

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

**Vergleich von Untersuchungsmaterialien für den
Nachweis von Influenza A Viren in unterschiedlichen
Altersgruppen endemisch infizierter Schweinebestände**

von Sophia Franziska Zwickl

aus Straubing

München 2024

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

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

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

Mitbetreuung durch: Dr. Julia Stadler, Dr. Sophie Gumbert

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Frank Ebel

Tag der Promotion: 10. Februar 2024

Meiner Familie, meinen Freunden und den Tieren

Während der Anfertigung dieser Dissertation wurden Teile der vorliegenden Arbeit bereits veröffentlicht:

Comparison of different sampling materials for subtyping of Influenza A virus in endemic infected pig herds

S. Gumbert¹, S. Zwickl¹, K. Lillie-Jaschniski², V. Skampardonis³, M. Ritzmann¹, J. Stadler¹

¹ *Clinic for swine at the Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Oberschleißheim, Germany*

² *CEVA Santé Animale S.A., Libourne, France*

³ *Department of Epidemiology, Biostatistics and Animal Health Economics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, Karditsa, Greece*

In: 14th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), May 31 – June 2, 2023, Thessaloniki, Greece: 59.

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Influenza	3
1.1.	Ätiologie.....	3
1.1.1.	Taxonomie, Klassifikation und Morphologie	3
1.1.2.	Replikation.....	4
1.1.3.	Genetische Variabilität.....	5
1.2.	Epidemiologie	7
1.3.	Pathogenese	8
1.4.	Klinik.....	9
1.5.	Diagnose	11
1.5.1.	Direkter Erregernachweis.....	12
1.5.1.1.	Virusisolierung.....	12
1.5.1.2.	Immunassay.....	13
1.5.1.3.	Polymerase-Kettenreaktion.....	13
1.5.2.	Indirekter Erregernachweis	15
1.5.2.1.	Virusneutralisationstest (VNT).....	15
1.5.2.2.	Enzyme linked immunosorbent Assay (ELISA).....	15
1.5.2.3.	Hämagglutinationshemmungstest	16
1.5.2.4.	Kreuzreaktivität.....	17
1.6.	Monitoring- und Surveillance-Systeme	17
III.	MATERIAL UND METHODEN	19
1.	Arbeitshypothesen	19
2.	Auswahl der Bestände	19
3.	Beprobung	21
3.1.	Beprobungsschema	21
3.2.	Einzelproben und Poolproben	23
3.3.	Durchführung der Probenentnahme.....	26
3.3.1.	Gewinnung der Blutproben	26
3.3.2.	Gewinnung der Nasentupfer.....	26
3.3.3.	Gewinnung der Gesäugewischproben.....	27

3.3.4.	Gewinnung der Umgebungsproben	27
3.3.5.	Gewinnung der Tracheobronchialtupfer	29
3.3.6.	Gewinnung der Oral Fluids.....	30
3.3.7.	Erhebung des Husten- und Niesindex.....	31
3.4.	Probenversand und Lagerung	32
3.5.	Labordiagnostik.....	32
3.5.1.	PCR zum Nachweis von Influenza A Viren	32
3.5.2.	Hämagglutinationshemmungstest zum Nachweis von IAV- Antikörpern.....	33
3.5.3.	Weitere Untersuchungen.....	34
3.6.	Statistische Auswertung	34
IV.	ERGEBNISSE	37
1.	Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren.....	37
1.1.	Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren aller untersuchter Materialien auf Betriebsebene	37
1.2.	Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren aller untersuchter Materialien auf Probenebene	37
1.2.1.	Nachweis von IAV mittels RT-qPCR in den einzelnen Altersgruppen.....	41
1.2.1.1.	Ergebnisse der Sauen.....	41
1.2.1.2.	Ergebnisse der Saugferkel.....	42
1.2.1.3.	Ergebnisse der Aufzuchtferkel	43
1.2.2.	Nachweis in den unterschiedlichen Produktionsstufen bzw. Altersgruppen auf Betriebsebene.....	45
2.	Indirekter Erregernachweis von Influenza A Viren mittels Hämagglutinationshemmungstest	47
3.	Klinisches Erscheinungsbild	53
V.	DISKUSSION	59
1.	Auswahl der Betriebe und Studiendesign	59
2.	Nachweis von IAV in den Betrieben	61
3.	Nachweis in den unterschiedlichen Altersgruppen.....	63
3.1.	Nachweis bei den Sauen	63

3.2.	Nachweis bei den Saugferkeln	65
3.3.	Nachweis bei den Aufzuchtferkeln	67
4.	Nachweis von IAV in unterschiedlichen Materialien.....	68
5.	Klinisches Erscheinungsbild.....	73
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	75
VII.	SUMMARY	77
VIII.	TABELLENVERZEICHNIS	79
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	81
X.	LITERATURVERZEICHNIS	83
XI.	ANHANG.....	113
XII.	DANKSAGUNG.....	133

