

Porcine circovirus diseases in drei deutschen Mastbeständen –  
Auswertung vorangegangener Bestandsdiagnostik sowie  
diagnostische Querschnittsuntersuchung im Ferkelerzeugerbestand

von Katharina Rath

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

Porcine circovirus diseases in drei deutschen Mastbeständen –  
Auswertung vorangegangener Bestandsdiagnostik sowie  
diagnostische Querschnittsuntersuchung im  
Ferkelerzeugerbestand

von Katharina Rath

aus Remscheid

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 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:** Priv.-Doz. Dr. Asisa K. Volz

**Tag der Promotion: 08.02.2020**

Meiner Familie

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>12</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>14</b>
<b>1.</b>	<b>Porzines Circovirus .....</b>	<b>14</b>
1.1.	Taxonomie.....	14
1.2.	Morphologie und Eigenschaften .....	14
1.3.	Replikation und Genomaufbau von PCV.....	15
1.4.	Vorkommen von PCV <sub>2</sub> .....	16
1.5.	Ausscheidung und Übertragung .....	17
1.6.	Pathogenese.....	18
1.7.	PCV <sub>2</sub> -assoziierte Erkrankungen.....	19
1.8.	Histologische Läsionen.....	21
<b>2.</b>	<b>Prävention gegen PCV<sub>2</sub>-Erkrankungen .....</b>	<b>23</b>
2.1.	Impfung .....	23
2.2.	Desinfektion .....	24
2.3.	Klinische Erscheinungen von PCVD bei geimpften Tieren.....	25
<b>3.</b>	<b>Diagnostik von PCV<sub>2</sub> .....</b>	<b>26</b>
3.1.	Polymerase Chain Reaction .....	27
3.2.	Enzyme-linked-Immunsorbent-Assay .....	27
3.3.	In situ Hybridisierung und Immunhistochemie.....	28
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>30</b>
<b>1.</b>	<b>Arbeitshypothesen.....</b>	<b>30</b>
1.1.	Arbeitshypothesen: Akutes Krankheitsgeschehen .....	30
1.2.	Arbeitshypothesen: Diagnostisches Screening 4 Monate nach dem akuten Krankheitsgeschehen.....	30

---

<b>2.</b>	<b>Bestandssituation zwischen Dezember 2017 und Mai 2018 .....</b>	<b>31</b>
2.1.	Situation der Mastbestände zwischen Dezember 2017 und Mai 2018 .....	31
2.1.1.	Situation des Mastbestandes A .....	31
2.1.2.	Situation des Mastbestandes B .....	32
2.1.3.	Situation des Mastbestandes C .....	33
2.1.4.	Zusammenfassung der Situation der Mastbestände .....	34
2.2.	Bestandssituation der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes sowie Darstellung des diagnostischen Bestandsscreenings im Ferkelerzeugerbestand zwischen Dezember 2017 und Mai 2018 .....	35
<b>3.</b>	<b>Evaluierung des Gesundheitsstatus der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes und der Mastbestände 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....</b>	<b>40</b>
3.1.	Darstellung der Tierpopulation im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	40
3.1.1.	Darstellung der Tierpopulation des Ferkelerzeugerbestandes .....	40
3.1.2.	Darstellung der Tierpopulation der Mastbestände .....	42
3.2.	Darstellung der Probenentnahme im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	43
3.2.1.	Darstellung der Blutprobenentnahme .....	44
3.2.2.	Darstellung der Speichelprobenentnahme .....	45
3.2.3.	Darstellung der Kotprobenentnahme.....	46
3.2.4.	Darstellung der Spermaprobenentnahme .....	46
3.2.5.	Darstellung der Organprobenentnahme der in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel .....	47
3.2.6.	Darstellung der Entnahme der Oral Fluid Proben.....	47
3.3.	Darstellung der Diagnostikmethoden im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	48
3.3.1.	Darstellung der molekularbiologischen Diagnostikmethoden.....	48
3.3.2.	Darstellung der serologischen Diagnostikmethoden .....	48
<b>4.</b>	<b>Statistik .....</b>	<b>49</b>

---

<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>51</b>
<b>1.</b>	<b>Untersuchungsergebnisse des im Zeitraum des Krankheitsgeschehens sowie im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings gewonnenen Probenmaterials.....</b>	<b>51</b>
1.1.	Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand A.....	51
1.2.	Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand B.....	59
1.3.	Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand C.....	65
1.4.	Vergleich der labordiagnostischen Untersuchungsbefunde der Mastbetstände. .....	76
1.5.	Untersuchungsergebnisse der Proben aus dem Ferkelerzeugerbestand .....	79
1.5.1.	Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Dezember 2017 .....	79
1.5.2.	Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Februar 2018 .....	80
1.5.3.	Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im März 2018 .....	82
1.5.4.	Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Mai 2018.....	82
<b>2.</b>	<b>Ergebnisse der Untersuchungen des im Rahmen der diagnostischen Evaluation 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen gewonnenen Probenmaterials.....</b>	<b>86</b>
2.1.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen .....	86
2.1.1.	Ergebnisse der Serumproben der Sauen.....	86
2.1.2.	Ergebnisse der Speichelproben der Sauen.....	87
2.1.3.	Ergebnisse der Kotproben der Sauen .....	87
2.1.4.	Ergebnisse der Serumproben der Ferkel.....	87
2.1.5.	Ergebnisse der Organproben der in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel .	87
2.1.6.	Ergebnisse der Spermaproben der Eber .....	88
2.1.7.	Ergebnisse der Oral Fluid-Proben der Mastschweine .....	88
2.2.	Ergebnisse der serologischen Untersuchungen.....	90
2.2.1.	Ergebnisse der Serumproben der Sauen.....	90
2.2.2.	Ergebnisse der Serumproben der Ferkel.....	96



---

<b>3.</b>	<b>Gegenüberstellung vergleichbarer Untersuchungsergebnisse .....</b>	<b>98</b>
3.1.	Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Sauen während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	98
3.2.	Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	99
3.3.	Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Saugferkel während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.....	99
3.4.	Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Sauen in der 3. Säugewoche und der Ferkel in der 3. Lebenswoche .....	100
3.5.	Gegenüberstellung der Ergebnisse der Sequenzierung der Nukleotidsequenz des ORF2 im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens .....	100
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>103</b>
<b>1.</b>	<b>Beurteilung des Gesundheitsstatus der Bestände im Zeitraum des Krankheitsgeschehens .....</b>	<b>103</b>
1.1.	Beurteilung der Sektionsbefunde der während des Krankheitsgeschehens untersuchten Tiere aus den Mastbeständen .....	103
1.2.	Beurteilung der Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen der während des Krankheitsgeschehens gewonnenen Proben der untersuchten Tiere des Ferkelerzeugerbestandes.....	106
1.2.1.	Beurteilung der Ergebnisse der Sektionsbefunde der während des Krankheitsgeschehens im Rahmen der Bestandsdiagnostik der im Ferkelerzeugerbestand untersuchten Tiere.....	106
1.2.2.	Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen der Proben des Ferkelerzeugerbestandes während des Krankheitsgeschehens.....	106

---

<b>2.</b>	<b>Beurteilung der Untersuchungsergebnisse des im Rahmen der diagnostischen Evaluation 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen gewonnenen Probenmaterials .....</b>	<b>108</b>
2.1.	Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen....	108
2.1.1.	Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der Proben des Ferkelerzeugerbestandes .....	108
2.1.2.	Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Kastrickproben der Mastbestände .....	111
2.2.	Beurteilung der serologischen Untersuchungen .....	112
2.2.1.	Beurteilung der serologischen Untersuchungsergebnisse der Sauen.....	112
2.2.2.	Beurteilung der serologischen Untersuchungsergebnisse der Ferkel.....	113
<b>3.</b>	<b>Beurteilung des Vorkommens verschiedener PCV2-Genotypen in den untersuchten Beständen .....</b>	<b>114</b>
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>117</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>120</b>
<b>VIII.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>122</b>
<b>IX.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>125</b>
<b>X.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>127</b>
<b>XI.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>152</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

APP	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
<i>B. bronchiseptica</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
<i>B. hyodysenteriae</i>	<i>Brachyspria hyodysenteriae</i>
<i>B. pilosicoli</i>	<i>Brachyspira pilosicoli</i>
BFDV	beak and feather disease virus
bp	Basenpaare
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
CAV	chicken anaemia virus
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
EU	ELISA-Units
<i>G. parasuis</i>	<i>Glaesarella parasuis</i>
ggr.	geringgradig/ e
hgr.	hochgradig/ e
IAV	Influenza A Virus
IFN-gamma	Interferon gamma
IHC	Immunhistochemie
ISH	In situ Hybridisierung
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
kDa	kiloDalton
<i>L. intracellularis</i>	<i>Lawsonia intracellularis</i>
logGE/ml Serum	Genomäquivalente pro Milliliter Serum
<i>M. haemolytica</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>
<i>M. hyorhinis</i>	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>
<i>M. suis</i>	<i>Mycoplasma suis</i>
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
mgr.	mittelgradig/ e
OD	optical density
ORF	open reading frame
<i>P. multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
PCR	polymerase chain reaction
PCV	porzines Circovirus
PCV1	porzines Circovirus Typ 1
PCV2	porzines Circovirus Typ 2
PCV2-ED	porcine circovirus type 2 enteric disease
PCV2-LD	porcine circovirus type 2 lung disease

---

PCV2-RD	porcine circovirus type 2 reproductive disease
PCV2-SD	porcine circovirus type 2 systemic disease
PCV3	porzines Circovirus Typ 3
PCVD	porcine circovirus diseases
PDNS	porcine dermatitis and nephropathy syndrome
PMWS	post weaning multisystemic wasting syndrome
PNP	proliferative and necrotizing pneumonia
PPV	Porzines Parvovirus
PRDC	porcine respiratory disease complex
PRRSV	porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus
Q	Quarantäne
qPCR	quantitative PCR
Rep	Replikationsprotein von PCV
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. canis</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>S. enterica</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>S. hyicus</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>
<i>S. suis</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Salmonella spp.</i>	mehrere Arten der Gattung <i>Salmonella</i>
Std.-Abweichung	Standardabweichung
SW	Säugewoche
<i>T. pyogenes</i>	<i>Trueperella pyogenes</i>
TCID	tissue culture infectious doses
TW	Trächtigkeitswoche

## I. EINLEITUNG

Das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) gilt sowohl weltweit als auch in Deutschland als eines der relevantesten Pathogene in der Schweineproduktion. Es wird als kausales Agens verschiedener Krankheitsbilder und Syndrome angesehen, die als porcine circovirus diseases (PCVD) zusammengefasst werden (OPRIESSNIG et al., 2007). Zu diesen werden unter anderem die PCV2 systemic disease (PCV2-SD) und das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) gezählt (OPRIESSNIG et al., 2007). Die meisten Infektionen mit PCV2 verlaufen jedoch subklinisch (SEGALÉS, 2012).

Derzeit werden 8 verschiedene PCV2-Genotypen (PCV2a-h) unterschieden (FRANZO & SEGALÉS, 2018). Während im Zeitraum zwischen 2004 und 2005 ein Genotypenshift von PCV2a zugunsten von PCV2b zu verzeichnen war (GAGNON et al., 2007; CARMAN et al., 2008; DUPONT et al., 2008), wird derzeit ein Genotypenshift von PCV2b zugunsten von PCV2d diskutiert (XIAO et al., 2015). Zurzeit gilt PCV2d in vielen Ländern als der am häufigsten vorkommende Genotyp von PCV2 (FRANZO et al., 2016; LI et al., 2016; XIAO et al., 2016; KWON et al., 2017; XIA et al., 2019). Mit dem Aufkommen von PCV2d kam es in verschiedenen Ländern zu einer auffälligen Häufung von PCVD in PCV2 geimpften Tierbeständen (OPRIESSNIG et al., 2013; SEO et al., 2014b; EDDICKS et al., 2015). Da alle derzeit kommerziell erhältlichen PCV2-Impfstoffe auf dem Genotypen PCV2a basieren, wurden Untersuchungen durchgeführt, um die Kreuzprotektivität der auf PCV2a basierenden Impfstoffe gegenüber PCV2d zu überprüfen. Alle hierzu durchgeführten Untersuchungen belegen sowohl experimentell (OPRIESSNIG et al., 2014b; OPRIESSNIG et al., 2017; KOLYVUSHKO et al., 2019; PARK et al., 2019) als auch unter Feldbedingungen (OPRIESSNIG et al., 2014a) die Wirksamkeit kommerzieller Impfstoffe gegenüber PCV2d.

In der vorliegenden Untersuchung werden die Untersuchungsbefunde von einer Produktionslinie eines Ferkelerzeugerbestandes mit eigener Aufzucht sowie 3 fest angebondenen Mastbeständen ausgewertet, bei denen es trotz Impfung der Ferkel gegen PCV2 in der nachgelagerten Mast laut bestandsbetreuender Tierärztinnen und Tierärzte verdachtsweise zu einem durch PCV2d verursachten Krankheitsbild kam. Im weiteren Verlauf wurde gemeinsam mit den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten vereinbart eine

---

Bestandsdiagnostik im Ferkelerzeugerbestand durchzuführen, um den Infektionsstatus der Sauenherde hinsichtlich PCV2 zu eruieren und diese als möglichen Ausgangspunkt für den Eintrag des nachgewiesenen Virusstammes in die betroffenen Mastbestände zu bewerten. Darüber hinaus wurden auch die Mastbestände in die Diagnostik eingeschlossen um deren Infektionsstatus hinsichtlich PCV2 nach dem akuten Krankheitsgeschehen zu bewerten.

## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1. Porzines Circovirus

#### 1.1. Taxonomie

Das porcine Circovirus (PCV) ist ein Virus der Familie Circoviridae (ROSARIO et al., 2017). In dieser Virusfamilie wird zwischen den Gattungen Cyclovirus und Circovirus unterschieden (MEEHAN et al., 1998; ROSARIO et al., 2017). Die porcinen Circoviren (PCV) gehören zur Gattung der Circoviren (MEEHAN et al., 1998; ROSARIO et al., 2017) wie auch das chicken anaemia virus (CAV) und das beak and feather disease virus (BFDV) (RITCHIE et al., 1989; TODD et al., 1990). Das porcine Circovirus ist dem Genus Circovirus zuzuordnen (RITCHIE et al., 1989; TODD et al., 1991; WOODS et al., 1993; PRINGLE, 1999; PHENIX et al., 2001). Es werden 3 Spezies unterschieden: Das porcine Circovirus Typ 1 (PCV1), das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) (MEEHAN et al., 1998) und das porcine Circovirus Typ 3 (PCV3) (PHAN et al., 2016; PALINSKI et al., 2017). Beim porcinen Circovirus Typ 2 werden 8 Genotypen über die Gensequenz des Kapsidproteins unterschieden (FRANZO & SEGALÉS, 2018).

#### 1.2. Morphologie und Eigenschaften

Das Genom von PCV2 ist circa 1.768 Basenpaare (bp) groß (abhängig vom Genotyp) und besteht aus einzelsträngiger, kovalent geschlossener DNA (TISCHER et al., 1982; HAMEL et al., 1998). Die 1.768 Basenpaare beinhalten 11 mutmaßliche Open Reading Frames (ORFs), die für unterschiedliche Proteine kodieren (HAMEL et al., 1998). Das Virus hat ein Molekulargewicht von  $0,58 \times 10^6$  kDa (TISCHER et al., 1982).

Die Genomstruktur der porcinen Circoviren ist sehr kompakt (MANKERTZ et al., 2004). Der Durchmesser des Virus wird unterschiedlich beschrieben und liegt zwischen 17nm (TISCHER et al., 1982) und 20,5nm (CROWTHER et al., 2003), damit zählt PCV2 zu den kleinsten in Säugerzellen vermehrbaren Viren (MANKERTZ et al., 2004; ALLAN et al., 2012). Das Kapsid ist ikosaedrisch und besteht aus 60 Untereinheiten (CROWTHER et al., 2003). Die atomische Struktur von PCV2 wurde von KHAYAT et al. (2011) beschrieben. Das porcine Circovirus gehört zu den unbehüllten Viren (TISCHER et al., 1982; HAMEL et

al., 1998).

### 1.3. Replikation und Genomaufbau von PCV

Die porzinen Circoviren replizieren über den sogenannten rolling-circle-Mechanismus (MANKERTZ et al., 1997; FAUREZ et al., 2010). Grundlage dafür ist eine Hairpin- und eine Nonamer-Struktur als Startpunkt für die Replikation (HEYRAUD et al., 1993; MANKERTZ et al., 1998a). Für die Replikation in der Wirtszelle sind Zellenzyme essentiell (GASSMANN et al., 1988; CHEUNG, 2006).

Insgesamt verfügt das porcine Circovirus über 11 mutmaßliche open reading frames (ORFs), deren Genprodukte unterschiedliche Funktionen besitzen (HAMEL et al., 1998). Die 3 größten ORFs des porcinen Circovirus sind der ORF1, der ORF2 und der ORF3 (CHEUNG, 2003a; CONSTANS et al., 2015).

Der ORF1 ist der größte ORF von PCV (MANKERTZ et al., 2004). Dieser ORF ist zwischen allen PCV2-Spezies stark konserviert (MANKERTZ et al., 1998a). Die Proteine, die von diesem ORF synthetisiert werden, sind die Replikationsproteine Rep und Rep' (HAMEL et al., 1998; MANKERTZ et al., 2004). Das Rep-Protein umfasst die volle Länge des ORF1 und besteht aus 312 Aminosäuren, während das Rep'-Protein durch ein alternatives Splicing nur 168 Aminosäuren lang ist (MANKERTZ et al., 2004). Um eine Replikation zu ermöglichen, müssen beide Proteine an die DNA binden können, da diese für die Replikation Homo- und Heteromultimere bilden (MANKERTZ et al., 2004). Bei PCV1 sind nur die Splicing-Varianten Rep und Rep' bekannt, PCV2 hingegen hat circa 8 Splicing-Varianten des Replikationsproteins (CHEUNG, 2003a; MANKERTZ et al., 2004).

Der ORF2 codiert für das Kapsidprotein, das aus 233 Aminosäuren besteht (MANKERTZ et al., 1998b; CHEUNG, 2003a, 2003b). Das gesamte Kapsid der porcinen Circoviren setzt sich aus 60 ikosaedrischen Untereinheiten dieses Proteins zusammen (CROWTHER et al., 2003). Es ist das Hauptantigen bei der Immunantwort des Wirtes (NAWAGITGUL et al., 2000).

Auf dem ORF3 befinden sich die Informationen für ein Protein, das 105 Aminosäuren lang ist und zur Apoptose der infizierten Wirtszelle führt (KARUPPANNAN et al., 2009; CHAIYAKUL et al., 2010; JUHAN et al., 2010). Der Versuch mittels ORF3-depletierter PCV2-Mutanten in Mäusen ergab, dass bei diesen Tieren keinerlei histologische Läsionen nachweisbar waren, jedoch



eine deutliche Antikörper-Antwort sowie Replikation des Virus nachweisbar waren (LIU et al., 2006). Bei den Mäusen war dieses ORF3-depletierte Virus apathogen (LIU et al., 2006).

#### 1.4. Vorkommen von PCV2

PCV2 gilt weltweit als ubiquitär verbreitet (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS, 2012). Das gilt sowohl für die Hausschweinebestände (SIBILA et al., 2004), als auch für die Wildschweinpopulation (SCHULZE et al., 2003; VICENTE et al., 2004).

Die Impfung gegen PCV2 schützt vor klinischen Krankheitsbildern, nicht aber vor einer Infektion (KIXMÖLLER et al., 2008; YOUNG et al., 2011). Es ist jedoch im Vergleich zu anderen Pathogenen, gegen die ebenfalls flächendeckend geimpft wird, immer noch sehr weit verbreitet (XIAO et al., 2016).

DVORAK et al. (2016) konnten in ihrer Studie in den USA PCV2-DNA im Serum von 30-100% der untersuchten Sauenpopulation feststellen. In einer Studie aus Deutschland von EDDICKS et al. (2016), bei der Sauen aus Deutschland untersucht wurden, konnte ein Anteil PCV2-DNA-positiver Proben von 0,5-1% in Abhängigkeit des Probenmaterials nachgewiesen werden. In den Niederlanden wiesen DIESTE-PÉREZ et al. (2018) bei den untersuchten Sauen PCV2-DNA weder im Serum, noch im Speichel noch im Kot nach. Weitere Studien untersuchten das Vorkommen von PCV2-DNA bei Sauen um den Zeitpunkt der Geburt (LÓPEZ-SORIA et al., 2010) und wiesen einen Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben der Sauen von 0-1% nach.

Studien von MAGAR et al. (2000a) aus Kanada und RAMÍREZ-MENDOZA et al. (2009) in Mexiko zeigten, dass die Seroprävalenz von PCV2 seit den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts ansteigt. Die PCV2-Seroprävalenzen in Schweinebeständen weltweit lagen in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts bei 60-80% (MAGAR et al., 2000b; RAMÍREZ-MENDOZA et al., 2009). In Europa wurden Seroprävalenzen von PCV2 bis über 90% nachgewiesen (WALKER et al., 2000; KUKUSHKIN & OKOVYTAYA, 2013). In Sauenherden wurden bisher vor allem PCV2-Seroprävalenzen im Zeitrahmen der Abferkelung untersucht (SHEN et al., 2010a; DIAS et al., 2013). In diesem Zeitraum wurden Seroprävalenzen von PCV2 von bis zu 100% ermittelt (LÓPEZ-SORIA et al., 2010; SHEN et al., 2010a; DIAS et al., 2013). In Deutschland hingegen konnten EDDICKS et al. (2016) und EDDICKS et al. (2019) Seroprävalenzen von PCV2

von etwa 20%-50% feststellen. DIESTE-PÉREZ et al. (2018) wiesen in den Niederlanden eine Prävalenz von circa 30% PCV<sub>2</sub>-seropositiven Sauen nach.

### 1.5. Ausscheidung und Übertragung

Für die Übertragung von PCV<sub>2</sub> gibt es viele verschiedene Wege (ROSE et al., 2012). Grundsätzlich ist sowohl eine horizontale, als auch eine vertikale Übertragung möglich (SEGALÉS et al., 2005b; GERBER et al., 2012).

Die häufigsten Übertragungswege sind der direkte Kontakt mit Urin und Faeces, sowie direkter Nasenkontakt (SEGALÉS et al., 2005b; DUPONT et al., 2009). Da diese Möglichkeiten innerhalb einer Bucht am besten gegeben sind, ist die Übertragungsrate innerhalb einer Bucht besonders hoch (ANDRAUD et al., 2008). Zwischen den Buchten nimmt die Übertragungsrate ab (ANDRAUD et al., 2008). Aus diesem Grund ist die Übertragung zwischen verschiedenen Herden zu dem Zeitpunkt zu dem keine Tiere zugekauft werden unwahrscheinlich (ANDRAUD et al., 2008). Aber auch in Sperma, Kolostrum, Speichel, Augen- und Nasensekret ist PCV<sub>2</sub> nachweisbar (SHIBATA et al., 2003; SCHMOLL et al., 2008; MADSON et al., 2009; GERBER et al., 2011). PCV<sub>2</sub> wird entsprechend über alle Se- und Exkrete ausgeschieden (SHIBATA et al., 2003; SHIBATA et al., 2006; MADSON et al., 2009; GERBER et al., 2011; ROSE et al., 2012).

Neben direktem Kontakt ist auch eine Übertragung durch orale Aufnahme infizierten Gewebes möglich (OPRIESSNIG et al., 2009). Die Übertragung über Aerosole wiederum ist noch nicht vollständig geklärt, da sich in Studien unterschiedliche Ergebnisse zeigen (HERMANN et al., 2008; VERREAULT et al., 2010). HERMANN et al. (2008) wiesen kein Virus in der Ausatemluft nach, wohingegen VERREAULT et al. (2010) umgerechnet bis zu 200 TCID (tissue culture infectious doses) pro Tag pro Schwein feststellen konnten. Da es unter anderem Untersuchungen über die Übertragung von Viren über weite Distanzen beim porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndrom Virus (PRRSV) gibt (DEE et al., 2009), wird aufgrund der hohen Tenazität und der kleinen Größe von PCV<sub>2</sub> eine mindestens genauso weite Distanz wie beim PRRSV vermutet (VERREAULT et al., 2010).

Auch die intrauterine Übertragung von PCV<sub>2</sub> von der Muttersau auf ihre Ferkel spielt eine Rolle in der Verbreitung (GERBER et al., 2012). In diesem Zusammenhang wurde PCV<sub>2</sub> im Sperma von Ebern nachgewiesen (MCINTOSH

et al., 2006; MADSON et al., 2008; SCHMOLL et al., 2008). MADSON et al. (2009) konnten bei Sauen durch Insemination von PCV2-DNA-positivem Sperma PCV2 reproductive disease (PCV2-RD) auslösen. In verschiedenen amerikanischen Studien wurde festgestellt, dass bei neugeborenen Ferkeln vor der Aufnahme von Kolostrum sowohl PCV2-DNA als auch Antikörper gegen PCV2 nachgewiesen werden konnten (GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). In diesen Studien waren viele Muttersauen virämisch und/oder seropositiv (SHEN et al., 2010a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). In Europa wiesen sowohl EDDICKS et al. (2016) als auch DIESTE-PÉREZ et al. (2018) nach, dass im Serum von Ferkeln vor und 12-24 Stunden nach Kolostrumaufnahmen keine PCV2-DNA nachweisbar war. 0,5 bis 1% der Sauen in der Studie von EDDICKS et al. (2016) wiesen PCV2-DNA in den untersuchten Proben auf. In der Studie von DIESTE-PÉREZ et al. (2018) konnte bei keiner der untersuchten Sauen PCV2-DNA im Serum nachgewiesen werden. In einer Studie von SYDLER et al. (2016) wurde der Thymus der Feten mittels polymerase chain reaction (PCR), Fluoreszenz In situ Hybridisierung und Immunhistochemie (IHC) untersucht. In jedem der untersuchten Thymi konnten SYDLER et al. (2016) PCV2 nachweisen.

Da Tiere mit subklinischer Infektion keine klinischen Symptome zeigen, das Virus aber ausscheiden und damit verbreiten können, sind subklinisch infizierte Herden und subklinisch infizierte Sauen das Hauptrisiko der Übertragung innerhalb und zwischen den Herden (RINCÓN MONROY et al., 2015; AFGHAH et al., 2017). Weil vor allem Jungsauen laut RINCÓN MONROY et al. (2015) häufig als empfänglicher gelten als Altsauen, wird deren Eingliederung als kritischer Punkt im Produktionsablauf eines Bestandes betrachtet, da hierbei Tiere mit potenziell unterschiedlichem Antikörper-Status vergesellschaftet werden.

### **1.6. Pathogenese**

Nach einer Infektion mit PCV2 wird das Virus unter anderem in Makrophagen, Antigenpräsentierenden Zellen und Epithelzellen in Lymphknoten oder Tonsillen primär repliziert (SARLI et al., 2001; SANCHEZ JR et al., 2003). Der Infektionsweg der Zelle ist nicht genau geklärt: Entweder wird das Virus über Endozytose phagozytischer Zellen (DARWICH et al., 2004), oder über verschiedene, vom Zelltyp abhängige Rezeptoren aufgenommen (MISINZO et al., 2005; MISINZO et al., 2009). Obwohl es sich bei den oben genannten Zellen

um ausdifferenzierte Zellen handelt, besitzen Makrophagen und Antigenpräsentierenden Zellen eine intrinsische Polymeraseaktivität, da sie eine besonders hohe Rate an DNA-Strangbrüchen aufweisen (TERAI et al., 1991). Innerhalb der Zelle ist das Virus auf die zelleigene DNA-Polymerase angewiesen, um sich zu replizieren (TISCHER et al., 1987). Die systemische Ausbreitung von PCV2 erfolgt unter anderem über zirkulierende periphere Monozyten und Dendritische Zellen (VINCENT et al., 2003).

Die Infektion mit PCV2 sorgt über eine Selektion sich entwickelnder T-Zellen im Thymus für eine Dysregulation der Immunantwort des Tieres gegen das Kapsidprotein von PCV2 (STEVENSON et al., 2007; KLAUSMANN et al., 2015). Durch diese Dysregulation der T-Zellen im Thymus ergibt sich eine adaptive Toleranz der peripheren T-Lymphozyten gegen PCV2 (KLAUSMANN et al., 2015). Statt einer Immunantwort gegen das Epitop des Strukturproteins des ORF2 und der Ausbildung neutralisierender Antikörper richtet sich die Immunantwort gegen die Epitope der Nichtstrukturproteine des ORF1 und ORF3 (STEVENSON et al., 2007). Zusätzlich kommt es durch die Infektion mit PCV2 zu einer virusinduzierten B-Zell-Apoptose mit einer daraus resultierenden IgM-Zellverschiebung (SHIBAHARA et al., 2000). Das Ergebnis der Veränderungen der Lymphozyten ist ein Absinken der B- und T-Lymphozyten im Blut infizierter Tiere mit klinischer Symptomatik (SEGALÉS et al., 2001). Eine Infektion mit PCV2 hat damit eine weitestgehend immunsuppressive Wirkung (RAMAMOORTHY & MENG, 2009). Für die Ausprägung einer klinischen Symptomatik der PCVD müssen weitere Faktoren hinzukommen, wie die Aktivierung des Immunsystems durch Koinfektionen oder andere Immunmodulatoren; ist dies nicht der Fall, bleibt die Infektion subklinisch (KRAKOWKA et al., 2001; KYRIAKIS et al., 2002).

### 1.7. PCV2-assozierte Erkrankungen

Zusammengefasst werden die klinischen Symptome einer Infektion mit PCV2 als porcine circovirus diseases (PCVD) (OPRIESSNIG et al., 2007). PCVD gilt als typische Faktorenkrankheit (MADEC et al., 2008; RAMAMOORTHY & MENG, 2009). Eine Koinfektion mit porzinem Parvovirus (PPV), PRRSV oder *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* rufen deutlich schwerere Läsionen hervor als eine Infektion mit PCV2 alleine (KRAKOWKA et al., 2000; HARMS et al., 2001; OPRIESSNIG & HALBUR, 2012). Verschiedene Studien zeigen sowohl eine Verdeutlichung der Symptome bei Immunsuppression als auch bei

Immunistimulation (KRAKOWKA et al., 2001; KRAKOWKA et al., 2002). Zwischen den einzelnen Krankheitsbildern, die durch PCV2 verursacht werden, gibt es zum Teil keine eindeutigen Grenzen (BARÓ et al., 2015). Eine Infektion mit PCV2 verläuft jedoch in den meisten Fällen subklinisch (SEGALÉS, 2012).

Die in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts am häufigsten auftretende klinische Erscheinung war das post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (HARDING & CLARK, 1997), das heute auch als PCV2 systemic disease (PCV2-SD) bezeichnet wird (SEGALÉS, 2012). Die klinischen Anzeichen dieses Syndroms sind voranschreitender Gewichtsverlust, Dyspnoe, vergrößerte Lymphknoten, Durchfall, Blässe und Ikterus (HARDING & CLARK, 1997; SEGALÉS et al., 2004). Als typisches Alter für eine Erkrankung mit PCV2-SD gilt die 5. bis 16. Lebenswoche (HARDING & CLARK, 1997; SEGALÉS et al., 2004). Neben PCV2-SD gehören zu PCVD die PCV2-reproductive disease (PCV2-RD), die PCV2-enteric disease (PCV2-ED), die PCV2-lung disease (PCV2-LD), und das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (OPRIESSNIG et al., 2007).

Die äußerlich sichtbaren Hauptsymptome von PDNS sind Papeln und Flecken auf der Haut (ALLAN & ELLIS, 2000; WELLENBERG et al., 2004). Diese sind unregelmäßig und rot bis violett (ALLAN & ELLIS, 2000; WELLENBERG et al., 2004). Die Unterhaut betroffener Tiere weist Hämorrhagien und Ödeme auf (ROSELL et al., 1999; ALLAN & ELLIS, 2000; WELLENBERG et al., 2004). Zudem sind die Nieren meist beidseits vergrößert und mit Petechien in der Nierenrinde versehen (ROSELL et al., 1999; ALLAN & ELLIS, 2000; WELLENBERG et al., 2004). Zusätzlich ist das Nierenbecken betroffener Tiere ödematös verändert (ALLAN & ELLIS, 2000; WELLENBERG et al., 2004).

Im Rahmen der proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) zeigen sich in der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Lungen der betroffenen Tiere großflächige rote bis graue Areale mit feuchter, fleischiger, gummiartiger Konsistenz (MORIN et al., 1990). Die Lungenretraktion ist bei betroffenen Tieren mäßig bis schlecht (MORIN et al., 1990). Im Rahmen der PCV2-LD wird in der pathologisch-anatomischen Untersuchung ausschließlich ein Fehlen des Kollabierens der Lungen nachgewiesen (SEGALÉS, 2012). In der histopathologischen Untersuchung werden bei Tieren mit PCV2-LD eine granulomatöse bronchiointerstitielle Pneumonie festgestellt, die mit oder ohne Bronchiolitis und bronchialer Fibrose einhergeht (SEGALÉS, 2012). Bei der

Diagnose der PCV2-LD ist zu beachten, dass diese Läsionen auch bei der PCV2-SD nachgewiesen werden können, jedoch fehlt bei der Diagnose der PCV2-LD der Nachweis der für die PCV2-SD charakteristischen Läsionen in lymphatischem Gewebe (SEGALÉS, 2012).

Im Rahmen des porcine respiratory disease complex (PRDC) kann PCV2 eine Rolle spielen (BROCKMEIER et al., 2002). Im Gegensatz zu PCV2-SD betrifft die Erkrankung mit PCV2 im Rahmen der PRDC typischerweise Aufzuchtferkel und Mastschweine zwischen der 16. und 22. Lebenswoche mit Fieber, Husten und Dyspnoe (THACKER et al., 2001). Die histologischen Läsionen der Tiere, die mit PCV2 im Rahmen des PRDC infiziert sind, stellen sich als granulomatöse Pneumonien mit mehrkernigen Riesenzellen und unterschiedliche Anzahlen basophiler intrazytoplasmatischer viraler Einschlusskörperchen mit Histiozyten- und Makrophagen-Infiltration dar (CHOI & CHAE, 1999; KRAKOWKA et al., 2000; KIM et al., 2002). Zum Teil konnte aber auch nur eine bronchiointerstitielle Pneumonie, die sich histologisch als bronchiointerstitielle Pneumonie mit peribronchialer und peribronchiolarer Fibrose darstellt, ohne charakteristische Läsionen in den anderen Organen festgestellt werden (KIM et al., 2003). Für die Ausprägung der Symptome der PCV2-LD im Rahmen des PRDC sind wie in den anderen Symptomen im Rahmen der PCVD Koinfektionen mit anderen Erregern essenziell (MADEC et al., 2008; GILLESPIE et al., 2009).

### **1.8. Histologische Läsionen**

Eine Diagnose von PCV2-SD lässt sich laut SORDEN (2000) nicht stellen, ohne entsprechende Läsionen in der histologischen Untersuchung nachgewiesen zu haben. Allerdings unterscheiden sich die histologischen Läsionen je nach Krankheitsbild (SEGALÉS, 2012).

Zu den histologischen Läsionen, die sich bei Tieren mit PCV2-SD zeigen, gehören insbesondere eine Lymphozytendepletion in den lymphatischen Organen wie Tonsillen, Lymphknoten, Milz und Peyer'schen Platten (FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). Darüber hinaus wird bei den oben genannten Organen eine granulomatöse Entzündung sowie histiozytäre Infiltration mit Zytoplasmaeinschlüssen in den betroffenen Zellen nachgewiesen (FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). In den Lungen der Tiere wird eine interstitielle Pneumonie festgestellt (ROSELL et al., 1999), die sich zum

Teil lymphohistiozytär bis granulomatös darstellt (BRUNBORG et al., 2004; FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). Des Weiteren können in der Lunge auch verschiedene Stadien von peribronchialer Fibroplasie, nekrotisierende Bronchiolitis und nekrotisierender Pneumonie nachgewiesen werden (BRUNBORG et al., 2004; FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). In den Lebern PCV2-SD betroffener Tiere wird regelmäßig eine lymphohistiozytäre Hepatitis mit vielen in Apoptose inbegriffenen Zellen sowie eine perilobuläre Fibrose festgestellt (BRUNBORG et al., 2004; FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009). Grundsätzlich können bei Tieren mit einer PCV2-SD-Symptomatik in allen Organen lymphozytäre Entzündungen auftreten (FORT et al., 2007; GRAU-ROMA et al., 2009).

Bei subklinischer PCV2-Infektion werden keine oder ausschließlich eine geringgradige Lymphozytendepletion sowie eine geringgradige granulomatöse Entzündung der lymphatischen Organe nachgewiesen (BRUNBORG et al., 2004; GRAU-ROMA et al., 2009; CORTEY et al., 2011; SEGALÉS, 2012). Hinsichtlich der anderen durch PCV2 verursachten Krankheitsbilder (PCV2-ED, PCV2-RD, PCV2-LD, PDNS) werden die entsprechenden histologischen Läsionen neben den lymphatischen Geweben vor allem in den betroffenen Organen festgestellt (SEGALÉS, 2012). Die PCV2-LD stellt eine Ausnahme dar, da dort in den lymphatischen Organen keine typischen Läsionen detektiert werden (SEGALÉS, 2012). In der IHC und der In situ Hybridisierung (ISH) wird dort allerdings eine moderate bis hohe Viruslast nachgewiesen (SEGALÉS, 2012). Bei der PCV2-ED werden die typischen Läsionen nur in den Peyer'schen Platten und nicht in anderen lymphatischen Geweben festgestellt (SEGALÉS, 2012). Die Besonderheit der histologischen Läsionen der PCV2-RD ist die, dass diese nur bei Ferkeln und bisher nicht bei den Sauen nachgewiesen wurden (BRUNBORG et al., 2004; HANSEN et al., 2010; SEGALÉS, 2012).

Beim PDNS können eine milde Lymphozytendepletion und eine milde granulomatöse Entzündung in den lymphatischen Organen nachgewiesen werden, allerdings sind die vorherrschenden histologischen Läsionen bei diesem Krankheitsbild systemische nekrotisierende Vaskulitis sowie fibrino-nekrotisierende Glomerulitis mit nicht-purulenter interstitieller Nephritis (OLVERA et al., 2004; ARAMOUNI et al., 2011; SEGALÉS, 2012). Bei Tieren, welche die akute PDNS-Phase überstanden haben, werden chronisch-fibröse interstitielle Nephritiden mit Glomerulosklerose nachgewiesen (OLVERA et al.,

2004; ARAMOUNI et al., 2011; SEGALÉS, 2012).

