gegenüber PCV2 schließen (KLAUSMANN et al., 2015). Daher scheint es denkbar, dass sich weibliche Ferkel in den Studienbeständen, auf Grund einer generell geringeren Anfälligkeit für PCV2, seltener mit diesem Virus infiziert haben.

Das Vorkommen von PCV2-Genom im Thymus weiblicher Ferkel war hingegen mit 75% (24/32) signifikant häufiger, als im Thymus männlicher Saugferkel mit 45,5% (10/22) positiver Proben. Basierend auf der insgesamt geringeren Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Organpoolproben weiblicher Tiere, verglichen mit männlichen Artgenossen, und dem Fehlen signifikanter geschlechtsabhängiger

Unterschiede in den anderen 4 untersuchten Organen in der vorliegenden Arbeit, erstaunt diese Divergenz für den Thymus umso mehr. Bekannt ist, dass es geschlechtsabhängige Unterschiede in der Entwicklung und der Funktion des Immunsystems gibt (SHAMES, 2002) und, dass Geschlechtshormone die Immunantwort beeinflussen können (BRICK et al., 1985). So fanden SUN et al. (2012) nach experimenteller Infektion von Ferkeln mit PCV2 höhere PCV2 spezifische IgG-Antikörpertiter in weiblichen Ferkeln, verglichen mit männlichen Tieren. Auch Versuche mit Mäusen zeigten, dass T-Lymphozyten weiblicher Tiere stärker auf körperfremde Antigene reagierten, als diese Zellen männlicher Artgenossen (WEINSTEIN et al., 1984). Zu den genauen Effekten der unterschiedlichen Geschlechtshormone auf die Entwicklung des Immunsystems ist wenig bekannt, allerdings könnten diese Hormone die Entwicklung beeinflussen und zu geschlechterspezifischen Effekten auf den Thymus führen (SHAMES, 2002). Möglicherweise sind bisher nicht näher bekannte Interaktionen zwischen dem endokrinen System und dem Immunsystem, die sich zwischen männlichen und weiblichen Individuen unterscheiden und so zu abweichenden immunologischen Funktionen des Thymus führen, für das hier ermittelte signifikant unterschiedliche Vorkommen von PCV2-Genom in diesem Organ verantwortlich.

2.2. Parität der Muttersau

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten keinen signifikanten Einfluss der Parität der Muttersau auf die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom in Organpoolproben erdrückter Saugferkel zeigen. Dennoch waren Ferkel von Jungsaunen in der 1. Parität, mit einem Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben von 75% (18/24) häufiger positiv, als Ferkel von Altsauen der 2.-4. Parität mit einem Anteil von 65,4% (63/81) bzw. Ferkel alter Altsauen mit 5 oder mehr Würfen mit einem Anteil von 56,4% (31/55) PCV2-Genom positiver Organpoolproben.

RINCÓN MONROY et al. (2015) berichteten, dass subklinisch mit PCV2 infizierte Jungsaunen gesund erscheinende PCV2 infizierte Ferkel zur Welt bringen können. Sie untersuchten ebenfalls Organpoolproben von

neugeborenen Jungsauenferkeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom und konnten PCV2-DNA in 27,5% (22/80) der Proben nachweisen, was die Autoren auf eine intrauterine Infektion der Feten durch PCV2 virämische Sauen schließen lässt (RINCÓN MONROY et al., 2015). Eine mögliche Erklärung für den deutlich niedrigeren Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben in der Studie von RINCÓN MONROY et al. (2015), verglichen mit den hier gefundenen Ergebnissen, kann die Zusammensetzung der Organpoolproben liefern. Während sich der Organpool in der vorliegenden Studie aus den 5 Organen Lunge, Herz, Milz, Inguinal Lymphknoten und Thymus zusammensetzte, wurde in der Arbeit von RINCÓN MONROY et al. (2015) der Thymus ausgeschlossen, dafür wurden aber zusätzlich die Leber, die Niere und das Gehirn mit in den Organpool aufgenommen. Eine kürzlich veröffentlichte Studie zeigte, dass im Thymus von Feten, mit einer Prävalenz von 100%, deutlich häufiger PCV2-Genomfragmente nachgewiesen werden konnten, als in anderen fetalen Organen (SYDLER et al., 2016), und KLAUSMANN et al. (2015) vermuten, dass der Thymus von Schweinefeten latent PCV2 infizierte Zellen enthalten könnte. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Untersuchung von Organproben zur Ermittlung des PCV2-Infektionsstatus immer auch den Thymus miteinschließen sollte.

Während DVORAK et al. (2013) keinen Einfluss der Parität der Muttersau auf die intrauterine Übertragung von PCV2 auf die Nachkommen fanden, berichteten SHEN et al. (2010) von den höchsten intrauterinen PCV2-Übertragungsraten in den Beständen, in denen ausschließlich Jungsauen und deren Ferkel untersucht wurden. Obwohl auch in der vorliegenden Studie kein signifikanter Einfluss der Parität auf das Vorkommen von PCV2-DNA in Organproben erdrückter Saugferkel gefunden werden konnte, war der Anteil PCV2 positiver Ferkel von Jungsauen dennoch höher. Kürzlich publizierte Ergebnisse einer Querschnittsuntersuchung in einem Sauenbestand in Deutschland fanden in eingegliederten Jungsauen und in Sauen der 1. Parität signifikant häufiger PCV2-Virämien, als in Altsauen mit 2 und mehr Würfen (EDDICKS et al., 2019). Da eine PCV2-Virämie der Muttersau eine essentielle Voraussetzung für

die intrauterine Übertragung von PCV2 auf die Feten darstellt (PENSAERT et al., 2004), ist davon auszugehen, dass Jungsauenferkel während der Trächtigkeit häufiger mit PCV2 infiziert werden, als Ferkel älterer Sauen, auch wenn in der vorliegenden Studie diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede gezeigt werden konnten. Neben der Möglichkeit einer intrauterinen Übertragung von PCV2 ist zu berücksichtigen, dass die Ausscheidungen jüngerer Tiere häufiger PCV2 enthalten, als die Exkrete älterer Sauen (SHIBATA et al., 2003; EDDICKS et al., 2019) und, dass die hier gefundenen höheren PCV2-Nachweisraten in Jungsauenferkeln deshalb auch auf eine häufigere frühe vertikale Infektion nach der Geburt zurückgeführt werden könnten. Demnach ist davon auszugehen, dass subklinisch mit PCV2 infizierte Jungsauen, einerseits durch die Ausscheidung von PCV2 und andererseits durch die Geburt gesund erscheinender, aber mit PCV2 infizierter Ferkel, maßgeblich zur vertikalen und horizontalen Verbreitung dieses Erregers in Schweinebeständen beitragen können (RINCÓN MONROY et al., 2015).

Dass die in dieser Studie ermittelten Nachweisraten von PCV2-Genom in Organen erdrückter Jungsauenferkel nicht signifikant höher waren, als die Nachweisraten in Altsauenferkeln, obwohl ein signifikant häufigeres Vorkommen von PCV2-Virämien in Jungsauen, verglichen mit Altsauen beschrieben wurde (EDDICKS et al., 2019), zeigt, dass ein direkter Vergleich des Virämiestatus der Muttersauen mit dem Infektionsstatus ihrer Ferkel nicht immer möglich ist. Auch andere Studien fanden keinen Zusammenhang zwischen einer PCV2-Virämie bei Sauen und dem PCV2-Genomnachweis in Blutserumproben ihrer neugeborenen Ferkel (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013).

Eine weitere Möglichkeit für das Fehlen signifikanter Unterschiede in diesem Punkt könnte in der Anzahl der untersuchten erdrückten Saugferkel in den 3 verschiedenen Gruppen liegen. Insgesamt wurden 24 Ferkel aus 17 Jungsauenwürfen, 81 Ferkel aus 56 Altsauenwürfen, 55 Ferkel aus 40 Würfen alter Altsauen und 3 Ferkel aus 3 Würfen mit unbekannter Parität untersucht. In der Arbeit von EDDICKS et al. (2019) wurden alle Sauen, die mehr als einmal Ferkel geboren hatten der

Gruppe der Altsauen zugeordnet, wodurch die Serumproben von insgesamt 45 primiparen Sauen und 161 Altsauen auf den Inhalt von PCV2-Genom untersucht wurden. Dieser Einteilung folgend würden in der hier vorliegenden Studie 17 Jungsauen einer Anzahl von 96 Altsauen gegenüberstehen, deren Ferkel in die Untersuchung eingeschlossen wurden. Dementsprechend sind die Jungsauen im Vergleich zu den Altsauen hier, verglichen mit oben genannter Arbeit, deutlich unterrepräsentiert, was möglicherweise das nicht Zustandekommen signifikanter Unterschiede in der Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom in erdrückten Saugferkeln der verschiedenen Gruppen erklären könnte.

2.3. Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2

Insgesamt konnte in Organpoolproben von 63,2% (103/163) der lebend geborenen erdrückten Saugferkel PCV2-DNA nachgewiesen werden. Bei den Ferkeln aus Beständen, die ihre Muttersauen regelmäßig produktionsorientiert gegen PCV2 impften, konnten mit einem Anteil von 41,7% (10/24) signifikant seltener PCV2 spezifische Genomfragmente in Organpoolproben der erdrückten Saugferkel gefunden werden, als bei Ferkeln aus Beständen ohne regelmäßige PCV2-Impfung der Muttertiere, bei denen der Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben 66,9% (93/139) betrug. Diese Ergebnisse sind ähnlich zu denen der Arbeit von SYDLER et al. (2016), die PCV2-DNA sowohl in den Organproben von Feten finden konnten, deren Muttersauen gegen PCV2 geimpft waren, als auch in den Organproben von Feten ungeimpfter Muttertiere. Auch SHEN et al. (2010) berichteten von PCV2-Genom im Serum von neugeborenen Ferkeln vor der Aufnahme von Kolostrum, in Beständen mit und ohne PCV2-Impfung bei Muttersauen.