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celcius
AA	Anfang Aufzucht
AF	Abferkelstall
AS	Altsau
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BE	Betriebsebene
cDNA	Copy-DNA / complementary DNA
CI	Konfidenzintervall
cRNA	complementary RNA
Ct	Cycle threshold
dpi	days post infectionem
DZ	Deckzentrum
EA	Ende Aufzucht
ELISA	Enzym linked immunosorbent Assay
GWP	Gesäugewischprobe
HA	Hämagglutinin
HAE	Hämagglutinierende Einheiten
HAH	Hämagglutinationshemmungstest
HI	Hustenindex
IAV	Influenza A Virus
IFT	Immunfluoreszenztest
JS	Jungsau
LW	Lebenswoche
MA	Mitte Aufzucht
MDA	maternally derived antibodies / maternale Antikörper

MDCK	Madin-Darby Canine Kidney
MP	Mittlere Parität
mRNA	messenger RNA
M1	Matrixprotein 1
M2	Matrixprotein 2
NA	Neuraminidase
NaCl	Natriumchlorid-Lösung
NEP	nuclear export protein
NS2	Nichstrukturprotein / nonstructural protein 2
NI	Niesindex
NP	Nukleoprotein
NT	Nasentupfer
OF	Oral Fluids
OR	Odds Ratio
p	p-Wert / Signifikanzwert
PA	polymerase acid
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PB1	polymerase basic 1
PB2	polymerase basic 2
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion / polymerase chain reaction
PCV2	Porcines Circovirus Type 2
PE	Probenebene
p. i.	post infectionem
PRDC	Porcine Respiratory Disease Complex
PRRSV	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus
rRT-PCR	Real-Time RT-PCR

RPM	revolutions per minute / Umdrehungen pro Minute
RT-PCR	Reverse Transkriptase / reverse transkriptase PCR
RT-qPCR	quantitative / Real-Time RT-PCR
SF	Saugferkel
SIV	Schweineinfluenza-Virus
TBS	Tracheobronchialswabs / Tracheobronchialtupfer
US	Umgebungsprobe Staub
UT	Umgebungsprobe Tierbereich
VI	Virusisolierung
VNT	Virusneutralisationstest
vRNA	virale RNA
vRNP	viral Ribonucleinprotein Complex
WS	Wartestall

I. EINLEITUNG

Eine Infektion mit dem Influenza A Virus (IAV) verursacht in der Schweineproduktion erhebliche wirtschaftliche Schäden und birgt zudem als potenzieller Zoonoseerreger eine Gefahr für den Menschen (BENNETT und IJPELAAR, 2005; FREIDL et al., 2014; ER et al., 2016). Das Influenza A Virus der Schweine ist ein weltweit verbreiteter Erreger mit unterschiedlich auftretenden Subtypen (YOON und JANKE, 2008; VAN REETH und VINCENT, 2019). So ist die Schweinepopulation in Europa ein wichtiges Reservoir für eine zunehmende Anzahl von IAV-Varianten mit zoonotischem und möglicherweise präpandemischem Potenzial (HENRITZI et al., 2020).

In schweinehaltenden Betrieben wird in den letzten Jahren das typische Bild einer akuten Influenzainfektion seltener beobachtet, da stattdessen der endemische Verlauf mit wiederkehrenden Krankheitsverläufen und einer oft unspezifischen Klinik dominiert (YOON und JANKE, 2008; SIMON-GRIFÉ et al., 2012; KYRIAKIS et al., 2013). Dieses unspezifische klinische Erscheinungsbild einer endemischen Influenza A Virus Infektion stellen bestandsbetreuende Tierärzt:innen häufig vor große Herausforderungen bei der Diagnostik (MA, 2020; UNTERWEGER et al., 2021). Erschwert wird diese zudem durch die hohe Diversität der Influenzastämme so wie der Möglichkeit, dass mehrere Influenzastämme gleichzeitig im Bestand zirkulieren können (MA, 2020).

Die Beprobung von Einzeltieren stellt für die Diagnostik ein aufwendiges Verfahren dar. Sie stößt bei niedriger Intraherdenprävalenz an ihre Grenzen, weshalb in den letzten Jahren die Untersuchung von Tiergruppen beschrieben wurde (GOODELL et al., 2013; GARRIDO-MANTILLA et al., 2019; LOPEZ MORENO et al., 2021). Die Ergebnisse der von GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) in den USA durchgeführten Studie lassen sich jedoch nur eingeschränkt auf europäische Verhältnisse übertragen. Die unterschiedlichen Haltungsbedingungen führen zu unterschiedlichen Infektionsdynamiken und die in den USA zirkulierenden IAV-Stämme unterscheiden sich von den europäischen Isolaten (NELSON et al., 2015;

RAJÃO et al., 2015).