Im Rahmen der PNP werden in der histologischen Untersuchung der Lungen der Tiere eine lymphohistiozytäre interstitielle Entzündung mit Hypertrophie und Proliferation der Typ 2 Pneumozyten sowie Areale nekrotischer Entzündungszellen innerhalb der Alveolen festgestellt (MORIN et al., 1990; DROLET et al., 2003). In manchen Fällen wurden zusätzlich hyaline Membranen, lymphoplasmazytäre Infiltrate in den Alveolen sowie eine bronchiale oder bronchiolare Nekrose oder mehrkernige Riesenzellen nachgewiesen (MORIN et al., 1990).

## **2. Prävention gegen PCV2-Erkrankungen**

### **2.1. Impfung**

Eine Impfung gegen PCV2 schützt die Tiere nicht vor einer Infektion (FORT et al., 2008; DVORAK et al., 2016), senkt jedoch die Viruslast im Blut infizierter Tiere, die Mortalität, die Anzahl der Kümmerer und der Koinfektionen und führt infolgedessen zu besseren Tageszunahmen (KIXMÖLLER et al., 2008; DVORAK et al., 2016). Im Hinblick auf die Effektivität verschiedener verfügbarer Impfstoffe sind verschiedene Studien angefertigt worden (BEACH et al., 2010; CHAE, 2012; OPRIESSNIG et al., 2017). Sie weisen für alle Impfstoffe nach, dass sie die Tageszunahmen der Tiere signifikant steigern, die Viruslast im Blut infizierter Tiere senken, die histologischen Befunde sowie die Antikörperentwicklung verbessern (SHEN et al., 2010b; DA SILVA et al., 2014; OH et al., 2014). In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Impfung gegen PCV2 effizient ist, eine humorale und zelluläre Immunantwort bei den geimpften Tieren hervorzurufen (FORT et al., 2009; KEKARAINEN et al., 2010; FORT et al., 2012). Das primäre immunogene Agens von PCV2 ist das Kapsid-Protein, das vom ORF2 kodiert wird (LEKCHAROENSUK et al., 2004).

Bevor die Impfung gegen PCV2 etabliert wurde, standen Maßnahmen zur Optimierung des Bestandsmanagements zur Reduktion PCV2-bedingter Erkrankungen im Vordergrund (MADEC et al., 2000). Diese wurden im sogenannten 20-Punkte-Plan von Madec zusammengefasst (MADEC et al., 2000; ELLIS et al., 2004; SEGALÉS et al., 2005a). Trotz weltweit etablierter Impfung gegen PCV2 ist die Optimierung des Bestandsmanagements auch heute noch von besonderer Bedeutung im Rahmen der Kontrolle von PCVD (SEGALÉS et al., 2019).



Solange alle bestandseigenen Faktoren optimal sind schützt die Vakzine vor der Erkrankung (EDLEFSEN, 2014). EDLEFSEN (2014) beschreiben diese Art der Vakzine als sogenannte „Lekay-vaccine“. Sind die bestandseigenen Faktoren nicht optimal und der Infektionsdruck steigt, können trotz der Impfung PCV2-Problematiken im Bestand aufkommen (EDLEFSEN, 2014). Die Ursache für diese Unsicherheit der Impfung wurde unter anderem in der Tertiär- und Quartärstruktur des Kapsidproteins von PCV2 vermutet (XIAO et al., 2012; JEONG et al., 2015; ZHAN et al., 2016). Der Unterschied zwischen dem Kapsidprotein von PCV2a und PCV2d in der Primärstruktur sind 23 Aminosäuren, von denen die meisten nahe des Epitops A liegen (XIAO et al., 2012; SALGADO et al., 2014; JEONG et al., 2015). Außerdem befindet sich in der Primärstruktur des Kapsidproteins am C-terminalen Ende des Epitops D bei PCV2d ein zusätzliches Lysin (LEKCHAROENSUK et al., 2004). Die daraus resultierende andere Sekundärstruktur weist 2 zusätzliche Loop-Strukturen auf (ZHAN et al., 2016). Reservoir-Wirte, wie zum Beispiel Mäuse, sind eine der Nischen, in denen sich PCV2 ohne den Selektionsdruck durch die Impfung entwickeln kann (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017). Diese Veränderungen wurden als Ursache für ein vermehrtes Vorkommen von PCV2d trotz flächendeckender Impfung diskutiert (LEKCHAROENSUK et al., 2004; SALGADO et al., 2014; ZHAN et al., 2016).

## **2.2. Desinfektion**

Die Tenazität von PCV2 ist aufgrund dessen, dass es ein unbehülltes Virus ist, in der Umwelt sehr hoch (ROYER et al., 2001; SEGALÉS et al., 2005a; WELCH et al., 2006; MARTIN et al., 2008; O'DEA et al., 2008; KIM et al., 2009b). Man findet es fast überall in der Umgebung der Schweine (VERREAULT et al., 2010).

Das Prinzip der Inaktivierung unbehüllter Viren besteht in der Zerstörung des Kapsidproteins, wodurch die DNA des Virus für DNAsen zugänglich gemacht wird (BLÜMEL et al., 2002). Da dies vor allem mit Hitze funktioniert, vermuteten O'DEA et al. (2008), dass dies für trockene Kälte im Gegenzug bedeutet, dass das Kapsid gestärkt wird und die Viren in der Umwelt auf diese Weise noch resistenter werden könnten.

Für die Desinfektion von PCV2 sind verschiedene in-vitro Studien angefertigt worden (ROYER et al., 2001; MARTIN et al., 2008): Es wurde nachgewiesen,

dass sich PCV2 sowohl bei hohen Temperaturen, als auch in einem breiten pH-Wert-Spektrum nicht inaktivieren lässt (WELCH et al., 2006; O'DEA et al., 2008; KIM et al., 2009b). Bei verschiedenen Desinfektionsmitteln wurde gezeigt, dass sie entweder nicht zu 100% wirksam sind (ROYER et al., 2001), oder sich unter Feldbedingungen durch die organische Belastung die Effektivität der Desinfektionsmittel reduziert (MARTIN et al., 2008). Eine Behandlung mit Formalin hingegen sorgte *in vitro* für eine Inaktivierung von PCV2 (KIM et al., 2009b). WELCH et al. (2006) wiesen die Inaktivierung von PCV2 durch feuchte Hitze bei 80°C oder Pasteurisieren bei 80°C nach.

Der Nachweis von PCV2 aus der Ausatemluft von Schweinen (VERREAULT et al., 2010) erschwert darüber hinaus die Möglichkeiten der Desinfektion.

### **2.3. Klinische Erscheinungen von PCVD bei geimpften Tieren**

GUO et al. (2010) wiesen 2010 in China 19 PCV2-Isolate nach, die den Genotypen PCV2a, PCV2b und PCV2d zugeordnet werden konnten. Bei 4 der 19 von GUO et al. (2010) nachgewiesenen Isolate wurden Basendeletionen im ORF2 nachgewiesen, die an dieser Stelle zuvor nicht festgestellt werden konnten. Diese PCV2-Stämme mit den nachgewiesenen ungewöhnlichen Basendeletionen, die von GUO et al. (2010) festgestellt wurden, konnten bei einer Studie von XIAO et al. (2012) in den USA in einem Fall nachgewiesen werden, in dem die Tiere klinische Anzeichen der PCVD zeigten, obwohl sie zuvor gegen PCV2 geimpft worden waren.

OPRIESSNIG et al. (2013) wiesen in den USA einen weiteren Fall von klinischen Symptomen im Rahmen der PCVD bei PCV2-geimpften Tieren nach. Die von OPRIESSNIG et al. (2013) untersuchten Tiere wurden in der 3. und 6. Lebenswoche gegen PCV2 geimpft. Bei den nachgewiesenen Stämme von PCV2d in den 2 von OPRIESSNIG et al. (2013) untersuchten Beständen, konnte eine hohe Ähnlichkeit mit den nachgewiesenen PCV2-Stämmen von GUO et al. (2012) aus China festgestellt werden (OPRIESSNIG et al., 2013).

In einem 3. Fall in Korea wiesen SEO et al. (2014b) im Rahmen eines Impfdurchbruches ebenfalls einen PCV2-Stamm nach, der zu den beiden Stämmen, die von GUO et al. (2010) und OPRIESSNIG et al. (2013) festgestellt wurden, Ähnlichkeiten aufwies. Die Ferkel dieses Bestandes wurden in der 3. Lebenswoche geimpft (SEO et al., 2014b). Durch die histopathologischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurde in der Untersuchung PCVD

nachgewiesen, das durch den PCV2d-Stamm ausgelöst wurde (SEO et al., 2014b).

Auch in Europa wurden von EDDICKS et al. (2015) in Deutschland in 7 Beständen PCV2d-Stämme in Fällen von PCVD trotz etablierter Impfung gegen PCV2 mit einer hohen Homologie zu den Isolaten aus China und den USA nachgewiesen. EDDICKS et al. (2015) stellten 12 Fälle von PCVD in 7 Beständen mit etablierter Impfung gegen PCV2 fest. Die unterschiedlichen nachgewiesenen PCV2d-Stämme wiesen phänotypisch alle das gleiche Kapsidprotein auf (EDDICKS et al., 2015).

Diese bemerkenswerte Häufung von Fällen, in denen PCV2d bei Tieren mit klinischen Symptomen der PCVD nachgewiesen wurden, die zuvor als Ferkel gegen PCV2 geimpft wurden (XIAO et al., 2012; OPRIESSNIG et al., 2013; SEO et al., 2014b; EDDICKS et al., 2015), warf die Frage auf, ob die kommerziell erhältlichen Impfstoffe auf Basis von PCV2a auch gegen PCV2d schützen. In nachfolgenden Studien konnte jedoch sowohl experimentell (OPRIESSNIG et al., 2014b; OPRIESSNIG et al., 2017; KOLYVUSHKO et al., 2019; PARK et al., 2019) als auch in Feldversuchen (OPRIESSNIG et al., 2014a) nachgewiesen, dass eine Impfung auf Basis von PCV2a gegen PCV2d-Stämme wirksam ist.

### **3. Diagnostik von PCV2**

Für die Diagnostik der PCV2-SD auf Herdenbasis sind 3 Punkte essentiell: Ein signifikanter Anstieg der Mortalität von Aufzuchtferkeln, eine individuelle PCV2-SD-Diagnose in mindestens einem von 3 bis 5 seziierten Ferkeln (SEGALÉS, 2012), sowie der Ausschluss von weiteren Differentialdiagnosen. Für die Ermittlung des Infektionszeitpunktes innerhalb einer Herde ist die Serologie am besten geeignet (OPRIESSNIG et al., 2007). Da aufgrund der Vielschichtigkeit der durch PCV2 verursachten Krankheitsbilder kein sicherer Nachweis ausschließlich aufgrund der klinischen Symptomatik der Tiere erfolgen kann, sollte bei einer pathologisch-anatomischen und/oder histopathologischen Untersuchung immer darauf geachtet werden, verschiedene Organe zu untersuchen (WELTI et al., 2012; OPRIESSNIG & LANGOHR, 2013).

Die Individualdiagnostik basiert auf den des Krankheitsbildes entsprechenden Läsionen zusammen mit dem Nachweis von PCV2-Antigen oder dem Nachweis von PCV2-Nukleinsäure in den entsprechenden Organen (OPRIESSNIG et al.,

2007).

### **3.1. Polymerase Chain Reaction**

Das Ziel einer Untersuchung mittels polymerase chain reaction (PCR) ist das Auffinden von bestimmter DNA in einer Probe *in vitro* (MULLIS & FALOONA, 1989). Je nachdem, welche Probe untersucht werden soll, gibt es unterschiedliche PCR-Methoden für PCV2: Eine PCR für Serum (SEGALÉS et al., 2005b), Gewebe (BRUNBORG et al., 2004), Speichel (PRICKETT et al., 2008) sowie aus Nasentupfern und Kot (SHIBATA et al., 2003). Das Ergebnis einer real-time PCR Untersuchung kann in cycle threshold-Werten (Ct-Werten) angegeben werden (HEID et al., 1996). Diese geben an, wie viele PCR-Zyklen benötigt wurden, um einen festgelegten Grenzwert zu überschreiten (HEID et al., 1996). Darüber hinaus existieren quantitative PCR-Methoden, bei denen eine Aussage über die Menge der vorhandenen DNA getroffen werden kann (LIU et al., 2000; ROVIRA et al., 2002; CHUNG et al., 2005).

In Bezug auf PCV2 kann mithilfe einer quantitativen PCR ein Rückschluss auf das Risiko einer PCV2-SD der Tiere erfolgen (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Ergebnisse der quantitativen PCR zwischen  $10^5$  bis  $10^7$  GE/ml Serum bzw. ng DNA weisen auf das Risiko milder klinischer Erscheinungen im Rahmen der PCV2-SD hin (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Ergebnisse über  $10^7$  GE/ml Serum bzw. ng DNA weisen auf das Risiko schwerer klinischer Erscheinungen im Rahmen der PCV2-SD hin (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Es ist daher bei der Diagnostik von PCV2-SD, insbesondere durch den Genotyp PCV2d, von großer Bedeutung, wenn möglich eine quantifizierende PCR durchzuführen (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008).

### **3.2. Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay**

PCV2-Antikörper können bei Tieren von fast jedem schweinehaltenden Bestand nachgewiesen werden (MAGAR et al., 2000a; WALKER et al., 2000; OPRIESSNIG et al., 2004). Eine Detektion dieser Antikörper kann sinnvoll sein, um den PCV2-Infektionszeitpunkt einer Herde zu bestimmen (OPRIESSNIG et al., 2007). Außerdem sollten PCV2-seronegative Herden und Herden mit uneinheitlichem Antikörper-Status schnell ermittelt werden, da sie deutlich empfänglicher für einen PCVD-Ausbruch sind, als seropositive Herden

(OPRIESSNIG et al., 2006; RINCÓN MONROY et al., 2015).

Ein derzeit verfügbarer, kommerzieller enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) zur Detektion von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> ist der SERELISA PCV<sub>2</sub> Ab monoblocking (Synbiotics corporation, Lyon, France), ein kompetitiver blocking ELISA. Das Prinzip eines kompetitiven blocking ELISAs basiert auf der kompetitiven Verdrängung zweier Antikörper und wurde erstmals von WALKER et al. (2000) beschrieben. WALKER et al. (2000) verwendeten monoklonale Antikörper, welche die Antikörper aus der Probe von der Bindungsstelle an einem PCV<sub>2</sub> Antigen, das sich in einer infizierten Zellkultur befand, kompetitiv verdrängten. Im nachfolgenden Schritt wurde ein Substrat hinzugefügt, das mithilfe einer enzymatischen Reaktion ein Farbumschlag erzeugt werden (WALKER et al., 2000). In der Auswertung eines kompetitiven ELISAs ist zu beachten, dass eine schwache Farbreaktion für einen hohen Gehalt spezifischer Antikörper in der Probe steht, da diese den enzymgekoppelten Antikörper verdrängen (WALKER et al., 2000).

Für PCV<sub>2</sub> existieren verschiedene ELISAs (NAWAGITGUL et al., 2002; LIU et al., 2004). Es ist möglich den Infektionszeitpunkt mittels Ingezim PCV IgG and Ingezim PCV IgM (Ingezim PCV IgG<sup>®</sup> and Ingezim PCV IgM<sup>®</sup>, Firma Ingenasa, Madrid, Spanien) über den Unterschied zwischen IgM- und IgG-Antikörpern näher zu bestimmen. Mit diesem Assay (Ingenasa, Madrid, Spain) wird zwischen einer frühen, akuten Infektion innerhalb der ersten 21 Tage nach der Exposition, einer akuten Infektion zwischen 20 und 50 Tagen nach Exposition und einer späten Infektion 2 Monate nach Exposition unterschieden (Gebrauchsanleitung des Ingezim PCV IgG<sup>®</sup> and Ingezim PCV IgM<sup>®</sup>, Firma Ingenasa).

### **3.3. In situ Hybridisierung und Immunhistochemie**

Neben der Histologie gelten die In situ Hybridisierung (ISH) und die Immunhistochemie (IHC) als Gold-Standard der PCV<sub>2</sub>-Diagnostik (KARUPPANNAN & OPRIESSNIG, 2017). Beide Methoden haben den Vorteil, dass im Gegensatz zu einem reinen Nukleinsäurenachweis einer PCR gleichzeitig die histologischen Läsionen und die Anzahl infizierter Zellen bestimmt werden (KIM & CHAE, 2004). Der Nachweis erfolgt aus fixierten Geweben (SORDEN et al., 1999; SEO et al., 2014a).

Bei der IHC werden markierte mono- oder polyklonale Antikörper eingesetzt,

um ein Antigen im Gewebe nachzuweisen (MCNEILLY et al., 1999; SORDEN et al., 1999). Auf diese Weise werden im histologischen Schnitt die Menge und die Verteilung des Antigens, sowohl innerhalb des Gewebes als auch innerhalb von Zellen detektiert (KIM & CHAE, 2004). Das nachgewiesene Antigen bei der IHC sind Proteine, die von PCV2 exprimiert werden (SEO et al., 2014a). Die Unterscheidung zwischen verschiedenen Genotypen (a und b) ist weder mittels monoklonaler, noch mittels polyklonaler IHC möglich (SEO et al., 2014a).

Bei der ISH werden im Gegensatz zur IHC Nukleinsäuren nachgewiesen (MCNEILLY et al., 1999; KIM & CHAE, 2003). Eine markierte genomische Sonde bindet an die nachzuweisende DNA (MCNEILLY et al., 1999; KIM & CHAE, 2003). Auch hierbei wird wie bei der IHC die Lokalisation der Viruspartikel innerhalb des Gewebes und auch innerhalb einer Zelle nachgewiesen (MCNEILLY et al., 1999; KIM & CHAE, 2003).

Die ISH hat die höhere Sensitivität als die IHC (KIM et al., 2009a; SEO et al., 2014a). Die Ursache dafür basiert auf den unterschiedlichen Arten von Antigenen, die bei diesen Methoden nachgewiesen werden: Wenn die nachzuweisende Infektion unproduktiv ist, also keine viralen Proteine synthetisiert werden, ist die IHC negativ, wohingegen der Nukleinsäurenachweis mittels ISH positiv ausfällt (PÉREZ-MARTÍN et al., 2007). Eine unproduktive Infektion von PCV2 ist beispielsweise im Zytoplasma von Makrophagen nachgewiesen worden (GILPIN et al., 2003; VINCENT et al., 2003). Zusätzlich interferiert das Formalin, in das die Gewebeschnitte eingebettet werden, mit den viralen Proteinen, sodass auch auf diesem Weg die Sensitivität der IHC beeinträchtigt wird (SEO et al., 2014a).

Obwohl die ISH die sensitivere der beiden Methoden ist, wird trotzdem zumeist auf die IHC zurückgegriffen, da diese mit deutlich geringerem technischem Aufwand verbunden und damit praktikabler ist (SEO et al., 2014a).

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1. Arbeitshypothesen**

##### **1.1. Arbeitshypothesen: Akutes Krankheitsgeschehen**

- Es wird davon ausgegangen, dass die Auswertung der von den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten durchgeführte Bestandsdiagnostik PCVD bestätigt. Der Zukauf der Ferkel wird als Eintragsquelle von PCV2d betrachtet.

##### **1.2. Arbeitshypothesen: Diagnostisches Screening 4 Monate nach dem akuten Krankheitsgeschehen**

- In der dem Krankheitsgeschehen nachgelagerten diagnostischen Querschnittsuntersuchung werden als Anzeichen einer Infektion der Sauenherde höhere mittlere Antikörpertiter bei den Tieren sowie ein höherer Anteil PCV2-seropositiver Tiere im Ferkelerzeugerbestand nachgewiesen als während des akuten Krankheitsgeschehens.
- Mittels molekularbiologischer Untersuchung von Serum, Kot und Speichel von Sauen sowie Sperma und Organen von Ebern bzw. erdrückten Ferkeln im Ferkelerzeugerbestand können Hinweise auf das Infektionsgeschehen im Ferkelerzeugerbestand ermittelt werden.
- Im Rahmen der diagnostischen Querschnittsuntersuchung wird erwartet, dass sowohl im Ferkelerzeugerbestand als auch in den 3 Mastbeständen PCV2d auch nach dem akuten Krankheitsgeschehen nachweisbar ist.

## **2. Bestandssituation zwischen Dezember 2017 und Mai 2018**

Im Zeitraum von Januar 2018 bis April 2018 wurden in 3 Schweinemastbeständen in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen unabhängig voneinander klinische Erscheinungen registriert, die die bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzte als Ausbruch von PCVD auffassten. Die Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der LMU München in Oberschleißheim wurde zu Beratungszwecken konsultiert und die Befunde, die von den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten erhoben wurden zur Verfügung gestellt, um bei der Befundinterpretation unterstützend zu wirken. Alle 3 Mastbestände bezogen Ferkel aus demselben Ferkelerzeugerbestand in Nordrhein-Westfalen. In der Folge wurde der Ferkelerzeugerbestand aufgesucht und mit allen beteiligten Parteien vereinbart, den Infektionsstatus des Ferkelerzeugerbestandes sowie der nachgelagerten Mastbestände im Rahmen eines diagnostischen Screenings erneut zu überprüfen. Im Folgenden ist die Situation der Mastbestände sowie des Ferkelerzeugers dargestellt.

### **2.1. Situation der Mastbestände zwischen Dezember 2017 und Mai 2018**

#### **2.1.1. Situation des Mastbestandes A**

Mastbestand A befindet sich in Nordrhein-Westfalen und hat eine Größe von 1.400 Mastplätzen, die im Bestands-Rein-Raus-Verfahren belegt werden. Die Buchtengröße beläuft sich auf 30 bis 40 Tiere pro Bucht. In diesem Mastbestand werden ausschließlich Tiere des untersuchten Ferkelerzeugers eingestallt.

Das Krankheitsgeschehen in diesem Bestand begann im März 2018 und endete im April 2018. Hier wurden bei den Leistungsdaten des Mastdurchgangs folgende Veränderungen festgestellt: Die täglichen Zunahmen der Tiere sanken in Mastbestand A von durchschnittlich 860g vor dem Krankheitsgeschehen auf 800g im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Zugleich änderte sich in Mastbestand A die Futtermittelverwertung der Tiere vom Verhältnis 1:2,6 auf 1:2,8. Die Mastdauer bis zum Erreichen des Schlachtgewichts der Tiere verlängerte sich von 100 Masttagen im Zeitraum vor dem Krankheitsgeschehen auf 115 Tage im Mastdurchgang während des Krankheitsgeschehens. Die Mortalität der Tiere lag bei diesem Bestand vor dem Krankheitsgeschehen bei durchschnittlich



5,3%. Während des Krankheitsgeschehens lag die Mortalität in diesem Bestand bei 8,9%.

Neben den veränderten Leistungsdaten wurden klinisch vor allem Veränderungen auf der Haut sowie Husten im Bestand festgestellt. Zur Diagnostik wurden aus dem Mastbestand A 7 Tiere mit für diesen Bestand zu diesem Zeitpunkt typischen Krankheitssymptomen in die Sektion der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum zur pathologisch-anatomischen Untersuchung verbracht. Die histopathologische Untersuchung der Gewebe dieser Tiere, die Immunhistochemie sowie die Untersuchungen mittels polymerase chain reaction (PCR) erfolgte bei der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH, Hannover. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte an der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Kapitel IV.1.1 dargestellt.

#### **2.1.2. Situation des Mastbestandes B**

In Mastbestand B werden insgesamt 500 Tiere in 2 Strohställen gemästet. Auch dieser Bestand befindet sich in Nordrhein-Westfalen und es wird ebenfalls im betrieblichen Rein-Raus-Verfahren gearbeitet. In einer Bucht werden jeweils 18 Schweine aufgestellt.

Das Krankheitsgeschehen in Mastbestand B begann im Januar 2018 und endete Ende April 2018. Die Leistungsdaten des Mastbestandes B im Vergleich zwischen dem Zeitraum vor und während des Krankheitsgeschehens sind im Folgenden dargestellt: Die Tageszunahmen der Tiere in diesem Mastbestand sanken im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens von durchschnittlich 940g auf 870g. Die Futtermittelverwertung lag in Mastbestand B vor dem Krankheitsgeschehen bei einem Verhältnis von 1:2,81. Während des Krankheitsgeschehens lag die Futtermittelverwertung der Tiere bei einem Verhältnis von 1:2,82. Die durchschnittliche Mastdauer der Tiere in Mastbestand B lag vor dem Krankheitsgeschehen bei 101 Tagen, während des Krankheitsgeschehens stieg diese auf 107 Tage. Die Mortalität der Tiere in Mastbestand B stieg im betroffenen Zeitraum des Krankheitsgeschehens von durchschnittlich 1,5% auf 6,2%.

Auch in diesem Bestand fielen die Tiere im beschriebenen Zeitraum klinisch mit Hautläsionen sowie Husten auf. Aus dem Mastbestand B wurden 4 Tiere

pathologisch-anatomisch in der Sektion der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum untersucht. Die histopathologische Untersuchung der Gewebe dieser Tiere sowie die Untersuchungen mittels PCR erfolgte bei der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH, Hannover. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte an der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Kapitel IV.1.2 dargestellt.

Nach dem beschriebenen Krankheitsgeschehen in Mastbestand B wurden die Ferkel aus einem anderen Ferkelerzeugerbestand zugekauft, sodass sich zum Zeitpunkt der diagnostischen Beprobung mittels Kaustricken 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen keine Tiere aus dem untersuchten Ferkelerzeugerbestand auf dem Bestand befanden.

### **2.1.3. Situation des Mastbestandes C**

Mastbestand C, der sich in Niedersachsen befindet, besteht aus 4 Bestandteilen, die insgesamt 5.600 Mastplätze umfassen. Die Buchtengröße in diesem Bestand variiert, sodass sich in einer Bucht zwischen 11 und 25 Tiere befinden. Mastbestand C arbeitet im abteilweisen Rein-Raus-Verfahren, sodass ein Abteil ein- und wieder ausgestallt wird und danach eine Reinigungs- und Desinfektionszeit von einer Woche angeschlossen wird. Durch dieses Verfahren befinden sich auf diesem Bestand mehrere Altersgruppen zugleich.

Das Krankheitsgeschehen in Mastbestand C äußerte sich im Zeitraum von Januar 2018 bis April 2018. Die Tageszunahmen der Tiere fielen in diesem Zeitraum von durchschnittlich 951g auf 820g. Die Futterverwertung lag im Zeitraum vor dem Krankheitsgeschehen durchschnittlich bei einem Verhältnis von 1:2,7. Im angegebenen Zeitraum lag das Verhältnis der Futterverwertung der Tiere aus Mastbestand C bei 1:2,8. Die Mastdauer der Tiere aus Mastbestand C stieg im Zeitraum des Krankheitsgeschehens von durchschnittlich 107 Tagen auf 119 Tagen Verweildauer der Tiere im Bestand. Die Mortalität der Tiere in Mastbestand C lag vor dem Krankheitsgeschehen bei durchschnittlich 1,7%. Während des Krankheitsgeschehens lag die Mortalität der Tiere aus Mastbestand C bei 5,7%.

In Mastbestand C fielen die Tiere ähnlich wie die Tiere in den Beständen A und B durch Husten und Hautläsionen auf. 8 der Tiere aus Mastbestand C wurden in

der Sektion der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum pathologisch-anatomisch untersucht. Die histopathologische Untersuchung der Gewebe dieser Tiere sowie die Untersuchungen mittels PCR erfolgte bei der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH, Hannover. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte an der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Kapitel IV.1.3 dargestellt.

#### 2.1.4. Zusammenfassung der Situation der Mastbestände

Während des Krankheitsgeschehens veränderten sich die Leistungsdaten der Tiere der untersuchten Mastbestände wie oben beschrieben. Die Zusammenfassung dieser Daten ist in Tabelle 1 dargestellt:

**Tabelle 1: Veränderung der Leistungsdaten der betroffenen Mastbestände im Vergleich zwischen den Zeiträumen vor dem beschriebenen Krankheitsgeschehen und während des Krankheitsgeschehens.**

Bestand	Zeitraum	tägliche Zunahmen	Futterverwertung	Mastdauer	Mortalität
		<i>in Gramm</i>	<i>1:</i>	<i>in Tagen</i>	<i>in Prozent</i>
	<i>vor dem Krankheitsgeschehen</i>				
	<i>während des Krankheitsgeschehens</i>				
A	bis 02/2018	860	2,60	100	5,3
	03/2018-04/2018	800	2,80	115	8,9
B	bis 01/2018	940	2,81	101	1,5
	01/2018-04/2018	870	2,82	107	6,2
C	bis 01/2018	851	2,70	107	1,7
	01/2018-04/2018	820	2,80	119	5,7

Klinisch wiesen die Tiere in den Mastbeständen Husten, eine erhöhte Mortalität sowie Hautläsionen auf, sodass aus jedem Mastbestand Tiere mit für den entsprechenden Mastbestand typischen klinischen Befunden zur Sektion an die Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover in Bakum verbracht wurden. Aus Mastbestand A wurden 7 Tiere in der Sektion untersucht, aus Mastbestand B 4 Tiere und aus Mastbestand C 8 Tiere.

## **2.2. Bestandssituation der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes sowie Darstellung des diagnostischen Bestandsscreenings im Ferkelerzeugerbestand zwischen Dezember 2017 und Mai 2018**

Bei dem den 3 Mastbeständen vorgelagerten Ferkelerzeugerbestand handelt es sich um einen Bestand in Nordrhein-Westfalen mit rund 1.300 Sauen. Die eingestellten Sauen stammen aus einer Linie mit dänischer Genetik. In diesem Bestand wird im Wochenrhythmus produziert.

Die Jungsauen werden mit ca. 220 Tagen aus Dänemark importiert. Sie werden in einem separaten Stallgebäude außerhalb des Gebäudes, in dem die Stammsauen gehalten werden, für 6 Wochen in Quarantäne gehalten. Die Jungsauen werden in der Quarantäne gegen verschiedene Krankheitserreger geimpft. Das Impfgregime für die Quarantänesauen ist in Tabelle 2 zusammengefasst. Innerhalb der ersten 3 Tage nach der Einnistung werden die Tiere gegen das porcine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), Parvovirose und Rotlauf geimpft. Zusätzlich werden sie ebenfalls innerhalb der ersten 3 Tage nach der Anlieferung gegen Influenza, PCV2 und *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* geimpft. Zusätzlich wird mittels bestandspezifischer Vakzine gegen *Glaessarella (G.) parasuis*, *Pasteurella (P.) multocida* und *Bordetella (B.) bronchiseptica*, sowie gegen *Escherichia (E.) coli* und *Clostridium (C.) perfringens* geimpft. Die Impfung gegen *E. coli* und *C. perfringens* wird am 80. Trächtigkeitstag wiederholt. Diese Impfungen werden bis auf die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* und PCV2 jeweils nach 3 Wochen wiederholt. Zusätzlich werden die Jungsauen im Ferkelerzeugerbestand vor diesem 2. Impfblock gegen *Larsonia (L.) intracellularis* geimpft.

**Tabelle 2: Impfregime der Jungsauen in der Quarantäne im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.**

<b>Impfungen der Jungsauen</b>	
<u>Erreger</u>	<u>Zeitpunkt</u>
PRRSV	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
APP	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
Influenza A	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
Parvovirose und Rotlauf	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
<i>G. parasuis</i> , <i>P. multocida</i> , <i>B. bronchiseptica</i>	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
<i>M. hyopneumoniae</i>	3 Tage nach Anlieferung
PCV2	3 Tage nach Anlieferung
<i>E. coli</i> , <i>C. perfringens</i>	3 Tage nach Anlieferung
	3 Wochen nach Erstimpfung
	80. Trächtigkeitstag
<i>L. intracellularis</i>	2 Wochen nach Anlieferung

Das Impfregime für die Stammsauen des Ferkelerzeugerbestandes ist in Tabelle 3 dargestellt. Als Altsauen werden die Tiere produktionsorientiert am 6. Tag nach der Abferkelung und am 60. Trächtigkeitstag gegen PRRSV, am 80. Trächtigkeitstag gegen *G. parasuis* und *B. bronchiseptica*, am 100. Trächtigkeitstag gegen *E. coli* und *C. perfringens*, am 100. Trächtigkeitstag gegen Influenza und am 80. Trächtigkeitstag gegen APP geimpft. Des Weiteren werden die Sauen am 6. Tag nach der Abferkelung gegen Parvovirose und Rotlauf geimpft.

**Tabelle 3: Impfgeme der Stammsauen im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.**

<b>Impfungen der Sauen</b>	
<u>Erreger</u>	<u>Zeitpunkt</u>
Parvovirose und Rotlauf	6. Tag p.p.
PRRSV	6. Tag p.p.
<i>G. parasuis</i> , <i>P. multocida</i> , <i>B. bronchiseptica</i>	60. Trächtigkeitstag
<i>E. coli</i> , <i>C. perfringens</i>	80. Trächtigkeitstag
Influenza A	100. Trächtigkeitstag
APP	100. Trächtigkeitstag
	80. Trächtigkeitstag

Das Impfgeme für die Saugferkel des Ferkelerzeugerbestandes ist in Tabelle 4 dargestellt. Die Ferkel werden am 7. Lebenstag gegen *M. hyopneumoniae* geimpft. Am 14. Lebenstag werden die Ferkel gegen PRRS geimpft. Die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* und PCV<sub>2</sub> erfolgt bei den Ferkeln am 21. Lebenstag.

**Tabelle 4: Impfgeme der Saugferkel im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.**

<b>Impfungen der Saugferkel</b>	
<u>Erreger</u>	<u>Zeitpunkt</u>
<i>M. hyopneumoniae</i>	7. Lebenstag
PRRSV	14. Lebenstag
<i>M. hyopneumoniae</i> , PCV <sub>2</sub>	21. Lebenstag

Im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings wurden im Ferkelerzeugerbestand zwischen Dezember 2017 und Mai 2018 unterschiedliche Tiere beprobt. Diese Untersuchungen sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Im Folgenden sind diese Screening-Untersuchungen kurz vor dem Krankheitsgeschehen sowie die Untersuchungen während des Zeitraums des Krankheitsgeschehens dargestellt. Die Entnahme der Proben im Ferkelerzeugerbestand zwischen Dezember 2017 und Mai 2018 wurde von den

bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten durchgeführt und zur labordiagnostischen Untersuchung an die im entsprechenden Abschnitt dargestellten Labore versandt.

Im Dezember 2017 wurden im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings insgesamt 30 Aufzuchtferkel mittels Serumproben beprobt, die bei der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH, Seelze-Letter auf das Vorkommen von PCV2-DNA sowie PRRSV-RNA mittels PCR untersucht wurden.

Im Februar 2018 wurden 2 Aufzuchtferkel des Ferkelerzeugerbestandes zur pathologisch-anatomischen, histopathologischen und labordiagnostischen Untersuchung in die Sektion des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes Münsterland-Emscher-Lippe in Münster geliefert. Zeitgleich wurden von 10 Saugferkeln des Ferkelerzeugerbestandes Serumproben zur Firma BioScreen, Boehringer Ingelheim Animal Health Participations GmbH, Hannover zum Nachweis von PCV2-DNA und PRRSV-RNA mittels PCR verbracht. Darüber hinaus wurden eine Bronchoalveolarlavage-Probe zur Untersuchung auf Pathogene in der Lunge und eine Kotprobe zur Untersuchung auf Durchfallerreger des Ferkelerzeugerbestandes entnommen, die ebenfalls bei der Firma BioScreen, Boehringer Ingelheim Animal Health Participations GmbH, Hannover untersucht wurden.

Im März 2018 wurden Serumproben von 30 Aufzuchtferkeln in der 10. Lebenswoche des Ferkelerzeugerbestandes zur Untersuchung auf PCV2-DNA und des *msg1*-Gens von *Mycoplasma (M.) suis* an die IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH, Seelze-Letter versandt.

Im Mai 2018 wurden Serumproben von 20 säugenden Sauen in der 1. Parität zum Nachweis von PCV2-DNA mittels PCR und Antikörpertitern gegen PCV2 mittels Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA), 30 Saugferkeln zum Nachweis von PCV2-DNA sowie zum Nachweis von Antikörpertitern gegen PCV2 und 10 Aufzuchtferkeln zum Nachweis von PCV2-DNA des Ferkelerzeugerbestandes zur Untersuchung zur IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH, Seelze-Letter versandt.

**Tabelle 5: Im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens entnommene Proben. IVD: Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH; CuV Münster: Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland-Emscher-Lippe, Münster; BioScreen: BioScreen Boehringer Ingelheim Animal Health Participations GmbH, Hannover.**

Datum der Probenahme	Untersuchte Tiere	N	Probenmaterial	Untersuchungsmethode	untersuchte Erreger	Labor
Dezember 17	Aufzuchtferkel	30	Serum	PCR	PCV <sub>2</sub> , PRRSV	IVD, Seelze-Letter
	Aufzuchtferkel	2	Organe	-	-	
Februar 2018	Saugferkel	1	Bronchioalveolarlavage	PCR	<i>G. parasuis</i> , <i>M. hyorhinis</i> , <i>APP</i> , <i>B. bronchiseptica</i> , <i>M. hyopneumoniae</i> , <i>P. multocida</i>	BioScreen
				PCR	<i>B. hyodysenteriae</i> , <i>B. pilosicoli</i> , <i>L. intracellularis</i> , <i>Salmonella spp.</i>	
	Saugferkel	1	Kotprobe	PCR	<i>B. hyodysenteriae</i> , <i>B. pilosicoli</i> , <i>L. intracellularis</i> , <i>Salmonella spp.</i>	
März 2018	Aufzuchtferkel	30	Serum	PCR	PCV <sub>2</sub> msg1 Gen von <i>M. suis</i>	IVD, Seelze-Letter
	Sauen	$\frac{20}{10}$	Serum	PCR ELISA	PCV <sub>2</sub> PCV <sub>2</sub>	
Mai 2018	Saugferkel	30	Serum	PCR ELISA	PCV <sub>2</sub> PCV <sub>2</sub>	IVD, Seelze-Letter
	Aufzuchtferkel	10	Serum	PCR	PCV <sub>2</sub>	



### **3. Evaluierung des Gesundheitsstatus der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes und der Mastbestände 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

Im Folgenden sind die Tierpopulation, die Probenentnahme sowie die Diagnostikmethoden der im Rahmen der Evaluierung des Gesundheitsstatus der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes und der Mastbestände 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen durchgeführten Untersuchungen dargestellt. Die Probenentnahme erfolgte durch die Mitarbeiter der Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der LMU München in Oberschleißheim. Die labordiagnostischen Untersuchungen erfolgten in denjenigen Laboren, die im entsprechenden Abschnitt benannt sind.