Der Bestand mit der niedrigsten Prävalenz von PCV2-Genom in Organpoolproben erdrückter Saugferkel war Bestand 5 und damit einer der beiden Bestände, die eine regelmäßige PCV2-Impfung bei Sauen durchführten. Die insgesamt signifikant niedrigere Prävalenz von PCV2-Genom in Organpoolproben von erdrückten Ferkeln, die aus Beständen mit PCV2-Sauenimpfung kamen, könnte darauf hindeuten, dass eine regelmäßige PCV2-Impfung der Sauen die Ferkel teilweise vor einer

Infektion mit PCV2 schützt. Ein ähnliches Ergebnis lieferte auch eine Studie aus Südamerika (RINCÓN MONROY et al., 2015), in der ebenfalls Organpoolproben von neugeborenen Jungsauenferkeln auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht wurden, und in der die niedrigste PCV2-Genomprävalenz von 5% unter anderem im Bestand mit gegen PCV2 geimpften Jungsauen festgestellt werden konnte. Auch andere verwiesen auf einen protektiven Effekt einer PCV2-Impfung bei Sauen vor einer intrauterinen Übertragung dieses Virus oder einer frühen postpartalen Infektion der Ferkel mit PCV2 via Kolostrum (MADSON & OPRIESSNIG, 2011; O'NEILL et al., 2012).

DVORAK et al. (2016) beschrieben, dass es seit der Einführung von PCV2-Vakzinen in den USA im Jahr 2006 zu einem deutlichen Rückgang der Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Virämien in vielen US-amerikanischen Schweinebeständen kam. In einer anderen Arbeit aus den USA wurde der Effekt einer PCV2-Sauenimpfung auf den PCV2-Status der Sauen und deren Nachkommen untersucht, indem trächtige Sauen gegen PCV2 geimpft und anschließend mit PCV2 infiziert wurden (MADSON et al., 2009b). Die Autoren berichteten, dass gegen PCV2 geimpfte Sauen nach experimenteller PCV2-Infektion keine PCV2-Virämie entwickelten (MADSON et al., 2009b). Auch DIAS et al. (2013) untersuchten in einer Feldstudie Sauen und deren Nachkommen in Beständen mit und ohne PCV2-Sauenimpfung auf das Vorkommen von PCV2 und konnten keine PCV2 virämische Sau im Impfbestand finden. Daraus schließen die Autoren, dass die Impfung der Muttertiere gegen PCV2 die PCV2-Virämie in diesen Tieren reduzieren kann und dadurch möglicherweise auch die Häufigkeit des Auftretens einer fetalen Infektion der Nachkommen verringert (DIAS et al., 2013). Dennoch scheinen die PCV2-Sauenimpfung und die damit verbundenen hohen PCV2-Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Abferkelung keinen absoluten Infektionsschutz für die Ferkel zu bieten, worauf die Ergebnisse dieser Studie und die Berichte anderer Untersuchungen hindeuten (MADSON et al., 2009b; GERBER et al., 2012; DIAS et al., 2013).

Neben der Möglichkeit, dass eine Impfung der Muttertiere gegen PCV2 die PCV2-Virämie bei Sauen verhindert und damit eine intrauterine

Übertragung des Virus auf die Feten reduziert, könnte auch die durch eine PCV2-Impfung erreichte Reduktion der Virusausscheidung über diverse Se- und Exkrete die vertikale Übertragung von PCV2 nach der Geburt verringern. Es konnte gezeigt werden, dass eine Impfung gegen PCV2 die Ausscheidung dieses Virus im Kolostrum, sowie in nasalen und rektalen Sekreten reduzieren kann (FORT et al., 2008; GERBER et al., 2011). Dementsprechend würden Ferkel in Beständen mit regelmäßiger PCV2-Impfung der Sauen, in einer Haltungsumgebung geboren werden, die geringer mit PCV2 kontaminiert ist, als die Umgebung in Nichtimpfbeständen. In weiterer Folge wäre der PCV2-Infektionsdruck für die Ferkel in den ersten Lebenstagen- und Wochen in PCV2-Sauenimpfbeständen geringer, was im Hinblick auf die hohe Widerstandsfähigkeit (WELCH et al., 2006) dieses Erregers von entscheidender Bedeutung für das Infektionsgeschehen sein kann. Davon mehreren Autoren beschrieben wurde, dass die Wahrscheinlichkeit einer PCV2-SD bei Schweinen steigt, je früher die Infektion der Tiere mit PCV2 stattfindet (LÓPEZ-SORIA et al., 2005; ROSE et al., 2009), ist die Sauenimpfung gegen PCV2 und die damit verbundene Verringerung der PCV2-Ausscheidung, als ein wichtiger Punkt zur Prävention der PCV2-SD anzusehen. FRAILE et al. (2012b) konnten höhere tägliche Gewichtszunahmen und ein selteneres Vorkommen von PCV2-Virämien in gegen PCV2 geimpften Ferkeln finden, die von gegen PCV2 geimpften Muttertieren geboren wurden, verglichen mit Ferkeln von ungeimpften Muttertieren, was ebenfalls die Vorteile einer PCV2 Sauenimpfung in Bezug auf die Ferkelgesundheit verdeutlicht. Dennoch konnte der Effekt der Reduktion der PCV2-Ausscheidung durch eine PCV2-Impfung nicht in allen Studien bestätigt werden (DVORAK et al., 2013).

Die geringere Prävalenz von PCV2-DNA positiven Organpoolproben in PCV2-Sauenimpfbeständen könnte, neben den möglichen erläuterten Effekten der PCV2-Sauenimpfung auf die vertikale intrauterine oder vertikale postpartale Infektion der Ferkel auch in der Auswahl der untersuchten erdrückten Saugferkel liegen. Die Landwirte wurden angewiesen, für einen Zeitraum von einigen Wochen vor dem Bestandsbesuch und der durchgeführten Probenentnahme, alle lebend

geborenen erdrückten Saugferkel, die im Bestand anfielen, einzusammeln und tiefzufrieren. Trotz dieser zufälligen Auswahl von erdrückten Ferkeln, wurde keines der 24 gesammelten Ferkel in den beiden PCV2-Sauenimpfbeständen von einer Jungsau in der 1. Parität geboren. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigten, dass in Organpoolproben von Jungsauenferkeln im Vergleich zu Ferkeln höherer Paritäten häufiger PCV2-Genom gefunden werden konnte. Durch das Fehlen dieser Ferkel in der Gruppe der Ferkel aus Beständen mit PCV2-Sauenimpfung, kann das signifikant geringere Vorkommen von PCV2-Genom in Organpoolproben in dieser Gruppe ebenfalls erklärt werden.

Obwohl die Häufigkeit des Nachweises von PCV2-Genom in Organpoolproben von erdrückten Saugferkeln aus Beständen mit PCV2-Sauenimpfung signifikant geringer war, als bei Ferkeln aus Beständen ohne diese Impfung, wurde bei der Untersuchung von Organproben des Herzens eine gegenteilige Tendenz deutlich. Demnach konnte in der vorliegenden Untersuchung in 80% (8/10) der untersuchten Herzproben von Ferkeln aus PCV2-Sauenimpfbeständen PCV2-Genom nachgewiesen werden, während der Anteil PCV2-DNA positiver Herzproben bei Ferkeln aus Beständen ohne PCV2-Impfung der Muttertiere bei lediglich 45,5% (20/44) lag. Ein Einfluss einer PCV2-Impfung von trächtigen Muttersauen auf die Verteilung von PCV2 in den Feten wurde von SYDLER et al. (2016) gefunden. Sie berichteten, dass die PCV2-Impfung der Muttertiere die fetalen PCV2-Pools in der Milz reduzieren und gleichzeitig im Darm erhöhen kann (SYDLER et al., 2016). Das Herz wurde in der Untersuchung von SYDLER et al. (2016) nicht miteingeschlossen. Demnach wäre es denkbar, dass die Impfung der Muttersauen gegen PCV2 neben den beschriebenen Veränderungen in den PCV2-Pools in der Milz und im Darm auch das Vorkommen dieses Virus im Herz der Nachkommen beeinflussen kann. Basierend auf den Ergebnissen von SYDLER et al. (2016) und den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann vermutet werden, dass eine Impfung von Muttersauen die Prävalenz in zahlreichen Organen beeinflussen kann. Weder der genaue Hergang, der zu unterschiedlichen Verteilungen von PCV2 in Feten führt, noch die Bedeutung unterschiedlicher PCV2-Verteilungen in den Organen für das

Tier selbst sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt bekannt. Dennoch liefern diese Ergebnisse einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der unterschiedlichen Immunantworten in den verschiedenen Organen und können dabei helfen effiziente Impfstrategien gegen chronische und latente Virusinfektionen zu entwickeln (SYDLER et al., 2016).

SANCHEZ et al. (2001) berichteten, dass PCV2-Antigen nach intrauteriner PCV2-Infektion von Feten sowohl qualitativ, als auch quantitativ bevorzugt im Herzen der Feten zu finden ist. Außerdem schien es, dass der Tropismus von PCV2 zu fetalen Herzzellen mit zunehmendem Alter der Feten abnahm (SANCHEZ et al., 2001). In der vorliegenden Studie lag das mediane Alter der 10 auf Einzelorganebene untersuchten erdrückten Saugferkel aus PCV2-Sauenimpfbeständen bei 2,5 Tagen, während der Median bei den 44 Ferkeln aus Beständen ohne diese Impfung bei 3 Tagen lag. Möglicherweise könnte der in dieser Studie ermittelte signifikante Unterschied in der Prävalenz von PCV2-Genom in Herzproben erdrückter Saugferkel aus PCV2-Sauenimpfbeständen und Beständen ohne PCV2-Sauenimpfung auch mit dem geringeren Alter der Saugferkel aus erstgenannter Gruppe und dem beschriebenen altersabhängigen Tropismus von PCV2 zu Herzzellen begründet werden.