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob Gruppenuntersuchungsmethoden die Einzeltierdiagnostik für IAV ergänzen oder möglicherweise ersetzen können. Zum anderen sollte die Studie darüber Aufschluss geben, in welcher Produktionsstufe beziehungsweise Altersgruppe in Ferkelerzeugerbetrieben vorzugsweise Proben genommen werden sollen und welches Probenmaterial am besten geeignet ist, um Influenza A Viren in endemisch infizierten Beständen zu detektieren. Dadurch sollte die vorliegende Arbeit bestandsbetreuende Tierärzte:innen bei der Auswahl einer geeigneten diagnostischen Vorgehensweise bei Verdacht einer Influenza A Virus Infektion in endemisch infizierten Schweinebeständen unterstützen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Influenza

1.1. Ätiologie

1.1.1. Taxonomie, Klassifikation und Morphologie

Das Influenza A Virus wird in die Familie der Orthomyxoviridae eingeordnet, welche neben dem Alphainfluenzavirus acht weitere Genera, die Beta-, Gamma-, Deltainfluenzaviren, Isa-, Mykiss-, Quarana-, Sardinio- und Thogotoviren, umfasst (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2021). Alle Mitglieder der Orthomyxoviren besitzen ein segmentiertes Einzelstrang-Genom mit negativer Polarität ihrer RNA (DUESBERG, 1968; BALTIMORE, 1971). Im Genus Alphainfluenzavirus bildet das IAV die einzige Spezies (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2021).

Das IAV wird anhand der Oberflächenglykoproteine Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA) in Subtypen eingeteilt wobei anhand der Kombination des HA und des NA der Subtyp benannt wird (YOON und JANKE, 2008; VAN REETH und VINCENT, 2019). Es existieren insgesamt 16 HAs (HA1 bis HA16) und neun NAs (NA1 bis NA9), die in Vögeln, Pferden, Meeressäugtieren, Menschen und Schweinen zirkulieren, wobei alle derzeit nachgewiesenen Subtypen nur in Wasservögeln nachgewiesen wurden (WEBSTER et al., 1992; VAN REETH und VINCENT, 2019; MODROW et al., 2021). Im Jahr 2010 wurden in Fledermäusen H17 und H18, N10 und N11 nachgewiesen, die vorübergehend als H17N10 (TONG et al., 2012) und H18N11 (TONG et al., 2013) bezeichnet wurden. Aufgrund fehlender Ähnlichkeit zu den bekannten H1 bis H16 und N1 bis N9 werden diese gegenwärtig als HA-like (HL) und NA-like (NL), entsprechend HL17NL10 und HL18NL11 bezeichnet (SUN et al., 2013; MA et al., 2015).

Die Hülle des Influenza Virus besteht aus einer Lipiddoppelmembran, in welcher HA und NA als sogenannte Spikes verankert sind und das Matrixprotein (M2) als Ionenkanal eingelagert ist (WEBSTER et al., 1992). An die Innenseite der Membran legt sich die Matrixprotein 1 (M1) Schicht

an, in der sich das Nuclear export protein (NEP), das auch als Nichtstrukturprotein / nonstructural protein 2 (NS 2) bezeichnet wird befindet (BOUVIER und PALESE, 2008; SHAW und PALESE, 2013). Umhüllt von der Membran liegt zentral das Genom aus acht viralen Segmenten, welche wiederum aus Einzelsträngen bestehen (NELSON und HOLMES, 2007). Dieser Viral Ribonucleinprotein Complex (vRNP) besteht aus acht viralen RNA-Segmenten, den drei Polymerase-Proteinen polymerase basic 1 (PB1) und polymerase basic 2 (PB2), polymerase acid (PA), die an jedem 3' Ende einen viruseigenen Polymerasekomplex bilden sowie dem Nukleoprotein (NP) (SHAW und PALESE, 2013; BEER, 2015). Das IAV als behülltes Virus kann in pleomorpher (HORNE et al., 1960) Form einen Durchmesser von ca. 80-120nm (LAMB und CHOPPIN, 1983) oder in filamentöser Form mehrere Mikrometer betragen (BEER, 2015). MESEKO et al. (2018) betonen die bemerkenswerte Fähigkeit des IAV, im Gegensatz zu den anderen derzeit bekannten Influenzaviren ein breites Wirtsspektrum zu besitzen und Artengrenzen zu überspringen. Auch KRAMMER et al. (2018) beschreiben, dass IAV für vergangene Pandemien verantwortlich war und verweisen auf das hohe Potential des IAV saisonale Epidemien auszulösen.

Die Benennung einzelner Isolate wird nach folgendem Schema gelistet: A / die infizierte Tierspezies, aus der das Virus isoliert wurde / der Ort, an dem es nachgewiesen wurde / die Nummer des Isolates / das Jahr der Isolation mit dem jeweiligen Subtyp. Falls keine Spezies benannt ist, wurde das Isolat in einem Menschen nachgewiesen (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1980; SHAW und PALESE, 2013). Beispielsweise ist damit A/swine/Bavaria/123/2020(H1N1) ein Influenza A Virus des Subtyps H1N1, das im Jahr 2020 aus Schweinen in Bayern mit der Nummer 123 isoliert wurde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1980; BEER, 2015).