#### **3.1. Darstellung der Tierpopulation im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

##### **3.1.1. Darstellung der Tierpopulation des Ferkelerzeugerbestandes**

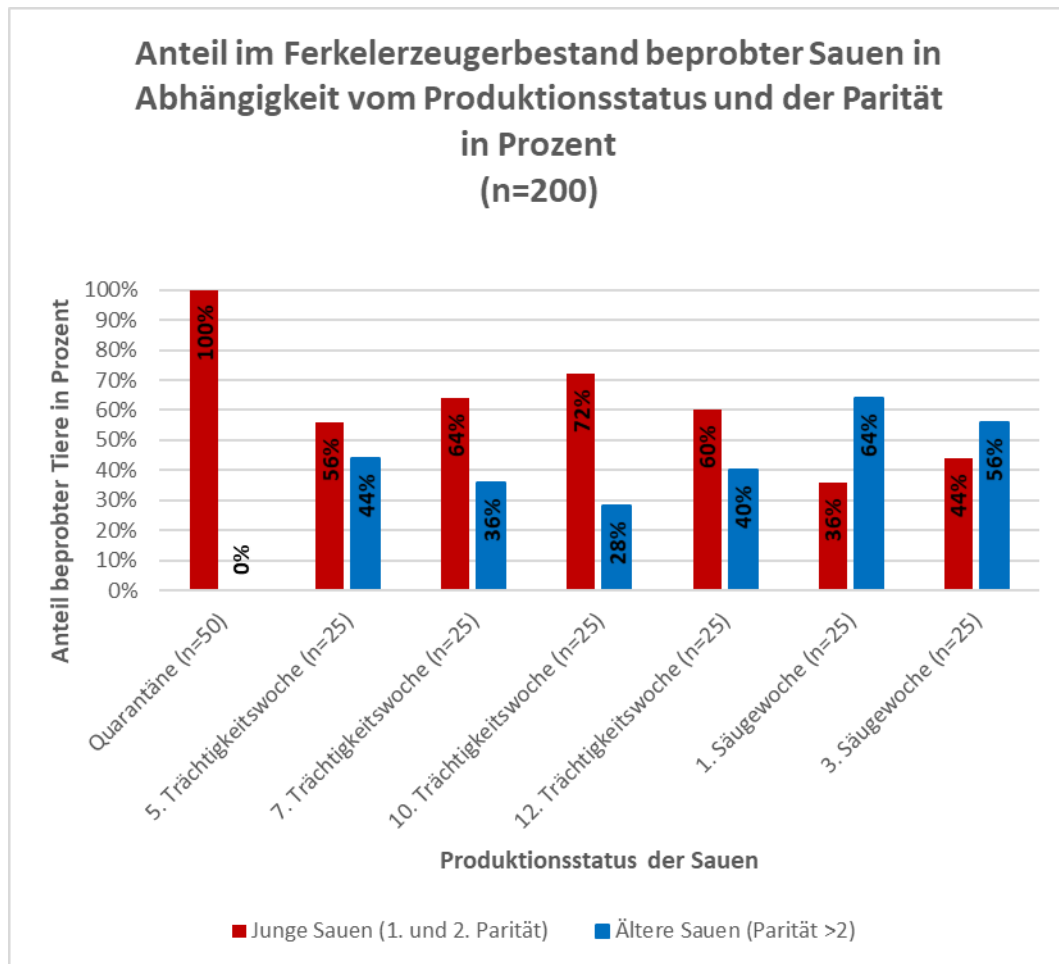
Zur Evaluierung des Gesundheitsstatus der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes wurden insgesamt 200 Sauen mittels Serum-, Speichel- und Kotproben, sowie 80 lebende Ferkel mittels Serumproben untersucht. Des Weiteren wurden die Organe von 37 in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel untersucht. Darüber hinaus wurde das Sperma von 6 Zuchtebern untersucht, das im Ferkelerzeugerbestand verwendet wurde.

Die Aufteilung der untersuchten Sauen des Ferkelerzeugerbestandes in die jeweiligen Gruppen ist in Abbildung 1 dargestellt. Die 200 Sauen wurden in 4 verschiedene Gruppen aufgeteilt: In der 1. Gruppe befanden sich 50 Quarantänesauen. Die 2. Gruppe bestand aus 50 niedertragenden Sauen. Diese wurden aufgeteilt in je 25 Sauen in der 5. und 25 Sauen in der 7. Trächtigkeitswoche. Weitere 50 Sauen befanden sich in der 3. Gruppe. Diese bestand aus hochtragenden Sauen: Hier befanden sich jeweils 25 Tiere in der 10. Trächtigkeitswoche und 25 Tiere in der 12. Trächtigkeitswoche. In der 4. Gruppe wurden ebenfalls 50 Sauen beprobt. Diese Gruppe bestand aus jeweils 25 Tieren in der 1. Säugewoche und 25 Tieren in der 3. Säugewoche.

Von den 200 Sauen wurden je nach Verfügbarkeit 70% junge Sauen (1. und 2. Parität) und 30% ältere Sauen (>2. Parität) pro Untergruppe mit jeweils 25 Tieren beprobt. Dies wurde deshalb umgesetzt, da in vorangegangenen

Untersuchungen gezeigt wurde, dass die Nachweisrate von PCV2 bei jungen Sauen höher ist als bei älteren Sauen (EDDICKS et al., 2019). Da es sich bei dieser Untersuchung um eine diagnostische Probenentnahme handelte, konnte dieses Verhältnis nicht bei allen untersuchten Gruppen eingehalten werden, da sich aus betrieblichen Gründen in manchen Gruppen nicht entsprechend viele junge Sauen befanden. Es wurde in diesem Fall eine entsprechende Zahl mehr Altsauen beprobt, um die Anzahl von 25 Tieren pro Gruppe einhalten zu können. Die Aufteilung der beprobten Sauen im Ferkelerzeugerbestand in Abhängigkeit des Produktionsstatus und der Parität ist in Abbildung 1 dargestellt.

Da die Quarantänesauen noch keine Ferkel geboren haben, gehören 100% dieser Tiere in die Gruppe der jungen Sauen, deren Parität kleiner als 3 ist (50/50). In der 5. Trächtigkeitswoche waren 56% der Tiere junge Sauen in der 1. oder 2. Parität (14/25) und 44% der Tiere ältere Sauen (in einer höheren als der 2. Parität) (11/25). Die Gruppe der Tiere in der 7. Trächtigkeitswoche bestand zu 64% aus jungen Sauen (16/25) und zu 36% aus älteren Sauen (9/25). Von den 25 Tieren aus der Gruppe der Sauen in der 10. Trächtigkeitswoche waren 72% der Tiere junge Sauen (18/25) und 28% der Tiere ältere Sauen (7/25). In der 12. Trächtigkeitswoche waren 60% der beprobten Tiere junge Sauen (15/25) und 40% der beprobten Tiere ältere Sauen (10/25). Die Gruppe der Tiere in der 1. Säugeweche bestand zu 36% aus jungen Sauen (9/25) und zu 64% aus älteren Sauen (16/25). Von den 25 Tieren in der 3. Säugeweche waren 44% junge Sauen (11/25) und 56% ältere Sauen (14/25).



**Abbildung 1: Anteil der im Ferkelerzeugerbestand beprobten Sauen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Abhängigkeit vom Produktionsstatus und des Alters in Prozent (n=200).**

Darüber hinaus wurden 80 Ferkel mittels Serumproben untersucht. 30 Ferkel befanden sich in der 3. Lebenswoche, 30 Ferkel in der 6. Lebenswoche. Für die Beprobung der Ferkel der 3. Lebenswoche wurden jeweils zufällig 2 Ferkel einer bereits beprobten Sau ausgewählt.

### 3.1.2. Darstellung der Tierpopulation der Mastbestände

Die Mastschweine aus den Beständen, die Anfang des Jahres 2018 von dem Krankheitsausbruch betroffen waren, wurden in einem Zeitraum von Februar 2019 bis Juni 2019 mittels Kaustricken auf das Vorkommen von PCV2-DNA mittels PCR untersucht. Hierbei wurden bei den Tieren jedes Bestandes in der 12., 16. und 18. Lebenswoche jeweils 10 Kaustricke in den Buchten platziert. Es wurde jeweils ein Kaustrick bei einer Tierzahl bis zu 20 Tieren verwendet. Durch die Besetzung der Buchten ergab sich daraus eine Tierzahl von 1.455 Mastschweinen, die zur Beprobung herangezogen wurden.

Da in Mastbestand A und Mastbestand B eine Rein-Raus-Belegung des kompletten Bestands praktiziert wird, wurden dort zu unterschiedlichen Zeitpunkten Kaustricke in die Buchten gehängt, um die Tiere im richtigen Alter beproben zu können.

In Mastbestand A befanden sich in jeder Bucht ca. 30 Tiere, sodass hier jeweils 2 Stricke in eine Bucht gehangen wurden. Daraus ergibt sich eine Tierzahl von jeweils 150 Tieren pro Altersgruppe in Mastbestand A. Insgesamt wurden in Mastbestand A damit 450 Tiere mittels Kaustricken beprobt.

Mastbestand B hatte eine Buchtengröße von 18 Tieren pro Bucht, sodass ein Strick pro Bucht verwendet wurde. Es ergab sich eine Tierzahl von insgesamt 180 Tieren pro Altersgruppe in Mastbestand B. Insgesamt wurden in Mastbestand B auf diese Weise 540 Tiere mittels Kaustricken beprobt.

Da in Mastbestand C eine kontinuierliche Belegung mit mehreren Altersgruppen zur gleichen Zeit besteht, war es dort möglich, alle Altersgruppen zum gleichen Zeitpunkt zu beproben. Bei den Tieren der 12. Lebenswoche befanden sich je 25 Tiere in einer Bucht, sodass 2 Stricke pro Bucht verwendet wurden. Insgesamt wurden in dieser Altersgruppe in diesem Mastbestand auf diese Weise 125 Tiere beprobt. Bei den Tieren in der 16. Lebenswoche befanden sich in einer Bucht 11 Tiere, sodass ein Strick in jede Bucht gehangen wurde. Damit wurden in dieser Altersgruppe 110 Tiere beprobt. In der 18. Lebenswoche waren die Buchten größer, sodass sich in jeder Bucht 20 Tiere befanden. Daraus ergab sich eine Tierzahl von 200 beprobten Tieren aus Mastbestand C in der 18. Lebenswoche, da in jede Bucht ein Strick gehangen wurde. Insgesamt wurden in Mastbestand C damit 435 Tiere mittels Kaustricken beprobt.

### **3.2. Darstellung der Probenentnahme im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

Die Beprobung der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes erfolgte am 30.07.2018 und 31.07.2018, ausgenommen der Quarantänesauen und der Sauen in der 3. Säugeweche sowie der Ferkel in der 3. Lebenswoche. Die Untersuchung dieser Tiere erfolgte am 16.08.2018 und 17.08.2018, da die Ferkel in der 3. Lebenswoche zum ersten Termin bereits geimpft waren und die Quarantänesauen erst zu diesem Termin eingestallt wurden. Die Beprobung der Tiere erfolgte durch die Mitarbeiter der Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der LMU München in Oberschleißheim.

Die Probenentnahme der Kaustrickproben in den Mastbeständen durch die bestandbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzte des jeweiligen Bestandes erfolgte im Zeitraum zwischen dem 21.02.2019 und dem 13.06.2019.

### **3.2.1. Darstellung der Blutprobenentnahme**

Die Blutentnahme für die Serumproben der Sauen erfolgte aus der rechten Vena jugularis externa. Die Tiere wurden dafür während der Punktion der Vene von einer Hilfsperson abgelenkt, sodass bei den fixierten Tieren von einem Anbringen einer Oberkieferschlinge abgesehen werden konnte. Bei unruhigen Sauen in Kastenständen oder Selbstfangbuchten und Sauen in Gruppenhaltung wurden die Tiere mittels Oberkieferschlinge, die zwischen Canini und Prämolaren platziert wurde, zusätzlich fixiert. Es wurden zur Probenentnahme Serummonovetten (Primavette® V Serum 10ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) mit sterilen Einmalkanülen verwendet. Bei den Stammsauen wurden aufgrund ihrer Größe längere Kanülen (1,2x100mm SUPRA®, Erhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) verwendet als bei den Jungsauen (1,2x75mm SUPRA®, Erhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland).

Da sich bei einer der ausgewählten Sauen an der Entnahmestelle ein Abszess befand, wurde bei diesem Tier von einer Blutprobenentnahme abgesehen. Damit wurden insgesamt 199 Sauen mittels Blutproben untersucht. Von den 199 beprobten Sauen waren 149 Stammsauen und 50 Sauen in der Quarantäne.

Es wurden insgesamt 80 Ferkel mittels Blutproben untersucht. Davon waren 50 Ferkel in der 3. Lebenswoche und 30 Ferkel in der 6. Lebenswoche.

Zu diesem Zwecke wurden die Tiere von einer Hilfsperson auf dem Rücken liegend fixiert und die Vorderbeine in kaudaler Richtung gehalten. Zur Probennahme wurde der Kopf des Ferkels fixiert und die rechte Vena cava cranialis punktiert. Hierzu wurden Serummonovetten (Primavette® V Serum 10ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) mit sterilen Einmalkanülen verwendet. Die Serummonovetten wurden bei der Blutprobenentnahme der Ferkel zu maximal 7ml gefüllt. Für die Ferkel in der 3. Lebenswoche wurden aufgrund der geringeren Größe der Tiere kürzere Einmalkanülen mit einem geringeren Durchmesser (Sterican® 0,8x40mm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verwendet als bei den Ferkeln in der 6. Lebenswoche (Sterican® 1,1x50mm, B. Braun Melsungen AG,

Melungen, Deutschland).

Im Anschluss wurden die Serumproben der Sauen und der Ferkel bei 7°C gekühlt an die Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in Oberschleißheim transportiert. Dort wurden sie für 10 Minuten bei 1560g (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) zentrifugiert. Das Serum wurde anschließend gleichmäßig in 3 beschriftete Eppendorf-Gefäße pipettiert (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Bis zur Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA und mittels ELISA auf das Vorkommen von Antikörpern gegen PCV2 wurden die Proben bei -20°C tiefgefroren gelagert.

### **3.2.2. Darstellung der Speichelprobenentnahme**

Alle Sauen wurden mittels einer Watterolle (Salivette®, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) zur Untersuchung des Speichels beprobt. Dazu wurde eine Klemme mit einem Einmalhandschuh bestückt, in die die Watterolle eingeklemmt wurde. Diese wurde der Sau zum Kauen angeboten bis sie vollständig mit Speichel vollgesogen war. Währenddessen wurde berücksichtigt, dass die Watte weder mit der Umgebung, noch mit anderen Tieren in Kontakt kam. Dann wurde die Watterolle in das dafür vorgesehene Röhrchen verpackt. Nach der Beprobung jeder Sau wurde der Einmalhandschuh über der Klemme gewechselt, um eine mögliche Kreuzkontamination zwischen den Tieren zu vermeiden.

Da sich die Sauen in der Abferkelung in Kastenständen befanden, konnten zuerst die Speichelproben gewonnen werden. Da sich die tragenden Sauen in Selbstfangbuchten befanden, die zum Zeitpunkt der Beprobung fixiert waren, konnte dort nach dem gleichen Prinzip vorgegangen werden. Die Sauen in der Quarantäne wurden in Kleingruppen gehalten, weswegen es möglich war, bereits mit Speichel beprobte Sauen anhand einer Zahl, die mit einem Viehzeichenstift auf dem Rücken der Tiere angebracht wurde, eindeutig den danach entnommenen Blut- und Kotproben zuzuordnen, sodass auch dort zuerst die Speichelproben entnommen wurden. Durch dieses Vorgehen konnte lange eine ruhige Atmosphäre im Stall erzeugt werden, sodass alle Watterollen mit einer ausreichenden Menge an Speichel befeuchtet wurden.

Die Speichelproben der Sauen wurden im Anschluss der Probennahme bei 7°C

zur Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in Oberschleißheim transportiert. Dort wurden sie für 10 Minuten bei 1560g (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) zentrifugiert. Der auf diese Weise aus der Watterolle gepresste Speichel wurde gleichmäßig in 3 beschriftete Eppendorf-Gefäße pipettiert (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Bis zum Zeitpunkt der Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA wurden die Speichelproben bei -20°C tiefgefroren gelagert.

### **3.2.3. Darstellung der Kotprobenentnahme**

Die Kotproben wurden manuell aus dem Rektum der Tiere entnommen. Dazu wurden 2 Einmalhandschuhe übereinander gezogen, die Probe entnommen und in ein Kotprobenröhrchen überführt. Danach wurde vor der Kotprobenentnahme der nächsten Sau der äußere Handschuh gewechselt. Durch die bereits beschriebenen Gegebenheiten im Bestand konnte bei der Entnahme der Kotproben der Stammsauen auf eine Oberkieferschlinge verzichtet werden. Bei der Kotprobenentnahme der Jungsauen musste auf die Verwendung einer Oberkieferschlinge, die in Kapitel III.3.2.1 dargestellt ist, zurückgegriffen werden.

Die Kotproben wurden bei 7°C in die Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in Oberschleißheim transportiert und dort bis zur Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA bei -20°C tiefgefroren gelagert.

### **3.2.4. Darstellung der Spermaprobenentnahme**

Um das Sperma als Ansteckungsquelle der Sauen und als „intrauterine“ Ansteckungsquelle für die Ferkel zu evaluieren, wurden von den aktuell im Bestand versamten Portionen 3 Besamungstuben pro Eber bei 7°C gekühlt in die Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in Oberschleißheim verbracht. Dort wurden ca. 0,5ml Sperma aus jeder Besamungstube in jeweils 3 beschriftete Eppendorf-Gefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt. Bis zum Untersuchungszeitpunkt wurden diese bei -20°C tiefgefroren gelagert.

### **3.2.5. Darstellung der Organprobenentnahme der in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel**

Über die Zeit der Beprobungen hinweg sowie 2 Wochen vor der Probennahme im Ferkelerzeugerbestand wurden in der 1. Lebenswoche von der Sau erdrückte Ferkel gesammelt, mit Sauennummer, Geburts- und Todesdatum versehen und umgehend bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren. Die Ferkel wurden bei exakt den gleichen Temperaturen tiefgefroren zur Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in Oberschleißheim transportiert und dort tiefgefroren gelagert. Die Beprobung dieser Ferkel erfolgte am Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Zum Zwecke dieser Beprobung wurden die Ferkel zuvor aufgetaut. Bei dieser Beprobung wurden Gewebeproben von Tonsillen, Thymus, Inguinallymphknoten, Lunge und Milz der tags zuvor aufgetauten Ferkel entnommen und in Eppendorf-Gefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt. Anschließend wurden sie bis zur Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren gelagert.

### **3.2.6. Darstellung der Entnahme der Oral Fluid Proben**

Die Probenentnahme der Oral Fluid Proben erfolgte durch die bestandbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzte der Mastbestände. In den Mastbeständen wurden Kaustrickproben aus Baumwolle verwendet (Oral Fluid Sample Collection Accessory Kit 5 Count, IDEXX, Westbrook, Maine, USA), um Speichelproben der Tiere auf das Vorkommen von PCV2-DNA zu testen. Dazu wurden 40cm lange Baumwollstricke auf Schulterhöhe der Tiere und ungefähr in der Mitte der Bucht aufgehängt, um möglichst allen Schweinen der Bucht den Zugang zu dem Strick zu ermöglichen. Es wurde ein Strick für jeweils 20 Tiere verwendet und 20 Minuten in der Bucht gelassen. Danach wurden die Kaustricke aus der Bucht entfernt und der eingespeichelte Teil des Stricks in eine dafür vorgesehene Plastiktüte verbracht. Dann wurde der trockene Teil des Kaustricks abgeschnitten und der Speichel aus den Stricken heraus in ein Probenröhrchen gepresst. Diese Methode wurde bereits von HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017) beschrieben. Anschließend wurden die Probenröhrchen gekühlt in die Klinik für Schweine geschickt. Dort wurden sie für 10 Minuten bei 1560g (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) zentrifugiert, in 3 beschriftete Eppendorf-Gefäße



(Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) abgefüllt und bei -20°C bis zur Untersuchung tiefgefroren.

Zur Auswertung der Oral Fluid Proben war es nötig, dass die Stricke ausreichend durchfeuchtet wurden. Da dies bei allen genommenen Proben der Fall war, konnten 90 von 90 Kaustricken ausgewertet werden, die insgesamt 1.455 Tieren in ihren Buchten zur Verfügung gestellt wurden.

### **3.3. Darstellung der Diagnostikmethoden im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

#### **3.3.1. Darstellung der molekularbiologischen Diagnostikmethoden**

Die Serumproben wurden auf das Vorkommen von PCV2-DNA mittels PCR untersucht. Zu diesem Zweck wurden alle Proben zuerst in Pools zu je 5 Proben mittels real-time PCR mit einem Primer nach BRUNBORG et al. (2004) bei der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH, Seelze-Letter, Deutschland nach Herstellerangaben, deren Ergebnis in Cycle threshold (Ct)-Werten angegeben wurde, untersucht. Bei einem positiven Ergebnis der real-time PCR der Poolprobe wurden die Einzelproben mittels quantitativer PCR (qPCR) nach Herstellerangaben auf das Vorkommen von PCV2-DNA und deren Menge in Genomkopien pro ml Serum oder pro ng DNA mittels PCR nachuntersucht. Die Oral Fluid-Proben der Kaustricke der Mastschweine stellen eine Ausnahme dar, da diese am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München mittels PCR mit einem modifizierten Primer nach ZHAO et al. (2010) untersucht. Positive PCV2-DNA Nachweise wurden im Anschluss am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München auf das Vorkommen verschiedener PCV2-Genotypen mittels Genotypspezifischer qPCR nach Herstellerangaben untersucht.

#### **3.3.2. Darstellung der serologischen Diagnostikmethoden**

Die Serumproben wurden bei der IVD Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH, Seelze-Letter, Deutschland jeweils einzeln mittels SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking (DELPHARM BIOTECH, France) nach Herstellerangaben auf das Vorkommen PCV2-spezifischer Antikörper

untersucht. Dieser ELISA gehört zu den monophasischen blocking-ELISAs. Das Ergebnis der ELISA-Untersuchung wird in ELISA-Units (EU) angegeben. Bei diesen werden die optical density (OD)-Werte der 3 Verdünnungsstufen (1:100; 1:1.000; 1:10.000), die Berechnungsformeln des Herstellers sowie ein lineares Regressionsmodell verwendet. Werte unter 900EU wurden als negativ oder fraglich gewertet, Werte zwischen 900 und 2.000EU wurden als schwach positiv gewertet und Werte über 2.000EU wurden als positiv gewertet.

#### 4. Statistik

Die Bestandsdaten und die Ergebnisse der Untersuchungen wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel® (Microsoft Office, Fa. Microsoft, Redmond, USA) eingepflegt. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel® (Microsoft Office, Fa. Microsoft, Redmond, USA) sowie der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 25 (IBM® SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Die deskriptive Darstellung der Ergebnisse wurden mit der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 25 (IBM® SPSS Inc., Chicago, IL, USA) angefertigt.

Die Anzahl für das diagnostische Screening untersuchter Tiere wurde wie folgt gewählt: Bei den Sauen wurden 50 Tiere pro Produktionsstatus (Quarantäne, hochtragende Sauen, niedertragende Sauen, säugende Sauen) gewählt, um bei einer Prävalenz von mindestens 10% und einer Sicherheit von >99% mindestens in einer Probe PCV2-DNA nachweisen zu können. Bei den Ferkeln wurden mindestens 30 Tiere pro Altersgruppe beprobt, um mit einer Prävalenz von mindestens 20% mit einer Sicherheit von >99% mindestens in einer Probe PCV2-DNA nachzuweisen. Bei den Mastschweinen wurde bei einer Prävalenz von mindestens 5% bei 10 Kastricken pro Altersgruppe und pro Bestand mindestens in einem Kastrick PCV2-DNA mit einer Sicherheit von >99% nachgewiesen.

Zum Teil wurden die Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen in nominale Daten kodiert (abhängige Variablen: Antikörpertiter positiv/negativ, PCV2-DNA-Nachweis ja/nein, Zeitpunkt der Untersuchung während des Krankheitsgeschehens/nach dem Krankheitsgeschehen). Diese wurden anschließend mittels Kreuztabellen mithilfe des Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson auf signifikante Zusammenhänge mit den unabhängigen Variablen (Parität der Sau, Alter der Sau, Produktionsstatus der Sau, Alter der Ferkel) getestet.

Metrische Daten (abhängige Variablen: PCV<sub>2</sub>-DNA-Gehalt der Proben in log<sub>10</sub>GE/ml Serum bzw. ng DNA oder in Ct-Werten, Antikörpertiter gegen PCV<sub>2</sub> im Serum) wurden in Tabellen unter Angabe der Mittelwerte, der Minimalwerte, der Maximalwerte, der Anzahl der untersuchten Tiere sowie der Standardabweichung angegeben. Um mögliche Assoziationen zwischen den metrischen Variablen (s. o.) nachzuweisen, erfolgte die Auswertung nach Testung auf Normalverteilung mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Die Korrelation der Antikörper der Sauen in der 3. Säugewoche mit deren Ferkeln in der 3. Lebenswoche wurde mithilfe des Spearman-Korrelationskoeffizienten überprüft. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p < 0,05$  gewählt.

## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Untersuchungsergebnisse des im Zeitraum des Krankheitsgeschehens sowie im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings gewonnenen Probenmaterials**

Die in dem nachfolgenden Kapitel dargestellten und beschriebenen Untersuchungsmaterialien wurden von den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten gewonnen und in Laboren, die im entsprechenden Abschnitt angegeben sind, untersucht. Die Auswertung erfolgt retrospektiv anhand der gewonnenen Untersuchungsergebnisse.

In die folgende Auswertung fließen 7 Tiere aus Mastbestand A, 4 Tiere aus Mastbestand B und 8 Tiere aus Mastbestand C ein. Aus dem Ferkelerzeugerbestand fließen insgesamt 21 Sauen und 114 Ferkel, die im Rahmen der Bestandsdiagnostik des Ferkelerzeugerbestandes im Zeitraum von Dezember 2017 bis Mai 2018 untersucht wurden, ein. Die durchgeführten Untersuchungen lassen sich in 3 Untergruppen gliedern: Pathologisch-anatomische Untersuchung, histopathologische Untersuchung und labordiagnostische Untersuchungen. Im Folgenden sind die Ergebnisse der jeweiligen Bestände dargestellt.

#### **1.1. Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand A**

Die Befunde aus dem Sektionsmaterial der Untersuchung der 7 Tiere aus Mastbestand A (Tiere A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7) sind in den Tabellen 5, 6 und 7 zusammengefasst. Alle in der Sektion untersuchten Tiere des Mastbestandes A. trafen lebendig in der Sektion ein und wurden vor Ort zur Diagnostik euthanasiert. Es handelt sich hierbei um 4 weiblich intakte (Tiere A3: 59kg, A5: 53kg, A6: 63kg, A7: 49,5kg), sowie 3 männlich kastrierte Mastschweine (Tiere A1: 46kg, A2: 54kg, A4: 55kg).

Die Sektionsbefunde der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Tiere aus Mastbestand A sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Bei den Tieren A2, A3 und A5 wurden multifokal kreisrunde braune Krusten auf der Haut festgestellt. Bei Tier A3 wurden außerdem ventral am Hals kirschgroße Umfangsvermehrungen mit gelbem, pastösem Inhalt nachgewiesen. Die

Inguinallymphknoten waren bei allen Tieren außer Tier A6 in unterschiedlichem Maße vergrößert: Bei den Tieren A3 und A4 waren diese Lymphknoten geringgradig vergrößert, die Tiere A1 und A5 hatten mittelgradig vergrößerte Lymphknoten und die Inguinallymphknoten der Tiere A2 und A7 waren hochgradig vergrößert. Aus dem Ellenbogengelenk von Tier A3 ließ sich eine hochgradige Menge einer serösen rötlichen Flüssigkeit gewinnen. Im rechten Tarsal- und Karpalgelenk von Tier A5 befand sich eine rote fadenziehende Flüssigkeit. Das linke Tarsalgelenk von Tier A7 war verdickt, im Anschnitt konnte eine gelbe, pastöse Masse nachgewiesen werden.

Bei Tier A4 wurde eine fokale Verklebung der beiden Pleuralblätter nachgewiesen. Die Pleuralblätter von 4 der 7 untersuchten Tiere aus Mastbestand A waren multifokal verklebt (Tiere A1, A2, A3, A6). Tier A5 hatte eine diffus verwachsene Pleura mit zum Teil gelben Belägen. Die Lungenretraktion war bei allen Tieren mäßig. Im Lungenanschnitt wurde bei allen Tieren außer bei Tier A4 weißer Schaum nachgewiesen. Im Hauptlappen der Lunge von Tier A4 wurden Verdichtungen und eine hochgradige Menge eines weißen Sekretes festgestellt. Die Mediastinallymphknoten von 4 der 7 Tiere aus Mastbestand A waren vergrößert (A1, A2, A4, A5). Bei den Tieren A1 und A4 waren diese Lymphknoten geringgradig vergrößert, bei den Tieren A2 und A5 waren sie mittelgradig vergrößert. Der Herzbeutel von den Tieren A1 und A3 war diffus mit dem Herzen verwachsen.

Die Magenschleimhaut von Tier A7 war in der Pars proventricularis wallartig aufgeworfen, dünn und rau. In der Milz von Tier A5 wurden oberflächliche, stecknadelkopfgroße rote Punkte festgestellt. Die Nieren von 5 der 7 Tiere aus Mastbestand A erschienen in der Untersuchung vergrößert (Tiere A1, A2, A4, A5, A7). Die Niere von Tier A1 erschien mittelgradig vergrößert, die Nieren der Tiere A2, A4 und A5 hochgradig vergrößert. In der Nierenrinde der Tiere A3, A5 und A7 wurden stecknadelkopfgroße rote Punkte, die bis in die Tiefe reichten, nachgewiesen.

**Tabelle 6: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e; mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand A: Pathologisch-anatomische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Haut	3/7	multifokale, kreisrunde, braune Krusten (3/3)
Inguinal-lymphknoten	6/7	ggr. vergrößert (2/6)
		mgr. vergrößert (2/6)
		hgr. vergrößert (2/6)
Gelenke	3/7	Ellenbogengelenk mit einer hgr. Menge seröser Flüssigkeit (1/3)
		rechtes Karpal- und Tarsalgelenk mit roter fadenziehender Flüssigkeit (1/3)
		linkes Tarsalgelenk verdickt mit gelber, pastöser Masse (1/3)
Pleura	6/7	multifokal verklebt (4/6)
		fokal verklebt (1/6)
		diffus verwachsen mit zum Teil gelben Belägen (1/6)
Lungenretraktion	6/7	mäßige Lungenretraktion (6/6)
Lungenanschnitt	6/7	ggr. Menge weißen Schaumes (6/6)
Lungenlappen	1/7	Hauptlappen verdichtet mit einer hochgradigen Menge weißen Sekretes (1/1)
Mediastinal-lymphknoten	4/7	ggr. vergrößert (2/4)
		mgr. vergrößert (2/4)
Herzbeutel	2/7	diffus verwachsen (2/2)
Magen-schleimhaut	1/7	Pars proventricularis wallartig aufgeworfen, im Inneren dünn und rau (1/1)
Milz	1/7	Oberfläche: stecknadelkopfgroße rote Punkte (1/7)
Nieren	5/7	vergrößert (1/5)
		mgr. vergrößert (1/5)
		hgr. vergrößert (3/5)
Nierenrinde	3/7	stecknadelkopfgroße, rote Punkte, die in die Tiefe ziehen (3/3)

Die von der IVD, Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH, Hannover erstellten histopathologischen Befunde der Gewebe der Tiere, die in der pathologisch-anatomischen Untersuchung der an der Außenstelle für Epidemiologie der Hochschule Hannover in Bakum durchgeführten Sektion untersucht wurden, sind in Tabelle 7 dargestellt.

Bei Tier A6 wurde eine geringgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie sowohl in den Haupt- als auch in den Spitzenlappen der Lunge festgestellt. 5 der 7 untersuchten Tiere (A2, A3, A4, A5, A7) hatten in den Spitzenlappen der Lunge eine gering- bis mittelgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie. Es wurde bei Tier A1 eine mittelgradige lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie nachgewiesen. In den Hauptlappen der Lunge wurde bei den Tieren A3 und A6 eine geringgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie festgestellt. Bei den Tieren A2, A4, A5 und A7 wurde dort eine geringgradige bis mittelgradige lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Zusätzlich wurde bei Tier A4 eine geringgradige akute lobuläre katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie festgestellt. Tier A1 wies eine mittelgradige lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie auf.

Bei 3 der 7 untersuchten Tiere aus Mastbestand A konnte im Tracheobronchiallymphknoten eine lymphozytäre Depletion nachgewiesen werden (Tiere A1, A4, A5). Des Weiteren wurde in diesen Lymphknoten bei einem Tier eine granulomatöse Entzündung (Tier A1), sowie eine Infiltration mit Makrophagen bei 2 Tieren festgestellt (Tiere A1 (mittelgradig bis hochgradig) und A6 (einzeln)). Mehrkernige Riesenzellen wurden in den Tracheobronchiallymphknoten der Tiere A1, A6 und A7 nachgewiesen. Die Tiere A1 und A5 wiesen in den Tracheobronchiallymphknoten eine Blutresorption auf. Bei dem Tier A2 wurde im Tracheobronchiallymphknoten eine gering- bis mittelgradige Sinushistiozytose festgestellt. Bei Tier A5 wurde eine mittelgradige eitrige Entzündung mit Infiltration von neutrophilen Granulozyten im Tracheobronchiallymphknoten nachgewiesen. In den Inguinallymphknoten der Tiere des Mastbestandes A wurde bei 3 Tieren eine lymphozytäre Depletion festgestellt (Tiere A1, A4, A6). Das Tier A1 wies darüber hinaus im Inguinallymphknoten eine granulomatöse Entzündung, eine Infiltration von Makrophagen sowie eine Blutresorption auf. Mehrkernige Riesenzellen wurden in den Inguinallymphknoten der Tiere A1 und A6

nachgewiesen. Tier A2 wies im Inguinallymphknoten eine eitrige Entzündung auf. Bei den Tieren A2 und A5 wurde eine mittelgradige Infiltration von neutrophilen Granulozyten im Inguinallymphknoten nachgewiesen. Bei Tier A3 wurde eine Sinushistiozytose sowie eine mittelgradige diffuse Hyperplasie festgestellt. Tier A3 wies eine gering- bis mittelgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis auf. Bei Tier A6 wurde eine mittelgradige multifokale lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis nachgewiesen. Bei Tier A5 wurde eine mittelgradige multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis festgestellt. Eine mittel- bis hochgradige multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis wurde bei Tier A2 detektiert. Bei den Tieren A1 und A4 wurde in der Niere eine hochgradige multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis nachgewiesen. Die Glomerula wiesen bei 3 von 7 untersuchten Tieren aus Mastbestand A eine generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis auf (Tiere A5, A6 und A7). Bei Tier A5 war diese mittelgradig ausgeprägt, bei den Tieren A6 und A7 war diese hochgradig ausgeprägt. Das Tier A3 wies in der Haut eine akute nekrotisierende Dermatitis auf. Bei Tier A5 wurde eine hochgradige pustulöse und nekrotisierende Dermatitis und Follikulitis nachgewiesen. In der Milz von Tier A3 wurde eine multifokale nekrotisierende Vaskulitis mit ischämischem Infarkt detektiert. Bei dem Tier A7 wurde im Magen eine ulzerative Gastritis festgestellt.



**Tabelle 7: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Betrieb A: Pathohistologische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Hauptlappen der Lunge	7/7	ggr. lymphohistiozytäre intersititelle Pneumonie (2/7)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie (3/7)
		mgr. lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie (1/7)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie, ggr. akute lobuläre katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie (1/7)
Spitzenlappen der Lunge	7/7	ggr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/7)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre intersititelle Pneumonie (5/7)
		mgr. lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie (1/7)
Tracheobronchiallymphknoten	6/7	mgr. lymphozytäre Depletion, mgr. bis hgr. granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen, Blutresorption (1/6)
		mgr. lymphozytäre Depletion (1/6)
		mgr. lymphozytäre Depletion, eitrige Entzündung mit Infiltration von neutrophilen Granulozyten, Blutresorption (1/6)
		Makrophagen, mehrkernige Riesenzellen (1/6)
		mehrkernige Riesenzellen (1/6)
Inguinallymphknoten	6/7	mgr. lymphozytäre Depletion, mgr. bis hgr. granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen, Blutresorption (1/6)
		ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, mehrkernige Riesenzellen (1/6)
		hgr. lymphozytäre Depletion (1/6)
		Sinushistiozytose, diffuse Hyperplasie (1/6)
		mgr. eitrige Entzündung mit Infiltration von neutrophilen Granulozyten (1/6)
		ggr. bis mgr. eitrige Entzündung mit Infiltration von neutrophilen Granulozyten (1/6)
Nieren	6/7	ggr. bis mgr. multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis (1/6)

		mgr. multifokale lymphohistiozytäre bis granulomatöse intersitielle Nephritis (1/6)
		mgr. multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis (1/6)
		mgr. bis hgr. multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis (1/6)
		hgr. multifokale bis konfluierende lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Nephritis (2/6)
Glomerula	3/7	mgr. generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis (1/3)
		hgr. generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis (2/3)
Haut	2/7	akute nekrotisierende Dermatitis (1/2)
		hgr. pustulöse und nekrotisierende Dermatitis und Follikulitis (1/2)
Milz	1/7	multifokale nekrotisierende Vaskulitis mit ischämischem Infarkt (1/1)
Magen	1/7	hgr. ulzerative Gastritis (1/1)

Die labordiagnostischen Befunde aus Sektionsmaterial der Tiere aus Mastbestand A sind in Tabelle 8 dargestellt.

Die Untersuchung der Lymphknoten der Tiere aus Mastbestand A mittels Immunhistochemie (IHC) ergab einen Nachweis von PCV2-Antigen bei 6 von 7 Tieren. PCV2-Antigen wurde bei 5 der 7 Tiere in dendritischen Zellen nachgewiesen (Tiere A1, A3, A5, A6, A7). In Makrophagen konnte ein Nachweis von PCV2-Antigen mittels IHC bei 3 Tieren erfolgen (Tiere A1, A5, A6). Bei den Tieren A1 und A7 wurde PCV2-Antigen mittels IHC in den mehrkernigen Riesenzellen nachgewiesen. Im Endothel von Gefäßen des Lymphknotens konnte bei den Tieren A3 und A4 PCV2-Antigen festgestellt werden. Die bakteriologische Untersuchung der Nieren ergab den Nachweis von  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken (geringgradig) bei Tier A2. In den Gelenken von Tier A7 wurde ein hoher Gehalt *Trueperella (T.) pyogenes* nachgewiesen. Der Herzbeutel von Tier A2 wies eine geringe Menge  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken auf. Tier A4 wies einen hohen Gehalt *T. pyogenes* auf, Tier A5 einen geringen Gehalt *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP). Die Untersuchung der Lymphknoten ergab bei Tier A7 den Nachweis von *T. pyogenes* (hochgradig). Tier A4 wies in der Lunge einen hohen Gehalt an *T. pyogenes* und einen geringen Gehalt an *Pasteurella (P.) multocida* auf. Bei dem Tier A5 wurde in der Lunge ein

hoher Gehalt von APP des Serotyps 2 nachgewiesen. Bei Tier A4 wurde ein hoher Gehalt an *P. multocida* und *T. pyogenes* festgestellt. Tier A5 wies in den Bronchien einen hohen Gehalt an APP, sowie einen geringen Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken auf. Bei den Tieren A2 und A5 wurde auf der Haut ein hoher Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken, *Staphylococcus (S.) hyicus* und *Staphylococcus (S.) aureus* nachgewiesen. Bei Tier A3 konnte ein mittlerer Gehalt *S. aureus* detektiert werden.