2.4. Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichelproben der Sauen im Bestand

In jedem der 10 Studienbestände wurden Speichelproben von jeweils 10 Sauen im Abferkelstall gewonnen und auf den Gehalt von PCV2 spezifischen Genomfragmenten untersucht. Damit sollte der PCV2-Ausscheidungsstatus von Sauen in den Beständen ermittelt werden. In 9 von 10 Beständen konnte PCV2-Genom in einer oder mehreren Sauenspeichelproben gefunden werden, was eine Ausscheidung dieses Virus über den Speichel durch Muttersauen belegt. Insgesamt waren in den 10 Beständen zwischen 0% und 100% der Speichelproben von Muttersauen im Abferkelstall PCV2-DNA positiv. Auch andere Studien fanden einen hohen Anteil von PCV2 ausscheidenden Muttersauen im Abferkelstall (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2011; DVORAK et al., 2013).

Die Aufteilung der untersuchten erdrückten Saugferkel in zwei Gruppen, in Abhängigkeit von der PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben in \leq Median (30%) und $>$ Median (30%) ergab, dass in den Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit höherer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben, mit einem Anteil von 71,6% (48/67), tendenziell häufiger PCV2-DNA gefunden werden konnte, als in Ferkeln aus Beständen, in denen die Prävalenz von PCV2-Genom in Sauenspeichelproben niedriger war (57,3% (55/96)). Auch bei DVORAK et al. (2013) korrelierte in einigen Beständen die Ausscheidung großer Mengen von PCV2 über den Speichel von Muttersauen mit dem Nachweis einer hohen PCV2-Virusload in deren Nachkommen. PATTERSON et al. (2011a) berichteten davon, dass der Nachweis von PCV2-Genom in fäkalen, oralen und nasalen Ausscheidungen das Vorkommen von PCV2-Genom in Serumproben von PCV2 infizierten Schweinen widerspiegelte. Obwohl in der vorliegenden Studie lediglich Speichelproben und keine Blutserumproben von Sauen auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht wurden, kann auf Grund dieser Ergebnisse spekuliert werden, dass in Beständen mit höherer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben auch häufiger PCV2-Virämien bei Sauen nachweisbar wären. Während einer Virämie kann das Virus die Plazenta überqueren und die Feten infizieren (PENSAERT et al., 2004). Dementsprechend würde es in Beständen mit höherer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben vermehrt zu einer fetalen Infektion der Ferkel kommen, was die Ergebnisse dieser Untersuchung erklären würde. Dennoch kann nicht in allen Arbeiten ein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von PCV2 durch Sauen und deren Virämiestatus gefunden werden (GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013).

Die Untersuchung oft mehrerer Tage alter erdrückter Saugferkel schließt neben der Möglichkeit einer intrauterinen Infektion der Ferkel mit PCV2 während der Trächtigkeit, eine PCV2-Infektion zu einem späteren Zeitpunkt nach der Geburt nicht aus. Dabei können sowohl der Kontakt mit Artgenossen und deren Ausscheidungen, als auch Virus in der unmittelbaren Umgebung der Ferkel eine Rolle spielen (DVORAK et al.,

2013). Mehrere Studien belegen das infektiöse Potenzial von Exkreten infizierter Tiere für naive Individuen (PATTERSON et al., 2011b; DVORAK et al., 2013). Die Tatsache hingegen, dass in Bestand 4, in dem keine der 10 Sauenspeichelproben positiv für das Vorhandensein von PCV2-Genom war, ebenfalls Saugferkel gefunden werden konnten, deren Organpoolproben PCV2-DNA enthielten, spricht in Bestand 4 eher gegen die Infektion der Ferkel über infektiösen Speichel der Muttertiere. In diesem Bestand wäre eher von einer intrauterinen Infektion der Feten mit PCV2 während der Trächtigkeit, oder von einer postpartalen Infektion durch andere, infektiöses Virus enthaltende Ausscheidungen der Sauen, wie etwa Kolostrum, Kot und Urin (GERBER et al., 2011; EDDICKS et al., 2016) auszugehen, die in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht untersucht wurden. Allerdings muss hier beachtet werden, dass die einmalige Untersuchung von 10 Sauenspeichelproben lediglich eine Momentaufnahme der PCV2-Ausscheidung zu einem bestimmten Zeitpunkt bei einer Stichprobe von Tieren der Sauenherde darstellt. Außerdem gilt es zu bedenken, dass die in dieser Studie untersuchten erdrückten Saugferkel zwar aus dem gleichen Bestand kamen, wie die mittels Speichelprobe untersuchten Muttersauen, dass sie diesen aber nicht direkt zugeordnet werden können. Somit kann, auch im Hinblick auf die teilweise beschriebenen niedrigen Prävalenzen von PCV2 in Sauenspeichelproben (EDDICKS et al., 2016), nicht ausgeschlossen werden, dass einige der Muttertiere der untersuchten erdrückten Saugferkel in Bestand 4 doch PCV2 über den Speichel ausschieden und dass es so, mit besonderem Augenmerk auf die hohe Tenazität dieses Virus (WELCH et al., 2006), zu einer vertikalen postpartalen Infektion der Ferkel über dieses Sekret kommen konnte.

Überraschend war die Tatsache, dass einige der Einzelorganproben in der vorliegenden Arbeit dem Trend der Organpoolproben widerstrebten. So konnte in Lungenproben von Saugferkeln aus Beständen, die eine Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben von über 30% (Median) aufwiesen, signifikant seltener PCV2-Genom gefunden werden, als in Lungenproben von Ferkeln aus Beständen mit niedrigerer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben. Ein ähnlicher

tendenzieller Unterschied konnte für Thymusproben der beiden Gruppen festgestellt werden. Eine Arbeit von SYDLER et al. (2016) fand, dass das Vorkommen von PCV2 in fetalen Organen zum Teil von einer PCV2 Impfung der Muttertiere beeinflusst werden kann. So beschreiben diese Autoren eine Reduktion von virusinfizierten Zellen in der fetalen Milz und eine Erhöhung der Anzahl virusinfizierter Zellen im fetalen Darm bei Nachkommen, deren Muttertiere gegen PCV2 geimpft wurden. Dies legt die Vermutung nahe, dass es spezifische Interaktionen zwischen dem maternalen Immunsystem und dem fetalen Viruspool zu geben scheint, die nicht auf humorale Immunität zurückgeführt werden können, da PCV2 spezifische Immunglobuline die Plazenta nicht überschreiten können (SYDLER et al., 2016). Möglicherweise führt der aktuelle PCV2-Infektionsstatus und die individuelle Auseinandersetzung des maternalen Immunsystems mit dem Virus, zum Zeitpunkt der fetalen Infektion zu einer individuell unterschiedlichen Interaktion zwischen maternalem Immunsystem und fetalem Viruspool in deren Folge es zu einer individuell unterschiedlichen Verteilung von PCV2 in den Organen des Fetus kommen kann. Dies wiederum könnte die zum Teil gegensätzlichen Verteilungen von PCV2-Genom in Organpoolproben und Einzelorganproben in den beiden Gruppen erklären, da angenommen werden kann, dass auf Grund der Sensitivität der PCR bereits einzelne PCV2-DNA positive Organe ausreichen, um PCV2-Genom im Organpool nachzuweisen.

Auch die PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben der Ferkel aus Beständen mit einer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben > 30% (Median) waren in der vorliegenden Arbeit durchwegs höher, als die PCV2-Ct-Werte von Ferkeln aus Beständen mit einer PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben < 30%, wobei dieser Unterschied nur im Falle der Milz signifikant war. Dies deutet darauf hin, dass nicht nur die Verteilung von PCV2-Genom in den einzelnen Organen, sondern auch die gefundenen Mengen von PCV2-Genom in diesen Organen der Ferkel von spezifischen Interaktionen des maternalen Immunsystems mit den Feten beeinflusst wird. Diese Interaktionen sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht näher beschrieben, und um diese zu klären bedarf es weiterer Studien.

2.5. PCV2-Infektionsstatus der Sauen im Bestand

In jedem der 10 Studienbestände wurden Blutserumproben von jeweils 10 Sauen, die vor etwa 3 Wochen abgeferkelt haben im Abferkelstall gewonnen und mittels ELISA (Ingezim Circo IgG®, Ingenasa, Madrid, Spanien) auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper untersucht, um den PCV2-Infektionsstatus der Sauen in den Beständen zu evaluieren. In allen 10 eingeschossenen Beständen konnten PCV2 spezifische IgG-Antikörper im Blutserum von Sauen gefunden werden. Obwohl nur in 2 der 10 Bestände eine regelmäßige produktionsorientierte PCV2-Sauenimpfung erfolgte, lagen die Seroprävalenzen in allen Beständen zwischen 70% und 100%. Ähnlich hohe PCV2-IgG-Prävalenzen in Serum- bzw. Kolostrumproben von gegen PCV2 geimpften und ungeimpften Sauen im Abferkelstall, konnten auch in anderen Arbeiten gefunden werden (SHEN et al., 2010; O'NEILL et al., 2012; DVORAK et al., 2013). Diese Ergebnisse und die hier gefundenen hohen PCV2-Seroprävalenzen in Sauen bestätigen die ubiquitäre Verbreitung dieses Virus in der Schweinepopulation (SEGALÉS, 2012).

In Beständen, in denen die PCV2-Seroprävalenz bei Sauen 100% betrug, war der Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben in erdrückten Saugferkeln mit 56,8% (42/74) zwar numerisch geringer, als in Beständen mit niedrigerer PCV2-Seroprävalenz mit einem Anteil von 68,5% (61/89), jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant. Auch der mittlere PCV2-Ct-Wert in den Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen mit 100% PCV2-Seroprävalenz bei Sauen war tendenziell höher, als der mittlere PCV2-Ct-Wert in Organpoolproben von Ferkeln der anderen Gruppe. Andere Studien, in denen das Vorkommen einer PCV2-Infektion von Ferkeln untersucht wurde, konnten in Beständen mit hoher PCV2-Seroprävalenz bei Muttersauen ebenfalls eine häufige vertikale Übertragung von PCV2 auf die Nachkommen feststellen (SHEN et al., 2010; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). Jedoch wurden in diesen Arbeiten, im Unterschied zur vorliegenden Studie, Blutserumproben von Ferkeln direkt nach der Geburt gewonnen und auf das Vorhandensein PCV2 spezifischen Genomfragmenten untersucht, weshalb die Autoren von einer intrauterinen Infektion der Feten

ausgehen. Auf Grund der Untersuchung von Organproben verschieden alter erdrückter Saugferkel in der vorliegenden Studie, kann hier nicht uneingeschränkt von einer intrauterinen Infektion der Ferkel mit PCV2 ausgegangen werden. Auch eine vertikale Übertragung kurz nach der Geburt käme für die hier untersuchten Ferkel in Frage.