1.1.2. Replikation

Um an eine Wirtszelle binden zu können, lagert sich das Virus an die Zelloberfläche an und das Hämagglutinin bindet an Sialinsäure-Rezeptoren (N-Acetylneuraminsäuren). Dadurch wird das Virus endozytotisch aufgenommen (ROGERS und D'SOUZA, 1989; BEER, 2015; VAN REETH und VINCENT, 2019). Die Verteilung der entsprechenden

Rezeptoren bestimmen bei dem jeweiligen Wirt die Wirtsspezifität. Porzine und humane IAV bevorzugen die Bindung an Sialinsäurereste, die über $\alpha(2,6)$ -glykosidische Bindungen mit Galaktose verbunden sind, während aviäre IAV vor allem an Zellen mit SA α 2,3Gal Rezeptoren binden (ROGERS und PAULSON, 1983; MEDINA und GARCÍA-SASTRE, 2011; VAN REETH und VINCENT, 2019; MODROW et al., 2021). Durch den sinkenden pH-Wert des Endosoms, begünstigt durch Einströmen von H⁺-Ionen durch den Ionenkanal M2 (SUGRUE und HAY, 1991; PINTO et al., 1992) kommt es zu einer Konformationsänderung des HA (SHAW und PALESE, 2013; BEER, 2015). Das HA0 spaltet sich nun in HA1 und HA2 (WEBSTER et al., 1992; LANGE, 2007). Dabei wird an HA2 ein Fusionspeptid frei, welches mit der Membran des Endosoms interagiert und somit zur Fusion von Endosomvesikel und Virusmembran führt (STEGMANN et al., 1990; STEGMANN et al., 1991). Dadurch gelangen freie vRNP ins Zytoplasma, nachdem diese sich zuvor aufgrund des niedrigen pH-Werts vom M1 Protein gelöst haben (MARTIN und HELENIUS, 1991; BUI et al., 1996). Diese freien vRNP werden zum Zellkern transportiert (NIETO et al., 1994; WANG et al., 1997), wo sie durch Kernporen in den Nukleus gelangen, dort startet die Replikation (MARTIN und HELENIUS, 1991; BEER, 2015). Die virale RNA (vRNA, Negativstrang) dient dabei als Matrize für die Synthese der messenger RNA (mRNA, Positivstrang), die dann wiederum als Vorlage für die virale Proteinsynthese genutzt wird. Die complementary RNA (cRNA, Positivstrang) für die Transkription weiterer Kopien der vRNA (BOUVIER und PALESE, 2008). Mit Hilfe der viruseigenen Polymeraseproteine PB1, PB2 und PA findet die Transkription und Replikation statt (HERZ et al., 1981). Die fertigen vRNA-Stränge assoziieren mit NP, PB1, PB2 und PA zu dem fertigen vRNP und werden unter Beteiligung des NS2-Proteins / NEP ins Zytoplasma entlassen (BEER, 2015). Das „Nicht-Strukturprotein“ NS1 befindet sich in der infizierten Zelle und hat wichtige Aufgaben, wie beispielsweise die schützende Wirkung während der Virusvermehrung oder als Gegenspieler des unspezifischen Immunsystems der Wirtszelle (LIN et al., 2007).

1.1.3. Genetische Variabilität

Zwei Mechanismen ermöglichen dem IAV eine hohe genetische

Variabilität, die entstehenden neuen Varianten durch veränderte antigenetische Eigenschaften das Immunsystem zu umgehen oder neue Wirte zu infizieren (BEER, 2015).

Wegen des fehlenden Proofreading-Mechanismus der viralen RNA-Polymerase (DRAKE, 1993; BEER, 2015) können, anders als bei DNA-Polymerasen, die eine solche Korrekturlesefunktion besitzen, Fehler bei dem Replikationszyklus entstehen (bei einer Fehlerrate von ca. 10^{-5} pro Replikationszyklus (PARVIN et al., 1986)). Aufgrund dessen ist die Mutationsrate der RNA-Genome weitaus höher als bei DNA-Genomen (HOLLAND et al., 1982). Diese spontanen Punktmutationen können durch neue Nukleotidsequenzen Veränderungen der phänotypischen Eigenschaften im Sinne von strukturellen Veränderungen der Antigene zur Folge haben (HOLLAND et al., 1982; PARVIN et al., 1986; WRIGHT et al., 2013; BEER, 2015). Kommt es im Zuge der Punktmutation zu einem Austausch von Aminosäuren, spricht man von Antigendrift (BEER, 2015). Die meisten der neu entstandenen Viren können sich nicht etablieren, jedoch können neu entstandene Viren, die vorteilhafte Mutationen aufweisen, unter den richtigen Bedingungen durchaus dominant werden (WEBSTER et al., 1992). Der zweite Mechanismus, der sogenannte Antigen shift, wird durch das segmentierte Genom und die Infektion einer Wirtszelle mit zwei oder mehreren unterschiedlichen Subtypen ermöglicht (BEER, 2015; MODROW et al., 2021). Dieser Prozess wird auch als Reassortment bezeichnet, da HA- oder NA-Segmente ausgetauscht werden (BOUVIER und PALESE, 2008; VAN REETH und VINCENT, 2019; MODROW et al., 2021).