Bei allen der 7 untersuchten Tiere aus Mastbestand A konnte im Lymphknoten mittels polymerase chain reaction (PCR) DNA des porcinen Circovirus Typ 2 (PCV2) nachgewiesen werden. Die nachgewiesenen PCV2-DNA-Gehalte sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Sequenzierung der PCV2-DNA (open reading frame (ORF) 2) ergab eine Homologie auf Nukleotidebene von 99% zum PCV2-Virusstamm DE136-13 (GenBank Nr. KP698395). Die molekularbiologische Untersuchung der Lunge mittels PCR ergab den Nachweis von PCV2-DNA bei allen untersuchten Tieren aus Mastbestand A. Die Cycle threshold (Ct)-Werte dieser Untersuchung auf das Vorkommen von PCV2-DNA sind in Abbildung 3 dargestellt. Des Weiteren konnten in der Lunge porcines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus (PRRSV) Spezies 1 mit einem Ct-Wert von 30,6 bei Tier A2 und Influenza A Virus (IAV) mit einem Ct-Wert von 38,6 bei Tier A1 nachgewiesen werden. Die Untersuchung der Haut mittels PCR ergab den Nachweis von PCV2-DNA bei 3 der 7 untersuchten Tiere aus Mastbestand A (Tiere A2, A3, A5). Die nachgewiesenen Gehalte PCV2-DNA sind in Abbildung 4 dargestellt.

**Tabelle 8: Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand A: Labordiagnostische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Untersuchungs- methode</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Erreger (Anzahl betroffener Tiere/ gesamt betroffene Tiere)</u>
Lymph- knoten	Immunhisto- chemie	6/7	PCV2-Antigen positiv (6/6)
	Bakteriologische Untersuchung	1/7	hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/1)
	Molekular- biologische Untersuchung	7/7	PCV2 (7/7)
Gelenke	Bakteriologische Untersuchung	1/7	hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/1)
Herz- beutel	Bakteriologische Untersuchung	1/7	ggr. $\beta$ -hämolysierende Streptokokken (1/1)
Brustfell	Bakteriologische Untersuchung	2/7	hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/2)
			ggr. APP (1/2)
Lunge	Bakteriologische Untersuchung	2/7	ggr. <i>P. multocida</i> (1/2)
			hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/2)
			hgr. APP Serotyp 2 (1/2)
	Molekular- biologische Untersuchung	7/7	IAV (1/7)
			PRRSV Spezies 1 (1/7)
			PCV2 (7/7)
Bronchus	Bakteriologische Untersuchung	2/7	hgr. <i>P. multocida</i> (1/2)
			hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/2)
			hgr. APP (1/2)
			ggr. $\beta$ -hämolysierende Streptokokken (1/2)
Haut	Bakteriologische Untersuchung (Geschabsel)	3/7	hgr. $\beta$ -hämolysierende Streptokokken (2/3)
			<i>S. hyicus</i> (3/3)
			<i>S. aureus</i> (2/3)
	Molekular- biologische Untersuchung	3/7	PCV2 (3/3)

**1.2. Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand B**

Die Befunde aus dem Sektionsmaterial der Tiere aus Mastbestand B (Tiere B1, B2, B3, B4) sind in den Tabellen 8, 9 und 10 zusammengefasst. Diese Tiere, die vor Ort zur Diagnostik euthanasiert wurden, hatten ein Gewicht zwischen 58kg

und 91kg. Es handelte sich hierbei um 2 weiblich intakte Tiere (B4: 65kg bzw. B3; 58kg) und 2 männlich kastrierte Tiere (B2: 72kg, bzw. B1: 91kg).

Die Befunde der pathologisch-anatomischen Untersuchung aus dem Sektionsmaterial der 4 untersuchten Tiere aus Mastbestand B sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Die Haut von Tier B1 wies in der pathologisch-anatomischen Untersuchung in der Sektion multifokale kreisrunde, braune Krusten auf. Die Inguinallymphknoten waren bei 3 der 4 Tiere aus Mastbestand B vergrößert (Tiere B1, B2 und B3). Diese Vergrößerung war bei Tier B3 geringgradig, bei Tier B2 gering- bis mittelgradig und bei Tier B1 mittelgradig.

Bei der Eröffnung der Brusthöhle der Tiere aus Mastbestand B wies die Pleura von Tier B3 fokale Verklebungen, die Pleura von Tier B2 wies multifokale Verklebungen auf. Die Lungenretraktion war bei allen untersuchten Tieren aus Mastbestand B mäßig. Im Lungenanschnitt wurde bei allen 4 Tieren aus diesem Bestand eine geringgradige Menge weißen Schaumes nachgewiesen. Im Hauptlappen der rechten Lunge von Tier B4 befand sich ein kirschgroßer weicher Knoten, der mit roter lackartiger Flüssigkeit gefüllt war. In den Mediastinallymphknoten der Tiere B2, B3 und B4 wurde eine Vergrößerung festgestellt. Diese Vergrößerung war bei dem Tier B4 geringgradig, bei dem Tier B3 mittelgradig und bei dem Tier B2 mittel- bis hochgradig. Der Herzbeutel von Tier B2 war diffus mit dem Herzen verwachsen.

Das Peritoneum von Tier B2 erschien trüb mit einzelnen weißgelben Massen. Die Mesenteriallymphknoten der Tiere B2 und B4 wiesen eine Vergrößerung auf (Tier B2 mittelgradig, Tier B4 geringgradig). Bei Tier B2 wurden helle, feste Nieren, bei Tier B3 eine geringgradig vergrößerte Niere nachgewiesen. Die Nierenrinde von Tier B3 erschien in die Tiefe ziehend weiß marmoriert.

**Tabelle 9: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand B: Pathologisch-anatomische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Haut	1/4	multifokale, kreisrunde, braune Krusten (1/1)
Inguinal-lymphknoten	3/4	ggr. vergrößert (1/3) ggr. bis mgr. vergrößert (1/3) mgr. vergrößert (1/3)
Pleura	2/4	fokal verklebt (1/2) multifokal verklebt (1/2)
Lungenretraktion	4/4	mäßig (4/4)
Lungenanschnitt	4/4	ggr. Menge weißen Schaumes (4/4)
Lungenlappen	1/4	kirschgroßer, weicher Knoten, im Anschnitt mit roter, lackartiger Flüssigkeit (1/1)
Mediastinal-lymphknoten	3/4	ggr. vergrößert (1/3) mgr. vergrößert (1/3) mgr. bis hgr. vergrößert (1/3)
Herzbeutel	1/4	diffus verwachsen (1/1)
Peritoneum	1/4	trüb, einzelne weiß-gelbe Massen (1/1)
Mesenterial-lymphknoten	2/4	ggr. vergrößert (1/2) mgr. vergrößert (1/2)
Nieren	2/4	ggr. vergrößert (1/2) hell, derb (1/2)
Nierenrinde	1/4	bis in die Tiefe ziehend weiß marmoriert (1/1)

Die histopathologischen Befunde der Gewebe der Tiere des Mastbestandes B sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

Bei Tier B4 wurde sowohl in den Haupt-, als auch in den Spitzenlappen der Lunge eine geringgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie detektiert. In den Hauptlappen der Lunge der Tiere B1 und B2 wurde ebenfalls eine multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Bei Tier B1 war diese geringgradig ausgeprägt, bei Tier B2 war die mittelgradig ausgeprägt. Tier B3 wies in den Hauptlappen der Lunge eine

gering- bis mittelgradige multifokale lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie auf. Bei den Tieren B1 und B2 wurde in den Spitzenlappen der Lunge eine gering- bis mittelgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Tier B3 wies in den Spitzenlappen der Lunge eine gering- bis mittelgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie auf. In der Pleura von Tier B2 wurde eine hochgradige subakute fibrinöse Pleuritis nachgewiesen. In den Tracheobronchiallymphknoten der Tiere B2, B3 und B4 wurde eine lymphozytäre Depletion, bei den Tieren B2 und B4 zusätzlich eine Blutresorption nachgewiesen. Tier A2 wies eine geringgradige bis mittelgradige eitrig-entzündliche Entzündung des Tracheobronchiallymphknotens auf. Darüber hinaus wurde bei Tier B3 eine geringgradige bis mittelgradige granulomatöse Entzündung mit einer geringgradigen Infiltration von Makrophagen festgestellt. Im Inguinallymphknoten aller 4 untersuchten Tiere des Mastbestandes B wurde eine lymphozytäre Depletion festgestellt. Bei den Tieren B1, B2 und B4 war diese geringgradig bis mittelgradig, bei Tier B3 war sie mittelgradig bis hochgradig. Tier A1 wies darüber hinaus eine granulomatöse Entzündung im Inguinallymphknoten auf. Bei den Tieren B1 und B3 wurde eine geringgradige Infiltration von Makrophagen im Inguinallymphknoten festgestellt. Tier B4 wies darüber hinaus eine geringgradige folliculäre Hyperplasie des Inguinallymphknotens auf. Bei Tier B1 wurde eine mittelgradige lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis festgestellt. Die Nieren des Tieres B2 wiesen eine hochgradige tubulointerstitielle Nephritis auf. Bei Tier B3 wurde eine mittel- bis hochgradige multifokale lymphohistiozytär bis granulomatöse tubulointerstitielle Nephritis ermittelt. Die Nieren von Tier B4 wiesen eine geringgradige fokale lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis auf. In den Glomerula von Tier B1 wurde eine hochgradige generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis nachgewiesen. In der Haut dieses Tieres wurde eine geringgradige fokale pustulöse Dermatitis festgestellt. Bei Tier B2 wurde im Herzen eine hochgradige akute fibrinöse Epikarditis nachgewiesen.

**Tabelle 10: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Betrieb B: Pathohistologische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Hauptlappen der Lunge	4/4	ggr. lymphohistiozytäre multifokale interstitielle Pneumonie (2/4)
		mgr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/4)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre bis granulomatöse multifokale interstitielle Pneumonie (1/4)
Spitzenlappen der Lunge	4/4	ggr. lymphohistiozytäre multifokale interstitielle Pneumonie (1/4)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre multifokale interstitielle Pneumonie (1/4)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (2/4)
Pleura	1/4	hgr. subakute fibrinöse Pleuritis (1/1)
Tracheo-bronchial-lymphknoten	3/4	ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, ggr. bis mgr. eitrig-Entzündung, Blutresorption (1/3)
		ggr. lymphozytäre Depletion, Blutresorption (1/3)
		ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, ggr. granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen (1/3)
Inguinal-lymphknoten	4/4	ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion (1/4)
		ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, ggr. folliculäre Hyperplasie (1/4)
		mgr. bis hgr. lymphozytäre Depletion, ggr. Ansammlung von Makrophagen (1/4)
		ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, ggr. granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen (1/4)
Nieren	4/4	ggr. fokale lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis (1/4)
		mgr. lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis (1/4)
		mgr. bis hgr. multifokale lymphohistiozytäre bis granulomatöse tubulointerstitielle Nephritis (1/4)
		hgr. tubulointerstitielle Nephritis (1/4)
Glomerula	1/4	hgr. generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis (1/1)
Haut	1/4	ggr. fokale pustulöse Dermatitis (1/1)
Herz	1/4	hgr. akute fibrinöse Epikarditis (1/1)



Die Ergebnisse der Erregernachweise aus dem Sektionsmaterial der Tiere aus Mastbestand B sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Die immunhistochemische Untersuchung zum Nachweis von PCV2-Antigen aus dem Lymphknoten verlief bei allen 4 untersuchten Tieren aus Mastbestand B negativ. Bei den Tieren B1 und B4 wurde ein geringer Gehalt an *Escherichia (E.) coli* festgestellt. Tier B2 wies einen geringen Gehalt an hämolyzierender *E. coli* auf. Die bakteriologische Untersuchung der Lunge wurde bei Tier B2 ein hoher Gehalt *Bordetella (B.) bronchiseptica* nachgewiesen. In den Bronchien von 2 der 4 untersuchten Tiere aus Mastbestand B konnte ein hoher Gehalt an *B. bronchiseptica* nachgewiesen werden (Tiere B1 und B2). Das Hautgeschabsel von einem Tier aus Mastbestand B ergab einen hohen Gehalt an *S. aureus* (Tier B1).

Im Lymphknoten aller 4 untersuchter Tiere aus Mastbestand B konnte PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden. Die nachgewiesenen PCV2-DNA-Gehalte dieser Untersuchung sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Sequenzierung der DNA des ORF2 ergab eine Homologie auf Nukleotidebene von 99% mit dem Isolat DE136-13 (GenBank Nr. KP698395). In der Lunge wurde bei allen 4 untersuchten Tieren aus Mastbestand B PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen. Die Ct-Werte dieser Untersuchung sind in Abbildung 3 dargestellt. Bei einem der 4 untersuchten Tiere wurde in der Haut PCV2-DNA mit einer Virusmenge von 6,37logGE/ng DNA nachgewiesen (Tier B1) (siehe Abbildung 4).

**Tabelle 11: Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand B: Labordiagnostische Befunde**

<u>Organ</u>	<u>Untersuchungs- methode</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Erreger (Anzahl betroffener Tiere/gesamt betroffene Tiere)</u>
Nieren	Bakteriologische Untersuchung	3/4	ggr. <i>E. coli</i> (2/3) ggr. anhämolysierende <i>E. coli</i> (1/3)
	Molekular- biologische Untersuchung	4/4	PCV2 (4/4)
Lunge	Bakteriologische Untersuchung	1/4	hgr. <i>B. bronchiseptica</i> (1/1)
	Molekular- biologische Untersuchung	4/4	PCV2 (4/4)
Bronchus	Bakteriologische Untersuchung	2/4	hgr. <i>B. bronchiseptica</i> (2/2)
Haut	Bakteriologische Untersuchung (Geschabsel)	1/4	hgr. <i>S. aureus</i> (1/1)
	Molekular- biologische Untersuchung	1/4	PCV2 (1/1)

### 1.3. Untersuchungsergebnisse der Proben aus Mastbestand C

Die Ergebnisse der Sektionsbefunde der Tiere von Mastbestand C (Tiere C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8) sind in den Tabellen 12, 13 und 14 zusammengefasst. Von diesen Tieren wurden 2 Tiere tot angeliefert (C2: 83kg, C8: 60kg), die anderen 6 Tiere wurden vor Ort zum Zweck der Diagnostik euthanasiert. Es handelte sich bei den Tieren aus Mastbestand C um 5 männlich kastrierte Tiere (C1: 78kg, C2: 83kg, C3: 64kg, C6: 59kg, C8: 60kg) sowie 3 weiblich intakte Tiere (C4: 56kg, C5: 62kg, C7: 71kg).

Die Befunde der pathologisch-anatomischen Untersuchung der 8 Tiere aus Mastbestand C sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

5 Tiere des Mastbestandes C wiesen auf der Haut multifokale kreisrunde braune Krusten auf (Tiere C1, C2, C3, C4, C6). Bei Tier C7 wurden multifokal bis

konfluierende braune Krusten nachgewiesen. Tier C8 wies auf der Haut eine diffuse Rötung auf. Bei Tier C2 wurde der Verlust des Schwanzes festgestellt. Die Inguinallymphknoten aller 8 untersuchten Tiere wiesen eine Vergrößerung auf. Bei den Tieren C3 und C6 war diese Vergrößerung geringgradig, bei den Tieren C1, C2, C4, C5, C7 und C8 war diese Vergrößerung mittelgradig. Der Mandibularlymphknoten des Tieres C8 wies auf der rechten Seite eine mittelgradige Vergrößerung und Rötung auf. Das Karpalgelenk des Tieres C5 wies eine tennisballgroße Umfangsvermehrung auf, in dessen Anschnitt sich gelbliches Sekret befand.

Die Pleura von 6 der 8 untersuchten Tiere aus Mastbestand C wiesen Verklebungen auf. Bei den Tieren C2 und C3 wies die Pleura eine fokale Verklebung auf, bei den Tieren C1, C3, C4, C5 und C6 stellten sich die Verklebungen der Pleura multifokal dar. Die Lungenretraktion war bei allen Tieren außer Tier C7 mäßig. Tier C7 wies eine mäßige bis schlechte Lungenretraktion auf. Im Lungenanschnitt trat bei den Tieren C1, C2, C3, C4, C5 und C7 eine geringe Menge weißer Schaum hervor. Bei Tier C8 floss im Lungenanschnitt eine geringe Menge weißen mukösen Sekretes ab. Die Hauptlappen der Lunge der Tiere C2 und C6 erschienen fokal knotig verdichtet, im Anschnitt wurde eine rote lackartige Flüssigkeit nachgewiesen. Der Hauptlappen der Lunge des Tieres C6 war brüchig. Des Weiteren erschien der Mittellappen der Lunge des Tieres C6 verdichtet, im Anschnitt wurde eine geringe Menge weißen mukösen Sekretes festgestellt. Bei Tier C8 waren Haupt- und Mittellappen der Lunge knotig verdichtet. Die Mediastinallymphknoten aller 8 untersuchten Tiere aus Mastbestand C erschienen vergrößert. Dies war bei den Tieren C5, C6 und C7 geringgradig, bei den Tieren C2, C3, C4 und C8 mittelgradig und bei dem Tier C1 hochgradig der Fall. Bei den Tieren C2 und C8 war der Herzbeutel multifokal mit dem Herzen verklebt. Bei Tier C4 wurde eine mittlere Menge klarer Flüssigkeit festgestellt.

Das Peritoneum des Tieres C5 erschien trüb, die Organe waren zum Teil diffus miteinander verwachsen. Es wurden bei diesem Tier zum Teil haselnussgroße knotige Umfangsvermehrungen festgestellt, aus denen im Anschnitt ein gelbes muköses Sekret abfloss. Im Magen des Tieres C2 befand sich eine mittelgradige Menge eines dunklen, gallertartigen Inhalts. Bei Tier C4 war die Pars proventricularis des Magens dünn und rau. Die Pars proventricularis des Magens der Tiere C2, C6 und C7 war zusätzlich wallartig aufgeworfen. Tier C4

wurde im Ileum eine geringgradige Verdickung nachgewiesen. Das Rektum dieses Tieres war geringgradig vorgefallen. Die Mesenteriallymphknoten von 3 der 8 untersuchten Tiere aus Mastbestand C wiesen eine Vergrößerung auf. Bei den Tieren C3 und C4 war diese Vergrößerung gering- bis mittelgradig, bei Tier C8 war diese mittelgradig. Die Leber des Tieres C5 wies eine kindskopfgroße Umfangsvermehrung auf, deren Inhalt aus einer mittelgradigen Menge einer schwarzen körnigen Masse bestand. Die Harnblase des Tieres C4 wies an der Schleimhaut eine Rötung auf. Der Harn dieses Tieres beinhaltete vermehrt weiße Flocken. Bei Tier C8 war die Harnblase mit dunkelroter Flüssigkeit gefüllt. Die Nieren des Tieres C6 waren geringgradig vergrößert. Bei Tier C8 waren die Nieren dunkelrot und mit einer hochgradigen Menge roter Flüssigkeit gefüllt. Die Nierenkapsel des Tieres C7 war hochgradig sulzig verdickt. Bei den Tieren C3, C4 und C7 wies die Nierenrinde multifokale stecknadelkopfgroße rote Punkte auf, die bis in die Tiefe zogen. Im Nierenbecken des Tieres C6 wurde eine sulzige Verdickung nachgewiesen.

**Tabelle 12: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand C: Pathologisch-anatomische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Haut	7/8	multifokale, kreisrunde, braune Krusten (5/7) multifokal bis konfluierende braune Krusten (1/7) diffus gerötet (1/7)
Inguinal-lymphknoten	8/8	ggr. vergrößert (2/8) mgr. vergrößert (5/8) beidseits mgr. vergrößert (1/8)
Mandibular-lymphknoten	1/8	rechts mgr. gerötet und vergrößert (1/1)
Gelenke	1/8	Karpalgelenk mit tennisballgroßer Umfangsvermehrung, gelbliches Sekret (1/1)
Pleura	6/8	fokal verklebt (2/6) multifokal verklebt (4/6)
Lungenretraktion	8/8	mäßig (7/8) mäßig bis schlecht (1/8)

Lungen- anschnitt	7/8	<u>ggr. Menge weißen Schaumes (6/7)</u> <u>ggr. Menge weißen, mukösen Sekretes (1/7)</u>
Lungen- lappen	3/8	<u>Hauptlappen fokal knotig verdichtet, im Anschnitt rote lackartige Flüssigkeit (1/3)</u> <u>Mittellappen verdichtet mit ggr. Menge weißen, mukösen Sekretes; Hauptlappen fokal knotig verdichtet, im Anschnitt rote, lackartige Flüssigkeit, Gewebe brüchig (1/3)</u> <u>Haupt- und Mittellappen multifokal verdichtet (1/3)</u>
Mediastinal- lymph- knoten	8/8	<u>ggr. vergrößert (3/8)</u> <u>mgr. vergrößert (4/8)</u> <u>hgr. vergrößert (1/8)</u>
Herzbeutel	3/8	<u>multifokal verklebt (2/3)</u> <u>mgr. Menge klarer Flüssigkeit (1/3)</u>
Peritoneum	1/8	<u>trüb, Organe diffus verwachsen, zum Teil haselnussgroße knotige Umfangvermehrungen, gelbes muköses Sekret (1/1)</u>
Magen	1/8	<u>mgr. Menge einer dunklen, gallertartigen Masse (1/1)</u>
Magen- schleimhaut	4/8	<u>Pars proventricularis wallartig aufgeworfen, im Inneren dünn und rau (3/4)</u> <u>Pars proventricularis rau und dünn (1/4)</u>
Ileum	1/8	<u>Schleimhaut ggr. verdickt (1/1)</u>
Rektum	1/8	<u>ggr. vorgefallen (1/1)</u>
Mesenterial- lymph- knoten	3/8	<u>ggr. bis mgr. vergrößert (2/3)</u> <u>mgr. vergrößert (1/3)</u>
Leber	1/8	<u>kindskopfgröße Umfangvermehrung, mgr. Menge einer schwarzen körnigen Masse (1/1)</u>
Harnblase	2/8	<u>Harn mit vermehrt weißen Flocken, Schleimhaut gerötet (1/2)</u> <u>dunkelrote Flüssigkeit (1/2)</u>
Nieren	2/8	<u>ggr. vergrößert (1/2)</u> <u>dunkelrot, hgr. Menge einer roten Flüssigkeit (1/2)</u>
Nieren- kapsel	2/8	<u>gelblich sulzig, hgr. verdickt (1/2)</u> <u>hgr. Menge einer dunkelroten gallertartigen Masse, welche bis in die Blase zieht (1/2)</u>
Nierenrinde	3/8	<u>stecknadelkopfgröße, rote Punkte, welche in die Tiefe ziehen (3/3)</u>
Nieren- becken	1/8	<u>sulzig verdickt (1/1)</u>

Die histopathologischen Befunde der Gewebe der Tiere sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tier C1 wies in den Haupt- und Spitzenlappen der Lunge eine gering- bis mittelgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie auf. Bei Tier C2 wurde in den Hauptlappen der Lunge eine geringgradige diffuse histiozytäre interstitielle Pneumonie festgestellt. Die Spitzenlappen der Lunge dieses Tieres wiesen eine mittelgradige lobuläre akute katarrhalisch-eitrige bis fibrinös-hämorrhagische Bronchopneumonie auf. Bei Tier C3 wurde in Haupt- und Spitzenlappen der Lunge eine geringgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Tier C4 wies in den Hauptlappen der Lunge eine geringgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie; in den Spitzenlappen der Lunge eine geringgradige interstitielle Pneumonie auf. Bei Tier C5 wurde in Haupt- und Spitzenlappen der Lunge eine geringgradige lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Tier C6 wies in den Haupt- und Spitzenlappen der Lungen eine gering- bis mittelgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie auf. Zusätzlich dazu wurde bei diesem Tier eine lobuläre Hämosiderose festgestellt. Bei Tier C7 wurde in den Spitzenlappen eine geringgradige multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie nachgewiesen. Bei Tier C8 wurde in Haupt- und Spitzenlappen der Lungen eine geringgradige interstitielle Pneumonie festgestellt. Bei 3 Tieren aus Mastbestand C wurde eine Pleurafibrose festgestellt: Eine geringgradige septale und pleurale Fibrose wurde bei Tier C6 nachgewiesen. Bei Tier C2 war diese mittelgradig ausgeprägt. Tier C1 wies an den Hauptlappen der Lunge eine hochgradige, an den Spitzenlappen der Lunge eine mittelgradige septale und pleurale Fibrose auf. Bei 3 weiteren Tieren aus Mastbestand C wurde eine villöse Pleuritis festgestellt (Tier C5), die bei Tier C4 an den Spitzen- und bei Tier C7 an den Hauptlappen der Lungen in geringem Maße ausgeprägt war. Im Tracheobronchiallymphknoten wurde bei 4 der 8 untersuchten Tiere aus Betrieb C eine lymphozytäre Depletion festgestellt (Tiere C2, C4, C7 und C8). Bei den Tieren C2, C4 und C8 war diese mittelgradig ausgeprägt, bei Tier C7 geringgradig. Die Tiere C2, C3, C4, C7 und C8 wiesen darüber hinaus eine granulomatöse Entzündung im Tracheobronchiallymphknoten auf, die sich bei den Tieren C7 und C8 granulomatös bis nekrotisierend darstellte. In diesem Lymphknoten wurde bei den Tieren C2, C3, C7 und C8 eine Infiltration mit Makrophagen nachgewiesen, bei den Tieren C7 und C8 mit mehrkernigen Riesenzellen. Bei Tier C3 wurde darüber hinaus eine Blutresorption festgestellt. Im Inguinallymphknoten der Tiere C2, C4 und C6 wurde eine lymphozytäre Depletion nachgewiesen (Tier C2 mittelgradig, Tier C4 mittelgradig bis

hochgradig, Tier C6 geringgradig bis mittelgradig). Eine granulomatöse Entzündung wurde bei den Tieren C2, C3, C4, C7 und C8 im Inguinallymphknoten festgestellt. Die Tiere C2, C3, C4, C6, C7 und C8 wiesen in diesem Lymphknoten eine Infiltration mit Makrophagen auf, die Tiere C2 und C3 zusätzlich eine Infiltration mit mehrkernigen Riesenzellen. Eine Blutresorption wurde in den Inguinallymphknoten der Tiere C2, C3 und C7 nachgewiesen. Tier C1 wies im Inguinallymphknoten ausschließlich eine geringgradige folliculäre Hyperplasie auf. Bei Tier C8 wurden im Inguinallymphknoten außerdem folliculäre Nekrosen mit intravaskulären Bakterien festgestellt. Im Mesenteriallymphknoten des Tieres C7 wurde eine mittelgradige lymphozytäre Depletion, eine granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen sowie akute Nekrosen nachgewiesen. Tier C8 wies in diesem Lymphknoten eine mittelgradige lymphozytäre Depletion, eine granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen, eine Blutresorption, folliculäre Nekrosen sowie einen kapillären Embolus mit Kolonien kokkoider Bakterien auf. Im Darmbeinlymphknoten des Tieres C7 wurde eine granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen sowie einer Blutresorption nachgewiesen. Bei Tier C1 wurde eine lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis festgestellt. 2 der Tiere aus Mastbestand C wiesen eine geringgradige lymphohistiozytäre und eosinophile, tubulointerstitielle Nephritis auf (Tiere C4 und C5). Bei Tier C7 fiel die lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis mittelgradig aus. Tier C3 wies eine geringgradige bis mittelgradige lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis und pelväre nekrotisierende Vaskulitis auf. Bei Tier C6 wurde eine mittelgradige lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis und pelväre nekrotisierende Vaskulitis nachgewiesen. Bei 6 der 8 untersuchten Tiere wurde histopathologisch in den Glomerula eine hochgradige generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis festgestellt (Tiere C2, C3, C4, C6, C7, C8). Die Haut von Tier C1 wies fokale Furunkel auf. Bei Tier C4 wurde in der Haut eine hochgradige akute nekrotisierende Dermatitis festgestellt. 3 der 8 untersuchten Tiere aus Mastbestand C wiesen in der Haut eine hochgradige nekrotisierende Vaskulitis und Dermatitis auf (Tiere C3, C6, C7). In der Milz von Tier C7 wurde eine nekrotisierende Vaskulitis festgestellt. Das Ileum von Tier C4 wies eine multifokale proliferative und erosive Ileitis auf. Im Magen des Tieres C2 wurde eine hochgradige ulzerative Gastritis nachgewiesen. Tier C4

hatte im Magen eine fokale erosiv-nekrotisierende Dermatitis. In der Leber von Tier C5 wurde eine geringgradige lymphohistiozytäre Hepatitis und eine hochgradige fibrinös-eitrig Serositis festgestellt.

**Tabelle 13: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

**Befunde aus Sektionsmaterial von Betrieb C: Histopathologische Untersuchung**

<u>Organ</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Befunde</u>
Haupt-lappen der Lunge	7/8	ggr. interstitielle Pneumonie (1/7)
		ggr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (2/7)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/7)
		ggr. multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/7)
		ggr. bis mgr. multifokale lympho-histiozytäre interstitielle Pneumonie mit lobulärer Hämosiderose (1/7)
		ggr. histiozytäre diffuse interstitielle Pneumonie (1/7)
Spitzen-lappen der Lunge	8/8	ggr. interstitielle Pneumonie (2/8)
		ggr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/8)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (1/8)
		ggr. multifokale lymphohistiozytäre interstitielle Pneumonie (2/8)
		ggr. bis mgr. multifokale lympho-histiozytäre interstitielle Pneumonie mit lobulärer Hämosiderose (1/8)
		mgr. lobuläre akute katarrhalisch-eitrig bis fibrinös-hämorrhagische Bronchopneumonie (1/8)
Pleura	6/8	ggr. fokale septale und pleurale Fibrose (1/6)
		mgr. septale und pleurale Fibrose (1/6)
		mgr. bis hgr. septale und pleurale Fibrose (1/6)
		ggr. villöse Pleuritis (2/6)
		villöse Pleuritis (1/6)
Tracheo-bronchial-lymph-knoten	5/8	mgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse Entzündung (1/5)
		mgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen (1/5)



		granulomatöse Entzündung mit folliculärer Infiltration von Makrophagen, Blutresorption (1/5)
		ggr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse bis nekrotisierende Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen (1/5)
		mgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse bis nekrotisierende Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen (1/5)
		ggr. bis mgr. lymphozytäre Depletion, Infiltration von Makrophagen (1/7)
		mgr. bis hgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen (1/7)
		granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen, Blutresorption (1/7)
Inguinal-lymphknoten	7/8	mgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen, Blutresorption, kapillärer Embolus kokkoider Bakterien (1/7)
		granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen, Blutresorption (1/7)
		follikuläre Nekrosen, intravaskulär Bakterien, granulomatöse Entzündung (1/7)
		ggr. follikuläre Hyperplasie (1/7)
Mesenterial-lymphknoten	2/8	akute Nekrosen, mgr. lymphozytäre Depletion, granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen (1/2)
		follikuläre Nekrosen, mgr. lymphozytäre Depletion, Blutresorption, granulomatöse Entzündung mit folliculärer Infiltration von Makrophagen (1/2)
Darmbein-lymphknoten	1/8	granulomatöse Entzündung mit Infiltration von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen, Blutresorption (1/1)
		lymphohistiozytäre interstitielle Nephritis (1/6)
		ggr. lymphohistiozytäre und eosinophile, tubulointerstitielle Nephritis (2/6)
Nieren	6/8	mgr. lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis (1/6)
		ggr. bis mgr. lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointerstitielle Nephritis und pelväre nekrotisierende Vaskulitis (1/6)
		mgr. lymphohistiozytäre und eosinophile tubulointersitielle Nephritis und pelväre nekrotisierende Vaskulitis (1/6)
Glomerula	6/8	hgr. generalisierte exsudativ-nekrotisierende Glomerulonephritis (6/6)

		fokale Furunkel (1/5)
		hgr. nekrotisierende Dermatitis (1/5)
Haut	5/8	hgr nekrotisierende Dermatitis und Vaskulitis (3/5)
Milz	1/8	nekrotisierende Vaskulitis (1/1)
Ileum	1/8	multifokal proliferative und erosive Ileitis (1/1)
		fokal erosiv-nekrotisierende Gastritis (1/2)
Magen	2/8	hgr. akute ulzerative Gastritis (1/2)
Leber	1/8	ggr. lymphohistiozytäre Hepatitis und hgr. fibrinös-eitrige Serositis (1/1)

Die Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen aus Sektionsmaterial der Tiere aus Mastbestand C sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

Die immunhistochemische Untersuchung auf PCV2-Antigen der Inguinallymphknoten der Tiere aus Mastbestand C verlief bei 7 der 8 untersuchten Tiere positiv (Tiere C1, C2, C3, C4, C6, C7, C8). Bei den Tieren C1, C3, C4, C6 und C7 wurde PCV2-Antigen mittels IHC in dendritischen Zellen nachgewiesen. Der Nachweis von PCV2-Antigen mittels IHC in Makrophagen erfolgte bei den Tieren C2, C3, C7 und C8. Bei Tier C8 wurde darüber hinaus PCV2-Antigen im Zelldebris festgestellt. Bei 4 Tieren aus Mastbestand C (Tiere C3, C4, C5, C8) wurde ein geringer Gehalt *E. coli* nachgewiesen, bei einem Tier ein hoher Gehalt (Tier C6). Tier C2 wies in den Nieren einen hohen Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken auf. Im Herzbeutel von Tier C8 konnte eine große Menge *Streptococcus (S.) suis* festgestellt werden. Im Abstrich des Bauchfells wurde bei Tier C5 ein hoher Gehalt *T. pyogenes* nachgewiesen. Bei dem Tier C8 wurde im Abstrich des Brustfells ein hoher Gehalt an *S. suis* festgestellt. Tier C2 wies einen mittleren Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken im Lymphknoten auf. Bei Tier C8 wurde ein hoher Gehalt *Mannheimia (M.) haemolytica* nachgewiesen. Bei Tier C2 wurde ein hoher Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken in der Lunge festgestellt. Bei Tier C3 wurde ein geringer Gehalt *B. bronchiseptica* nachgewiesen. Tier C6 wies in der Lunge einen mittleren Gehalt *B. bronchiseptica* auf. Bei Tier C1 wurde ein geringer Gehalt *B. bronchiseptica* im Bronchialabstrich nachgewiesen. Ein hoher Gehalt dieses Bakteriums wurde in den Bronchien der Tiere C3, C5 und C6 festgestellt. Tier C2 wies in den Bronchien einen hohen Gehalt  $\beta$ -hämolisierender Streptokokken auf. Bei den Tiere C1 und C2 wurde ein hoher Gehalt an  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken in der Haut nachgewiesen.

Zusätzlich wurde bei dem Tier C1 ein hoher Gehalt *S. hyicus* in der Haut festgestellt. Bei Tier C7 wurde von diesem Bakterium ein geringer Gehalt festgestellt. Tier C4 wies im Hautgeschabsel einen geringen Gehalt *S. aureus* auf.

Bei allen 8 untersuchten Tieren aus Mastbestand C konnte im Inguinallymphknoten der Tiere PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Sequenz der DNA des ORF2 wies eine Homologie auf Nukleotidebene von 99% mit dem Isolat DE136-13 (GenBank Nr. KP698395) auf. Bei allen 8 untersuchten Tieren aus Mastbestand C konnte in der Lunge PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden. Die Ct-Werte dieser Untersuchung sind in Abbildung 3 dargestellt. In der Haut von 6 der 8 untersuchten Tiere aus Mastbestand C wurde mittels PCR PCV2-DNA nachgewiesen. Die nachgewiesenen PCV2-DNA-Gehalte dieser Untersuchung sind in Abbildung 4 dargestellt.