Eine Arbeit die den Effekt maternaler PCV2 spezifischer Antikörper auf die experimentelle Infektion von Ferkeln mit PCV2 untersuchte fand, dass diese Antikörper den Ferkeln Titer abhängig einen gewissen, wenn auch keinen vollständigen Schutz, vor einer PCV2-Infektion vermitteln konnten (MCKEOWN et al., 2005). Auch GRAU-ROMA et al. (2009) beschrieben einen gewissen Titer abhängigen Schutz vor einer PCV2-SD durch maternale PCV2-Antikörper in Ferkeln. Weil der Großteil der im Kolostrum enthaltenen Immunglobuline aus dem Serum der Muttersauen stammt (BOURNE & CURTIS, 1973), kann davon ausgegangen werden, dass Ferkel aus Beständen mit niedrigerer PCV2-Seroprävalenz bei Sauen einen geringeren, durch PCV2 spezifische Antikörper vermittelten Schutz vor einer PCV2-Infektion über das Kolostrum erhalten. Ein zumindest teilweiser Titer abhängiger Schutz der Ferkel vor einer PCV2-Infektion durch maternale PCV2-Antikörper könnte den hier gefundenen höheren Anteil PCV2-Genom positiver Saugferkelorganpoolproben und die niedrigeren mittleren PCV2-Ct-Werte in Ferkelorganpoolproben aus Beständen mit geringerer PCV2-Seroprävalenz bei Muttersauen erklären. Allerdings muss auch hier beachtet werden, dass die ermittelte PCV2-Seroprävalenz für den jeweiligen Bestand insgesamt gilt, und, dass die untersuchten erdrückten Saugferkel nicht direkt den untersuchten Sauen zugeordnet werden können. Ob ein Zusammenhang zwischen dem PCV2-IgG-Antikörperstatus der tatsächlichen Muttertiere der erdrückten Saugferkel und dem Vorkommen von PCV2-Genom in diesen Ferkeln besteht, kann hier letztlich nicht geklärt werden. Dennoch deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass im Hinblick auf die Reduktion der vertikalen Übertragung von PCV2 auf die Nachkommen, eine möglichst hohe PCV2-Seroprävalenz bei Muttersauen anzustreben ist, was unter anderem durch die Einführung einer regelmäßigen PCV2-Sauenimpfung erreicht werden kann.

Warum der oben beschriebene Unterschied in den beiden Gruppen nicht signifikant war, könnte an der insgesamt sehr hohen PCV2-Seroprävalenz von 94% (94/100) bei Muttersauen in den 10 eingeschlossenen Beständen liegen. Hohe PCV2-Seroprävalenzen sind in Herden beschrieben, die in der Vergangenheit klinische Anzeichen von PCVD zeigten (MONGER et al., 2014), dennoch wurde in keinem der in dieser Studie untersuchten Bestände von solchen Problemen berichtet. Auch andere Studien beschreiben einen hohen Anteil bereits früh mit PCV2 infizierter Saugferkel, in Beständen ohne vorherberichtlicher PCV2 assoziierter Klinik (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Dies lässt vermuten, dass eine Übertragung von PCV2 auch ohne das Vorkommen von offensichtlichen PCV2 assoziierten klinischen Erscheinungen, weder bei Sauen, noch bei Aufzuchtferkeln oder Mastschweinen erfolgen kann.

Die hier ermittelte PCV2-Seroprävalenz in Sauenblutserumproben lag deutlich höher, als in einer anderen deutschen Arbeit, in der die PCV2-Seroprävalenz bei Muttersauen in bayerischen Schweinebeständen 20,5% betrug (EDDICKS et al., 2016). Im Unterschied zu dieser Studie aus dem Jahr 2016, wurden die Bestände in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht randomisiert, sondern auf Grund vermehrt auffälliger Befunde bei der Untersuchung von Schlachtlungen vorausgewählt. Die Beteiligung von PCV2 unter anderem auch an respiratorischen Erkrankungen (CHOI et al., 2003; FACHINGER et al., 2008) und die Vorauswahl der Bestände auf eine respiratorische Problematik könnten ursächlich für die vergleichsweise hohen PCV2-Seroprävalenzen bei Muttersauen in dieser Studie sein.

2.6. Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben

Die Ergebnisse der Untersuchung der Organe erdrückter Saugferkel auf PCV2 spezifische Genomfragmente wurden in jedem Bestand mit den Ergebnissen der Untersuchung von Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen (6., 12., 16. und 20. Lebenswoche) auf PCV2-Genom verglichen, um eventuelle Einflüsse einer frühen Infektion von Saugferkeln mit PCV2 auf die Prävalenz dieses Erregers in nachgelagerten Produktionsstufen zu erkennen. Insgesamt wurden 337

Kaustrick-Sammelspeichelproben mittels Multiplex PCR (virotype® PCV2/PCV3, INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Leipzig, Deutschland) auf das Vorhandensein von PCV2-Genom untersucht. Dabei konnte PCV2-Genom in 56,7% (191/337) der Proben detektiert werden. Die bestandsspezifische PCV2-Genomprävalenz in Kaustrick-Sammelspeichelproben lag zwischen 26,5% und 100%. Ähnlich stark variierende Ergebnisse konnten auch in anderen Arbeiten gefunden werden (KIM, 2010; RAMIREZ et al., 2012).

Die Aufteilung der erdrückten Saugferkel in 2 Gruppen, je nach gefundener PCV2-Genomprävalenz in Kaustrick-Sammelspeichelproben im jeweiligen Bestand des Ferkels, ergab ein signifikant häufigeres Vorkommen von PCV2-DNA in Organpoolproben von Ferkeln aus Beständen in denen die PCV2-Genomprävalenz in Kaustricksammelspeichelproben < dem Median von 55,6% war. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass in Beständen mit häufigerem Vorkommen von PCV2-Genom in erdrückten Saugferkeln, das Vorkommen von PCV2-Genom positiven Kaustrick-Sammelspeichelproben in Absetzferkeln und Mastschweinen signifikant seltener war. Somit konnte die ursprünglich formulierte Hypothese einer positiven Beeinflussung der Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen durch das häufige Vorkommen früher PCV2-Infektionen in Saugferkeln nicht bestätigt werden.

Die Untersuchung von Kaustrick-Sammelspeichelproben im Rahmen des Gesundheitsmonitorings von Schweinebeständen wird auf Grund verschiedener Vorteile hinsichtlich einfacherer Probengewinnung und der großen Anzahl untersuchter Tiere mit weniger Proben, eine immer wichtigere kostengünstige Alternative zur Untersuchung von Blutserumproben (KIM, 2010; HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017). Einige Studien beschrieben die Eignung von Kaustrick-Sammelspeichelproben für das Monitoring von PCV2-Infektionen in Schweinebeständen (FINLAISON & COLLINS, 2014; HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017; NIELSEN et al., 2018) und mehrere Arbeiten untersuchten das Vorkommen von PCV2-Infektionen in Saugferkeln (SHEN et al., 2010;

DVORAK et al., 2013; RINCÓN MONROY et al., 2015; EDDICKS et al., 2016). Jedoch gibt es in der Literatur bisher noch keine Studien, die den direkten Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von PCV2 in Saugferkeln und in Kaustrick-Sammelspeichelproben nachgelagerter Produktionsstufen desselben Bestandes vergleichen. HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017) verglichen zwar den Verlauf des Nachweises von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben in Aufzuchtferkeln und Mastschweinen mit unterschiedlicher vorberichtlicher respiratorischer Problematik, begannen ihre Untersuchung allerdings erst bei Tieren in der 5. Lebenswoche und stellen somit keinen direkten Zusammenhang zum Vorkommen von PCV2 in Saugferkeln dar.

Frühe PCV2-Infektionen sind mit häufigerem Auftreten von klinischen Symptomen einer PCVAD assoziiert (ROSE et al., 2009). Ein hoher Anteil PCV2-Genom positiver Saugferkel ist hinweisend für eine frühere PCV2-Infektion (entweder intrauterin oder postpartal). In Beständen mit klinischen Symptomen einer PCV2-SD konnten PCV2-Virämien schon ab der 7. Lebenswoche gefunden werden, während in Beständen ohne klinische PCV2-SD-Symptome erst ab der 15. Lebenswoche PCV2 in Blutserumproben zu finden war (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; LAROCHELLE et al., 2003). KIM (2010) zeigte, dass das Vorkommen von PCV2 in Blutserumproben und Kaustrick-Sammelspeichelproben korreliert. Darauf basierend kann spekuliert werden, dass die Ausscheidung von PCV2 über den Speichel in Beständen mit mehr PCV2-Genom positiven Saugferkeln bereits früher, eventuell schon ab der 7. Lebenswoche (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002) beginnt, als in Beständen mit geringerem Anteil positiver Saugferkel. Bedingt durch die Beprobung von Tieren in der 6., 12., 16. und 20. Lebenswoche mittels Kaustricken und somit dem Fehlen einer Beprobung zwischen der 6. und 12. Lebenswoche, könnte somit in Beständen mit höherem Anteil PCV2-Genom positiver Saugferkel die Phase der frühen PCV2-Ausscheidung über den Speichel verpasst worden sein. Auch im Hinblick auf Berichte, dass die Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben nach der 13. Lebenswoche sinkt (HERNANDEZ-GARCIA et al., 2017), könnte dies die insgesamt niedrigere Prävalenz

PCV2-Genom positiver Kaustrick-Sammelspeichelproben in Beständen, in denen mehr Saugferkel PCV2-Genom positiv waren, erklären. Möglicherweise hätte eine zusätzliche Untersuchung von Kaustrick-Sammelspeichelproben von Tieren in der 9. Lebenswoche diesen Effekt vollständig aufgehoben oder zumindest teilweise reduziert. Jedoch muss darauf hingewiesen werden, dass in keinem der in dieser Studie untersuchten Bestände vom Auftreten PCV2 assoziierter Klinik berichtet wurde, weshalb dieser Erklärungsversuch rein spekulativ sein kann.