Schweine werden als „mixing vessel“ bezeichnet, da in ihrem Respirationstrakt ein Reassortment von IAV unterschiedlicher Subtypen stattfinden kann (SCHOLTISSEK, 1990; SCHOLTISSEK, 1995; ITO et al., 1998), da sie sowohl $\alpha(2,3)$ - als auch $\alpha(2,6)$ -gebundenen N-Acetyl-Neuraminsäurereste-Rezeptoren besitzen (MODROW et al., 2021). HENNIG et al. (2022) weisen jedoch darauf hin, dass diese beiden Rezeptoren sowohl auch im Respirationstrakt von Menschen als auch in Wachteln und anderen Vogelarten wie Truthähnen vorhanden sind und stellen damit die Einzigartigkeit des Schweins als „mixing vessel“ in Frage.

1.2. Epidemiologie

Das IAV der Schweine ist ein weltweit vorkommender Erreger in der Schweinepopulation (YOON und JANKE, 2008; VAN REETH und VINCENT, 2019). Es kursieren derzeit vier endemische Subtypen in Europas Schweinepopulation (BROOKES et al., 2010; ZELL et al., 2013; HENRITZI et al., 2020). Zu den endemischen Subtypen zählen das H1N1 aviären Ursprungs (H1avN1) (PENSAERT et al., 1981), das „human-like“ H3N2 (H3N2) (MIWA et al., 1987; CASTRUCCI et al., 1993), das „human-like“ H1N2 (H1huN2) (BROWN et al., 1998) und seit 2009 das pandemische H1N1 (pdmH1N1) (BROOKES et al., 2010; HENRITZI et al., 2020). H1avN1 verursachte 1918 die verheerendste Influenza Pandemie des 20. Jahrhunderts, die „Spanische Grippe“, bei der fast ein Drittel der gesamten Weltbevölkerung erkrankte (TAUBENBERGER und MORENS, 2006). TAUBENBERGER und MORENS (2010) zählen bisher fünf Influenza-Pandemien in den letzten 100 Jahren. Neben der „Spanischen Grippe“ 1918 sind die „Asiatische Grippe“ 1957, die „Hongkong Grippe“ 1968, die „Russische Grippe“ 1977 und die H1N1 Pandemie aus dem Jahr 2009 von Bedeutung (TAUBENBERGER und MORENS, 2006, 2010). Die seit 1918 bekannten Influenza A Viren sind Reassortanten mit aviären Influenzaviren oder durch *genetic drift* entstanden (TAUBENBERGER und MORENS, 2006). HANCOCK et al. (2009) fanden Hinweise, dass das 2009 neu aufgetretene pandemische H1N1 eng mit dem HA des H1avN1, dem Auslöser der Spanischen Grippe verwandt sein muss. Auch die klassische porcine Viruslinie H1N1 („klassische Schweinegrippe“) ist eng verwandt mit dem H1avN1 (SHOPE, 1931; REID et al., 1999; CHEN et al., 2009; ANDERSON et al., 2016). Das „human-like“ H3N2 stammt von dem humanen Erreger H3N2 der Pandemie 1986 in Hongkong (MIWA et al., 1987) sowie dem H1avN1 ab (SIMON et al., 2014). Durch Reassortment des humanen H3N2 Subtypen mit einem humanen H1N1 entstand das „human-like“ H1N2 (BROWN et al., 1998). Diese drei IAV-Subtypen, H1avN1, H3N2 und H1huN2, breiteten sich bis 2009 relativ gleichmäßig auf die europäische Schweinepopulation aus (BROWN, 2013). Seit 2009 wird das pdmH1N1 als vierter endemischer Subtyp gewertet (BROOKES et al., 2010; SIMON et al., 2014). SMITH et al. (2009) analysieren das Genom und führen die Entstehung des pdmH1N1 auf eine Triple-Reassortante aus

humanen, porzinen und aviären Stämmen, die mit einem eurasischen porzinen H1N1 aviären Ursprungs reassortiert, zurück.

In den letzten Jahren werden zahlreiche Genotypen und neue Varianten in Europas Schweinepopulation beschrieben (SIMON et al., 2014; CHASTAGNER et al., 2018; CHIAPPONI et al., 2018; HENRITZI et al., 2020). HENRITZI et al. (2020) stellen die variierende geographische Verteilung der verschiedenen Subtypen während eines dreijährigen Beobachtungszeitraumes dar. HENRITZI et al. (2020) weisen alle der vier Hauptlinien sowie sieben Reassortanten aus diesen Linien nach, die je nach Land unterschiedlich dominant auftreten. Als eine Reassortante des H1av tritt H1avN2 in Deutschland nur gelegentlich auf, genauso wie in Spanien, Frankreich, den Niederlanden und Polen, in Dänemark hingegen ist dieser Subtyp weit verbreitet. Der Subtyp H1pdmN2 wurde von HARDER et al. (2013) hauptsächlich im Norden Deutschlands und in Dänemark nachgewiesen und auf diese Gebiete begrenzt. HENRITZI et al. (2020) wiederum wiesen H1pdmN2 einige Jahre später in Deutschland, Dänemark, Spanien und den Niederlanden nach. H3N2 finden HENRITZI et al. (2020) in Belgien, Deutschland, den Niederlanden und in Irland. Die weiteren detektierten Reassortanten des H1av, H1hu und H3 sind H1avN1pdm, H1huN1av, H1pdmN1av, H3N1av sowie H3huN2.