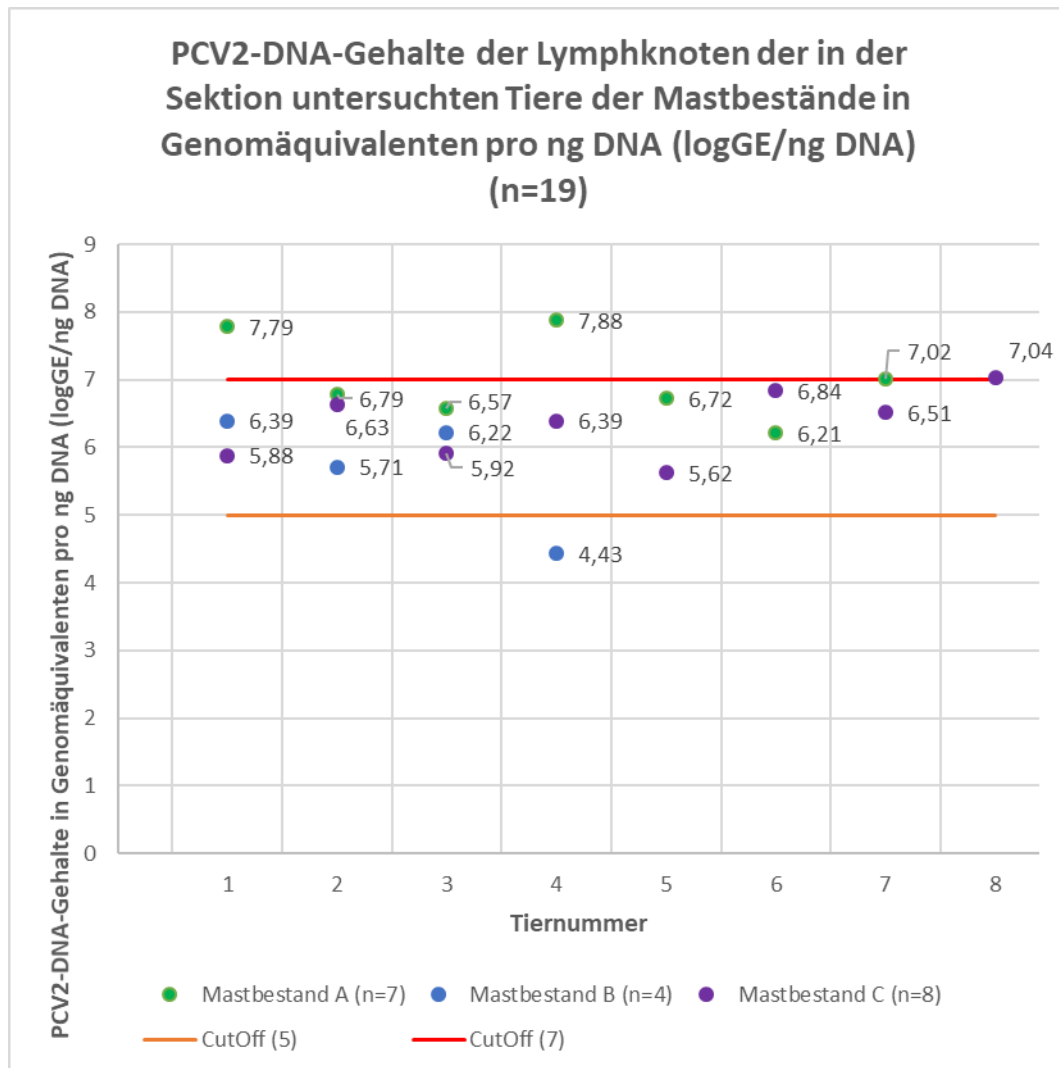
**Tabelle 14: Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e.**

<b>Befunde aus Sektionsmaterial von Mastbestand C: Labordiagnostische Befunde</b>			
<u>Organ</u>	<u>Untersuchungs- methode</u>	<u>Tiere mit Befund/ untersuchte Tiere</u>	<u>Erreger (Anzahl betroffener Tiere/ gesamt betroffener Tiere)</u>
Lymph- knoten	Immunhisto- chemie	8/8	PCV2-Antigen positiv (8/8)
	Bakteriologische Untersuchung	2/8	mgr. $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (1/2)
	Molekular- biologische Untersuchung	8/8	hgr. <i>M. haemolytica</i> (1/2) PCV2 (8/8) hgr. $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (1/6)
Herz- beutel	Bakteriologische Untersuchung	1/8	hgr. <i>S. suis</i> (1/1)
Bauch-fell	Bakteriologische Untersuchung	1/8	hgr. <i>T. pyogenes</i> (1/1)
Brustfell	Bakteriologische Untersuchung	1/8	hgr. <i>S. suis</i> (1/1)
Lunge	Bakteriologische Untersuchung	3/8	ggr. <i>B. bronchiseptica</i> (1/3) mgr. <i>B. bronchiseptica</i> (1/3) hgr. $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (1/3)
	Molekular- biologische Untersuchung	8/8	PCV2 (8/8)
Bronchus	Bakteriologische Untersuchung	5/8	ggr. <i>B. bronchiseptica</i> (1/5) hgr. <i>B. bronchiseptica</i> (3/5) hgr. $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (1/5)
Haut	Bakteriologische Untersuchung (Geschabsel)	4/8	hgr. $\beta$ -hämolyzierende Streptokokken (2/4) <i>S. hyicus</i> (2/4) ggr. <i>S. aureus</i> (1/4)
	Molekular- biologische Untersuchung	6/8	PCV2 (6/6)

#### 1.4. Vergleich der labordiagnostischen Untersuchungsbefunde der Mastbetstände

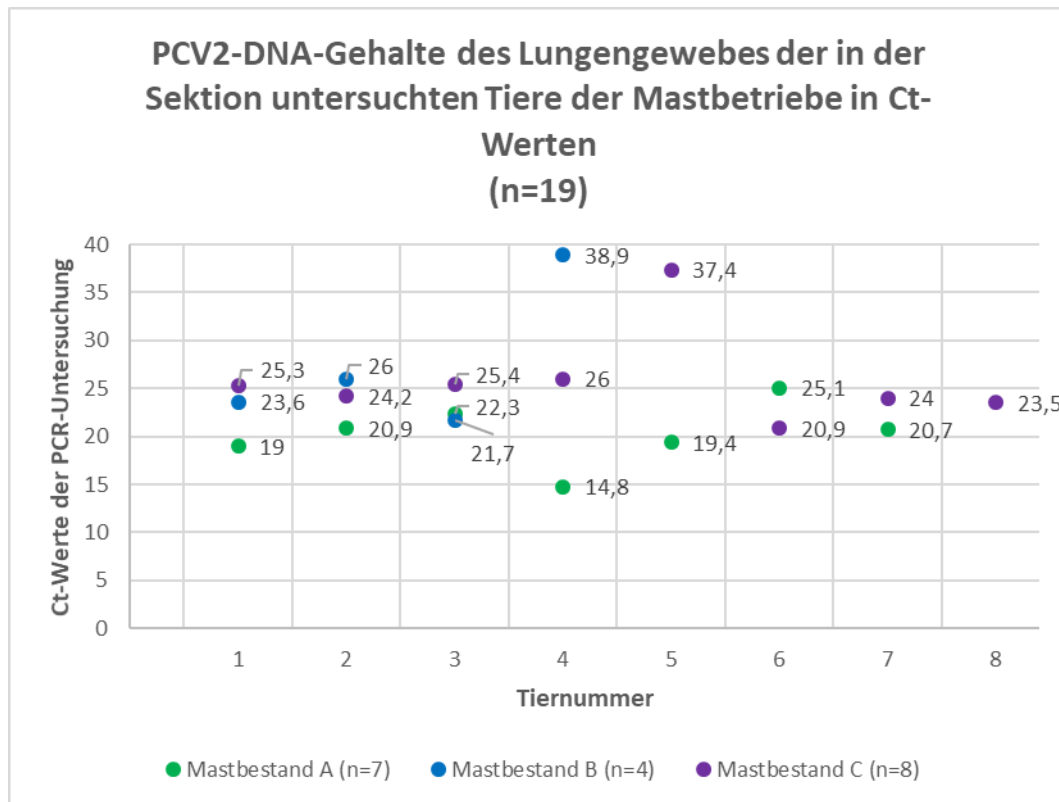
Im Rahmen der labordiagnostischen Untersuchungen der Tiere aus den Mastbeständen wurden PCV2-DNA-Gehalte aus Lymphknoten, Lunge und Haut der Tiere nachgewiesen. Im Folgenden sind diese Daten in den Abbildungen 2, 3 und 4 grafisch vergleichend dargestellt. Bezüglich der PCV2-DNA-Gehalte, die als klinisch relevant beschrieben werden, wurde der CutOff-Wert für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2 systemic disease (PCV2-SD) von  $10^5$  GE/ng DNA und ein CutOff-Wert für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD von  $10^7$ GE/ng DNA gewählt (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008).

Die PCV2-DNA-Gehalte im Lymphknoten der untersuchten Tiere sind in Abbildung 2 dargestellt. Bei der Beurteilung der PCV2-DNA-Gehalte im Lymphknoten der untersuchten Tiere liegen 2 von 19 Proben über dem CutOff-Wert von  $10^7$ GE/ng DNA für das Risiko schwerer Verlaufsformen von PCV2-SD, insgesamt 18 von 19 Proben über dem CutOff-Wert für das Risiko milder Verlaufsformen von PCV2-SD (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008).



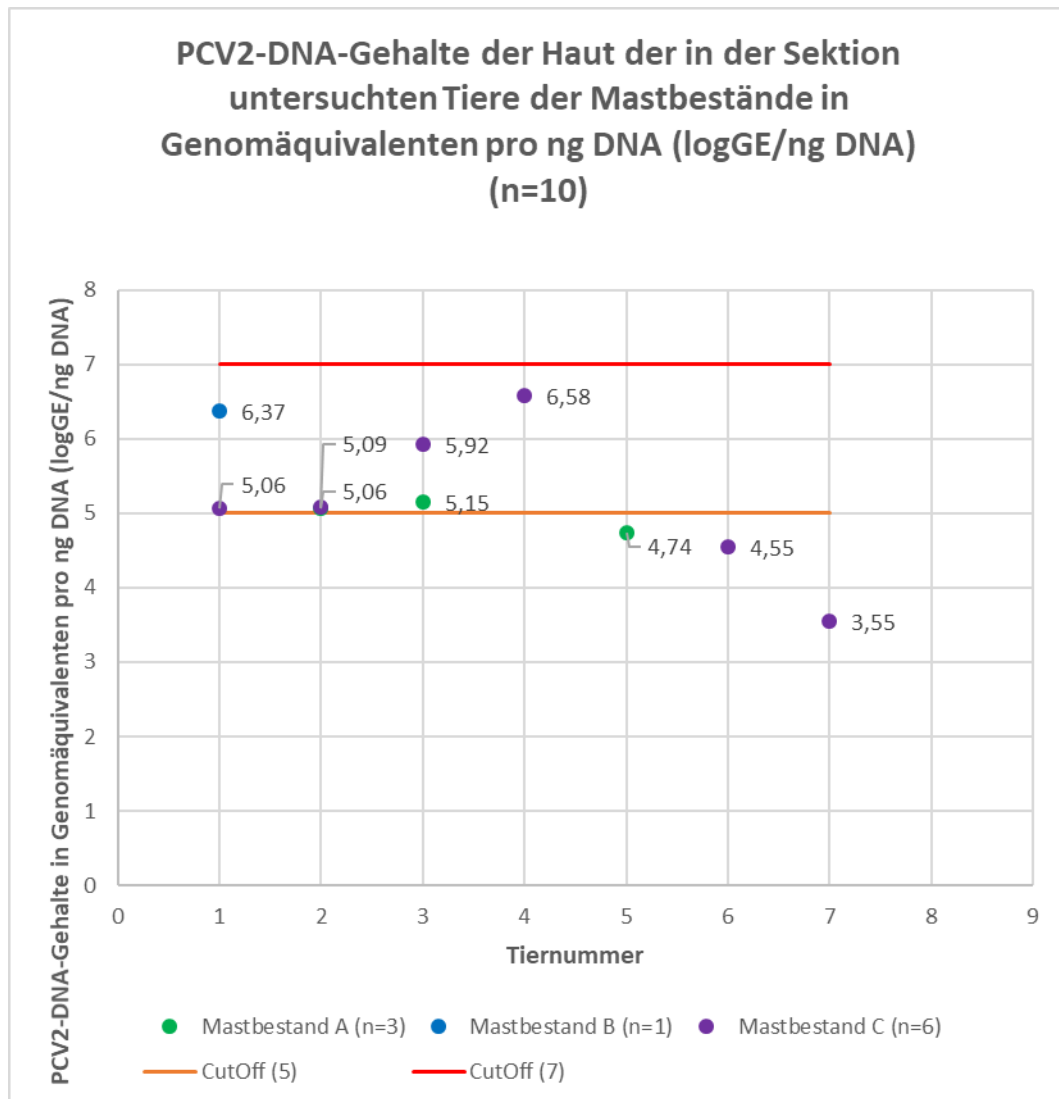
**Abbildung 2:** Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte der Lymphknoten im Vergleich der Mastbestände im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens in Genomäquivalenten pro ng DNA (logGE/ng DNA) (n=19). Der CutOff für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 5logGE/ng DNA, der CutOff für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 7logGE/ng DNA.

Die Ergebnisse der PCR aus dem Lungengewebe der in der Sektion untersuchten Tiere aus den Mastbeständen sind in Abbildung 3 dargestellt.



**Abbildung 3: Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte des Lungengewebes im Vergleich der Mastbestände in Ct-Werten (n=19).**

Die PCV2-DNA-Gehalte der Haut der Tiere aus den Mastbeständen sind in Abbildung 4 dargestellt. Bei der Beurteilung der PCV2-DNA-Gehalte in der Haut der Tiere wird deutlich, dass sich die PCV2-DNA-Gehalte der Haut von keinem der 10 Proben über dem CutOff-Wert für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD, jedoch 7 der 10 Proben über dem CutOff-Wert für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2-SD liegen (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008).



**Abbildung 4: Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte der Haut im Vergleich zwischen den Tieren der Mastbestände im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens in Genomäquivalenten pro ng DNA (logGE/ng DNA) (n=19). Der CutOff für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 5logGE/ng DNA, der CutOff für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 7logGE/ng DNA.**

### 1.5. Untersuchungsergebnisse der Proben aus dem Ferkelerzeugerbestand

#### 1.5.1. Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Dezember 2017

Im Dezember 2017 wurden Serumproben von 30 Aufzuchtferkeln des Ferkelerzeugerbestands mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA und PRRSV-RNA in Pools von jeweils 5 Proben getestet. Die Untersuchung der Serumproben der Aufzuchtferkel auf das Vorkommen von PCV2-DNA verlief bei einem Pool positiv mit einem Ct-Wert von 23. Die Untersuchung der



Individualproben mittels quantifizierender PCR (qPCR) verlief bei 2 der 5 Serumproben dieses Pools positiv mit einer PCV2-DNA-Gehalt von  $7,62\log\text{GE/ml}$  Serum, bzw.  $7,54\log\text{GE/ml}$  Serum. Daraus ergibt sich eine Anteil PCV2-DNA positiver Proben von 6,7% der am im Dezember 2017 untersuchten Aufzuchtferkel. Die Untersuchung des Serums der Aufzuchtferkel auf das Vorkommen von PRRSV-RNA verlief bei allen 30 untersuchten Tieren positiv. Die Ct-Werte der Poolproben lagen zwischen 26 und 33 (Ct-Werte der einzelnen Pools: Pool 1: 26; Pool 2: 33; Pool 3: 28; Pool 4: 28; Pool 5: 32; Pool 6: 28). Im Rahmen dieser Untersuchung wurde mittels Sequenzierung der Nukleotidsequenz des ORF7 von PRRSV eine Homologie des Isolates der Proben mit dem Referenzstamm Lelystad mit einer Übereinstimmung von 96% nachgewiesen. Der Vergleich der Nukleotidsequenz des ORF7 mit dem Impfstamm MSV 94881 ergab eine Homologie der Nukleotidsequenz von 99%.

#### **1.5.2. Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Februar 2018**

Im Februar 2018 wurden Serum-, Kotproben sowie die Flüssigkeit einer Bronchioalveolarlavage an die Firma BioScreen (Boehringer-Ingelheim Animal Health Participations GmbH, Hannover) versandt. Das Ergebnis der Untersuchung der Bronchioalveolarlavage ergab ein Nachweis von *Glaessarella (G.) parasuis* und *Mycoplasma (M.) hyorhinis*. Die Untersuchungen der Kotprobe des untersuchten Tieres aus dem Ferkelerzeugerbestand auf *Brachyspira (B.) hyodysenteriae*, *Brachyspira (B.) pilosicoli*, *Lawsonia (L.) intracellularis* und mehrere Arten der Gattung *Salmonella (Salmonella spp.)* verlief jeweils negativ. Des Weiteren wurden 10 Serumproben von 10 Saugferkeln mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA und PRRSV-RNA getestet, sowie auf das Vorkommen von PRRSV-Antikörpern. Die Untersuchung der Serumproben dieser Tiere mittels PCR auf das Vorkommen von PRRSV-RNA verlief bei 2 der 10 untersuchten Tiere positiv. Es wurde bei diesen Tieren der PRRSV Spezies 1 mit einer Menge von  $4,6\log\text{GE/ml}$  Serum, bzw.  $5,13\log\text{GE/ml}$  Serum nachgewiesen. Die Untersuchung dieser Serumproben auf PCV2-DNA verlief bei allen Proben negativ. Weiterhin wurden diese Proben mittels ELISA auf das Vorkommen von PRRSV-Antikörpern getestet. Das Ergebnis dieser Untersuchung wurde im Verhältnis P/PK (optische Dichte mittels Photometer der Probe im Verhältnis zur Kontrolle) angegeben. Die Ergebnisse lagen zwischen 1,06 und 5,67 (Einzelwerte der ELISA-Untersuchung auf das Vorkommen von PRRSV-Antikörpern: 2,45; 1,064; 3,62; 1,598; 5,62; 5,695;

1,479; 2,901; 1,7; 3,744).

Im weiteren Verlauf wurden 2 Aufzuchtferkel des Ferkelerzeugerbestandes pathologisch-anatomisch, histopathologisch und labordiagnostisch untersucht. Es handelte sich um ein männlich-kastriertes Tier mit einem Gewicht von 19,7kg (Aufzuchtferkel AF1) und ein weibliches Tier mit einem Gewicht von 25,1kg (Aufzuchtferkel AF2). Beide Tiere wurden lebend in der Sektion des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes Münsterland-Emscher-Lippe in Münster angeliefert und vor Ort zu diagnostischen Zwecken euthanasiert.

Auf der Haut beider Tiere wurden scharfrandig begrenzte, blutunterlaufene Hautareale, die sich teils rundlich, teils konfluierend darstellten und sich über den ganzen Körper und die Ohren der Tiere verteilten, nachgewiesen. Bei beiden Tieren wurde beidseits eine Ohrspitzennekrose festgestellt. Die Lungenretraktion des Tieres AF1 war schlecht, diejenige des Tieres AF2 mäßig. Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung des Darms dieser Tiere wurde eine katarrhalische Enteritis nachgewiesen.

In der Haut wurde bei beiden Tieren eine multifokale nekrotisierende und leukozytoklastische Entzündung der dermalen Blutgefäße mit umgebender Blutung sowie Nekrosen der darüber liegenden Epidermis festgestellt. Bei Tier AF2 wurde darüber hinaus eine solche Entzündung auch in den subkutanen Blutgefäßen nachgewiesen. Tier AF1 wies darüber hinaus in der Haut multifokale intradermale Pusteln auf. An den Ohrmuscheln wurde bei diesen Tieren des Ferkelerzeugerbestands eine hochgradige chronische tiefe eitrig-nekrotisierende Dermatitis mit tiefer bakterieller Infektion nachgewiesen. In der Lunge beider untersuchter Tiere wurde sich eine mittelgradige diffuse interstitielle und eine geringgradige multifokale katarrhalisch-eitrig Pneumonie mit Proliferation der Alveolarmakrophagen und einer Hyperplasie des Bronchialepithels festgestellt. Die Milz des Tieres AF1 wies eine mittelgradige folliculäre Hyperplasie auf, während die Milz des Tieres AF2 eine gemischte Hyperplasie in der histopathologischen Untersuchung aufwies. Der Darm beider Tiere wies in der histopathologischen Untersuchung eine mittelgradige subakute bis akute katarrhalische Enteritis auf. Bei Tier AF1 konnte zusätzlich eine geringgradige lymphatische Hyperplasie der Gekröse-Lymphknoten festgestellt werden. Tier AF2 wies zusätzlich eine geringgradige Hyperplasie des Dickdarmepithels auf. In der Leber des Tieres AF2 wurde eine geringgradige chronische diffuse nicht-eitrig interstitielle Hepatitis festgestellt. Die

Inguinallymphknoten beider untersuchter Tiere wiesen eine multifokale eitrige Lymphadenitis auf. Zudem wiesen diese eine multifokale Eosinophilie und eine akute Blutresorption mit einem Nachweis von Erythrophagen und Hämosidersophagen auf. In der Niere beider untersuchter Tiere des Ferkelerzeugerbestandes wurde bei dieser Untersuchung eine gering- bis mittelgradige diffuse mesangioproliferative Glomerulonephritis nachgewiesen. Bei der histopathologischen Untersuchung des Gehirns des Tieres AF1 wurden geringgradig multifokale perivaskuläre gemischtzellige Infiltrate im Plexus choroideus und stellenweise auch in der Hirnhaut festgestellt.

Bei Tier AF1 wurde in der Haut ein geringgradiger Gehalt *S. aureus* nachgewiesen. Bei Tier AF2 wurde eine hochgradige Menge dieses Bakteriums sowie eine hochgradige Menge *Streptococcus (S.) canis* in der Haut festgestellt. Im Dickdarm des Tieres AF1 und AF2 und im Dünndarm des Tieres AF1 und des Tieres AF2 wurde *E. coli* (Dickdarm des Tieres AF1: mittelgradig, des Tieres AF2: hochgradig; im Dünndarm beider Tiere geringgradig) nachgewiesen. Bei Tier AF2 konnte im Dünndarm zusätzlich *Klebsiella (K.) pneumoniae* in geringer Menge nachgewiesen werden. Die Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA verlief bei den Tieren AF1 und AF2 in Lunge, Niere und Lymphknoten positiv. In der Lunge konnte bei den Tieren AF1 und AF2 ein Nachweis von PRRSV-RNA Spezies 1 mittels PCR erfolgen.

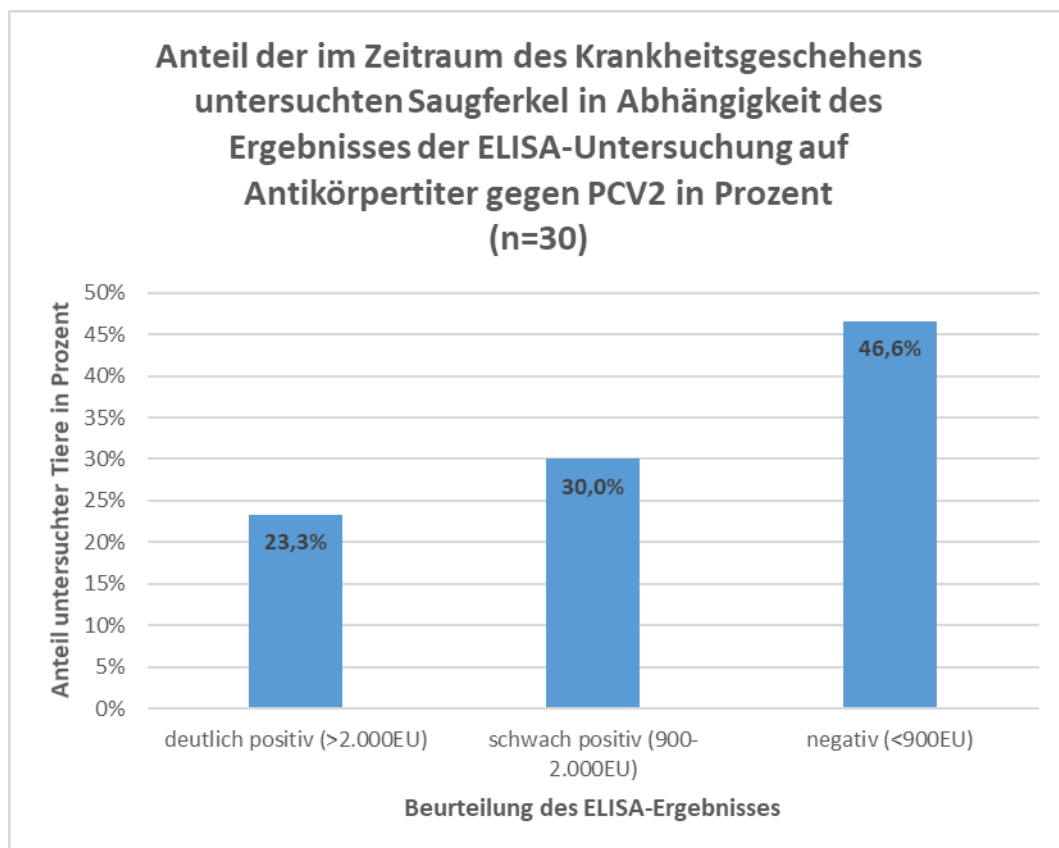
#### **1.5.3. Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im März 2018**

Im März 2018 wurden von 30 Aufzuchtferkeln in der 10. Lebenswoche Serumproben entnommen und zur IVD Gesellschaft für innovative Veterinärdiagnostik mbH, Seelze-Letter, Deutschland versandt. Diese Proben wurden mittels PCR auf PCV2-DNA und auf das msg1-Gen von *Mycoplasma (M.) suis* getestet. Die Untersuchung dieser Proben erfolgte in Pools zu je 5 Proben. Einer dieser Pools wies ein schwach positives Ergebnis für den Nachweis des msg1-Gens von *M. suis* auf. Die Untersuchung mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA verlief bei allen 30 Aufzuchtferkeln negativ.

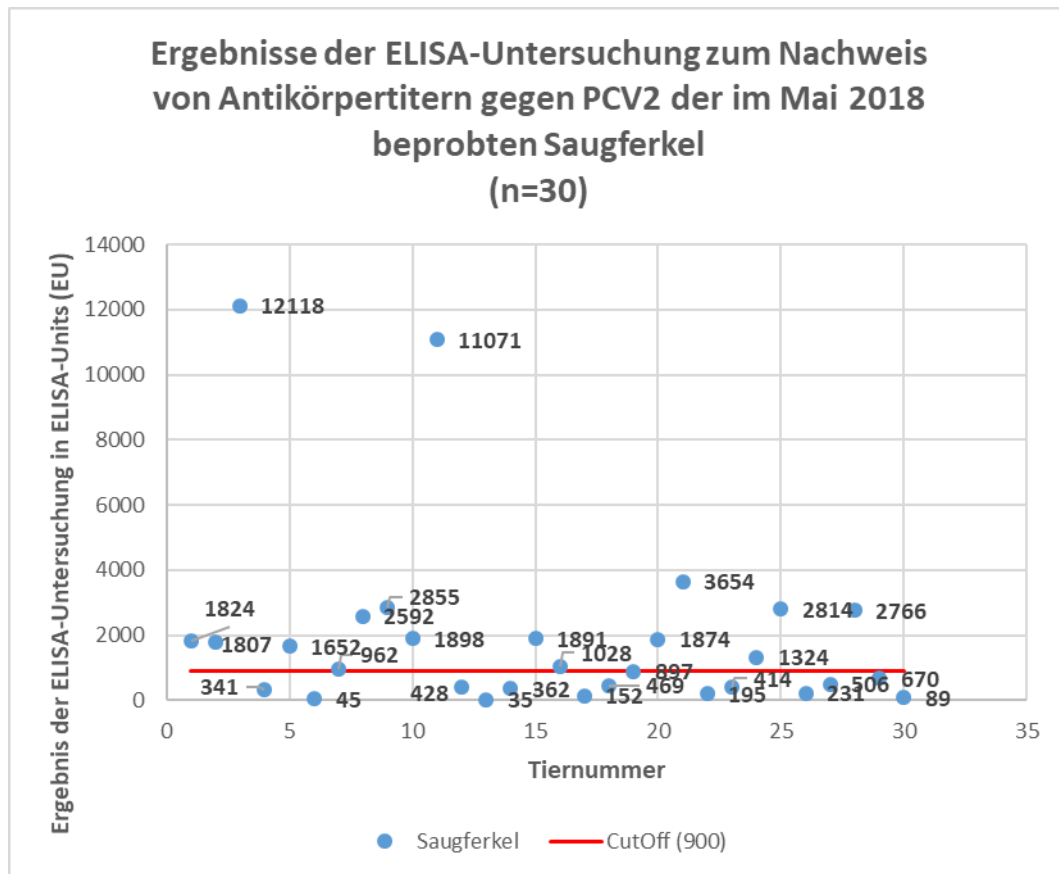
#### **1.5.4. Untersuchungsergebnisse der Probennahmen im Mai 2018**

Im Mai 2018 wurde im Ferkelerzeugerbestand eine weitere Probennahme durchgeführt, bei der 20 junge, säugende Sauen, 30 Saug- und 10 Aufzuchtferkel mittels PCR und ELISA aus Serumproben auf das Vorkommen von PCV2-DNA, bzw. PCV2-Antikörpern untersucht wurden.

Bei den Saugferkeln wurde bei der Untersuchung mittels PCR bei keinem der Ferkel PCV2-DNA nachgewiesen. Zusätzlich wurden bei den Saugferkeln aus dem Serum Antikörpertiter gegen PCV2 bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden in ELISA Units (EU) angegeben und lagen zwischen min. 35EU und max. 12.118EU (Mittelwert: 898,8EU; Std.-Abweichung: 2823,8) und sind in Abbildung 6 dargestellt. Damit waren 7 von 30 (23,3%) Serumproben der Saugferkel positiv im Hinblick auf Antikörpertiter gegen PCV2, 9 von 30 (30%) Serumproben der Saugferkel schwach positiv und 14 von 30 (46,6%) Serumproben der Saugferkel negativ auf das Vorkommen von Antikörpern gegen PCV2 getestet worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 5 dargestellt.



**Abbildung 5:** Anteil der im Zeitraum des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) untersuchten Saugferkel in Abhängigkeit des Ergebnisses der ELISA-Untersuchung auf Antikörpertiter gegen PCV2 aus dem Serum in Prozent (n=30).

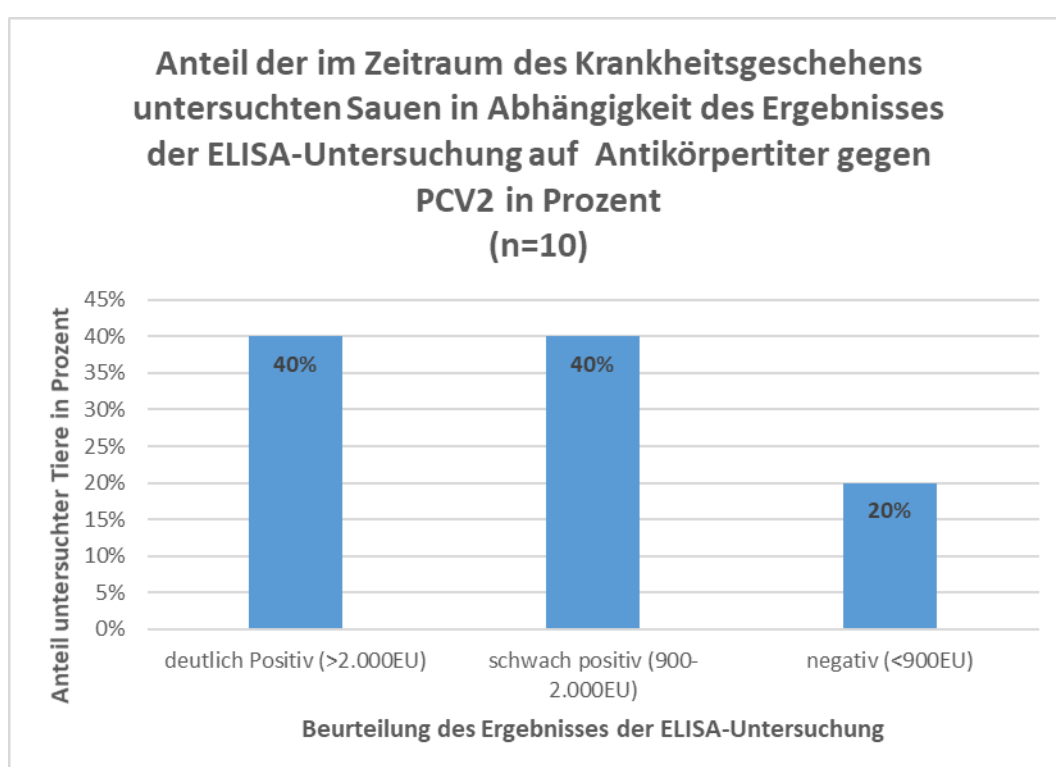


**Abbildung 6: Darstellung der Antikörpertiter gegen PCV<sub>2</sub> der Saugferkel in ELISA-Units (EU) im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) (n=30). Der CutOff für positive Proben liegt bei 900EU.**

Bei den 10 Aufzuchtferkeln wurde ausschließlich eine PCR-Untersuchung aus dem Serum zum Nachweis von PCV<sub>2</sub>-DNA durchgeführt. Diese Untersuchung verlief bei allen 10 beprobten Aufzuchtferkeln negativ.

Von den 20 untersuchten Sauen des Ferkelerzeugers waren 10 Sauen Jungsauen und 10 säugende Sauen mit ihrem 1. Wurf. Die Serumproben der säugenden Sauen mit dem 1. Wurf wurden mittels PCR auf das Vorkommen von PCV<sub>2</sub>-DNA untersucht und zusätzlich mittels ELISA auf Antikörper gegen PCV<sub>2</sub> untersucht. Der Nachweis von PCV<sub>2</sub>-DNA mittels PCR verlief bei allen 10 untersuchten säugenden Sauen mit dem 1. Wurf negativ. Die Ergebnisse der ELISA-Untersuchung wurden in ELISA-Units angegeben und lagen zwischen min. 241EU und max. 11.399EU (Mittelwert: 2.579,6EU; Std.-Abweichung: 3.171,7). Damit waren 40% der Serumproben der Sauen positiv im Hinblick auf Antikörpertiter gegen PCV<sub>2</sub> (4/10). Weitere 40% der Serumproben wiesen bei dieser Untersuchung ein schwach positives Ergebnis auf (4/10) und 20% der

untersuchten Serumproben wiesen ein negatives Ergebnis in dieser Untersuchung auf (2/10). Die Beurteilung der Ergebnisse der ELISA-Untersuchung sind in Abbildung 7 dargestellt. Das Serum der 10 untersuchten Jungsaunen aus dem Ferkelerzeugerbestand wurde ausschließlich mittels PCR auf PCV2-DNA untersucht. Bei einer der 10 Serumproben der Jungsaunen verlief diese Untersuchung positiv mit einer PCV2-DNA-Menge von 3,54log GE/ml Serum. Mittels Sequenzierung der Nukleotidsequenz des ORF2 wurde eine Homologie auf Nukleotidebene von 99% mit dem Stamm DE136-13 (GenBank Nr. KP698395) nachgewiesen.



**Abbildung 7:** Anteil der im Zeitraum des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) untersuchten Sauen in Abhängigkeit des Ergebnisses der ELISA-Untersuchung auf Antikörpertiter gegen PCV2 in Prozent (n=10).

## **2. Ergebnisse der Untersuchungen des im Rahmen der diagnostischen Evaluation 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen gewonnenen Probenmaterials**

In die folgende Auswertung fließen 200 Sauen, 80 Ferkel, 37 in der ersten Lebenswoche erdrückte Ferkel, 6 Eber sowie 1.455 Mastschweine ein.

### **2.1. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen**

Bei dieser Querschnittsuntersuchung wurden Serum, Speichel, Kot, Sperma und Organe molekularbiologisch in Pools von jeweils 5 Proben auf das Vorkommen von PCV2-DNA mittels PCR untersucht. Bei einem positiven Ergebnis der Poolprobe wurden die Proben einzeln mittels qPCR auf PCV2-DNA untersucht. Positive Einzelproben wurden im Hinblick auf den Nachweis verschiedener PCV2-Genotypen mittels Genotyp-spezifischer qPCR am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München untersucht.

#### **2.1.1. Ergebnisse der Serumproben der Sauen**

Insgesamt wurde das Serum von 199 der 1.300 Sauen des Ferkelerzeugerbestandes mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA untersucht. Diese wurden zunächst in Pools zu jeweils 5 Serumproben molekularbiologisch auf das Vorkommen von PCV2-DNA getestet. Daraus resultiert eine Zahl von insgesamt 40 Serum-Pools für die Untersuchung der Serumproben der Sauen. 4 dieser 40 Pools wiesen ein positives PCR-Ergebnis für PCV2 auf (10%). Dabei handelte es sich um einen Serumpool von Sauen aus der 5. Trächtigswoche (Ct-Wert 38), einen Pool von Sauen aus der 7. Trächtigswoche (Ct-Wert 39) und 2 Pools von Sauen aus der 12. Trächtigswoche (jeweils Ct-Werte von 40). Im Folgenden wurden die Proben dieser Serumpools individuell mittels qPCR auf den Gehalt von PCV2-DNA getestet. 2 der insgesamt 20 auf diese Weise individuell mittels PCR untersuchten Serumproben verliefen in Bezug auf den Nachweis von PCV2-DNA positiv (10%). Es ergibt sich daraus ein Anteil von 1% PCV2-DNA positiver Serumproben von Sauen (2 von 199). Die Gehalte an PCV2-DNA lagen bei  $3,25 \log_{10} \text{GE/ml Serum}$ , bzw.  $3,44 \log_{10} \text{GE/ml Serum}$ . Bei den Sauen mit PCV2-Nachweis im Serum handelt es sich um eine Sau in der 5. Trächtigswoche in der 2. Parität ( $3,25 \log_{10} \text{GE/ml Serum}$ ) und eine Sau in der 12. Trächtigswoche in der 11. Parität ( $3,44 \log_{10} \text{GE/ml Serum}$ ). Aufgrund der geringen Mengen

PCV2-DNA war eine Sequenzierung der ORF2-Nukleotidsequenz nicht möglich. Daher wurden die Proben am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München hinsichtlich des Vorkommens verschiedener PCV2-Genotypen mittels Genotyp-spezifischer qPCR untersucht. Bei der Sau in der 5. Trächtigkeitswoche wurde im Serum bei dieser Untersuchung PCV2a mit einem Ct-Wert von 36 und PCV2d mit einem Ct-Wert von 32 nachgewiesen. Die Sau in der 12. Trächtigkeitswoche wies im Serum PCV2b mit einem Ct-Wert von 35 und PCV2d mit einem Ct-Wert von 37 auf.

#### **2.1.2. Ergebnisse der Speichelproben der Sauen**

Die Untersuchung der Speichelproben der Sauen aus dem Ferkelerzeugerbestand mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA verlief bei allen getesteten Tieren negativ (0/200).

#### **2.1.3. Ergebnisse der Kotproben der Sauen**

Die molekularbiologische Untersuchung der Kotproben mittels PCR auf PCV2-DNA verlief bei 4 von 40 Pool-Untersuchungen (10%) positiv (Ct-Werte zwischen 38 und 40). Die individuelle Nachuntersuchung der Einzelproben mittels quantitativer PCR zur Ermittlung der Gehalte an PCV2-DNA ergab hingegen ein negatives Ergebnis (0/200).

#### **2.1.4. Ergebnisse der Serumproben der Ferkel**

Bei der molekularbiologischen Untersuchung des Serums der Ferkel mittels PCR auf PCV2-DNA verlief bei allen Ferkeln in der 3. Lebenswoche negativ (0/50 Pools). Die Ferkel in der 6. Lebenswoche wiesen bei dieser Untersuchung ebenfalls ein negatives Ergebnis auf (0/30).

#### **2.1.5. Ergebnisse der Organproben der in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel**

Für diese Untersuchung wurden von in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkeln jeweils Lunge, Inguinallymphknoten, Milz, Tonsille und Thymus entnommen und gepoolt mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA untersucht. Das Ergebnis der Poolprobenuntersuchung mittels PCR zum Nachweis von PCV2-DNA verlief bei allen Organen der in der 1. Lebenswoche erdrückten Ferkel negativ (0/37).



### **2.1.6. Ergebnisse der Spermaproben der Eber**

Die Poolproben der 6 Eber wurden molekularbiologisch mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA untersucht. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung mittels PCR auf PCV2 verlief bei allen untersuchten Spermaproben negativ (0/6).