KLAUSMANN et al. (2015) berichteten, dass PCV2-Infektionen schon sehr früh während der fetalen Entwicklung stattfinden können und, dass dieses Virus möglicherweise die T-Zell-Entwicklung in Feten beeinflusst, wodurch es vom Immunsystem nicht als fremd erkannt wird und so zu einer latenten Infektion führen kann. Diese latente Infektion besitzt Reaktivierungspotenzial, das sich in wiederkehrenden PCV2-Virämien mit niedriger Virus-Load zeigt (KLAUSMANN et al., 2015). Möglicherweise deutet das häufigere Vorfinden von PCV2-Genom in erdrückten Saugferkeln auf eine häufiger stattfindende latente fetale Infektion in diesen Beständen hin. Belebte und unbelebte Ko-Faktoren können dann eventuell zu einer Reaktivierung mit PCV2-Virämie und PCV2-Ausscheidung führen (SEGALÉS et al., 2013). Berücksichtigt man diese Theorie, scheint es umso unverständlicher, dass in der vorliegenden Arbeit das Vorkommen PCV2-Genom positiver Kaustrick-Sammelspeichelproben in Beständen mit höherem Anteil früh mit PCV2 infizierter Saugferkel niedriger war. Demnach wäre ein gegenteiliges Ergebnis zu erwarten gewesen. Möglicherweise gibt es noch andere, bisher unbekannte Faktoren, die die Interaktion zwischen PCV2 und dem Immunsystem des infizierten Schweins beeinflussen können und so die seltenere Ausscheidung von PCV2 über den Speichel in früh infizierten Tieren bedingen können. Über solche allenfalls existierenden Faktoren kann die vorliegende Arbeit keinen Aufschluss geben und diese besser zu charakterisieren, sollte das Ziel zukünftiger Studien sein.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

„Querschnittsuntersuchung über das Vorkommen von Porzinem Circovirus Typ 2 (PCV2) in erdrückten Saugferkeln aus deutschen Schweinebeständen“

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Vorkommen von PCV2-Infektionen in lebend geborenen erdrückten Saugferkeln zu untersuchen und neben der Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom in Saugferkeln, auch die Nachweishäufigkeit dieses Virus in den unterschiedlichen Geweben zu vergleichen. Zusätzlich sollte der Einfluss verschiedener unabhängiger Faktoren auf die Prävalenz früher PCV2-Infektionen in erdrückten Saugferkeln analysiert werden, beziehungsweise die Auswirkungen solcher frühen PCV2-Infektionen auf die Prävalenz von PCV2 in nachgelagerten Produktionsstufen beurteilt werden. Hierzu wurde eine einmalige Querschnittsuntersuchung in 10 deutschen schweinehaltenden Betrieben in 5 deutschen Bundesländern durchgeführt, bei der neben 163 erdrückten Saugferkeln auch Blutserumproben und Speichelproben von insgesamt 100 Muttersauen im Abferkelstall und 337 Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln sowie Mastschweinen gewonnen wurden. Die Organe der lebend geborenen erdrückten Saugferkel, sowie die Speichelproben der Muttersauen und die Kaustrick-Sammelspeichelproben der Absetzferkel und Mastschweine wurden mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-Genom untersucht. Eine Untersuchung der Blutserumproben der Muttersauen auf PCV2 spezifischen IgG-Antikörper erfolgte mittels ELISA.

In 100% (10/10) der untersuchten Bestände, in 69,8% (81/116) der untersuchten Würfe und in 63,2% (103/163) der untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel konnte PCV2-Genom gefunden werden. Die Prävalenz PCV2-DNA positiver Saugferkel lag in den 10 Beständen zwischen 25% (4/16) und 84,6% (11/13). Insgesamt war der Nachweis von PCV2-Genom in Proben aus dem Thymus mit 63% (34/54) am häufigsten, gefolgt von der Lunge und dem Inguinal Lymphknoten mit

jeweils 59,3% (32/54), der Milz mit 57,4% (31/54) und dem Herz mit 51,9% (28/54) positiver Proben. Das Vorkommen von PCV2 spezifischen Genomfragmenten war in Organpoolproben von männlichen Ferkeln tendenziell häufiger, als in Organpoolproben weiblicher Tiere, wohingegen weibliche Ferkel signifikant häufiger PCV2-Genom in Proben aus dem Thymus aufwiesen, als männliche Ferkel. Eine regelmäßige produktionsorientierte PCV2-Impfung bei Muttersauen wirkte sich in dieser Arbeit auf eine signifikant geringere Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Organpoolproben erdrückter Saugferkel aus, während Proben aus dem Herz erdrückter Saugferkel aus Beständen mit regelmäßiger PCV2-Impfung bei Muttersauen signifikant häufiger PCV2-Genom enthielten. Außerdem gelang der Nachweis von PCV2-Genom in Organpoolproben von Ferkeln, die aus Beständen kamen, in denen bei Sauen im Abferkelstall häufiger PCV2-DNA positive Speichelproben vorkamen, tendenziell öfter, als in Proben von Ferkeln aus Beständen mit seltenerer PCV2-DNA Detektion in Sauenspeichelproben. Der Faktor der PCV2-DNA Detektion im Speichel von Muttertieren zeigte auf Einzelorganebene für die Lunge und den Thymus einen signifikanten, beziehungsweise tendenziell gegenteiligen Effekt, da die Untersuchung dieser beiden Gewebe in Ferkeln aus Beständen mit hoher PCV2-Genomprävalenz in Sauenspeichelproben eine geringere Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA lieferte. Des Weiteren zeigte der Vergleich der Ergebnisse der Untersuchung der Kaustrick-Sammelspeichelproben und der Organpoolproben erdrückter Saugferkel, dass in Beständen mit niedrigeren PCV2-Genomprävalenzen in Kaustrick-Sammelspeichelproben signifikant häufiger PCV2-Genom positive Ferkelorganpoolproben gefunden werden konnten. Weder die Parität der Muttersau des erdrückten Ferkels, noch die Prävalenz PCV2 spezifischer IgG-Antikörper in Muttersauen im Abferkelstall, hatten in dieser Studie einen signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2-Genom in Organpoolproben und Einzelorganproben der erdrückten Nachkommen.

Diese Ergebnisse bestätigen das Vorkommen von früh mit PCV2 infizierten Saugferkeln in deutschen Schweinebeständen und zeigen eine

Reihe unabhängiger potenzieller Einflussfaktoren auf die Häufigkeit des Vorkommens von PCV2 in erdrückten Saugferkeln. Dennoch kann auch diese Arbeit keinen Aufschluss über den definitiven Infektionszeitpunkt der Ferkel mit PCV2 geben, da sowohl eine intrauterine Infektion während der Trächtigkeit, als auch eine postpartale Infektion zu einem frühen Zeitpunkt nach der Geburt, über Ausscheidungen des Muttertieres oder eine kontaminierte Haltungsumgebung in Frage kommen. Nichtsdestotrotz kann davon ausgegangen werden, dass dem vielfachen Vorkommen von früh mit PCV2 infizierten lebend geborenen Saugferkeln eine wichtige Bedeutung im Hinblick auf die horizontale Verbreitung dieses Erregers innerhalb eines Bestandes zukommt.

VII. SUMMARY

„Cross-sectional study of the prevalence of porcine circovirus type 2 (PCV2) in crushed suckling piglets from German pig farms“

The aim of this study was to investigate the occurrence of PCV2-infections in live born crushed suckling piglets and aside from investigating the prevalence of PCV2-genome in suckling piglets to compare the frequency of PCV2-genome detection in different tissues of crushed suckling piglets. In addition, the influence of several independent factors on the prevalence of early PCV2-infections in crushed suckling piglets and more specifically the impact of such early PCV2-infections on the PCV2-prevalence in later age groups were examined. Therefore a cross-sectional study on 10 German pig farms in 5 German states was conducted, in which apart from 163 crushed piglets, blood serum samples and saliva samples of 100 sows in the farrowing unit and 337 collective oral fluid samples in rearing and fattening pigs were collected. The organ tissues of the collected live born crushed piglets, as well as the saliva samples of sows and the collective oral fluid samples of rearing and fattening pigs were examined by PCR for the occurrence of PCV2-genome. The blood serum samples of sows were tested for PCV2 specific IgG-antibodies using an ELISA.