1.3. Pathogenese

Influenzaviren verursachen eine akute Infektion des Respirationstraktes. Nach der aerogenen Virusaufnahme folgt die Adsorption über das Schleimhautepithel (BEER, 2015). Die Virusreplikation beginnt wenige Stunden post infectionem (p. i.) in den oberen und unteren Atemwegen, in den Epithelzellen der Nasenschleimhaut, der Trachea, den Bronchien und Bronchiolen (GROSSE BEILAGE, 2013; VAN REETH und VINCENT, 2019). Nach der Inkubationszeit von ein bis drei Tagen erfolgt die Virusausscheidung fünf bis sieben Tage lang über nasale, orale und okuläre Sekrete (BROOKES et al., 2010; VINCENT et al., 2010). Demzufolge werden Influenzaviren vor allem aerogen, aber auch durch direkten Kontakt übertragen (TRUYEN, 2010) und nach neun bis elf Tagen wird das IAV aus der Lunge eliminiert (DUERRWALD et al., 2013; DEBLANC et al., 2020). KHATRI et al. (2010) beschreiben, dass die

Replikation des IAV bevorzugt in der Lunge stattfindet, da in den untersuchten Lungen proinflammatorische Zytokine sowie eine IAV spezifische Antikörperreaktion nachgewiesen werden kann. Bei Untersuchungen der Bronchoalveolären Lavage (BAL) bestätigen EDMANS et al. (2021) die ausgeprägte Immunreaktion der Lunge im Vergleich zu der Immunreaktion im Blut. Die Lungen weisen zudem bei der pathologischen Untersuchung IAV typische Läsionen auf: das Lungengewebe, insbesondere die Spitzenlappen, sind tiefrot gefärbt und weisen in der histologischen Untersuchung beispielsweise verdickte Alveolarsepten im Zusammenhang mit einer exsudativen interstitiellen Pneumonie sowie Ablagerungen im Lumen der Bronchiolen in Zusammenhang mit einer Bronchiolitis auf (KHATRI et al., 2010; BEER, 2015). Neben der Virusreplikation im Respirationstrakt wird der IAV-Infektion die Degeneration und Ablösung von Epithelzellen, als auch Neutrophileninfiltration zugeschrieben, welche für die typische Atemwegsproblematik und die schwere Schädigung der Lunge maßgebend ist (VAN REETH et al., 2002). Laut VAN REETH et al. (2002) geht der prozentuale Anstieg der neutrophilen Granulozyten sowohl mit dem Anstieg der klinischen Anzeichen als auch mit dem Anstieg bestimmter Zytokine einher. SRETA et al. (2009) stellen fest, dass sich die Pathogenese nicht zwischen verschiedenen Subtypen unterscheidet. In einer weiteren Studie vergleichen LANDOLT et al. (2003) zwei genetisch unterschiedliche H3N2 und stellen einen Unterschied bei der Aufnahme des Virus in die Zelle, der Replikation und auch der Virusausscheidung fest. Hierbei zeigen sich auch unterschiedlich schwerwiegende Lungenschädigungen (LANDOLT et al., 2003).

HENRITZI et al. (2020) zeigen in ihrer Studie, dass Infektionen mit Influenza Viren ganzjährig nachgewiesen werden können.

1.4. Klinik

Eine Infektion mit IAV äußert sich unabhängig vom Subtyp mit klinischen Anzeichen einer respiratorischen Erkrankung (LOEFFEN et al., 1999; BROOKES et al., 2010; MEINERS et al., 2014; RYT-HANSEN et al., 2019a).

Nach einer Inkubationszeit von ein bis drei Tagen sind erste klinische Anzeichen erkennbar (ZIMMERMANN und PLONAIT, 2004; VAN REETH und VINCENT, 2019). Bei einem akuten IAV Ausbruch zeigen die Tiere hohes Fieber bis über 41°C, gelegentlich auch bis 42,5°C (GROSSE BEILAGE, 2013), Anorexie, Dyspnoe und nach einigen Tagen Husten (HAESEBROUCK und PENZAERT, 1986; HOWDEN et al., 2009; LANGE et al., 2009; BROOKES et al., 2010; HOLYOAKE et al., 2011; VAN REETH und VINCENT, 2019), welcher von REINER (2015) als schmerzhafter Brüllhusten beschrieben wird. Zudem kann sich eine verstärkte abdominale Atmung bei einer auffällig erhöhten Atemfrequenz zeigen (GROSSE BEILAGE, 2013). Es können Nasenausfluss, Niesanfalle und Konjunktividen auftreten (BEER, 2015). EASTERDAY (1980) und REINER (2015) beschreiben den epidemischen Verlauf als plötzlich beginnend und alle Tiere des Bestandes betreffend. Die klinische Symptomatik kann je nach Produktionsstufe unterschiedlich ausgeprägt sein (GRØNTVEDT et al., 2011). GUMBERT et al. (2020) stellen in Sauenherden Reproduktionsstörungen wie Aborte, Umrauschen und geringe Wurfgrößen fest. Diese Symptomatiken beschreiben auch GOURREAU et al. (1985) und GRØNTVEDT et al. (2011), wobei die Aborte auf das hohe Fieber und freigesetzte Zytokine und Lymphokine zurückzuführen sind (REINER, 2015). Bei Sauen wird häufig eine verminderte Futteraufnahme beschrieben (YOON und JANKE, 2008; GRØNTVEDT et al., 2011).