### **2.1.7. Ergebnisse der Oral Fluid-Proben der Mastschweine**

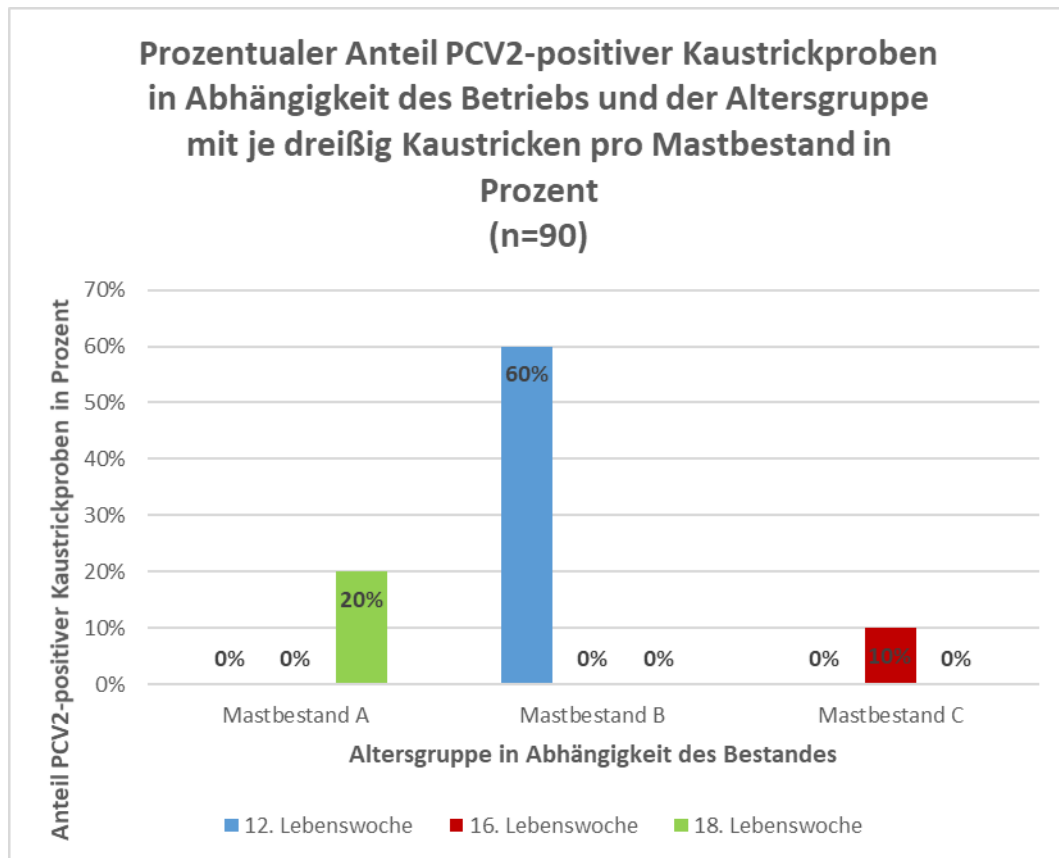
Die Ergebnisse der Untersuchungen der Kaustrickproben aus den Mastbeständen, die mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA getestet wurden, sind in Abbildung 8 dargestellt. Die Kaustrickproben der Mastschweine wurden in Pools zu je 3 Proben mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA untersucht. Es waren insgesamt 9 von 90 (10%) Proben positiv. Es handelte sich dabei um 2 Proben aus Mastbestand A von Tieren in der 18. Lebenswoche, 6 Proben aus Mastbestand B von Tieren in der 12. Lebenswoche sowie eine Probe aus Mastbestand C von Tieren in der 16. Lebenswoche. Der prozentuale Anteil PCV2-positiver Kaustrickproben ist in Abbildung 8 dargestellt.

In Mastbestand A wurden insgesamt 2 Kaustrickproben von Tieren in der 18. Lebenswoche positiv mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA getestet. Die Ct-Werte dieser Untersuchung lagen bei 39 bzw. 38. Damit waren 6,7% der Kaustrickproben in Mastbestand A positiv bezüglich des Vorkommens von PCV2-DNA und 20% der Kaustrickproben der Tiere in der 18. Lebenswoche in Mastbestand A. Es wurde mittels Genotyp-spezifischer qPCR am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München PCV2a mit einem Ct-Wert von 33 nachgewiesen.

Insgesamt 6 von 30 Kaustrickproben wurden in Mastbestand B mittels PCR positiv auf das Vorkommen von PCV2-DNA getestet (20% der Kaustrickproben in Mastbestand B). Es handelte sich hierbei ausschließlich um Tiere in der 12. Lebenswoche. Die Ct-Werte dieser Untersuchung lagen zwischen 35 und 38 (Ct-Werte der einzelnen Stricke: 38, 35, 35, 37, 35, 35). Damit wurden 60% der Kaustricke in der 12. Lebenswoche in Mastbestand B positiv bezüglich des Vorkommens von PCV2-DNA getestet. In einer der positiv untersuchten Kaustrickproben konnte am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München mittels Genotyp-spezifischer qPCR PCV2a mit einem Ct-Wert von 37

und PCV2d mit einem Ct-Wert von 36 nachgewiesen werden. Bei einer weiteren positiv voruntersuchten Probe konnte mit dem gleichen Verfahren PCV2d mit einem Ct-Wert von 38 nachgewiesen werden. Bei übrigen Proben, die ursprünglich in der PCR ein positives Ergebnis im Hinblick auf den Nachweis von PCV2-DNA hatten, konnte in der Genotyp-spezifischen qPCR am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München kein Nachweis von PCV2 erfolgen.

Aus Mastbestand C war eine Oral Fluid-Probe von 30 von Tieren in der 16. Lebenswoche positiv mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA mit einem Ct-Wert von 39,6 getestet worden (3,3% der Proben des Mastbestandes C). Die Untersuchung mittels Genotyp-spezifischer qPCR am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München erbrachte den Nachweis von PCV2d mit einem Ct-Wert von 36. In der 16. Lebenswoche in Mastbestand C waren damit 10% der Kaustrickproben positiv bezüglich des Vorkommens von PCV2-DNA.



**Abbildung 8: Prozentualer Anteil PCV2-positiver Kastrickproben in Abhängigkeit des beprobten Mastbestandes und der Altersgruppe im Zeitraum 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Prozent (n=90 Kastricke). Beprobte wurde mit je 10 Kastricken pro Mastbestand und Altersgruppe.**

## 2.2. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

### 2.2.1. Ergebnisse der Serumproben der Sauen

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Sauen mittels ELISA auf das Vorkommen von PCV2-Antikörpern sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Von allen mittels ELISA untersuchten Sauen des Ferkelerzeugerbestandes wurde bei 40,7% der Serumproben der Sauen das Ergebnis der Untersuchung als positiv beurteilt (81/199). 18,6% aller untersuchter Sauen des Ferkelerzeugerbestandes waren schwach positiv (37/199) und 40,7% negativ oder fraglich (81/199) im Hinblick auf Antikörper gegen PCV2. Damit waren insgesamt 59,3% der Serumproben der Sauen positiv oder schwach positiv auf Antikörpertiter gegen PCV2 (118/199). Die Ergebnisse der Serumproben der Untersuchung mittels ELISA in Abhängigkeit vom Produktionsstatus der Sauen sind in Abbildung 10 dargestellt. Die Ergebnisse der Serumproben der

Untersuchung mittels ELISA in Abhängigkeit vom Alter der Sauen sind in Abbildung 9 dargestellt.

Die Serumproben der Sauen in der Quarantäne wiesen in der serologischen Untersuchung mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpertitern gegen PCV2 zu 6% ein schwach positives Ergebnis auf (3/50), bei 94% der Sauen in der Quarantäne verlief diese Untersuchung negativ (47/50).

Innerhalb der Gruppe der Sauen in der 5. Trächtigkeitswoche waren 56% der Serumproben positiv in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 (14/25). In dieser Sauengruppe waren 24% der untersuchten Tiere in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 schwach positiv (6/25) und 20% der Tiere dieser Gruppe waren negativ in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 (5/25).

Bei den untersuchten Tieren in der Gruppe der Sauen in der 7. Trächtigkeitswoche waren 41,7% der Tiere in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 positiv (10/24). 33,3% der Sauen in dieser Gruppe wiesen in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 ein schwach positives Ergebnis auf (8/24), 25% der Tiere in dieser Gruppe wiesen in dieser Untersuchung ein negatives Ergebnis auf (6/24).

Die Tiere in der Gruppe der Sauen in der 10. Trächtigkeitswoche waren zu 72% positiv in der ELISA-Untersuchung des Serums aus Antikörper gegen PCV2 (18/25). In dieser Gruppe waren 8% der untersuchten Serumproben schwach positiv in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 (2/25), 20% der Serumproben der Tiere in dieser Gruppe waren in dieser Untersuchung negativ (5/25).

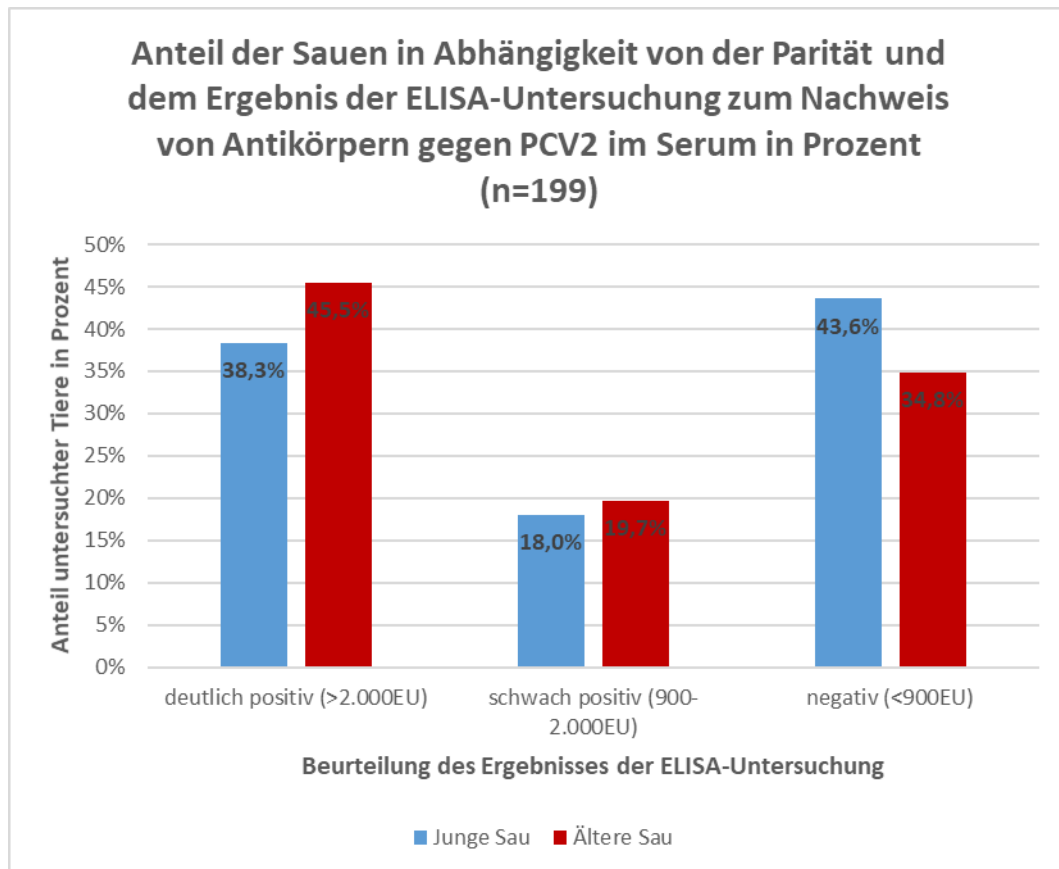
In der Gruppe der Sauen in der 12. Trächtigkeitswoche waren 48% der Serumproben positiv in der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 (12/25). 36% der Serumproben der Sauen aus dieser Gruppe waren schwach positiv mittels ELISA auf das Vorkommen von Antikörpern gegen PCV2 getestet worden (9/25), 16% der Serumproben der Sauen dieser Gruppe waren in dieser Untersuchung negativ (4/25).

Die Serumproben der beprobten Sauen in der Gruppe der Tiere in der 1. Säugewoche waren bei der Untersuchung mittels ELISA zum Nachweis von

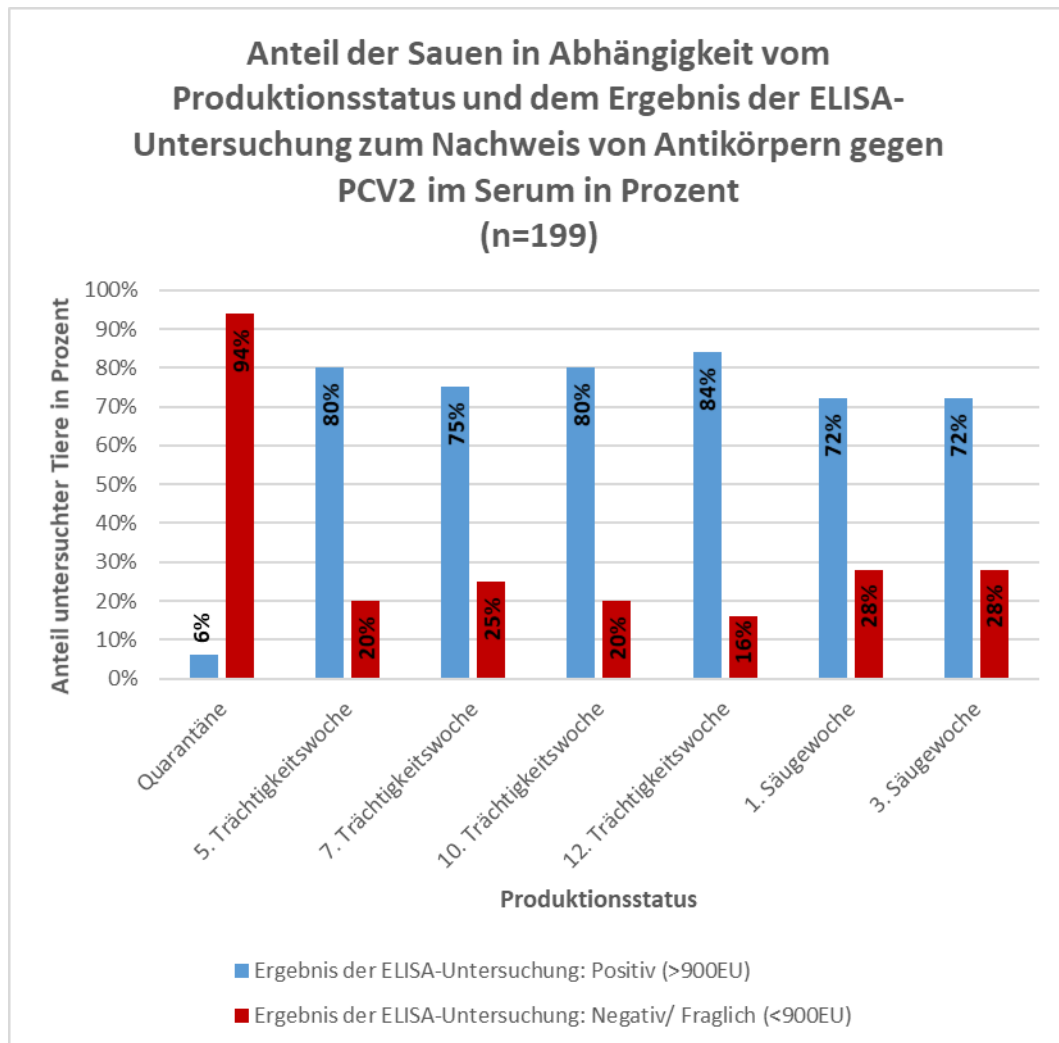
Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> zu 52% positiv (13/25). 20% der in dieser Gruppe beprobten Sauen waren mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> schwach positiv getestet worden (5/25). Ein negatives Ergebnis in dieser Untersuchung wurde bei 28% der Sauen in der Gruppe der Tiere in der 1. Säugewoche mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> festgestellt (7/25).

Bei den Tieren in der Gruppe der Sauen in der 3. Säugewoche waren 56% der Serumproben mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> positiv (14/25). In dieser Gruppe verlief die ELISA-Untersuchung bei 16% der Serumproben schwach positiv (4/25) und bei 28% der Serumproben negativ (7/25).

Die Verteilung der Ergebnisse der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> aus dem Serum der Sauen in Abhängigkeit vom Sauenalter ist in Abbildung 9 dargestellt. Innerhalb der Gruppe der jungen Sauen waren in der Untersuchung der Serumproben mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> 38,3% der Proben positiv (51/133). 18% der jungen Sauen hatten in der ELISA-Untersuchung ein schwach positives Ergebnis (24/133) und 43,6% der untersuchten jungen Sauen wiesen in der ELISA-Untersuchung ein negatives Ergebnis auf (58/133). Bei den älteren Sauen mit einer Parität über 2 wurden in der ELISA-Untersuchung 45,5% der Serumproben positiv getestet (30/66), 19,7% der beprobten Sauen wiesen in dieser Untersuchung ein schwach positives Ergebnis auf (13/66) und 34,8% der untersuchten Sauen in dieser Gruppe hatten im ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> ein negatives Ergebnis (23/66).



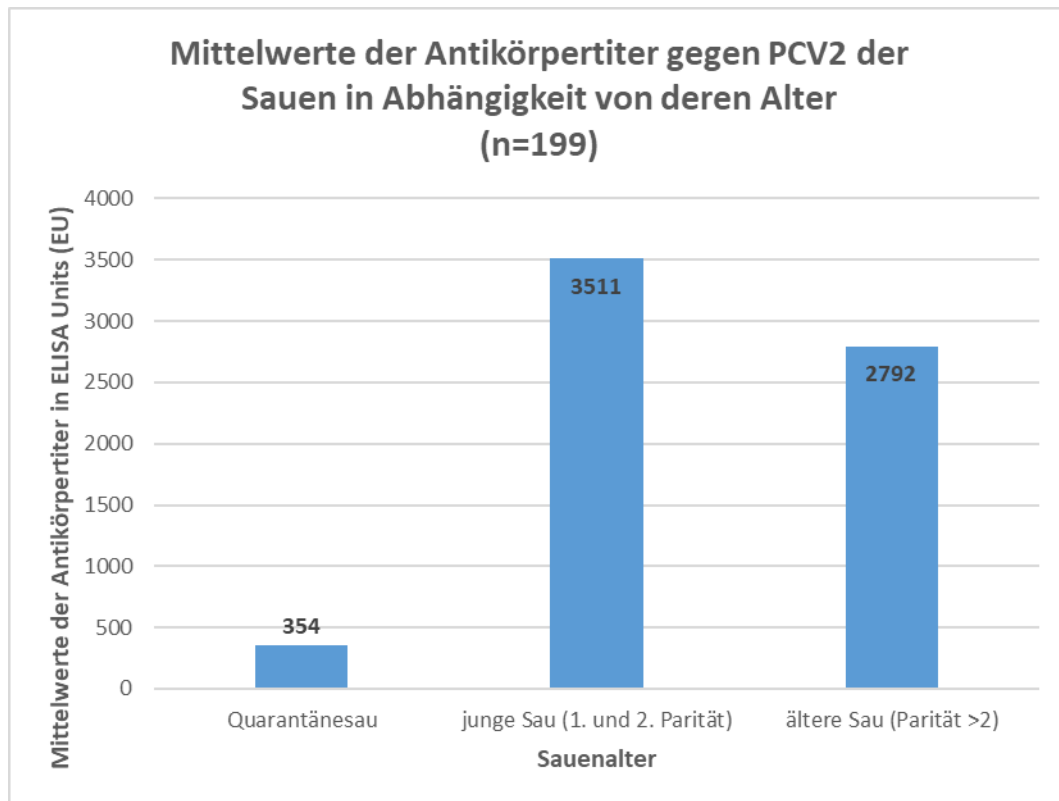
**Abbildung 9: Prozentualer Anteil der Sauen in Abhängigkeit von der Parität und der Beurteilung des Ergebnisses der Untersuchung mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 der Untersuchung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199).**



**Abbildung 10: Prozentualer Anteil der Sauen in Abhängigkeit vom Produktionsstatus und dem Ergebnis der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpertitern gegen PCV2 der Untersuchung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199).**

Im Vergleich der prozentualen Anteile PCV2-seropositiver Tiere fällt auf, dass die Sauen in der Quarantäne zu 6% seropositiv sind, während in den anderen Produktionsstadien prozentual mehr Tiere Antikörpertiter gegen PCV2 aufweisen (86,7% PCV2-seropositive junge Sauen und 65,2% PCV2-seropositive ältere Sauen). Im Vergleich der Mittelwerte (Abbildung 11 und Tabelle 15) wird deutlich, dass die Quarantänesauen einen mittleren Antikörpertiter von 354EU aufweisen, wohingegen die jungen Sauen einen mittleren Antikörpertiter von 3.511EU aufweisen. Die älteren Sauen hingegen weisen einen mittleren Antikörpertiter von 2.792EU auf. Der Unterschied zwischen den Antikörpertitern der Sauen in der Quarantäne im Vergleich zu den Antikörpertitern der jungen Sauen ist signifikant ( $p=0,000$ ). Der Unterschied

zwischen den Quarantänesauen und den älteren Sauen ist ebenfalls signifikant ( $p=0,000$ ), wie auch der Unterschied zwischen den jungen und den älteren Sauen ( $p=0,002$ ).



**Abbildung 11: Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV2 der Quarantänesauen, der jungen Sauen (1. und 2. Parität) und der älteren Sauen (Parität >2) 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199). Angabe in ELISA-Units (EU).**



**Tabelle 15: Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV<sub>2</sub> der Sauen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Abhängigkeit des Produktionsstatus und des Alters (n=199). Angabe in ELISA-Units (EU). Q: Quarantänesau, SW: Säugewoche, TW: Trächtigkeitswoche.**

Antikörpertiter Sauen						
Trächtigkeits-/ Säugewoche		Mittelwert	Min.	Max.	N	Std.- Abweichung
Q	Quarantänesau	353,9EU	20EU	1519EU	50	315,5
1.	Junge Sau	3267,9EU	713EU	6093EU	9	1797,1
SW	Alte Sau	2157,8EU	68EU	7595EU	16	2085,9
3.	Junge Sau	3268,5EU	360EU	11712EU	11	3391,8
SW	Alte Sau	2407,3EU	106EU	6885EU	14	1832,3
5.	Junge Sau	3685,9EU	1136EU	11610EU	14	2811,5
TW	Alte Sau	3421,8EU	273EU	12224EU	11	4244,3
7.	Junge Sau	1904,1EU	533EU	3740EU	16	1039,7
TW	Alte Sau	3783,1EU	50EU	15000EU	8	5030,3
10.	Junge Sau	5871EU	491EU	15000EU	18	4573,7
TW	Alte Sau	3257,3EU	229EU	11438EU	7	3973,3
12.	Junge Sau	3067,3EU	924EU	7396EU	15	1819,0
TW	Alte Sau	1725,7EU	502EU	4794EU	10	1602,0

### 2.2.2. Ergebnisse der Serumproben der Ferkel

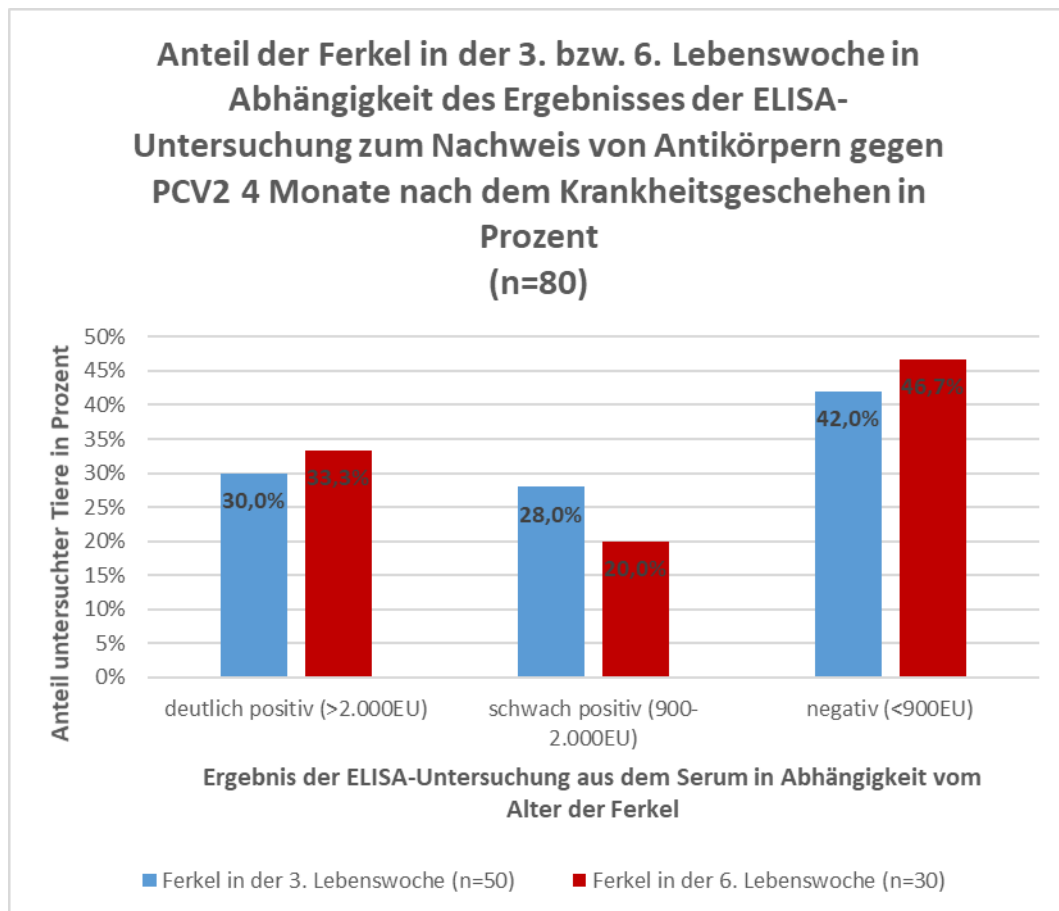
Die Ergebnisse der Untersuchung der Serumproben der Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche mittels ELISA sind in Abbildung 12 sowie in Tabelle 17 dargestellt.

Bei der ELISA-Untersuchung der Serumproben der Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> waren 31,3% der Ferkel positiv (25/80). Ein schwach positives Ergebnis in dieser Untersuchung wurden bei 25% der untersuchten Serumproben der Ferkel festgestellt (20/80). Bei 43,8% der Ferkel wurde in der Untersuchung der Serumproben mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> ein negatives Ergebnis ermittelt (35/80).

In der 3. Lebenswoche waren 30% der Serumproben der Ferkel bei der Untersuchung mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV<sub>2</sub> positiv (15/50). Bei 28% der Ferkel in der 3. Lebenswoche waren die Serumproben bei dieser Untersuchung schwach positiv (14/50). 42% der Serumproben der Ferkel in der 3. Lebenswoche waren bei der Untersuchung

mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 negativ (21/50).

Bei den Ferkeln in der 6. Lebenswoche waren die Serumproben, die mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 untersucht wurden, zu 33,3% positiv (10/30). 20% der Serumproben der Ferkel in der 6. Lebenswoche waren bei dieser Untersuchung schwach positiv (6/30). Ein negatives Ergebnis bei dieser Untersuchung gab es bei 46,7% der Serumproben der Ferkel in der 6. Lebenswoche (14/30).



**Abbildung 12:** Anteil der Ferkel in der 3. bzw. 6. Lebenswoche in Abhängigkeit vom Ergebnis der ELISA-Untersuchung (Beurteilung der Ergebnisse angegeben in deutlich positiv (>2.000EU), schwach positiv (900-2.000EU) und negativ (<900EU)) zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen aus dem Serum in Prozent (n=80).

### 3. Gegenüberstellung vergleichbarer Untersuchungsergebnisse

#### 3.1. Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Sauen während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der Sauen während des Krankheitsgeschehens sind in Kapitel IV.1.5.4, die Untersuchungen der Sauen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen sind in Kapitel IV.2.2 dargestellt.

Im Vergleich der Anteile PCV2-seropositiver Sauen liegen die Werte während des Krankheitsgeschehens, die von säugenden Sauen in der 1. Parität ermittelt wurden, prozentual bei den jungen, säugenden Sauen der Stammsauenherde höher (80%) als 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (75%). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant ( $p=0,760$ ).

Die Mittelwerte der Ergebnisse der ELISA-Untersuchung aus dem Serum der Sauen im Zeitraum des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen sind in Tabelle 16 zusammengefasst. Bei der Betrachtung der Mittelwerte der ELISA-Untersuchungen während des Krankheitsgeschehens und 4 Monate danach fällt auf, dass sich die Antikörpertiter im Mittel von 2580EU auf 3268EU erhöht haben. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant ( $p=0,244$ ).

**Tabelle 16: Vergleich der Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV2 der Sauen während des Krankheitsgeschehens und 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in ELISA-Units (EU) (n=30).**

Zeitpunkt	Mittelwert	Minimum	Maximum	N	Std.- Abweichung
Während des Krankheits- geschehens	2580EU	241EU	11399EU	10	3172
4 Monate nach dem Krankheits- geschehen	3268EU	360EU	11712EU	20	2723

### **3.2. Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

Im Vergleich des prozentualen Anteils PCV2-Antikörper-positiver Serumproben der Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche wird ersichtlich, dass sich in der 3. Lebenswoche mehr PCV2-seropositive Ferkel befinden (58%) als in der 6. Lebenswoche (53,3%). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant ( $p=0,684$ ).

Im Vergleich der mittleren Antikörpertiter wird deutlich, dass dieser bei den Tieren in der 6. Lebenswoche höher ist als derjenige der Tiere in der 3. Lebenswoche. Diese Veränderung ist jedoch nicht signifikant ( $p=0,769$ ). Der Vergleich der mittleren Antikörpertiter der Tiere in der 3. und 6. Lebenswoche 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen ist in Tabelle 17 zusammengefasst.

**Tabelle 17: Darstellung der mittleren Antikörpertiter der Ferkel in der 3. bzw. 6. Lebenswoche 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in ELISA Units (EU).**

Alter der Ferkel	Mittelwert	Minimum	Maximum	N	Std.- Abweichung
3. Lebenswoche	1711,5EU	36EU	7354EU	50	1658,6
6. Lebenswoche	1952,6EU	69EU	10367EU	30	2210,9

### **3.3. Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Saugferkel während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen**

In der Gruppe der Ferkel in der 3. Lebenswoche wurde bei 58% der Ferkel ein positives oder schwach positives Ergebnis der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpertitern gegen PCV2 im Serum 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen festgestellt. Im Vergleich zu den Ergebnissen der Untersuchung der Saugferkel des Ferkelerzeugers im Mai 2018 (4 Monate zuvor) lag der Anteil Antikörper-positiver Serumproben 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen höher (53% positiv im Mai, 58% positiv im August). Dieser Vergleich ist in Abbildung 14 dargestellt. Der Unterschied in der PCV2-Seroprävalenz ist jedoch nicht signifikant ( $p=0,684$ ).

Bei der Betrachtung der Mittelwerte der Antikörpertiter der Ferkel wird

deutlich, dass die Mittelwerte der Untersuchung von 1.899EU auf 1.712EU von während des Krankheitsgeschehens bis 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen gesunken sind. Jedoch ist zu beachten, dass die Differenz dieser Mittelwerte nicht signifikant ist ( $p=0,574$ ). Dieser Vergleich ist in Tabelle 18 dargestellt.

**Tabelle 18: Darstellung der mittleren Antikörpertiter der Saugferkel in ELISA-Units (EU) während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.**

Zeitpunkt	Mittelwert	Minimum	Maximum	N	Std.- Abweichung
Während des Krankheits- geschehens	1899EU	35EU	12118EU	30EU	2824
4 Monate nach dem Krankheits- geschehen	1712EU	36EU	7354EU	50EU	1659

#### **3.4. Gegenüberstellung der Ergebnisse der serologischen Untersuchung der Sauen in der 3. Säugewoche und der Ferkel in der 3. Lebenswoche**

Die Ergebnisse der Antikörpertiter der Sauen und der Ferkel sind in Kapitel IV.2.2 dargestellt. Hinsichtlich der Ergebnisse des Antikörpernachweises der Sauen und der zugehörigen Ferkel konnte ermittelt werden, dass sowohl die Anteile seropositiver Sauen und Ferkel miteinander assoziiert sind ( $p \leq 0,001$ ) als auch die Höhe der Antikörpertiter positiv miteinander korrelieren (Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho: 0,703,  $p \leq 0,001$ ).

#### **3.5. Gegenüberstellung der Ergebnisse der Sequenzierung der Nukleotidsequenz des ORF2 im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens**

Im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens konnte bei den 19 untersuchten Tieren der Mastbestände sowie bei der Untersuchung einer Sau des Ferkelerzeugerbestandes (Sau 1) im Mai 2018 PCV2-DNA nachgewiesen werden. Die im Anschluss erfolgte Sequenzierung der Nukleotidsequenz des ORF2 von PCV2 ergab eine Homologie von 99% auf Nukleotidebene des ORF2 zum Referenzstamm KP698395. Die Differenzen zum Referenzstamm KP698395

sind in Tabelle 19 dargestellt. Die in dieser Tabelle nicht dargestellten Positionen der Nukleotidsequenz des ORF2 sind zum Referenzstamm identisch. An Position 31 weisen alle sequenzierten Nukleotidsequenzen ein Adenin (A) statt eines Cytosins (C) wie im Referenzstamm auf. Alle sequenzierten Nukleotidsequenzen von ORF2 weisen an Position 192 ein Thymin (T) statt eines Guanins (G) wie im Referenzstamm auf. Bei den untersuchten Nukleotidsequenzen des ORF2 wurde an Position 696 bei allen untersuchten Proben ein Cytosin statt eines Adenins wie im Referenzstamm nachgewiesen. An Position 702 wurde bei allen Nukleotidsequenzen des ORF2 der untersuchten Proben ein Guanin statt eines Adenins festgestellt. Insgesamt ist die Nukleotidsequenz des ORF2 von PCV2 der Proben der untersuchten Tiere im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens untereinander zu 100% homolog.

**Tabelle 19: Darstellung der Differenzen in der Nukleotidsequenz des ORF2 zwischen dem Referenzstamm KP698395 und den Sequenzen des ORF2 der Proben der während des Krankheitsgeschehens untersuchten Tiere der Mastbestände und des Ferkelerzeugerbestandes. Nicht dargestellte Positionen der Nukleotidsequenz des ORF2 sind zwischen Referenzstamm und Proben identisch. Bei den Proben aus den Mastbeständen handelt es sich um Proben aus Lymphgewebe, bei der Probe der Sau aus dem Ferkelerzeugerbestand handelt es sich um eine Serumprobe. A: Adenin, C: Cytosin, G: Guanin, T: Thymin, Sau 1: Im Mai 2018 beprobte Sau des Ferkelerzeugers mit PCV2-DNA-Nachweis aus dem Serum.**

Position	31	192	696	702
<i>Referenzsequenz KP698395</i>	C	G	A	A
Tier A1	A	T	C	G
Tier A6	A	T	C	G
Tier B1	A	T	C	G
Tier B2	A	T	C	G
Tier B3	A	T	C	G
Tier C8	A	T	C	G
Sau 1	A	T	C	G

Im Rahmen der Untersuchung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen wurde das Vorkommen der Genotypen am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München mittels Genotyp-spezifischer qPCR untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung in Abhängigkeit von den Beständen sind in Tabelle 20 dargestellt. Es wurde festgestellt, dass PCV2d sowohl im Ferkelerzeugerbestand

als auch in den Mastbeständen B und C nachweisbar waren. Der Genotyp PCV2a wurde im Ferkelerzeugerbestand sowie in den Beständen B und C nachgewiesen. Ausschließlich im Ferkelerzeugerbestand wurde der Genotyp PCV2b detektiert.

**Tabelle 20: Darstellung über das Vorkommen verschiedener PCV2-Genotypen in den beprobten Beständen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen.**

<u>Bestand</u>	<u>PCV2a</u>	<u>PCV2b</u>	<u>PCV2d</u>
Ferkelerzeugerbestand	X	X	X
Mastbestand A	X		
Mastbestand B	X		X
Mastbestand C			X

## V. DISKUSSION

### 1. Beurteilung des Gesundheitsstatus der Bestände im Zeitraum des Krankheitsgeschehens

#### 1.1. Beurteilung der Sektionsbefunde der während des Krankheitsgeschehens untersuchten Tiere aus den Mastbeständen

Im vorliegenden Fall wurden insgesamt 19 Tiere der 3 Mastbestände pathologisch-anatomisch sowie histopathologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Kapitel IV.1 ausführlich beschrieben. Die in diesem Kapitel detaillierte Darstellung der Befunde erlauben den Rückschluss, dass es sich in den vorliegenden Fällen bei den Mastbeständen A, B und C um PCVD handelte. Während die vorliegenden Befunde von Tieren aus den Mastbeständen A und C auf porcine circovirus type 2 systemic disease (PCV2-SD) hinweisen, deuten die Sektionsbefunde der Tiere des Bestandes B vornehmlich auf das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) hin.

Die für die jeweiligen klinischen Ausprägungen zu erfüllenden diagnostischen Kriterien wurden von SEGALÉS (2012) detailliert beschrieben. Zu den Kriterien der Diagnose PCV2-SD auf Herdenbasis zählt unter anderem der Nachweis einer erhöhten Mortalitätsrate zum Zeitpunkt des Absetzens in Kombination mit entsprechender klinischer Symptomatik (SEGALÉS, 2012). Eine Erhöhung der Mortalität wurde in allen 3 Mastbeständen festgestellt. Des Weiteren muss für die Diagnose PCV2-SD auf Herdenbasis laut SEGALÉS (2012) eine individuelle Diagnose von PCV2-SD bei einem von 3 bis 5 untersuchten Tieren erfolgen. Klinische Anzeichen wie Husten und verminderte Tageszunahmen gehören unter anderem zu den klinischen Anzeichen der PCV2-SD (ROSELL et al., 1999) und wurden ebenfalls in den Mastbeständen festgestellt. In der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Tiere wurde eine fehlende Retraktion der Lungen sowie vergrößerte Lymphknoten bei 18 von 19 Tieren vollständig oder zum Teil nachgewiesen. Diese Befunde können laut SEGALÉS (2012) zur Individualdiagnostik für PCV2-SD herangezogen werden. Des Weiteren sind in der histopathologischen Untersuchung laut SEGALÉS (2012) eine Lymphozytendepletion in den lymphatischen Geweben sowie granulomatöse Entzündung sowohl in lymphatischen als auch in nicht-lymphatischen Geweben im Falle von PCV2-SD nachweisbar. Darüber hinaus wurden lymphohistiozytäre



bis granulomatöse interstitielle Pneumonien sowie interstitielle Nephritiden bei solchen Tieren detektiert. Entsprechende histopathologische Veränderungen konnten in allen 19 zur Sektion verbrachten Tiere nachgewiesen werden. Neben dem klinischen Bild und der Sektionsergebnisse ist der quantitative Nachweis von PCV2-DNA in Gewebeproben ein wichtiger Bestandteil der PCV2-Diagnostik (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008).