In 100% (10/10) of the examined farms, in 69.8% (81/116) of the examined litters and in 63.2% (103/163) of the examined live born crushed suckling piglets PCV2-genome was detected. The prevalence of PCV2-DNA positive crushed suckling piglets in the 10 farms ranged from 25% (4/16) to 84.6% (11/13). The thymus displayed the most frequent demonstration of PCV2-genome with 63% (34/54) positive samples, followed by the lung and the inguinal lymph node with 59.3% (32/54), respectively, the spleen with 57.4% (31/54) and the heart with 51.9% (28/54) positive samples. The occurrence of PCV2-genome in pooled tissue samples tended to be more frequent in male piglets compared to female piglets, whereas female piglets harbored PCV2-genome in their thymus significantly more often than male piglets did. The comparison of

PCR results from tissue samples revealed a significant effect on a lower prevalence of PCV2-genome in pooled tissue samples of crushed piglets that came from farms which conducted a regular production-oriented PCV2-vaccination in sows, while samples from the heart contained significantly more often PCV2-DNA in piglets coming from farms which performed regular production-oriented PCV2-vaccination in sows. Furthermore, the detection of PCV2-genome tended to be possible more frequently in pooled tissue samples from piglets coming from farms where saliva samples of sows showed a higher rate of PCV2-genome detection, compared to samples from piglets collected in farms with rarer PCV2-genome detection in the saliva of sows. On the level of single tissue examination, the factor of PCV2-genome detection in saliva samples of sows showed a significant contrary effect on the prevalence of PCV2-genome in the lung and tended to have a contrary effect on the prevalence of PCV2-genome in the thymus, as the detection rate of PCV2-genome in these tissues was lower in piglets originating from farms with higher PCV2-genome detection rates in the saliva of sows. Moreover, the comparison of the results from collective oral fluid sample and pooled tissue sample examinations showed a significantly higher detection rate of PCV2-DNA in the tissue pools of crushed piglets coming from farms with lower PCV2-genome detection rates in collective oral fluid samples. Neither the parity of the mother sow of the crushed piglet, nor the prevalence of PCV2 specific IgG-antibodies in sows in the farrowing unit had a significant effect on the detection rate of PCV2-genome in the pooled tissue samples of crushed piglets or in the individually tested tissues in this study.

These results confirm the occurrence of early PCV2 infected suckling piglets in German pig producing farms and show a number of independent factors potentially influencing the prevalence of PCV2 in crushed suckling piglets. However, this study cannot provide insight into the exact time of infection with PCV2, as this study was conducted on live born piglets and it is possible that PCV2-infection happened intrauterine during gestation or early after birth by contact with the excretions of the sow or the contaminated farrowing environment. Nevertheless, it can be

assumed that the frequent occurrence of early PCV2 infected live born suckling piglets is of major importance for the horizontal distribution of this pathogen within a farm.

VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Interpretation der Ergebnisse der Bestimmung von IgM und IgG (Gebrauchsanleitung Ingezim Circovirus IgM/IgG®, Eurofins Technologies Ingenasa, Madrid, Spanien)</i>	12
<i>Tabelle 2: Interpretation der Ergebnisse einer quantitativen PCV2-PCR nach (OPRIESSNIG et al., 2007)</i>	14
<i>Tabelle 3: Nachweis von PCV2 aus unterschiedlichen Organen mit Hilfe verschiedener Untersuchungsmethoden</i>	16
<i>Tabelle 4: Tierversuchsanzeigen in den verschiedenen Bundesländern .</i>	33
<i>Tabelle 5: Übersicht zu Bestandsdaten der 10 Studienbestände und Anzahl untersuchter Tiere/Proben pro Bestand</i>	37
<i>Tabelle 6: Probenentnahmeplan für jeden Studienbestand.....</i>	40
<i>Tabelle 7: Anzahl und Anteil der untersuchten Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie der Saugferkel, deren Organe einzeln untersucht wurden (n=54), in Abhängigkeit vom Alter in Lebenstagen.</i>	46
<i>Tabelle 8: Anzahl und Anteil gewonnener Kaustrick-Sammelspeichelproben (n=337) von Absetzferkel- und Mastschweinegruppen in den 10 Studienbeständen.....</i>	47
<i>Tabelle 9: Ergebnisse der Untersuchung der Blutserumproben der Sauen im Abferkelstall auf PCV2 spezifische IgG-Antikörper und Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Sauenspeichelproben, der Organpoolproben erdrückter Saugferkel und der Kaustrick-Sammelspeichelproben auf PCV2 spezifische Genomfragmente, in den 10 untersuchten Beständen, sowie Impfstatus der Sauen gegen PCV2</i>	48
<i>Tabelle 10: Anzahl und Anteil PCV2-DNA positiver Saugferkel-Organpoolproben (n=163) und Würfe mit Ferkeln deren Organpoolproben PCV2-DNA enthielten (n=116), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben, sowie die Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte, von erdrückten Saugferkeln aus den 10 Studienbeständen.....</i>	50
<i>Tabelle 11: Anzahl und Anteil PCV2-DNA positiver Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit vom Alter der</i>	

<i>erdrückten Saugferkel</i>	<i>51</i>
<i>Tabelle 12: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Organpoolproben (n=163) und den Einzelorganproben (n=270), in Abhängigkeit vom Alter der erdrückten Saugferkel</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 13: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) von erdrückten Saugferkeln aus den 10 Studienbeständen</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 14: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in den Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel in den 10 Studienbeständen</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 15: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n=270) erdrückter männlicher und weiblicher Saugferkel.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 16: Anzahl und den Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel, in den 3 Paritätsgruppen der Muttersauen.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabelle 17: Mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben (n=270) erdrückter Saugferkel, in den 3 Paritätsgruppen der Muttersauen.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 18: Anzahl und Anteil PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2</i>	<i>63</i>
<i>Tabelle 19: Median, Minimalwert und Maximalwert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersauen gegen PCV2.....</i>	<i>64</i>
<i>Tabelle 20: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 21: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen</i>	

<i>Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben</i>	<i>66</i>
<i>Tabelle 22: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Sauenspeichelproben</i>	<i>67</i>
<i>Tabelle 23: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in PCV2-Genom positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabelle 24: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabelle 25: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-IgG-Antikörperprävalenz in Blutserumproben von Sauen</i>	<i>69</i>
<i>Tabelle 26: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-DNA positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mittlere, minimale und maximale PCV2-Ct-Werte und Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in PCV2-DNA positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 27: Anzahl und Anteil untersuchter und PCV2-Genom positiver Einzelorganproben (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen Nachweishäufigkeit von PCV2-Genom in Kaustrick-Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 28: Mittlerer, minimaler und maximaler PCV2-Ct-Wert, sowie Standardabweichung der PCV2-Ct-Werte in Einzelorganproben erdrückter Saugferkel (n=270) in Abhängigkeit von der bestandsspezifischen PCV2-Genomprävalenz in Kaustrick-</i>	

<i>Sammelspeichelproben von Absetzferkeln und Mastschweinen.....</i>	<i>72</i>
--	-----------

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Anzahl der untersuchten lebend geborenen erdrückten Saugferkel in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau (n=160).....</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 2: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben (n=163) und Einzelorganproben (n= 54 je Organ) in männlichen und weiblichen erdrückten Saugferkeln.</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 3: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=160), sowie die mittleren PCV2-Ct-Werte in den positiven Organpoolproben (n=102), in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe der Muttersauen</i>	<i>59</i>
<i>Abbildung 4: Anteil PCV2-Genom positiver Organpoolproben erdrückter Saugferkel (n=163), sowie mediane PCV2-Ct-Werte in den positiven Organpoolproben (n=103), in Abhängigkeit vom PCV2-Impfstatus der Muttersauen</i>	<i>62</i>

X. LITERATURVERZEICHNIS

Alarcon P, Rushton J, Wieland B. Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England – An economic disease model. *Prev Vet Med* 2013; 110: 88-102.

Albina E, Truong C, Hutet E, Blanchard P, Cariolet R, L'Hospitalier R, Mahé D, Allée C, Morvan H, Amenna N, Le Dimna M, Madec F, Jestin A. An Experimental Model for Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Growing Piglets. *J Comp Pathol* 2001; 125: 292-303.

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

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

Allan GM, Mc Neilly F, Meehan BM, Kennedy S, Mackie DP, Ellis JA, Clark EG, Espuna E, Saubi N, Riera P, Botner A, Charreyre CE. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 1999; 66: 115-123.

Allan GM, Ellis JA. Porcine Circoviruses: A Review. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 3-14.

Andraud M, Grasland B, Durand B, Cariolet R, Jestin A, Madec F, Rose N. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV-2) within- and between-pen transmission in pigs. *Vet Res* 2008; 39: 43.

Blanchard P, Mahé D, Cariolet R, Truong C, Le Dimna M, Arnauld C, Rose N, Eveno E, Albina E, Madec F, Jestin A. An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Microbiol* 2003; 94: 183-194.

Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GPS, Hamel AL. Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome Induced after Experimental Inoculation of Cesarean-Derived, Colostrum-Deprived Piglets with Type 2 Porcine Circovirus. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 185-194.

Bourne FJ, Curtis J. The transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology* 1973; 24: 157-162.

Brick J, Wilson D, Walker S. Hormonal modulation of responses to thymus-independent and thymus-dependent antigens in autoimmune NZB/W mice. *J Immunol* 1985; 134: 3693-3698.

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.

Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 368-375.

Carasova P, Celer V, Takacova K, Trundova M, Molinkova D, Lobova D, Smola J. The levels of PCV2 specific antibodies and viremia in pigs. *Res Vet Sci* 2007; 83: 274-278.

Cheung AK. Transcriptional analysis of porcine circovirus type 2. *Virology* 2003; 305: 168-180.

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

Corrégé I, Pirouelle H, Gaudré D, Le Tiran M. A study of the influence of various animal husbandry criteria on the occurrence of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in an experimental pig farm. *Journées de la Recherche Porcine en France* 2001; 33: 283-290.

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.

Devillers N, Farmer C, Mounier A-M, LeDividich J, Prunier A. Hormones, IgG and lactose changes around parturition in plasma, and colostrum or saliva of multiparous sows. *Reprod Nutr Dev* 2004; 44: 381-396.

Dias AS, Gerber PF, Araújo AS, Auler PA, Gallinari GC, Lobato ZIP. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Res Vet Sci* 2013; 94: 341-345.

Dieste-Pérez L, van Nes A, van Maanen K, Duinhof T, Tobias T. The prevalence of PCV2 viremia in newborn piglets on four endemically infected Dutch sow farms is very low. *Prev Vet Med* 2018; 153: 42-46.

Drolet R, Sylvie D, Thomson JR, Done SH. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. *J Swine Health Prod* 1999; 7: 283-285.

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

Dupont K, Hjulsager CK, Kristensen CS, Baekbo P, Larsen LE. Transmission of different variants of PCV2 and viral dynamics in a research facility with pigs mingled from PMWS-affected herds and non-affected herds. *Vet Microbiol* 2009; 139: 219-226.