Allgemein wurde der endemische Verlauf in Beständen in den letzten Jahren häufiger beobachtet (YOON und JANKE, 2008; SIMON-GRIFÉ et al., 2012; KYRIAKIS et al., 2013).

Eine Infektion in der Aufzucht und in der Mast äußert sich hingegen durch reduzierte Wachstumsraten und erhöhte Verluste (ALVAREZ et al., 2015; ER et al., 2016). RYT-HANSEN et al. (2019b) beschreiben in ihrer Studie eine negative Auswirkung auf das Gewicht der Tiere in der Säugezeit und in der Aufzucht. Gelegentlich kann eine IAV-Infektion subklinisch auftreten (CORZO et al., 2013; GROSSE BEILAGE, 2013). Die Mortalität bei einer IAV-Infektion liegt unter 1 %, die Morbidität hingegen bei 100 % (VAN REETH und VINCENT, 2019). In der Regel verläuft eine IAV-Infektion selbstlimitierend und die Tiere erholen sich zwischen fünf und sieben

Tagen (EASTERDAY, 1980; VAN REETH und VINCENT, 2019).

Das Immunsystem bleibt nach Regeneration der Tiere für ein paar Monate geschwächt und diese gelten somit als anfälliger (REINER, 2015). Das IAV kann im Bestand persistieren und somit den Grund für eine neue Infektion in weiteren Beständen oder auch für einen Neuausbruch im gleichen Bestand darstellen (ZIMMERMANN und PLONAIT, 2004; KYRIAKIS et al., 2013). Bei der endemischen Form im Bestand werden hauptsächlich jüngere Tiere klinisch auffällig, wohingegen sich bei dem epidemische Verlauf in allen Altersgruppen klinische Anzeichen äußern können (YOON und JANKE, 2008). Abgesehen von der Produktionsstufe können auch andere Faktoren wie der Immunstatus, die Aufstallung, die Belüftung und zeitgleiche Sekundärinfektionen eine Rolle bei der Ausprägung des klinischen Erscheinungsbildes spielen (VAN REETH und VINCENT, 2019). Nach dem Zeitraum von fünf bis sieben Tagen p. i. in dem die Replikation und Virusausscheidung stattfindet, zeigt sich häufig eine Milderung der klinischen Anzeichen (TRUYEN, 2010; VAN REETH und VINCENT, 2019). Bakterielle Sekundärinfektionen können jedoch oftmals zu Komplikationen führen (TRUYEN, 2010; BEER, 2015; LIN et al., 2015). So können diese bakteriellen Sekundärinfektionen das klinische Bild einer Infektion mit IAV verstärken (REINER, 2015; VAN REETH und VINCENT, 2019).

Influenza Viren zählen neben dem Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV), Porcine Circovirus Type 2 (PCV2), *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* und *Actinobacillus pleuropneumoniae* zum Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC). PRDC beschreibt einen multifaktoriellen Krankheitskomplex, dem sowohl virale und bakterielle Pathogene als auch nicht-infektiöse Faktoren zugeordnet werden (BROCKMEIER et al., 2002). THACKER (2001) beschreiben eine Infektion mit dem PRDC zwischen vierzehnter und zwanzigster Lebenswoche, GROSSE BEILAGE (2013) hingegen von einem Infektionszeitraum von sechster bis vierundzwanzigster Lebenswoche.

1.5. Diagnose

Für die Diagnostik einer Influenzavirusinfektion stehen direkte und indirekte Nachweisverfahren zur Verfügung, die für eine aussagekräftige

Diagnose kombiniert werden sollten (OIE WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2015).

1.5.1. Direkter Erregernachweis

Durch den direkten Erregernachweis können Viruspartikel, Virusantigen und virale Nukleinsäure bestimmt werden (BEER und HAAS, 2015). Ebenso weisen BEER und HAAS (2015) darauf hin, geeignetes Probenmaterial zu wählen. Am lebenden Tier gelingt der direkte Nachweis nur innerhalb der ersten sieben Tage p. i., währenddessen auch klinische Anzeichen auftreten können (BROOKES et al., 2010). Hierbei wird der Nasentupfer (NT) favorisiert (DETMER et al., 2013; HENRITZI und HARDER, 2017), die vorzugsweise aus synthetischen Fasern wie Dacron oder Rayon beschaffen sind (YOON und JANKE, 2008).