Für die Beurteilung der klinischen Relevanz von PCV2-DNA-Nachweisen werden je nach Autor PCV2-DNA-Gehalte zwischen  $10^5$ GE/ml Serum bzw. ng DNA bis  $10^7$ GE/ml Serum bzw. ng DNA angegeben (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Basierend auf diesen Werten lagen bei 16 von 19 Tieren in lymphatischem Gewebe und bei 7 von 10 Tieren in der Haut PCV2-DNA-Gehalte vor, die für eine milde bis moderate Verlaufsform der PCV2-SD ( $10^5$ - $10^7$ GE/ng DNA) sprechen (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Bei 2 von 19 Tieren lag der PCV2-DNA-Gehalt in lymphatischem Gewebe bei  $>10^7$ GE/ng DNA und somit im Bereich für schwere Verlaufsformen der PCV2-SD (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008). Ergebnisse der PCR der Lunge wurden in Ct-Werten angegeben, sodass diese in die Beurteilung mithilfe der PCV2-DNA-Gehalte nach BRUNBORG et al. (2004), OLVERA et al. (2004) und HARDING et al. (2008) nicht mit einfließen können. Ein intraläsionaler Nachweis von PCV2-Antigenen wie von SEGALÉS (2012) zur Diagnose von PCV2-SD gefordert erfolgte mittels Immunhistochemie bei 13 von 19 Tieren. Zusammengefasst wurden die von SEGALÉS (2012) geforderten Kriterien für eine PCV2-SD in 15 von 19 untersuchten Tieren erfüllt.

Bei 4 von 19 Tieren wurde darüber hinaus PDNS nachgewiesen. Die pathologisch-anatomischen Befunde wie unregelmäßige Flecken und Papeln auf der Haut, vergrößerte Lymphknoten, vergrößerte Nieren, sowie Petechien in der Nierenrinde, die von SEGALÉS (2012) zur Diagnose von PDNS herangezogen werden sollen, wurden bei 10 von 19 Tieren nachgewiesen. In der histopathologischen Untersuchung wurden bei 19 von 19 Tieren die von SEGALÉS (2012) als für PDNS typisch beschriebene histopathologische Veränderungen wie systemische nekrotisierende Vaskulitis, fibrinonekrotisierende Glomerulitis mit nicht-purulenter interstitieller Nephritis, Lymphozytendepletion mit milden granulomatösen Entzündung der

lymphatischen Gewebe vollständig oder teilweise festgestellt. Die Einteilung der durch PCV2 verursachten Krankheitsbilder stellt sich jedoch regelmäßig als schwierig dar, da die Grenzen zwischen diesen Krankheitsbildern fließend sind und diagnostische Überschneidungen regelmäßig vorkommen (BARÓ et al., 2015). Zusammenfassend steht jedoch bei 4 von 19 Tieren, welche aus dem Mastbestand B stammen und bei denen der intraläsionale immunhistochemische Nachweis von PCV2-Antigen ausblieb, PDNS als Diagnose im Vordergrund.

Neben PCV2 wurden bei den Tieren in den Mastbeständen unterschiedliche weitere Erreger nachgewiesen. Diese können 3 übergeordneten Kategorien zugeordnet werden: Obligat pathogene Keime, fakultativ pathogene Keime und Sekundärerreger. Zu den in den Mastbeständen, in diesem Fall in Mastbestand A, nachgewiesenen obligat pathogenen Erregern gehören *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) Serotyp 2, das porcine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV) sowie das Influenza A virus (IAV). NICKOLL et al. (2016) wiesen nach, dass eine Koinfektion mit APP oder PRRSV und PCV2 das Ausmaß der am Schlachthof nachgewiesenen Lungenveränderungen beeinflussen (OPRIESSNIG et al., 2011; NICKOLL et al., 2016). In den Mastbeständen B und C wurden keine obligat pathogenen Erreger nachgewiesen. Zu den in den Mastbeständen nachgewiesenen fakultativ pathogenen Erregern zählen unter anderem *Pasteurella (P.) multocida*, die in Mastbestand A festgestellt wurden. In der 3. Kategorie, den Sekundärerregern, wurden in den Beständen unter anderem *Trueperella (T.) pyogenes* und *Bordetella (B.) bronchiseptica* nachgewiesen. Der Nachweis verschiedener obligat pathogener Erreger in Kombination mit vielfältigen Sekundärerregern wird auch im Zusammenhang mit PCV2 im Rahmen des porcine respiratory disease complex (PRDC) beschrieben (OPRIESSNIG et al., 2011). Inwieweit es sich hier möglicherweise um ein Krankheitsgeschehen im Rahmen des PRDC handelt ist schwer beurteilbar, jedoch sprechen die eindeutigen pathologisch-anatomischen, histopathologischen sowie labordiagnostischen Befunde deutlich für eine Problematik im Rahmen der PRDC in den betroffenen Mastbeständen.

## **1.2. Beurteilung der Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen der während des Krankheitsgeschehens gewonnenen Proben der untersuchten Tiere des Ferkelerzeugerbestandes**

### **1.2.1. Beurteilung der Ergebnisse der Sektionsbefunde der während des Krankheitsgeschehens im Rahmen der Bestandsdiagnostik der im Ferkelerzeugerbestand untersuchten Tiere**

Die im Kapitel IV.1.5.2 detaillierte Darstellung der Befunde der pathologisch-anatomischen, histopathologischen sowie labordiagnostischen Untersuchungen der beiden Aufzuchtferkel des Ferkelerzeugerbestandes erlauben den Rückschluss, dass es sich in den vorliegenden Fällen um PCV2-SD sowie PDNS handelt.

Die zur Diagnose von PCV2-SD und PDNS nötigen Voraussetzungen laut SEGALÉS (2012) sind unter anderem die in Kapitel V.1.1 genannten Kriterien nötig. Diese pathologisch-anatomischen Kriterien wie eine katarrhalische Enteritis, eine Hyperplasie der Lymphknoten und eine verminderte Lungenretraktion sowie histopathologische Befunde wie nekrotisierende Vaskulitis und eine Glomerulonephritis wurden vollständig oder teilweise bei den beiden untersuchten Aufzuchtferkeln des Ferkelerzeugerbestandes nachgewiesen SEGALÉS (2012). In den Nieren, den Lymphknoten und der Lunge konnte PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden. Der Gehalt an PCV2-DNA dieser Untersuchung ist nicht bekannt. Jedoch lässt aufgrund der histopathologischen Läsionen sowie der Nachweise von PCV2-DNA mittels PCR in den betroffenen Geweben einen Rückschluss auf die PCV2-SD und des PDNS zu.

### **1.2.2. Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen der Proben des Ferkelerzeugerbestandes während des Krankheitsgeschehens**

Die labordiagnostischen Untersuchungen der Proben des Ferkelerzeugerbestandes im Zeitraum von Dezember 2017 bis Mai 2018 sind in Kapitel IV.1.5 dargestellt. In diesem Zeitraum wurde insgesamt bei 2 Aufzuchtferkeln im Dezember sowie bei einer Sau im Mai PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden.

Im Dezember 2017 konnten in einem Routinescreening im Ferkelerzeugerbestand bei 6,7% von 30 Ferkeln PCV2-DNA in Serumproben festgestellt werden. In einem erneuten Routinescreening im Februar, im März

und im Mai waren alle Serumproben der Saug- und Aufzuchtferkel PCV2-DNA negativ. Im Mai 2018 wurden zusätzlich auch Serumproben von jungen Sauen untersucht, von denen der Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben bei 5% lag. Im Vergleich zu einer Untersuchung aus den USA von DVORAK et al. (2016), bei der in 30-100% der Serumproben der Sauen PCV2-DNA nachgewiesen werden konnte, liegt der Anteil PCV2-positiver Serumproben der Sauen der vorliegenden Untersuchung mit 5% deutlich niedriger. Jedoch decken sich die Ergebnisse aus der vorliegenden Untersuchung mit Daten aus Europa (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). In einer Untersuchung aus den Niederlanden zum Vorkommen von PCV2 bei Saugferkeln und deren Muttersauen, wurde ein Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben der Sauen von 0% nachgewiesen (DIESTE-PÉREZ et al., 2018). In einer bayernweit durchgeführten Untersuchung konnten EDDICKS et al. (2016) bei 1% der Serumproben der Sauen PCV2-DNA nachweisen, während in einer Querschnittsuntersuchung in einem Jungsauenvermehrerbstand der Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben bei 7% lag (EDDICKS et al., 2019). Die Anteile PCV2-DNA-positiver Serumproben der Sauen der vorliegenden Untersuchung scheinen daher in einem in Europa üblichen Bereich zu liegen. Die geringeren PCV2-DNA-Nachweisraten werden in Europa vor allem auf die flächendeckende PCV2-Impfung von Ferkeln zurückgeführt (EDDICKS et al., 2016). Auch in den USA ist die PCV2-Nachweisrate seit Einführung der Impfung deutlich rückläufig (DVORAK et al., 2016).

Die PCV2-Seroprävalenz lag bei den im Mai 2018 untersuchten Saugferkeln bei 60% und bei den Sauen bei 80%. Ähnliche Beobachtungen wurden in älteren Studien aus Europa gemacht, bei denen eine PCV2-Seroprävalenz der Sauen von 90% nachgewiesen wurde (WALKER et al., 2000; KUKUSHKIN & OKOVYTAYA, 2013). In neueren Studien aus Europa liegt die PCV2-Seroprävalenz der Sauen jedoch bei 20-30% (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). Eine mögliche Erklärung für diese Abweichungen liefert die vorliegende Untersuchung selbst: In der vorliegenden Untersuchung wird ein akutes PCVD-Krankheitsgeschehen beschrieben, während bei DIESTE-PÉREZ et al. (2018) und EDDICKS et al. (2016) zufällig ausgewählte Bestände in die Untersuchung eingeflossen sind. Es ist davon auszugehen, dass der Anteil PCV2-seropositiver Tiere in der vorliegenden Studie durch die Zirkulation von PCV2 erhöht wurde.

## **2. Beurteilung der Untersuchungsergebnisse des im Rahmen der diagnostischen Evaluation 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen gewonnenen Probenmaterials**

### **2.1. Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen**

#### **2.1.1. Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der Proben des Ferkelerzeugerbestandes**

In der vorliegenden Untersuchung der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen konnten weder im Sperma, noch in den Organen der in der 1. Lebenswoche erdrückter Ferkel, noch im Serum der Ferkel, noch in Kot und Speichel der Sauen PCV2-DNA nachgewiesen werden. Im Serum der Sauen wurde bei insgesamt 1% der Proben PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen. Diese Ergebnisse decken sich somit mit denen aus Deutschland und den Niederlanden bei denen eine vergleichbar niedrige Prävalenz von 0-7% PCV2-DNA-positiver Serumproben ermittelt wurde (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018; EDDICKS et al., 2019). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung liegen jedoch deutlich unter den Ergebnissen aus den USA (DVORAK et al., 2016), bei denen mit 30-100% PCV2-DNA-positiver Serumproben bei Sauen deutlich höhere Prävalenzen festgestellt wurden. Die Anteile PCV2-DNA-positiver Serumproben der Sauen der vorliegenden Untersuchung scheinen daher in einem üblichen Bereich in Europa zu liegen. Die flächendeckende PCV2-Impfung von Ferkeln wird als Ursache der geringeren PCV2-DNA-Nachweisraten in Europa angesehen (EDDICKS et al., 2016). Auch in den USA ist die PCV2-Nachweisrate seit Einführung der Impfung deutlich rückläufig (DVORAK et al., 2016).

In den Speichel- und Kotproben der Sauen wurde bei keiner der Proben PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen. Vergleicht man dieses Ergebnis mit den Ergebnissen von EDDICKS et al. (2016) aus Deutschland, wurden bei diesen Probenmaterialien jeweils ein Anteil PCV2-DNA-positiver Proben von 0,5% nachgewiesen. In der Untersuchung aus den Niederlanden von DIESTE-PÉREZ et al. (2018) wurde in keiner der Kot- und Speichelproben PCV2-DNA nachgewiesen. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung decken sich damit vollständig mit denen aus den Niederlanden (DIESTE-PÉREZ et al., 2018). In der Studie von EDDICKS et al. (2016) war jeweils ein Einzeltier für

einen Anteil PCV2-DNA-positiver Proben über 0% verantwortlich, sodass sich auch diese Untersuchungsergebnisse mit denen der vorliegenden Studie deckt. Ursachen für die niedrigen PCV2-DNA-Nachweisraten werden in Europa vor Allem auf die flächendeckende Impfung der Ferkel gegen PCV2 zurückgeführt (EDDICKS et al., 2016).

In der molekularbiologischen Untersuchung der Serumproben der 3 bis 6 Wochen alten Ferkel wurde in der vorliegenden Untersuchung keine PCV2-Virämie festgestellt. Die Ergebnisse decken sich mit Beobachtungen von RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al. (2002), die 5 Monate nach einem PCV2-SD-Ausbruch bei den Ferkeln in der 3. Lebenswoche ebenfalls keine Virämie feststellen konnten. Sie unterscheiden sich jedoch hinsichtlich der Ergebnisse der Tiere in der 7. Lebenswoche, bei denen bei 15,3% der Ferkel eine Virämie festgestellt werden konnte (RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Mindestens eines dieser Ferkel stammte von einer virämischen Sau (RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Nachweisraten könnte die Tatsache sein, dass in der Studie von RODRÍGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) auch während der Beprobung noch PCVD bei den untersuchten Tieren festgestellt wurde, wohingegen die beprobten Tiere in der vorliegenden Untersuchung zum Zeitpunkt der Beprobung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen keine klinischen PCVD-Anzeichen aufwiesen. Es ist darüber hinaus möglich, dass die Ferkel in der 3. und 6. Lebenswoche entweder noch nicht mit PCV2 infiziert wurden oder der Gehalt der PCV2-DNA unter der Nachweisgrenze der verwendeten PCR lag. Da sich PCV2 jedoch ubiquitär in der Umwelt befindet (SIBILA et al., 2004; SEGALÉS, 2012) und die Sauen als Ansteckungsquelle fungieren können (GERBER et al., 2011; ROSE et al., 2012), ist diese Annahme, dass sich die Tiere nicht mit PCV2 infiziert haben, nicht realistisch. Da mit PCV2 infizierte Ferkel nicht virämisch sein müssen, könnte der hier gewählte Beprobungszeitraum nicht geeignet gewesen sein um PCV2-DNA zu detektieren, da auch die klinischen Erscheinungen der Tiere in den Mastbeständen in einem höheren Alter auftraten. Da die Virämie und die klinische Ausprägung von PCVD korrelieren (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; HARDING et al., 2008), wäre eine Probennahme in einem höheren Alter der Tiere gegebenenfalls geeigneter gewesen, um PCV2-DNA in den Tieren zu detektieren.

Die Untersuchung der Organe der Ferkel, die in der 1. Lebenswoche erdrückt

wurden, ergab in der molekularbiologischen Untersuchung mittels PCR zum Nachweis von PCV2-DNA ein negatives Ergebnis aller Organe. Im Vergleich zu Studien aus den USA, Mexiko und Brasilien, in denen neugeborene Ferkel vor der Kolostrumaufnahme untersucht wurden, konnte ein Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben von 16,7-70,8% festgestellt werden (SHEN et al., 2010a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). In der Untersuchung von DVORAK et al. (2013) wurden darüber hinaus Organproben von mumifizierten und totgeborenen Ferkeln untersucht, bei denen eine Prävalenz PCV2-DNA-positiver Ferkel von 67% nachgewiesen wurde. Die Autoren oben genannter Studien vermuten daher, dass der intrauterine Infektionsweg eine bedeutende Rolle bei der Verbreitung von PCV2 spielen könnte (SHEN et al., 2010a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stehen jedoch im Gegensatz zu den Untersuchungen aus Mexiko, den USA und Brasilien, da in keinem der untersuchten Ferkel PCV2-DNA nachgewiesen werden konnten (SHEN et al., 2010a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013).

Daher scheint die intrauterine Übertragung zum Untersuchungszeitpunkt 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen keine bedeutende Rolle mehr gespielt zu haben. Ob diese jedoch in dem Zeitraum vor bzw. während des akuten Krankheitsgeschehens stattgefunden hat und die Geburt PCV2-virämischer Ferkel die Effektivität der Impfung reduziert und somit den Ausbruch der Erkrankung in den Mastbeständen gefördert haben, kann mithilfe der vorliegenden Daten nicht abgeschätzt werden. Jedoch scheint eine Virämie bei Sauen mit der intrauterinen Übertragung von PCV2 assoziiert zu sein (SHEN et al., 2010a; GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013).

In der vorliegenden Untersuchung konnte eine Virämie jedoch nur bei wenigen Sauen nachgewiesen werden. Dies könnte wiederum die niedrigen PCV2-DNA-Nachweisraten bei den Ferkeln erklären.

Eine weitere mögliche Erklärung für die niedrige Nachweisrate von PCV2-DNA in den Organen der erdrückten Ferkel in der vorliegenden Arbeit bieten möglicherweise die Untersuchungsergebnisse der Studie von SANCHEZ JR et al. (2003), die bei Ferkeln, die am 1. Lebenstag mit PCV2 infiziert wurden, erst ab dem 10. Lebenstag PCV2 in Makrophagen von Lymphknoten, Herz, Leber, Lunge und Milz nachweisen konnten. MEERTS et al. (2005) konnten PCV2-DNA sogar erst 15 Tage nach der Infektion im Lymphknoten von Ferkeln, die

am 19. Lebenstag infiziert wurden, nachweisen. Es ist daher möglich, dass sich die untersuchten Tiere innerhalb der ersten Lebenstage bereits mit PCV2 infiziert haben, allerdings der Nachweis von PCV2-DNA aus den Organen erst einige Tage später positiv geworden wäre. Es sollten daher zur Überprüfung einer Infektion der Tiere in den ersten Lebenstagen entweder zusätzlich erdrückte Ferkel in der 2. Lebenswoche oder Biopsien der Lymphknoten von lebenden Ferkeln untersucht werden.

Die Untersuchung der Spermaproben mittels PCR auf das Vorkommen von PCV2-DNA verlief bei allen Proben negativ. Im Vergleich zu der Studie von KIM et al. (2001) aus Südkorea, bei denen ein Anteil von 21,8% PCV2-DNA-positiver Spermaproben nachgewiesen wurde, liegt der Anteil PCV2-DNA-positiver Spermaproben der vorliegenden Untersuchung deutlich darunter. Auch bei Ebern aus Deutschland und Österreich wurden bei 18,2% der untersuchten Eber PCV2-DNA-positive Spermaproben festgestellt (SCHMOLL et al., 2008). Eine mögliche Erklärung für die niedrigeren Anteile PCV2-DNA-positiver Spermaproben der vorliegenden Untersuchung ist die intermittierende Ausscheidung von PCV2-DNA mit dem Sperma der Eber (LAROCHELLE et al., 2000). Da im Vergleich zu den Studien von SCHMOLL et al. (2008) und KIM et al. (2001), die 472 bzw. 60 Eber testeten, in der vorliegenden Untersuchung eine deutlich geringere Anzahl Spermaproben untersucht wurden, ist es möglich, dass die untersuchten Eber zum Zeitpunkt der vorliegenden Untersuchung keine PCV2-DNA ausgeschieden haben. Welche Relevanz PCV2-positives Sperma in dem vorliegenden Fall hat, bleibt somit ungeklärt. Daher wäre es für einen Nachweis von PCV2-DNA aus dem Sperma zu empfehlen, entweder eine höhere Tierzahl oder die gleichen Tiere zu mehreren Zeitpunkten zu beproben.

### **2.1.2. Beurteilung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Kaustrickproben der Mastbestände**

Die Nachuntersuchung der Mastbestände mittels Kaustrickproben diente der Reevaluierung des Vorkommens von PCV2-Genotypen sowie Erfassung des Maßes der Ausscheidung. Die Nachweisraten der Kaustrickproben lagen bei 10%. Mastbestand B stellte mit einer Nachweisrate von 60% eine Ausnahme dar. Jedoch stammten die untersuchten Tiere aus Mastbestand B von einem anderen Ferkelerzeugerbestand. Diese Nachweisraten stehen im Gegensatz zu denjenigen einer Studie von HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017), die 55,6-



100% PCV2-DNA-positiver Kastricke nachweisen konnten. Für die Untersuchung geimpfter Tiere ist eine niedrige Nachweisrate PCV2-DNA in Kastricken zu erwarten. Über die von HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017) untersuchten Tiere ist kein Impfstatus bekannt, jedoch wurden die Bestände in Risikokategorien im Rahmen des PRDC eingeteilt. Für die Tiere der vorliegenden Untersuchung gab es keine Anzeichen für ein solches Risiko. Es wurden die Genotypen PCV2a (Mastbestand A und B) und PCV2d (Mastbestand B und C) nachgewiesen. Der Genotyp PCV2d wurde in den Mastbeständen B und C 4 Monate nach dem akuten Krankheitsgeschehen noch immer detektiert. Dies ist auch deshalb zu erwarten, da PCV2 eine hohe Tenazität besitzt (ROYER et al., 2001; SEGALÉS et al., 2005b; WELCH et al., 2006; MARTIN et al., 2008; O'DEA et al., 2008; KIM et al., 2009b).

## **2.2. Beurteilung der serologischen Untersuchungen**

### **2.2.1. Beurteilung der serologischen Untersuchungsergebnisse der Sauen**

Die Prävalenz PCV2-seropositiver Sauen lag in der vorliegenden Untersuchung bei 59,3%. Im Vergleich dazu sind die PCV2-Seroprävalenzen in Sauenherden anderer Studien bei 93-100% (LÓPEZ-SORIA et al., 2010; SHEN et al., 2010a; DIAS et al., 2013) und damit deutlich höher als in der vorliegenden Untersuchung. In Studien aus Deutschland und den Niederlanden wurden PCV2-Seroprävalenzen von circa 20-30% nachgewiesen (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018). Betrachtet man die Veränderung der Antikörpertiter der Sauen zwischen Mai 2018 (während des Krankheitsgeschehens) mit denjenigen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen, wird deutlich, dass diese Veränderungen nicht signifikant sind. Eine Ursache dafür ist möglicherweise, dass eine Beprobung 4 Monate nach einem Krankheitsgeschehen mit PCVD eine zu hohe Zeitspanne darstellt, sodass Veränderungen nicht mehr nachgewiesen werden können. Jedoch sind die Antikörpertiter der Sauen im Mai im Vergleich zu anderen Studien aus Europa (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018) ebenfalls höher. Daher ist es möglich, dass die Untersuchung im Mai 2018 bereits nur noch den Antikörperstatus der Sauen nach der PCV2-Infektion darstellt. Diese Vermutung unterstützt auch das Ergebnis einer Studie von PORGRANICHNYY et al. (2000), die PCV2-Antikörper nach einer Infektion

noch Wochen nachweisen konnten. Ein weiteres Indiz für die Vermutung, dass eine akute PCV2-Infektion in der Sauenherde bereits zu einem früheren Zeitpunkt stattgefunden hat, ist die Beobachtung, dass bereits im Januar 2018 von klinischen Problemen in der Mast berichtet wurde. Wenn diese Mastschweine bereits als Ferkel mit PCV2d infiziert wurden, ergibt sich ein möglicher Zeitpunkt der Infektion der Sauen bereits im Oktober 2017.

Als kritischer Punkt stellte sich in der vorliegenden Untersuchung die Eingliederung der Jungsauen heraus. Während bei den Jungsauen in der Quarantäne eine PCV2-Seroprävalenz von 6% und niedrige PCV2-Antikörpertiter (im Mittel: 354ELISA-Units (EU)) zu verzeichnen waren konnte bereits bei den Sauen der 1. und 2. Parität eine Seroprävalenz von 86,7% sowie im Mittel höhere Antikörpertiter (mittlere Antikörpertiter: 3.511EU) nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen implizieren, dass sich die Jungsauen nach ihrer Eingliederung in die Stammsauenherde mit PCV2 auseinandersetzen. Dass vor allem junge Sauen ein Risikofaktor für eine PCV2-Infektionen in Sauenherden darstellen können, zeigten EDDICKS et al. (2019) in einer Studie, in der nachgewiesen werden konnte, dass vor allem Jungsauen und Sauen bis zur 2. Parität sowohl PCV2-DNA im Serum als auch in Kot- und in Speichelproben aufwiesen. Auch in einer Studie von RINCÓN MONROY et al. (2015) wurde aufgrund des Infektionsrisikos der älteren Sauen für PCV2-seronegativer Herden und insbesondere Jungsauen das Mischen solcher Gruppen als kritisch betrachtet. Obwohl die Jungsauen in der Quarantäne gegen PCV2 geimpft wurden, erscheint die Eingliederung anhand der erhobenen Daten nicht optimal und sollte hinsichtlich PCV2 optimiert werden. Es ist zu beachten, dass eine korrekte Lagerung des Impfstoffes je nach Herstellerangabe bei 6-8°C erfolgt, eine Kontamination des Impfstoffes mit anderen Arzneimitteln zu vermeiden ist, die richtige Dosierung gewählt sowie das Impfen von ausschließlich gesunden Tieren erfolgen sollte. Darüber hinaus sollten weitere Vorgaben zur Handhabung des Impfstoffes laut den Herstellerangaben beachtet werden.

### **2.2.2. Beurteilung der serologischen Untersuchungsergebnisse der Ferkel**

In der vorliegenden Untersuchung lag die PCV2-Seroprävalenz der Ferkel in der 3. Lebenswoche bei 58%, in der 6. Lebenswoche bei 53,3%.

Ähnlich wie bei den Sauen weisen die Veränderungen der Anteile PCV2-

seropositiver Ferkel sowie die Höhe der mittleren PCV2-Antikörpertiter im Vergleich zum Zeitraum während des Krankheitsgeschehens keine signifikante Veränderung auf. Da die Antikörpertiter der Ferkel in der 3. Lebenswoche über das Kolostrum von den Sauen stammen, spiegelt der Antikörperstatus der Ferkel den Antikörperstatus der Sauen wider. Um einen Anstieg des Anteils seropositiver Ferkel sowie der mittleren Antikörpertiter nachzuweisen, sollte entsprechend der Sauen ein deutlich früherer Zeitpunkt, in diesem Fall Oktober 2017 gewählt werden. Im Hinblick auf die Wirksamkeit der Impfung in der 3. Lebenswoche der Ferkel sind zum Zeitpunkt der vorliegenden Untersuchung keine Interferenzen zu erwarten, da in einer Studie von HAAKE et al. (2014) nachgewiesen werden konnte, dass ausschließlich extrem hohe maternale Antikörpertiter bei Ferkeln in der 3. Lebenswoche mit der Impfung interferieren können

### **3. Beurteilung des Vorkommens verschiedener PCV2-Genotypen in den untersuchten Beständen**

Im Rahmen der Untersuchungen der Tiere im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens wurde in Proben von Tieren aus allen Beständen PCV2-DNA nachgewiesen, die in der Nukleotidsequenz des ORF2 eine Homologie auf Nukleotidebene von 100% aufwiesen. Zu dem untersuchten Referenzstamm der GenBank Nr. KP698395 wiesen die untersuchten Proben eine Homologie der Nukleotidsequenz des ORF2 von 99% auf. Der Referenzstamm, der auch als Stamm DE136-13 bekannt ist und zum Genotypen PCV2d gezählt wird, wurde in Deutschland bereits von EDDICKS et al. (2015) im Zusammenhang mit PCVD in PCV2-geimpften Schweinebeständen beschrieben. Ähnliche Beobachtungen machten auch OPRIESSNIG et al. (2013) und SEO et al. (2014b), die jeweils das Auftreten von PCVD in PCV2-geimpften Beständen in den USA und Korea im Zusammenhang einer PCV2d-Infektion beschrieben. Analog zu den oben genannten PCVD-Ausbrüchen mit Nachweis von PCV2d in PCV2-geimpften Herden, erscheint auch der hier vorliegende Fall sich in eine Reihe von PCVD-Ausbrüchen in geimpften Herden einzureihen (OPRIESSNIG et al., 2013; SEO et al., 2014b; EDDICKS et al., 2015). Die Ursache für diese Fälle konnte bisher noch nicht ausreichend geklärt werden. Eine zu Beginn der Problematik vermutete geringere Impfeffektivität von kommerziellen auf PCV2a basierenden Impfstoffen gegenüber einer PCV2d-Infektion konnte in nachfolgenden Studien sowohl im Feldversuch (OPRIESSNIG et al., 2014a) als

auch in experimentellen Infektionsstudien (OPRIESSNIG et al., 2014b; OPRIESSNIG et al., 2017; KOLYVUSHKO et al., 2019; PARK et al., 2019) nicht gezeigt werden.

Eine mögliche Ursache wäre hingegen ein falscher Umgang mit dem Impfstoff im Sinne einer falschen Lagerung, einer falschen Dosierung oder der Impfung erkrankter Tiere sowie weiterer in den Herstellerangaben des jeweiligen Impfstoffes angegebenen Herangehensweisen bezüglich des Umgangs mit dem Impfstoff. Dies ist weder in der vorliegenden Untersuchung, noch in den oben beschriebenen Studien mit klinischer PCVD-Symptomatik trotz PCV2-Impfung untersucht worden. Jedoch würden diese Fehler im Umgang mit dem Impfstoff genauso bei anderen Genotypen von PCV2 zu einem unzureichenden Impfschutz und klinischer Symptomatik führen.

Im Ferkelerzeugerbestand sowie in den Mastbeständen konnten 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen die Genotypen PCV2a, PCV2b und PCV2d nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu wurde im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens ausschließlich PCV2d nachgewiesen. Eine mögliche Ursache ist, dass sich mithilfe einer Genotyp-spezifischen PCR mehrere PCV2-Genotypen detektieren lassen (GAGNON et al., 2008) wohingegen die Sequenzierung der Nukleotide der DNA des ORF2 ausschließlich den PCV2-Genotypen nachweist, dessen Gehalt in der Probe am höchsten ist (GAGNON et al., 2007). Es ist daher möglich, dass die Genotypen PCV2a und PCV2b bereits im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens in den Mastbeständen und in dem Ferkelerzeugerbestand zirkulierten. Dies ist auch deshalb wahrscheinlich, da diese Genotypen regelmäßig in Schweinebeständen nachgewiesen werden (DUPONT et al., 2008; GERBER et al., 2013)

PCV2d, welches in den Serumproben beider Sauen nachgewiesen wurde, wurde ebenfalls in den Mastbeständen B und C bei den Mastschweinen festgestellt. Durch das Fehlen der Sequenzierungsmöglichkeiten aufgrund der geringen PCV2-DNA Gehalte in den Proben, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, dass es sich um den gleichen PCV2d-Stamm handelt wie 4 Monate zuvor. Diese Annahme ist jedoch aufgrund der hohen Tenazität des Virus sehr wahrscheinlich (ROYER et al., 2001; SEGALÉS et al., 2005b; WELCH et al., 2006; MARTIN et al., 2008; O'DEA et al., 2008; KIM et al., 2009b).

Es stellt sich darüber hinaus die Frage, ob die flächendeckende Impfung der

Tiere, die zu einem Rückgang der PCV2-Prävalenz führt (DVORAK et al., 2016), die wiederum zu einer niedrigeren Durchseuchung der Jungsaunen führt, diese möglicherweise empfänglicher für eine Infektion mit PCV2d macht, was auch EDDICKS et al. (2019) in ihrer Studie vermuten. Hinweise darauf finden sich auch in der vorliegenden Studie bei den Nachweisen von PCV2-Antikörpertitern der Quarantänesauen des Ferkelerzeugerbestandes im Vergleich zu den jungen Saunen in der 1. oder 2. Parität.

Um die Fragestellungen der Ursache des vermehrten Auftretens von PCVD in Schweinebeständen mit etablierter PCV2-Impfung jedoch abschließend klären zu können, bedarf es weiterer Untersuchungen.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Im Zeitraum von Januar 2018 bis Mai 2018 traten in 3 deutschen Mastbeständen verdachtsweise PCV2-assozierten Krankheitsbilder auf. Alle 3 Mastbestände erhielten ihre Ferkel von demselben Ferkelerzeugerbestand, der diese im Saugferkelalter gegen PCV2 impfte. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die während des akuten Krankheitsgeschehens von den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzten durchgeführte Diagnostik retrospektiv ausgewertet. Zusätzlich wurde Ende Juli 2018 eine diagnostische Querschnittsuntersuchung im Ferkelerzeugerbestand durchgeführt um den Infektionsstatus der Sauenherde nach dem akuten Krankheitsgeschehen zu evaluieren und die Sauenherde als möglichen Ausgangspunkt für den zukünftigen Eintrag des nachgewiesenen Virusstammes in die betroffenen Mastbestände zu bewerten.

Insgesamt lagen für die retrospektive Auswertung verschiedene diagnostische Untersuchungsbefunde aus dem Ferkelerzeugerbestand hinsichtlich PCV2-Antikörper- und PCV2-DNA-Nachweisen sowie Befunden aus der Sektion von Dezember 2017 bis Mai 2018 vor. Diese umfassten 42 Saugferkel, 72 Aufzuchtferkel sowie 20 Sauen. Aus den betroffenen Mastbeständen lagen in einem Zeitraum von Januar 2018 bis Mai 2018 Sektionsbefunde von 19 Tieren vor. Im Rahmen der Ende Juli durchgeführten diagnostischen Querschnittsuntersuchung wurden 200 Sauen, 80 Ferkel, 37 in der 1. Lebenswoche erdrückte Ferkel, Spermaproben von 6 Ebern sowie 90 Kaustrickproben zum Nachweis von PCV2-DNA sowie Antikörpern gegen PCV2 untersucht. Des Weiteren standen Leistungsdaten der Mastbestände aus dem Zeitraum vor dem akuten Krankheitsgeschehen zur Beurteilung zur Verfügung.

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse der zu diagnostischen Zwecken untersuchten Tiere aus den 3 Mastbeständen wiesen die von SEGALÉS (2012) beschriebenen Befunde zur Diagnose der PCV2-SD auf. Dazu gehörten unter anderem eine gesteigerte Mortalität, vergrößerte Lymphknoten mit lymphozytärer Depletion und granulomatöser Entzündung sowie eine lymphohistiozytäre bis granulomatöse interstitielle Pneumonie. Darüber hinaus gelang bei den Tieren der Mastbestände A und C mittels Immunhistochemie ein intraläsionaler Nachweis von PCV2-Antigen. Die Tiere des Mastbestandes B

wiesen eine milde Verlaufsform von PCV2-SD sowie Anzeichen von PDNS auf, die vergrößerte Nieren mit petechialen Blutungen der Nierenrinde sowie einer systemischen nekrotisierenden Vaskulitis und einer nicht-eitrigen interstitiellen Nephritis beinhalteten (SEGALÉS, 2012). Daraus ergibt sich, dass in allen betroffenen Mastbeständen PCVD aufgetreten waren. Konkret lagen in den Mastbeständen A und C das klinische Bild der PCV2-SD sowie in Mastbestand B das klinische Bild des PDNS vor. Auch im Ferkelerzeugerbestand ergab die Auswertung der Untersuchungsbefunde bei 2 Aufzuchtferkeln im Februar 2018 die Diagnose PCV2-SD sowie PDNS. Sowohl in den Mastbeständen als auch im Ferkelerzeugerbestand konnte im Zeitraum des akuten Krankheitsgeschehens der Genotyp PCV2d nachgewiesen werden. Die Sequenzierung des ORF2 ergab eine Homologie der Nukleotidsequenz der nachgewiesenen DNA von allen Mastbeständen und dem dazugehörigen Ferkelerzeugerbestand von 100%. Die diagnostische Querschnittsuntersuchung 4 Monate nach dem akuten Krankheitsgeschehen ergab eine Nachweisrate von 1% PCV2-DNA positiver Serumproben der Sauen. Alle Serumproben von den Ferkeln sowie alle Spermaproben von Ebern bzw. Organproben von in der 1. Lebenswoche erdrückter Ferkel waren negativ. PCV2d konnte auch 4 Monate nach dem akuten Krankheitsgeschehen im Ferkelerzeugerbestand und in 2 Mastbeständen nachgewiesen werden. Der Anteil PCV2-DNA-positiver Kastrickproben lag bei 10%. Die Untersuchung der Kastrickproben sowie der Serumproben der Sauen mittels einer Genotyp-spezifischen in-house PCR ergab den Nachweis von PCV2a im Ferkelerzeugerbestand und den Mastbeständen A und B. PCV2b konnte ausschließlich im Ferkelerzeugerbestand nachgewiesen werden. PCV2d wurde im Ferkelerzeugerbestand sowie in Mastbestand B und C detektiert.

Die hohe Homologie der ORF2 Sequenzen der DNA aus dem Ferkelerzeugerbestand sowie den nachgelagerten Mastbeständen weist darauf hin, dass das Virus möglicherweise über die Ferkel in die Mastbestände gelangt ist. Da eine Sequenzierung der DNA aufgrund der geringen PCV2-DNA-Gehalte in den während der Nachuntersuchung gewonnenen Proben nicht möglich war, kann diese Beobachtung für diesen Zeitraum nicht belegt werden. Jedoch konnte PCV2d mittels Genotyp-spezifischer PCR im Ferkelerzeugerbestand sowie in 2 von 3 Mastbeständen nachgewiesen werden. Ob wiederholt PCV2d aus der Sauenherde in die Mastställe gelangte kann nicht bewiesen werden. Möglicherweise handelt es sich um Reinfektionen der Schweinen über die kontaminierte Haltungsumwelt, da PCV2 eine sehr hohe

Tenazität besitzt (ROYER et al., 2001; SEGALÉS et al., 2005a; WELCH et al., 2006; MARTIN et al., 2008; O'DEA et al., 2008; KIM et al., 2009b). Sowohl der Anteil PCV2-DNA-positiver Serumproben junger säugender Sauen sowie der Ferkel als auch die mittleren Antikörpertiter wiesen im Vergleich der Untersuchungen während des akuten Krankheitsgeschehens als auch 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen keine signifikante Veränderung auf.

Die Ursache liegt vermutlich in der bereits im Januar 2018 beginnenden klinischen Symptomatik, sodass eine Infektion der Sauen vermutlich bereits im Oktober 2017 stattfand. Dementsprechend sollte um einen Anstieg der Antikörpertiter sowie der Anteile PCV2-seropositiver Sauen und Ferkel zu detektieren, ein früherer Untersuchungszeitpunkt gewählt werden.



## VII. SUMMARY

Suspicious cases of PCVD were detected from January to May 2018 in three German fattening farms. All of the three fattening farms got their piglets from the same farrowing farm where piglets were vaccinated against PCV2 at the age of 3 weeks. The diagnostic approach of the herd attending veterinarians were evaluated retrospectively. To evaluate the farrowing farm's status regarding PCV2-infection and to assess the possibility of ongoing transmission into fattening farms a herd diagnostic was carried out end of July 2018.