Dvorak CM, Yang Y, Haley C, Sharma N, Murtaugh MP. National reduction in porcine circovirus type 2 prevalence following introduction of vaccination. *Vet Microbiol* 2016; 189: 86-90.

Dvorak CMT, Lilla MP, Baker SR, Murtaugh MP. Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Vet Microbiol* 2013; 166: 365-374.

Eddicks M, Koeppen M, Willi S, Fux R, Reese S, Sutter G, Stadler J, Ritzmann M. Low prevalence of porcine circovirus type 2 infections in farrowing sows and corresponding pre-suckling piglets in southern German pig farms. *Vet Microbiol* 2016; 187: 70-74.

Eddicks M, Beuter B, Stuhldreier R, Nolte T, Reese S, Sutter G, Ritzmann M, Fux R. Cross-sectional study on viraemia and shedding of porcine circovirus type 2 in a subclinically infected multiplier sow herd. *Vet Rec* 2019; 184: 189.

Fachinger V, Bischoff R, Jedidia SB, Saalmüller 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, Segalés J, Sibila M. Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Vet Microbiol* 2014; 172: 92-99.

Finlaison D, Collins A. Evaluation of oral fluid samples for herd health monitoring of pathogens and the immune response in pigs. 2A-108 1213. Australia DoPI. Elizabeth Macarthur Agricultural Institute 2014.

Fort M, Sibila M, Allepuz A, Mateu E, Roerink F, Segalés 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.

Fraile L, Grau-Roma L, Sarasola P, Sinovas N, Nofrarías M, López-Jimenez R, López-Soria S, Sibila M, Segalés J. Inactivated PCV2 one shot vaccine applied in 3-week-old piglets: Improvement of production parameters and interaction with maternally derived immunity. *Vaccine* 2012a; 30: 1986-1992.

Fraile L, Sibila M, Nofrarías M, López-Jimenez R, Huerta E, Llorens A, López-Soria S, Pérez D, Segalés J. Effect of sow and piglet porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on piglet mortality, viraemia, antibody titre and production parameters. *Vet Microbiol* 2012b; 161: 229-234.

Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne MH, Houde A, Elahi SM. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 2007; 48: 811-819.

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

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AMQ, Lobato ZIP. Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *Vet J* 2011; 188: 240-242.

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

Grau-Roma L, Hjulsager CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enøe C, Casal J, Bøtner A, Nofrarías M, Bille-Hansen V, Fraile L, Baekbo P, Segalés J, Larsen LE. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet Microbiol* 2009; 135: 272-282.

Grierson SS, King DP, Sandvik T, Hicks D, Spencer Y, Drew TW, Banks M. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. *Arch Virol* 2004; 149: 1171-1183.

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

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.

Hamel AL, Lin LL, Nayar GP. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol* 1998; 72: 5262-5267.

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.

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

Hernandez-Garcia J, Robben N, Magnee D, Eley T, Dennis I, Kayes SM, Thomson JR, Tucker AW. The use of oral fluids to monitor key pathogens in porcine respiratory disease complex. *Porcine Health Manag* 2017; 3: 7.

Kim J, Jung K, Chae C. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *Vet Rec* 2004a; 155: 489-492.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* 2004b; 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.

Kim W. Application of oral fluid sample to monitor Porcine circovirus-2 infection in pig farms. *J Vet Clin* 2010; 27: 704-712.

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.

Klausmann S, Sydler T, Summerfield A, Lewis FI, Weilenmann R, Sidler X, Brugnera E. T-cell reprogramming through targeted CD4-coreceptor and T-cell receptor expression on maturing thymocytes by latent Circoviridae family member porcine circovirus type 2 cell infections in the thymus. *Emerg Microbes Infect* 2015; 4: e15.

Krakovka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F, Allan G. Viral Wasting Syndrome of Swine: Experimental Reproduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Gnotobiotic Swine by Coinfection with Porcine Circovirus 2 and Porcine Parvovirus. *Vet Pathol* 2000; 37: 254-263.

Kurmann J, Sydler T, Brugnera E, Buergi E, Haessig M, Suter M, Sidler X. Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 1644-1649.

Ladekjaer-Mikkelsen A, Nielsen J, Storgaard T, Bøtner A, Allan G, McNeilly F. Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. *Vet Rec* 2001; 148: 759-760.

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.

Liu C, Ihara T, Nunoya T, Ueda S. Development of an ELISA Based on the Baculovirus-Expressed Capsid Protein of Porcine Circovirus Type 2 as Antigen. *J Vet Med Sci* 2004; 66: 237-242.

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.

Liu Q, Wang L, Willson P, Babiuk LA. Quantitative, competitive PCR analysis of porcine circovirus DNA in serum from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3474-3477.

López-Soria S, Segalés J, Rose N, Viñas MJ, Blanchard P, Madec F, Jestin A, Casal J, Domingo M. An exploratory study on risk factors for postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. *Prev Vet Med* 2005; 69: 97-107.

López-Soria S, Nofrarías M, Calsamiglia M, Espinal A, Valero O, Ramírez-Mendoza H, Mínguez A, Serrano JM, Marín Ó, Callén A, Segalés J. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) clinical expression under field conditions is modulated by the pig genetic background. *Vet Microbiol* 2011; 149: 352-357.

Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Morvan H, Albina E, Truong C, Hutet E, Cariolet R, Arnault C, Jestin A. La maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) en France. 1. Aspects descriptifs, impact en élevage. *Journées de la Rech. Porcine en France* 1999; 31: 347-354.

Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Blanchard P, Cariolet R, Amenna N, Morvan H, Truong C, Mahé D, Albina E, Jestin A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. *Livest Prod Sci* 2000; 63: 223-233.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 2009a; 46: 707-716.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of the dam on PCV2 replication in utero. *Clin Vaccine Immunol* 2009b; 16: 830-834.

Madson DM, Opriessnig T. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. *Anim Health Res Rev* 2011; 12: 47-65.

Magar R, Muller P, Larochelle R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2. *Can J Vet Res* 2000; 64: 184-186.

Mankertz A, Mankertz J, Wolf K, Buhk HJ. Identification of a protein essential for replication of porcine circovirus. *J Gen Virol* 1998; 79: 381-384.

Markowska-Daniel I, Pomorska-Mól M, Pejsak Z. Dynamic changes of immunoglobulin concentrations in pig colostrum and serum around parturition. *Pol J Vet Sci* 2010; 13: 21-27.

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.

Martelli P, Saleri R, Ferrarini G, De Angelis E, Cavalli V, Benetti M, Ferrari L, Canelli E, Bonilauri P, Arioli E, Caleffi A, Nathues H, Borghetti P. Impact of maternally derived immunity on piglets' immune response and protection against porcine circovirus type 2 (PCV2) after vaccination against PCV2 at different age. *BMC Vet Res* 2016; 12: 77.

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

McKeown NE, Opriessnig T, Thomas P, Guenette DK, Elvinger F, Fenaux M, Halbur PG, Meng XJ. Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1347-1351.

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.

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.

Meerts P, Misinzo G, Lefebvre D, Nielsen J, Botner A, Kristensen CS, Nauwynck HJ. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Vet Res* 2006; 2: 6.

Monger V, Stegeman J, Koop G, Dukpa K, Tenzin T, Loeffen W. Seroprevalence and associated risk factors of important pig viral diseases in Bhutan. *Prev Vet Med* 2014; 117: 222-232.

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.

Nawagitgul P, Harms PA, Morozov I, Thacker BJ, Sorden SD, Lekcharoensuk C, Paul PS. Modified indirect porcine circovirus (PCV) type 2-based and recombinant capsid protein (ORF2)-based enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to PCV. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 33-40.

Nielsen GB, Nielsen JP, Haugegaard J, Leth SC, Larsen LE, Kristensen CS, Pedersen KS, Stege H, Hjulsager CK, Houe H. Comparison of serum pools and oral fluid samples for detection of porcine circovirus type 2 by quantitative real-time PCR in finisher pigs. *Porcine Health Manag* 2018; 4: 2.

O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G, Ellis JA. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can Vet J* 2001; 42: 551-553.

O'Neill KC, Hemann M, Giménez-Lirola LG, Halbur PG, Opriessnig T. Vaccination of sows reduces the prevalence of PCV-2 viraemia in their piglets under field conditions. *Vet Rec* 2012; 171: 425-425.

Okuda Y, Ono M, Yazawa S, Shibata I. Experimental Reproduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Cesarean-Derived, Colostrum-Deprived Piglets Inoculated with Porcine Circovirus Type 2 (PCV2): Investigation of Quantitative PCV2 Distribution and Antibody Responses. *J Vet Diagn Invest* 2003; 15: 107-114.

Oliver-Ferrando S, Segalés J, López-Soria S, Callén A, Merdy O, Joisel F, Sibila M. Evaluation of natural porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection and seroconversion dynamics in piglets vaccinated at different ages. *Vet Res* 2016; 47: 121.

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, Thacker EL, Yu S, Fenaux M, Meng XJ, Halbur PG. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 2004a; 41: 624-640.

Opriessnig T, Yu S, Thacker EL, Halbur PG. Derivation of porcine circovirus type 2-negative pigs from positive breeding herds. *J Swine Health Prod* 2004b; 12: 186-191.

Opriessnig T, Fenaux M, Thomas P, Hoogland MJ, Rothschild MF, Meng XJ, Halbur PG. Evidence of breed-dependent differences in susceptibility to porcine circovirus type-2-associated disease and lesions. *Vet Pathol* 2006; 43: 281-293.

Opriessnig T, Meng XJ, 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, Patterson AR, Madson DM, Pal N, Rothschild M, Kuhar D, Lunney JK, Juhan NM, Meng XJ, Halbur PG. Difference in severity of porcine circovirus type two-induced pathological lesions between Landrace and Pietrain pigs. *J Anim Sci* 2009; 87: 1582-1590.

Pallarés FJ, Halbur PG, Opriessnig T, Sorden SD, Villar D, Janke BH, Yaeger MJ, Larson DJ, Schwartz KJ, Yoon KJ, Hoffman LJ. Porcine Circovirus Type 2 (PCV-2) Coinfections in US Field Cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS). *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 515-519.

Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim JK, Kim SH, Chae C. Birth Abnormalities in Pregnant Sows Infected Intranasally with Porcine Circovirus 2. *J Comp Pathol* 2005; 132: 139-144.

Patterson AR, Madson DM, Halbur PG, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after natural exposure. *Vet Microbiol* 2011a; 149: 225-229.

Patterson AR, Ramamoorthy S, Madson DM, Meng XJ, Halbur PG, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Vet Microbiol* 2011b; 149: 91-98.

Pensaert MB, Sanchez RE, Ladekjær-Mikkelsen A-S, Allan GM, Nauwynck HJ. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet Microbiol* 2004; 98: 175-183.

Powledge TM. The polymerase chain reaction. *Adv Physiol Educ* 2004; 28: 44-50.

Prickett J, Simer R, Christopher-Hennings J, Yoon K-J, Evans RB, Zimmerman JJ. Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: a longitudinal study under experimental conditions. *J Vet Diagn Invest* 2008a; 20: 156-163.

Prickett JR, Kim W, Simer R. Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *J Swine Health Prod* 2008b; 16: 86-91.

Puvanendiran S, Stone S, Yu W, Johnson CR, Abrahante J, Jimenez LG, Griggs T, Haley C, Wagner B, Murtaugh MP. Absence of porcine circovirus type 1 (PCV1) and high prevalence of PCV 2 exposure and infection in swine finisher herds. *Virus Res* 2011; 157: 92-98.

Ramirez A, Wang C, Prickett JR, Pogranichniy R, Yoon KJ, Main R, Johnson JK, Rademacher C, Hoogland M, Hoffmann P, Kurtz A, Kurtz E, Zimmerman J. Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Prev Vet Med* 2012; 104: 292-300.

Riede U-N, Werner M, Freudenberg N. Allgemeine und Spezielle Pathologie. In: Allgemeine und Spezielle Pathologie, 2 edn. Riede U-N, Werner M, eds.: Springer-Verlag GmbH Deutschland 2017: 71.

Rincón Monroy MA, Mogollón Galvis JD, Ramírez-Nieto GC. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection and neutralizing antibodies in subclinically infected gilts, and the effect on their litters. *Rev Colom Cienc Pecuaria* 2015; 28: 218-228.

Ritzmann M, Wilhelm S, Zimmermann P, Etschmann B, Bogner K, Selbitz H, Heinritzi K, Truyen U. Prevalence and association of PCV2, PPV and PRRSV in aborted foetuses, mummified foetuses, stillborn and nonviable neonatal piglets. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 2005; 112: 348-351.

Rodriguez-Arrijo GM, Segales J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Duran J, Casal J, Domingo M. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am J Vet Res* 2002; 63: 354-357.

Rose N, Eveno E, Grasland B, Nignol AC, Oger A, Jestin A, Madec F. Individual risk factors for Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in pigs: A hierarchical Bayesian survival analysis. *Prev Vet Med* 2009; 90: 168-179.

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

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

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.

Sanchez RE, Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol* 2001; 83: 169-176.

Sanchez RE, Meerts P, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life. *Vet Microbiol* 2003; 95: 15-25.

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.

Segales J, Piella J, Marco E, Mateu-de-Antonio EM, Espuna E, Domingo M. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Vet Rec* 1998; 142: 483-486.

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. *Anim Health Res Rev* 2005; 6: 119-142.

Segales J, Olvera A, Grau-Roma L, Charreyre C, Nauwynck H, Larsen L, Dupont K, McCullough K, Ellis J, Krakowka S, Mankertz A, Fredholm M, Fossum C, Timmusk S, Stockhofe-Zurwieden N, Beattie V, Armstrong D, Grassland B, Baekbo P, Allan G. PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet Rec* 2008; 162: 867-868.

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.

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

Segalés J, Allan G, Domingo M. Porcine Circoviruses. In: Diseases of swine. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, eds. West Sussex: Wiley-Blackwell 2012: 405-417.

Segalés J, Kekarainen T, Cortey M. The natural history of porcine circovirus type 2: From an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Vet Microbiol* 2013; 165: 13-20.

Shames RS. Gender differences in the development and function of the immune system. *J Adolesc Health* 2002; 30: 59-70.

Shen H, Wang C, Madson DM, Opriessnig T. High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev Vet Med* 2010; 97: 228-236.

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.

Sorden SD, Harms PA, Nawagitgul P, Cavanaugh D, Paul PS. Development of a polyclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of type 2 porcine circovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11: 528-530.

Statistisches Bundesamt. Land- und Forstwirtschaft, Fischerei, Viehbestand. Statistisches Bundesamt D 2017; Fachserie 3 Reihe 4.1

Sun X, Wertz N, Lager KM, Butler JE. Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets. XV. Porcine circovirus type 2 infection differentially affects serum IgG levels and antibodies to ORF2 in piglets free from other environmental factors. *Vaccine* 2012; 31: 141-148.

Sydler T, Brägger S, Handke M, Hartnack S, Lewis FI, Sidler X, Brugnera E. Latent porcine circovirus type 2-infected domestic pigs: A potential infection model for the effective development of vaccines against latent or chronic virus induced diseases. *Vaccine* 2016; 34: 1047-1053.

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

Tischer I, Rasch R, Tochtermann G. Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl Bakteriol 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.

Tischer I, Miels W, Wolff D, Vagt M, Griem W. Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Arch Virol* 1986; 91: 271-276.

Togashi K, Mawatari T, Mitobe S, Moriya S. Reproductive Losses Associated with Porcine Circovirus Type 2 in a Japanese Herd of Seronegative Sows. *J Vet Med Sci* 2011; 73: 941-944.

Tomás A, Fernandes LT, Valero O, Segalés J. A meta-analysis on experimental infections with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Vet Microbiol* 2008; 132: 260-273.

Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv Physiol Educ* 2005; 29: 151-159.

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.

Weinstein Y, Ran S, Segal S. Sex-associated differences in the regulation of immune responses controlled by the MHC of the mouse. *J Immunol* 1984; 132: 656-661.

Welch J, Bienek C, Gomperts E, Simmonds P. Resistance of porcine circovirus and chicken anemia virus to virus inactivation procedures used for blood products. *Transfusion* 2006; 46: 1951-1958.

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

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.

Xiao CT, Halbur PG, Opriessnig T. Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *J Gen Virol* 2015; 96: 1830-1841.

Young MG, Cunningham GL, Sanford SE. Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *J Swine Health Prod* 2011; 19: 175-180.

Yu S, Opriessnig T, Kitikoon P, Nilubol D, Halbur PG, Thacker E. Porcine circovirus type 2 (PCV2) distribution and replication in tissues and immune cells in early infected pigs. *Vet Immunol Immunopathol* 2007; 115: 261-272.

XI. DANKSAGUNG

Ich möchte mich ganz besonders bei Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann bedanken, der mir die Anstellung an der Klinik für Schweine und die Anfertigung einer Dissertation an dieser Einrichtung ermöglicht hat. Vielen Dank für die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit und die schöne Zeit an der Klinik für Schweine.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Matthias Eddicks für die umfangreiche wissenschaftliche Betreuung bei der Planung und Umsetzung der Studie, sowie bei der Auswertung der Daten und der Anfertigung dieser Arbeit. Vielen Dank, dass du stets ein offenes Ohr für meine Fragen hattest!

Auch an Dr. Robert Fux und das gesamte Team des Lehrstuhls für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München möchte ich einen großen Dank richten. Dankeschön für die Möglichkeit eure Einrichtung für die Untersuchung der Proben zu nutzen und die stetige Unterstützung sowohl bei praktischen, als auch theoretischen Fragestellungen.

Mein Dank gilt ebenfalls dem Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) in Italien für die Untersuchung der Blutserumproben.

Ebenso möchte ich Frau Dr. Anna Rieger herzlich für die Unterstützung bei der statistischen Planung dieser Arbeit danken.

Die Studie wurde von der Ceva Tiergesundheit GmbH finanziert, wofür ich mich ebenfalls ganz herzlich bedanken möchte. Ein besonderer Dank gilt hier den Mitarbeitern dieses Unternehmens, insbesondere Herrn Dr. Vojislav Cvjetković, Frau Dr. Carina Antonczyk und Herrn Dr. Christoph Wähler für die Hilfe bei der Suche nach geeigneten Studienbeständen und die Organisation der Schlachtlungenuntersuchungen, sowie die tatkräftige Unterstützung bei der praktischen Durchführung der Probenentnahme.

Ein großer Dank gilt auch den beteiligten Tierarztpraxen für die Hilfe bei der Suche nach Beständen, die an dieser Studie teilnahmen. Selbstverständlich möchte ich mich auch ganz herzlich bei den beteiligten Landwirtinnen/Landwirten, für die Teilnahme an der Studie, sowie für den gastfreundlichen Empfang und die großzügige Verpflegung während und nach der schweißtreibenden Probenentnahme bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Schweine für die Unterstützung bei den Ausfahrten und bei der Verarbeitung und Untersuchung der Proben bedanken. Hier möchte ich meinen ganz besonderen Dank an Pauline Deffner richten, die mit mir zusammen den langen und nicht immer unproblematischen Weg bis zur schlussendlichen Abgabe der Dissertation gegangen ist. Danke liebe Pauline für die vielen schönen Ausfahrten, für deine Hilfe bei der Probenentnahme und bei der Untersuchung der Proben und für deine Gesellschaft an so manchen Wochenenden, an denen diese Arbeit angefertigt wurde.

Und zu guter Letzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die es mir nicht nur, aber in besonderer Weise, durch ihre finanzielle Unterstützung in Zeiten geringeren Einkommens ermöglichten, diese Ausbildung zu absolvieren und anschließend mit der Anfertigung einer Dissertation zu krönen.