To evaluate of the diagnostic approach of the herd attending veterinarians data were available from 42 suckling piglets, 72 weaning piglets and 20 dams from December 2017 to May 2018 from the farrowing farm. Diagnostics of 19 necropsied animals from the fattening farms were also available for retrospective analysis. For the diagnostic work up in the farrowing farm including PCV2-PCR and ELISA examinations, serum, feces and saliva samples were examined. Samples originate from 200 sows, 80 piglets, 37 crushed piglets and also included semen of 6 boars. Furthermore, 90 oral fluid samples from the fattening farms for detection of PCV2-DNA were collected. Additionally performance data of the fattening farms before disease appearance was analysed.

Pathological examinations of the necropsied animals from the 3 fattening farms revealed PCV2-SD as defined by SEGALÉS (2012) including enlarged lymph nodes with lymphocytic depletion and granulomatous inflammation as well as lymphohistiocytic and granulomatous pneumonia. In addition intralesional detection of PCV2-antigen was observed in the lymphoid tissue of animals from fattening farms A and C which is essential for diagnosis of PCV2-SD (SEGALÉS, 2012). Animals from fattening farms B showed mild findings of PCV2-SD as well as findings of PDNS including enlarged kidneys with cortical petechiae as well as systemic necrotizing vasculitis and non-purulent interstitial nephritis. Signs of PCVD were present in lymphoid tissue of animals from all fattening farms, respectively. Clinical signs of PCV2-SD were present in animals from fattening farm A and C, clinical signs of PDNS were present in animals from fattening farm B. Necropsied piglets from the farrowing farm examined in February 2018 revealed PCV2-SD and PDNS in these animals. Genotype PCV2d was detected in the farrowing farm as well as in the three fattening farms during time of acute clinical signs. Sequencing the ORF2 revealed a 100%

nucleotide homology between farrowing farm and the three fattening farms. One percent PCV2-DNA positive serum samples of sows were detected in the diagnostic cross-sectional study on the farrowing farm. Serum samples of piglets as well as semen samples and tissue samples revealed a negative result concerning PCV2-DNA detection. 10% of the oral fluid samples were positive for PCV2-DNA by PCR. A genotype-specific in house PCR proofed that PCV2a was present in samples of the farrowing farm and the fattening farm A and B. Genotype PCV2b was detected exclusively in samples from the farrowing farm whereas genotype PCV2d could be detected in samples of the farrowing farm and samples of the fattening farms B and C.

High homology of ORF2 sequences in both, farrowing farms and fattening farm, implicates the possibility of transfer of PCV2d from piglets from the farrowing farm to fattening farms. Due to low amounts of PCV2-DNA in the samples of the diagnostic workup in July 2018 sequencing of the detected DNA was not possible. However genotype PCV2d was detected by genotype-specific PCR four months after acute clinical signs in samples of the farrowing farm as well as 2 of 3 fattening farms. There is no evidence of repeated transfer of PCV2d from the farrowing farm to fattening farms but due to the high tenacity of PCV2 there it is likely that reinfection of animals in the fattening farms by contaminated environment might also play a role (ROYER et al., 2001; SEGALÉS et al., 2005a; WELCH et al., 2006; MARTIN et al., 2008; KIM et al., 2009b). The percentage of PCV2-DNA positive samples as well as the mean antibody titers against PCV2 in the serum samples of sows and piglets didn't differ significantly between samples from the period of acute clinical signs and the sample collection four months after the acute outbreak. As clinical signs appeared in January 2018, the infection of sows supposedly already took place in October 2017. Consequentially, an earlier point of time for investigation would be advisable/recommendable to detect increased antibody titres and a higher percentage of PCV2-positive samples of sows and piglets.

## VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Veränderung der Leistungsdaten der betroffenen Mastbestände im Vergleich zwischen den Zeiträumen vor dem beschriebenen Krankheitsgeschehen und während des Krankheitsgeschehens.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 2: Impfrezime der Jungsauen in der Quarantäne im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 3: Impfrezime der Stammsauen im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 4: Impfrezime der Saugferkel im beprobten Ferkelerzeugerbestand unter Angabe des Impfzeitpunktes.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 5: Im Rahmen des diagnostischen Bestandsscreenings der Tiere des Ferkelerzeugerbestandes im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens entnommene Proben. IVD: Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH; CuV Münster; Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland-Emscher-Lippe, Münster; BioScreen: BioScreen Boehringer Ingelheim Animal Health Participations GmbH, Hannover. ....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 6: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e; mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 7: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 8: Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes A im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 9: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 10: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	<i>63</i>

<i>Tabelle 11: Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes B im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	65
<i>Tabelle 12: Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	67
<i>Tabelle 13: Zusammenfassung der histopathologischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	71
<i>Tabelle 14 Zusammenfassung der bakteriologischen, molekularbiologischen und immunhistochemischen Untersuchungsbefunde des Mastbestandes C im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens. Eine Mehrfachnennung von Erregern ist möglich, da mehrere Erreger in einem Organ nachgewiesen werden können. hgr.: hochgradig/e, mgr.: mittelgradig/e; ggr.: geringgradig/e. ....</i>	75
<i>Tabelle 15: Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV2 der Sauen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Abhängigkeit des Produktionsstatus und des Alters (n=199). Angabe in ELISA-Units (EU). Q: Quarantänesau, SW: Säugewoche, TW: Trächtigswoche.....</i>	96
<i>Tabelle 16: Vergleich der Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV2 der Sauen während des Krankheitsgeschehens und 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in ELISA-Units (EU) (n=30). ....</i>	98
<i>Tabelle 17: Darstellung der mittleren Antikörpertiter der Ferkel in der 3. bzw. 6. Lebenswoche 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in ELISA Units (EU). ....</i>	99
<i>Tabelle 18: Darstellung der mittleren Antikörpertiter der Saugferkel in ELISA-Units (EU) während des Krankheitsgeschehens sowie 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen. ....</i>	100

---

*Tabelle 19: Darstellung der Differenzen in der Nukleotidsequenz des ORF2 zwischen dem Referenzstamm KP698395 und den Sequenzen des ORF2 der Proben der während des Krankheitsgeschehens untersuchten Tiere der Mastbestände und des Ferkelerzeugerbestandes. Nicht dargestellte Positionen der Nukleotidsequenz des ORF2 sind zwischen Referenzstamm und Proben identisch. Bei den Proben aus den Mastbeständen handelt es sich um Proben aus Lymphgewebe, bei der Probe der Sau aus dem Ferkelerzeugerbestand handelt es sich um eine Serumprobe. A: Adenin, C: Cytosin, G: Guanin, T: Thymin, Sau 1: Im Mai 2018 beprobte Sau des Ferkelerzeugers mit PCV2-DNA-Nachweis aus dem Serum. .... 101*

*Tabelle 20: Darstellung über das Vorkommen verschiedener PCV2-Genotypen in den beprobten Beständen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen. .... 102*

## IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Anteil der im Ferkelerzeugerbestand beprobten Sauen 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Abhängigkeit vom Produktionsstatus und des Alters in Prozent (n=200).....</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 2: Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte der Lymphknoten im Vergleich der Mastbestände im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens in Genomäquivalenten pro ng DNA (logGE/ng DNA) (n=19). Der CutOff für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 5logGE/ng DNA, der CutOff für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 7logGE/ng DNA.....</i>	<i>77</i>
<i>Abbildung 3: Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte des Lungengewebes im Vergleich der Mastbestände in Ct-Werten (n=19).....</i>	<i>78</i>
<i>Abbildung 4: Darstellung der PCV2-DNA-Gehalte der Haut im Vergleich zwischen den Tieren der Mastbestände im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens in Genomäquivalenten pro ng DNA (logGE/ng DNA) (n=19). Der CutOff für das Risiko einer milden Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 5logGE/ng DNA, der CutOff für das Risiko einer schweren Verlaufsform von PCV2-SD liegt bei 7logGE/ng DNA.....</i>	<i>79</i>
<i>Abbildung 5: Anteil der im Zeitraum des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) untersuchten Saugferkel in Abhängigkeit des Ergebnisses der ELISA-Untersuchung auf Antikörpertiter gegen PCV2 aus dem Serum in Prozent (n=30). ....</i>	<i>83</i>
<i>Abbildung 6: Darstellung der Antikörpertiter gegen PCV2 der Saugferkel in ELISA-Units (EU) im Zeitraum während des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) (n=30). Der CutOff für positive Proben liegt bei 900EU.....</i>	<i>84</i>
<i>Abbildung 7: Anteil der im Zeitraum des Krankheitsgeschehens (Untersuchung im Mai 2018) untersuchten Sauen in Abhängigkeit des Ergebnisses der ELISA-Untersuchung auf Antikörpertiter gegen PCV2 in Prozent (n=10).....</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 8: Prozentualer Anteil PCV2-positiver Kastrickproben in Abhängigkeit des beprobten Mastbestandes und der Altersgruppe im Zeitraum 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen in Prozent (n=90 Kastricke). Beprobte wurde mit je 10 Kastricken pro Mastbestand und Altersgruppe.....</i>	<i>90</i>
<i>Abbildung 9: Prozentualer Anteil der Sauen in Abhängigkeit von der Parität und der Beurteilung des Ergebnisses der Untersuchung mittels ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 der Untersuchung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199).....</i>	<i>93</i>

- Abbildung 10: Prozentualer Anteil der Sauen in Abhängigkeit vom Produktionsstatus und dem Ergebnis der ELISA-Untersuchung zum Nachweis von Antikörpertitern gegen PCV2 der Untersuchung 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199)..... 94*
- Abbildung 11: Mittelwerte der Antikörpertiter gegen PCV2 der Quarantänesauen, der jungen Sauen (1. und 2. Parität) und der älteren Sauen (Parität >2) 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen (n=199). Angabe in ELISA-Units (EU)..... 95*
- Abbildung 12: Anteil der Ferkel in der 3. bzw. 6. Lebenswoche in Abhängigkeit vom Ergebnis der ELISA-Untersuchung (Beurteilung der Ergebnisse angegeben in deutlich positiv (>2.000EU), schwach positiv (900-2.000EU) und negativ (<900EU)) zum Nachweis von Antikörpern gegen PCV2 4 Monate nach dem Krankheitsgeschehen aus dem Serum in Prozent (n=80). ..... 97*

## **X. LITERATURVERZEICHNIS**

Afghah Z, Webb B, Meng X-J, Ramamoorthy S. Ten years of PCV2 vaccines and vaccination: is eradication a possibility? *Veterinary Microbiology* 2017; 206: 21-28.

Allan G, Krakowka S, Ellis J, Charreyre C. Discovery and evolving history of two genetically related but phenotypically different viruses, porcine circoviruses 1 and 2. *Virus Research* 2012; 164: 4-9.

Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 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. *Veterinary Research* 2008; 39: 43-55.

Aramouni M, Segalés J, Sibila M, Martin-Valls G, Nieto D, Kekarainen T. Torque teno sus virus 1 and 2 viral loads in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) affected pigs. *Veterinary Microbiology* 2011; 153: 377-381.

Baró J, Segalés J, Martínez J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: an independent condition or part of the systemic disease? *Veterinary Microbiology* 2015; 176: 83-87.

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

Blümel J, Schmidt I, Willkommen H, Löwer J. Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion* 2002; 42: 1011-1018.



Brockmeier SL, Halbur PG, Thacker EL. Porcine respiratory disease complex. In: Polymicrobial Diseases: American Society of Microbiology 2002: 231-258.

Brunborg IM, Moldal T, Jonassen CM. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *Journal of Virological Methods* 2004; 122: 171-178.

Carman S, Cai HY, DeLay J, Youssef SA, McEwen BJ, Gagnon CA, Tremblay D, Hazlett M, Lulis P, Fairles J. The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated disease -- 2004-2006. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2008; 72: 259.

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

Chaiyakul M, Hsu K, Dardari R, Marshall F, Czub M. Cytotoxicity of ORF3 proteins from a nonpathogenic and a pathogenic porcine circovirus. *Journal of Virology* 2010; 84: 11440-11447.

Cheung AK. Comparative analysis of the transcriptional patterns of pathogenic and nonpathogenic porcine circoviruses. *Virology* 2003a; 310: 41-49.

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

Cheung AK. Rolling-circle replication of an animal circovirus genome in a theta-replicating bacterial plasmid in *Escherichia coli*. *Journal of Virology* 2006; 80: 8686-8694.

Choi C, Chae C. In-situ hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology* 1999; 121: 265-270.

Chung W-B, Chan W-H, Chaung H-C, Lien Y, Wu C-C, Huang Y-L. Real-time PCR for quantitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in naturally-infected and challenged pigs. *Journal of Virological Methods* 2005; 124: 11-19.

Constans M, Ssemadaali M, Kolyvushko O, Ramamoorthy S. Antigenic determinants of possible vaccine escape by porcine circovirus subtype 2b viruses. *Bioinformatics and Biology Insights* 2015; 9: 1-12.

Cortey M, Napp S, Alba A, Pileri E, Grau-Roma L, Sibila M, Segalés J. Theoretical and experimental approaches to estimate the usefulness of pooled serum samples for the diagnosis of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2011; 23: 233-240.

Crowther R, Berriman J, Curran W, Allan G, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. *Journal of Virology* 2003; 77: 13036-13041.

Da Silva N, Carriquiry A, O'Neill K, Opriessnig T, O'Connor A. Mixed treatment comparison meta-analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines used in piglets. *Preventive Veterinary Medicine* 2014; 117: 413-424.

Darwich L, Segales J, Mateu E. Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by porcine circovirus 2: an immune riddle. *Archives of Virology* 2004; 149: 857-874.

Dee S, Otake S, Oliveira S, Deen J. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Research* 2009; 40: 1-13.

Dias A, Gerber P, Araujo A, Auler P, Gallinari G, Lobato Z. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Research in Veterinary Science* 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. *Preventive Veterinary Medicine* 2018; 153: 42-46.

Drolet R, Larochelle R, Morin M, Delisle B, Magar R. Detection rates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, and swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Veterinary Pathology* 2003; 40: 143-148.

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

Dupont K, Hjulsgaard CK, Kristensen C, 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. *Veterinary Microbiology* 2009; 139: 219-226.

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

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

Eddicks M, Fux R, Szikora F, Eddicks L, Majzoub-Altweck M, Hermanns W, Sutter G, Palzer A, Banholzer E, Ritzmann M. Detection of a new cluster of porcine circovirus type 2b strains in domestic pigs in Germany. *Veterinary Microbiology* 2015; 176: 337-343.

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. *Veterinary Microbiology* 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. *Veterinary Research* 2019; 184: 189-195.

Edlefsen PT. Leaky vaccines protect highly exposed recipients at a lower rate: implications for vaccine efficacy estimation and sieve analysis. *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2014; 2014: 813789-813801.

Ellis J, Clark E, Haines D, West K, Krakowka S, Kennedy S, Allan G. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology* 2004; 98: 159-163.

Faurez F, Dory D, Henry A, Bougeard S, Jestin A. Replication efficiency of rolling-circle replicon-based plasmids derived from porcine circovirus 2 in eukaryotic cells. *Journal of Virological Methods* 2010; 165: 27-35.

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

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.

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

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

Franzo G, Cortey M, Segalés J, Hughes J, Drigo M. Phylodynamic analysis of porcine circovirus type 2 reveals global waves of emerging genotypes and the circulation of recombinant forms. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2016; 100: 269-280.

Franzo G, Segalés J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS One* 2018; 13: e0208585.

Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne M-H, Houde A, Elahi SM. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 2007; 48: 811.

Gagnon CA, Del Castillo JR, Music N, Fontaine G, Harel J, Tremblay D. Development and use of a multiplex real-time quantitative polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of Porcine circovirus-2 genotypes 2a and 2b in an epidemiological survey. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2008; 20: 545-558.

Gassmann M, Focher F, Buhk H-J, Ferrari E, Spadari S, Hübscher U. Replication of single-stranded porcine circovirus DNA by DNA polymerases alpha and delta. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression* 1988; 951: 280-289.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana ÂM, Lobato ZI. Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *The Veterinary Journal* 2011; 188: 240-242.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana ÂM, Lobato ZI. Fetal infections and antibody profiles in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Canadian Journal of Veterinary Research* 2012; 76: 38-44.

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

Gillespie J, Opriessnig T, Meng X, Pelzer K, Buechner-Maxwell V. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2009; 23: 1151-1163.

Gilpin D, McCullough K, Meehan B, McNeilly F, McNair I, Stevenson L, Foster J, Ellis J, Krakowka S, Adair B. In vitro studies on the infection and replication of porcine circovirus type 2 in cells of the porcine immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2003; 94: 149-161.

Grau-Roma L, Hjulsager CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enøe C, Casal J, Bøtner A, Nofrarías M, Bille-Hansen V. 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. *Veterinary Microbiology* 2009; 135: 272-282.

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

Guo LJ, Lu YH, Wei YW, Huang LP, Liu CM. Porcine circovirus type 2 (PCV2): genetic variation and newly emerging genotypes in China. *Virology Journal* 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. *Veterinary Microbiology* 2014; 168: 272-280.

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

Hansen MS, Hjulsgaard CK, Bille-Hansen V, Haugegaard S, Dupont K, Høgedal P, Kunstmann L, Larsen LE. Selection of method is crucial for the diagnosis of porcine circovirus type 2 associated reproductive failures. *Veterinary Microbiology* 2010; 144: 203-209.

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

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

Harms P, Sorden S, Halbur P, Bolin S, Lager K, Morozov I, Paul P. Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Pathology* 2001; 38: 528-539.

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research* 1996; 6: 986-994.

Hermann JR, Brockmeier SL, Yoon K-J, Zimmerman JJ. Detection of respiratory pathogens in air samples from acutely infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2008; 72: 367.

Hernandez-Garcia J, Robben N, Magnée 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 Management* 2017; 3: 7.

Heyraud F, Matzeit V, Kammann M, Schaefer S, Schell J, Gronenborn B. Identification of the initiation sequence for viral- strand DNA synthesis of wheat dwarf virus. *The EMBO Journal* 1993; 12: 4445-4452.

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

Juhan N, LeRoith T, Opriessnig T, Meng X. The open reading frame 3 (ORF3) of porcine circovirus type 2 (PCV2) is dispensable for virus infection but evidence of reduced pathogenicity is limited in pigs infected by an ORF3-null PCV2 mutant. *Virus Research* 2010; 147: 60-66.

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

Karuppannan AK, Jong MH, Lee S-H, Zhu Y, Selvaraj M, Lau J, Jia Q, Kwang J. Attenuation of porcine circovirus 2 in SPF piglets by abrogation of ORF3 function. *Virology* 2009; 383: 338-347.

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

Khayat R, Brunn N, Speir JA, Hardham JM, Ankenbauer RG, Schneemann A, Johnson JE. The 2.3-angstrom structure of porcine circovirus 2. *Journal of Virology* 2011; 85: 7856-7862.



Kim D, Ha Y, Lee Y-H, Chae S, Lee K, Han K, Kim J, Lee J-H, Kim S-H, Hwang K-K. Comparative study of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of porcine circovirus 2 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Journal of Veterinary Medical Science* 2009a; 71: 1001-1004.

Kim H, Lyoo K, Joo H. Efficacy of different disinfectants in vitro against porcine circovirus type 2. *Veterinary Record* 2009b; 164: 599.

Kim J, Han DU, Choi C, Chae C. Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1 and PCV-2 in boar semen using a multiplex nested polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods* 2001; 98: 25-31.

Kim J, Chung H-K, Jung T, Cho W-S, Choi C, Chae C. Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. *Journal of Veterinary Medical Science* 2002; 64: 57-62.

Kim J, Chung H-K, Chae C. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *The Veterinary Journal* 2003; 166: 251-256.

Kim J, Chae C. Optimal enhancement of in situ hybridization for the detection of porcine circovirus 2 in formalin-fixed, paraffin-wax-embedded tissues using a combined pretreatment of thermocycler and proteinase K. *Research in Veterinary Science* 2003; 74: 235-240.

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. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2004; 16: 45-50.

Kixmüller M, Ritzmann M, Eddicks M, Saalmüller A, Elbers K, Fachinger V. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 2008; 26: 3443-3451.

Klausmann S, Sydler T, Artur S, 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. *Emerging Microbes & Infections* 2015; 4: 1-12.

Kolyvushko O, Rakibuzzaman A, Pillatzki A, Webb B, Ramamoorthy S. Efficacy of a Commercial PCV2a Vaccine with a Two-Dose Regimen Against PCV2d. *Veterinary Sciences* 2019; 6: 61-70.

Krakovka S, Ellis J, 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. *Veterinary Pathology* 2000; 37: 254-263.

Krakovka S, Ellis J, McNeilly F, Ringler S, Rings D, Allan G. Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). *Veterinary Pathology* 2001; 38: 31-42.

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

Kukushkin S, Okovytya T. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 in commercial pig farms in Russia. *Veterinary Record Case Reports* 2013; 1: e100874.

Kwon T, Lee D-U, Yoo SJ, Sang HJ, Shin JY, Lyoo YS. Genotypic diversity of porcine circovirus type 2 (PCV2) and genotype shift to PCV2d in Korean pig population. *Virus Research* 2017; 228: 24-29.

Kyriakis S, Saoulidis K, Lekkas S, Miliotis CC, Papoutsis P, Kennedy S. The effects of immuno-modulation on the clinical and pathological expression of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology* 2002; 126: 38-46.

Larochelle R, Bielanski A, Müller P, Magar R. PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38: 4629-4632.

Lekcharoensuk P, Morozov I, Paul PS, Thangthumnyom N, Wajjawalku W, Meng X. Epitope mapping of the major capsid protein of type 2 porcine circovirus (PCV2) by using chimeric PCV1 and PCV2. *Journal of Virology* 2004; 78: 8135-8145.

Li L, Yuan W, Guo H, Ma Z, Song Q, Wang X, Li H. Prevalence and genetic variation of porcine circovirus type 2 in Hebei, China from 2004 to 2014. *Gene* 2016; 586: 222-227.

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. *Journal of Veterinary Medical Science* 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. *Journal of Virology* 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. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38: 3474-3477.

López-Soria S, Maldonado J, Riera P, Nofrarías M, Espinal A, Valero O, Blanchard P, Jestin A, Casal J, Domingo M. Selected Swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transboundary and Emerging Diseases* 2010; 57: 171-179.

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

Madec F, Rose N, Grasland B, Cariolet R, Jestin A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome and other PCV2-related problems in pigs: a 12-year experience. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008; 55: 273-283.

Madson D, Patterson A, Ramamoorthy S, Pal N, Meng X, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology* 2009; 46: 707-716.

Madson DM, Ramamoorthy S, Kuster C, Pal N, Meng X-J, Halbur PG, Opriessnig T. Characterization of shedding patterns of porcine circovirus types 2a and 2b in experimentally inoculated mature boars. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2008; 20: 725-734.

Magar R, Müller P, Larochelle R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2000a; 64: 184.

Magar R, Larochelle R, Thibault S, Lamontagne L. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study. *Journal of Comparative Pathology* 2000b; 123: 258-269.

Mankertz A, Persson F, Mankertz J, Blaess G, Buhk H-J. Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. *Journal of Virology* 1997; 71: 2562-2566.

Mankertz A, Mankertz J, Wolf K, Buhk H-J. Identification of a protein essential for replication of porcine circovirus. *Journal of General Virology* 1998a; 79: 381-384.

Mankertz A, Çaliskan R, Hattermann K, Hillenbrand B, Kurzendoerfer P, Mueller B, Schmitt C, Steinfeldt T, Finsterbusch T. Molecular biology of Porcine circovirus: analyses of gene expression and viral replication. *Veterinary Microbiology* 2004; 98: 81-88.

Mankertz J, Buhk H-J, Blaess G, Mankertz A. Transcription analysis of porcine circovirus (PCV). *Virus Genes* 1998b; 16: 267-276.

Martin H, Le Potier M-F, Maris P. Virucidal efficacy of nine commercial disinfectants against porcine circovirus type 2. *The Veterinary Journal* 2008; 177: 388-393.

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

McNeilly F, Kennedy S, Moffett D, Meehan B, Foster J, Clarke E, Ellis J, Haines D, Adair B, Allan G. 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). *Journal of Virological 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. *Journal of General Virology* 1998; 79: 2171-2179.

Meerts P, Gucht SV, Cox E, Vandebosch A, Nauwynck H. Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. *Viral Immunology* 2005; 18: 333-341.

Misinzo G, Meerts P, Bublot M, Mast J, Weingartl H, Nauwynck H. Binding and entry characteristics of porcine circovirus 2 in cells of the porcine monocytic line 3D4/31. *Journal of General Virology* 2005; 86: 2057-2068.

Misinzo G, Delputte P, Lefebvre D, Nauwynck H. Porcine circovirus 2 infection of epithelial cells is clathrin-, caveolae- and dynamin-independent, actin and Rho-GTPase-mediated, and enhanced by cholesterol depletion. *Virus Research* 2009; 139: 1-9.

Morin M, Girard C, ElAzahry Y, Fajardo R, Drolet R, Lagace A. Severe proliferative and necrotizing pneumonia in pigs: a newly recognized disease. *The Canadian Veterinary Journal* 1990; 31: 837.

Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In: *Recombinant DNA Methodology* San Diego, California: Academic Press Inc. 1989: 189-206.

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. *Journal of General Virology* 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. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002; 9: 33-40.

Nickoll I, Striegl J, Fux R, Sutter G, Ritzmann M, Eddicks M. Porcine Circovirus Typ 2 (PCV2)-Infektionen in oberbayerischen Schweinemastbeständen mit routinemäßiger Impfung gegen PCV2 - Bedeutung für das Auftreten von Lungenveränderungen bei Schlachttierkörpern. *Tierärztliche Umschau* 2016; 71: 360-370.

O'Dea MA, Hughes AP, Davies LJ, Muhling J, Buddle R, Wilcox G. Thermal stability of porcine circovirus type 2 in cell culture. *Journal of Virological Methods* 2008; 147: 61-66.

Oh Y, Seo HW, Park C, Chae C. Comparison of sow and/or piglet vaccination of 3 commercial porcine circovirus type 2 (PCV2) single-dose vaccines on pigs under experimental PCV2 challenge. *Veterinary Microbiology* 2014; 172: 371-380.

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. *Journal of Virological Methods* 2004; 117: 75-80.

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

Opriessnig T, Kuster C, Halbur P. Demonstration of porcine circovirus type 2 in the testes and accessory sex glands of a boar. *Journal of Swine Health and Production* 2006; 14: 42-45.

Opriessnig T, Meng X-J, Halbur PG. Porcine circovirus type 2-associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007; 19: 591-615.

Opriessnig T, Patterson AR, Meng X-J, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 in muscle and bone marrow is infectious and transmissible to naive pigs by oral consumption. *Veterinary Microbiology* 2009; 133: 54-64.

Opriessnig T, Giménez-Lirola L, Halbur P. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews* 2011; 12: 133-148.

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

Opriessnig T, Xiao C-T, Gerber PF, Halbur PG. Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the US concurrently infected with PPV2. *Veterinary Microbiology* 2013; 163: 177-183.

Opriessnig T, Langohr I. Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. *Veterinary Pathology* 2013; 50: 23-38.

Opriessnig T, Gerber PF, Xiao C-T, Halbur PG, Matzinger SR, Meng X-J. Commercial PCV2a-based vaccines are effective in protecting naturally PCV2b-infected finisher pigs against experimental challenge with a 2012 mutant PCV2. *Vaccine* 2014a; 32: 4342-4348.

Opriessnig T, Gerber PF, Xiao C-T, Mogler M, Halbur PG. A commercial vaccine based on PCV2a and an experimental vaccine based on a variant mPCV2b are both effective in protecting pigs against challenge with a 2013 US variant mPCV2b strain. *Vaccine* 2014b; 32: 230-237.

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

Palinski R, Piñeyro P, Shang P, Yuan F, Guo R, Fang Y, Byers E, Hause BM. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. *Journal of Virology* 2017; 91: e01879-01816.

Park KH, Oh T, Yang S, Cho H, Kang I, Chae C. Evaluation of a porcine circovirus type 2a (PCV2a) vaccine efficacy against experimental PCV2a, PCV2b, and PCV2d challenge. *Veterinary Microbiology* 2019; 231: 87-92.



Pérez-Martín E, Rovira A, Calsamiglia M, Mankertz A, Rodríguez F, Segalés J. A new method to identify cell types that support porcine circovirus type 2 replication in formalin-fixed, paraffin-embedded swine tissues. *Journal of Virological Methods* 2007; 146: 86-95.

Phan TG, Giannitti F, Rossow S, Marthaler D, Knutson TP, Li L, Deng X, Resende T, Vannucci F, Delwart E. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. *Virology Journal* 2016; 13: 184.

Phenix KV, Weston JH, Ypelaar I, Lavazza A, Smyth JA, Todd D, Wilcox GE, Raidal SR. Nucleotide sequence analysis of a novel circovirus of canaries and its relationship to other members of the genus *Circovirus* of the family *Circoviridae*. *Journal of General Virology* 2001; 82: 2805-2809.

Porgranichnyy RM, Yoon K-J, Harms PA, Swenson SL, Zimmerman JJ, Sorden SD. Characterization of immune response of young pigs to porcine circovirus type 2 infection. *Viral Immunology* 2000; 13: 143-153.

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. *Journal of Swine Health and Production* 2008; 16: 86-91.

Pringle C. Virus taxonomy at the XIth international congress of virology, Sydney, Australia, 1999. *Archives of Virology* 1999; 144: 2065-2070.

Ramamoorthy S, Meng X-J. Porcine circoviruses: a minuscule yet mammoth paradox. *Animal Health Research Reviews* 2009; 10: 1-20.

Ramírez-Mendoza H, Castillo-Juárez H, Hernández J, Correa P, Segalés J. Retrospective serological survey of porcine circovirus-2 infection in Mexico. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2009; 73: 21.

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. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 2015; 28: 218-228.

Ritchie BW, Niagro FD, Lukert PD, Steffens III WL, Latimer KS. Characterization of a new virus from cockatoos with psittacine beak and feather disease. *Virology* 1989; 171: 83-88.

Rodríguez-Arrijo GM, Segalés J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Durán J, Casal J, Domingo M. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research* 2002; 63: 354-357.

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

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

Rosell C, Segalés J, Plana-Duran J, Balasch M, Rodríguez-Arrijo G, Kennedy S, Allan G, McNeilly F, Latimer K, Domingo M. Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Journal of Comparative Pathology* 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. *Journal of Virology* 2002; 76: 3232-3239.

Royer RL, Nawagitgul P, Halbur PG, Paul PS. Susceptibility of porcine circovirus type 2 to commercial and laboratory disinfectants. *Journal of Swine Health and Production* 2001; 9: 281-284.

Salgado RL, Vidigal PM, de Souza LF, Onofre TS, Gonzaga NF, Eller MR, Bressan GC, Fietto JL, Almeida MR, Júnior AS. Identification of an emergent porcine circovirus-2 in vaccinated pigs from a Brazilian farm during a postweaning multisystemic wasting syndrome outbreak. *Genome Announcements* 2014; 2: e00163-00114.

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

Sarli G, Mandrioli L, Laurenti M, Sidoli L, Cerati C, Rolla G, Marcato P. Immunohistochemical characterisation of the lymph node reaction in pig postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 83: 53-67.

Schmoll F, Lang C, Steinrigl A, Schulze K, Kauffold J. Prevalence of PCV2 in Austrian and German boars and semen used for artificial insemination. *Theriogenology* 2008; 69: 814-821.

Schulze C, Neumann G, Grütze I, Engelhardt A, Mirle C, Ehlert F, Hlinak A. Porcine Circovirus Typ 2-Infektion bei einem Wildschwein (*Sus scrofa*) im Land Brandenburg. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 2003; 110: 426-428.

Segalés J, Alonso F, Rosell C, Pastor J, Chianini F, Campos E, Lopez-Fuertes L, Quintana J, Rodriguez-Arriola G, Calsamiglia M. Changes in peripheral blood leukocyte populations in pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81: 37-44.

Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Veterinary Microbiology* 2004; 98: 137-149.

Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 2005a; 6: 119-142.

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). *Veterinary Microbiology* 2005b; 111: 223-229.

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

Segalés J, Allan G, Domingo M. Circoviruses. In: *Diseases of Swine*, 11 edn. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, eds. Hoboken: Wiley Blackwell 2019: 473-487.

Seo HW, Han K, Oh Y, Kang I, Park C, Joo HE, Kim S-H, Lee B-H, Chae C. Evaluation of commercial polyclonal-and monoclonal-antibody-based immunohistochemical tests for 2 genotypes of Porcine circovirus type 2 and comparison with in-situ hybridization assays. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2014a; 78: 233-236.

Seo HW, Park C, Kang I, Choi K, Jeong J, Park S-J, Chae C. Genetic and antigenic characterization of a newly emerging porcine circovirus type 2b mutant first isolated in cases of vaccine failure in Korea. *Archives of Virology* 2014b; 159: 3107-3111.

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. *Preventive Veterinary Medicine* 2010a; 97: 228-236.

Shen H, Beach N, Huang Y, Halbur P, Meng X, Opriessnig T. Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV). *Vaccine* 2010b; 28: 5960-5966.

Shibahara T, Sato K, Ishikawa Y, Kadota K. Porcine circovirus induces B lymphocyte depletion in pigs with wasting disease syndrome. *Journal of Veterinary Medical Science* 2000; 62: 1125-1131.

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. *Journal of Veterinary Medical Science* 2003; 65: 405-408.

Shibata I, Okuda Y, Kitajima K, Asai T. Shedding of porcine circovirus into colostrum of sows. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 2006; 53: 278-280.

Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Blanchard P, Badiella L, Le Dimna M, Jestin A, Domingo M. Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research* 2004; 65: 88-92.

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. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1999; 11: 528-530.

Sorden SD. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Swine Health and Production* 2000; 8: 133-136.

Stevenson LS, Gilpin DF, Douglas A, McNeilly F, McNair I, Adair BM, Allan GM. T lymphocyte epitope mapping of porcine circovirus type 2. *Viral Immunology* 2007; 20: 389-398.

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.

Terai C, Wasson D, Carrera C, Carson D. Dependence of cell survival on DNA repair in human mononuclear phagocytes. *The Journal of Immunology* 1991; 147: 4302-4306.

Thacker EL, Thacker BJ, Janke BH. Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and swine influenza virus. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39: 2525-2530.

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

Tischer I, Peters D, Rasch R, Pociuli S. Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence. *Archives of Virology* 1987; 96: 39-57.

Todd D, Creelan JL, Mackie DP, Rixon F, McNulty MS. Purification and biochemical characterization of chicken anaemia agent. *Journal of General Virology* 1990; 71: 819-823.

Todd D, Niagro F, Ritchie B, Curran W, Allan G, Lukert P, Latimer K, Steffens Wr, McNulty M. Comparison of three animal viruses with circular single-stranded DNA genomes. *Archives of Virology* 1991; 117: 129-135.

Verreault D, Létourneau V, Gendron L, Massé D, Gagnon CA, Duchaine C. Airborne porcine circovirus in Canadian swine confinement buildings. *Veterinary Microbiology* 2010; 141: 224-230.

Vicente J, Segalés J, Höfle U, Balasch M, Plana-Durán J, Domingo M, Gortázar C. Epidemiological study on porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Veterinary Research* 2004; 35: 243-253.

Vincent I, Carrasco C, Herrmann B, Meehan B, Allan G, Summerfield A, McCullough K. Dendritic cells harbor infectious porcine circovirus type 2 in the absence of apparent cell modulation or replication of the virus. *Journal of Virology* 2003; 77: 13288-13300.

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. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000; 12: 400-405.

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 G, Stockhofe-Zurwieden N, Boersma W, De Jong M, Elbers A. The presence of co-infections in pigs with clinical signs of PMWS in The Netherlands: a case-control study. *Research in Veterinary Science* 2004; 77: 177-184.

Welti S, Sydler T, Wiederkehr D, Pospischil A, Hässig M, Bürgi E, Sidler X. «Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome» (PMWS) und «Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome» (PDNS) in der Schweiz in den Jahren 2003-2006. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2012; 154: 417-427.

Woods LW, Latimer KS, Barr BC, Niagro FD, Campagnoli RP, Nordhausen RW, Castro AE. Circovirus-like infection in a pigeon. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1993; 5: 609-612.

Xia D, Huang L, Xie Y, Zhang X, Wei Y, Liu D, Zhu H, Bian H, Feng L, Liu C. The prevalence and genetic diversity of porcine circovirus types 2 and 3 in Northeast China from 2015 to 2018. *Archives of Virology* 2019; 164: 2435-2449.

Xiao C-T, Halbur PG, Opriessnig T. Complete genome sequence of a novel porcine circovirus type 2b variant present in cases of vaccine failures in the United States. *Journal of Virology* 2012; 86: 12469-12469.

Xiao C-T, 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. *Journal of General Virology* 2015; 96: 1830-1841.

Xiao C-T, Harmon KM, Halbur PG, Opriessnig T. PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the US during 2014–2016. *Veterinary Microbiology* 2016; 197: 72-77.

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

Zhan Y, Wang N, Zhu Z, Wang Z, Wang A, Deng Z, Yang Y. In silico analyses of antigenicity and surface structure variation of an emerging porcine circovirus genotype 2b mutant, prevalent in southern China from 2013 to 2015. *Journal of General Virology* 2016; 97: 922.

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



## **XI. DANKSAGUNG**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung des spannenden Themas, sein stets offenes Ohr für alle Sorgen innerhalb und außerhalb der Klinik und seine außerordentliche Hilfsbereitschaft.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Betreuer Herrn Dr. Matthias Eddicks für die fachliche Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchung und der Korrektur meiner Arbeit bedanken.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. Robert Fux für die Unterstützung in allen virologischen Fragestellungen meiner Doktorarbeit bedanken.

Für die Erstellung des statistischen Gutachtens gilt mein Dank Herrn Dr. Sven Reese.

Bei der Firma Zoetis Deutschland GmbH möchte ich mich für die Unterstützung des Projekts bedanken. Besonders gilt mein Dank Frau Dr. Elisabeth Banholzer und Herrn Dr. Thorsten Bekendorf für die Unterstützung und auch die Hilfe bei der Probennahme.

Den bestandsbetreuenden Tierärztinnen und Tierärzte der untersuchten Bestände sowie den Landwirtinnen und Landwirten möchte ich mich ganz besonders für die Unterstützung bei der Probennahme und die Kooperation bedanken. Ohne eine solche Zusammenarbeit wäre eine Doktorarbeit wie diese nicht möglich gewesen.

Meinen Kolleginnen und Kollegen an der Klinik für Schweine danke ich für die tolle, wenn auch kurze gemeinsame Zeit und für viele fachliche und „fachliche“ Gespräche.

Zum Schluss möchte ich natürlich meiner Familie und meinen Freunden danken, die mir Rat(h) und Tat und nach bestem Wissen und Gewissen zur Seite gestanden haben. Ich bin froh, dass ich mich jederzeit auf euch verlassen kann.