1.5.1.1. Virusisolierung

Die Virusisolierung (VI), häufig als klassische Nachweismethode bezeichnet, beschreibt den Vorgang der Vermehrung eines Virus, sprich eine Virusanzucht in einer Zellkultur, wofür demnach ein vermehrungsfähiges Virus vorausgesetzt wird (BEER und HAAS, 2015). Die Anzucht und Isolation von Influenzaviren erfolgt im embryonierten Hühnerei (SWENSON et al., 2001; ZHANG und GAUGER, 2020). Mittlerweile werden auch andere Zelllinien, wie beispielsweise aus verschiedenen Organen des Schweins oder auch anderen Tierarten, für diesen Vorgang der Virusisolierung genutzt (FERRARI et al., 2003; ZHANG und GAUGER, 2020). So beschreiben SUDERMAN et al. (2021) die Eignung und Sensitivität von Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) und MDCK-Derivaten zur Virusisolierung. Als geeignetes Probenmaterial werden Nasentupfer (GROSSE BEILAGE, 2013), bronchoalveoläre Lavage Flüssigkeit (MA et al., 2009), Rachentupfer, Oral Fluids (OF) und Tracheobronchialtupfer (TBS) beschrieben (ZHANG und GAUGER, 2020). GOODELL et al. (2013), DECORTE et al. (2015) sowie GARRIDOMANTILLA et al. (2019) zeigen auf, dass Nasentupfer für die VI ein geeigneteres Beprobungsmaterial als OF darstellen. Studien belegen, dass aus Nasentupfern infektiöses Virus in den ersten sieben Tage nach der Infektion (days post infectionem, dpi) nachgewiesen werden kann (MA et

al., 2009; WEINGARTL et al., 2010; GOODELL et al., 2013). Mit der VI können neue Virusvarianten nachgewiesen werden, dessen Detektion mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) aufgrund fehlender Primersequenzen nicht möglich ist (HENRITZI et al., 2016; CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2019). Allerdings ist diese Methode ein zeitintensives Verfahren, welches mehr als zwei Wochen andauern kann und hohe Voraussetzungen und Anforderungen an das Labor stellt (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2019).

1.5.1.2. Immunassay

Der Immunfluoreszenztest (IFT) beruht auf dem Nachweis von Antigenen durch fluorochrom-markierte Antikörper (direkter IFT), deren Emission mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops ausgewertet werden kann, aber wiederum ein zeitintensives und komplexes Verfahren darstellt (MÜLLER, 2013; BEER und HAAS, 2015). Bei der Immunhistochemie wird durch die Bindung von markierten Antikörpern an Antigene ein mikroskopischer Nachweis möglich (VINCENT et al., 1997). Es werden Proben in Formalin gelegt, in Paraffin eingebettet und dann geschnitten (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2019).

1.5.1.3. Polymerase-Kettenreaktion

Die PCR-Technik beruht auf dem Verfahren ein spezifisches DNA-Fragment eines Virus mit Hilfe einer hitzestabilen Polymerase in-vitro zu amplifizieren (MULLIS et al., 1986; BEER und HAAS, 2015). Dieser gelingt selbst die Vermehrung kleinster Nukleinsäuremengen aus dem Virusgenom (SAIKI et al., 1986; BEER und HAAS, 2015), im Vergleich zur Virusisolierung ist hier kein vermehrungsfähiges Virus nötig (NATHUES et al., 2013). Zu den Vorteilen der PCR zählt die hohe Sensitivität bei hoher Spezifität und relativ hoher Nachweisgeschwindigkeit (MÜLLER, 2013). Wobei die hohe Spezifität zum Nachteil werden kann, da bei Auswahl nicht kompatibler Primer verschiedene Antigene nicht erkannt werden können (MÜLLER, 2013).

Da Influenzaviren zu den RNA-Viren gehören (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2021) wird die RNA durch die reverse Transkription in cDNA (Copy-DNA / complementary DNA)

umgeschrieben, um anschließend in der PCR vervielfältigt zu werden (BEER und HAAS, 2015). Diese beiden Schritte werden als Reverse-Transkriptase-PCR (RT-PCR) bezeichnet (BEER und HAAS, 2015).

Dieser erste Schritt ermöglicht einen generischen Nachweis aller porcinen IAV und ist somit für ein erstes Screening, ohne die einzelnen Virus-Subtypen zu bestimmen, sehr gut geeignet (SPACKMAN et al., 2002). Die PCR dient als Basis für anschließende Untersuchungen, wie beispielsweise die Sequenzierung (BEER und HAAS, 2015). Bei der Multiplex-PCR sind mehrere Primer enthalten, die mehrere Sequenzen erkennen und spezifisch amplifizieren können (BEER und HAAS, 2015). In diesem zweiten Schritt werden die vorangegangenen, mittels generisch IAV positiv getesteten Proben, mit einer tetraplex-HA- und triplex-NA-spezifischen RT-qPCRs (quantitative oder Real-Time RT-PCR) untersucht, um Subtypen zu unterscheiden (HENRITZI et al., 2016). Hierbei wird innerhalb der HA-Subtypen H1av, H1hu, H1pdm und H3 sowie zwischen den NA-Subtypen in N1, N1pdm und N2 differenziert (HENRITZI et al., 2016). HENRITZI et al. (2016) weisen mit ihrem Protokoll speziell für europäische IAV-Überwachungsprogramme darauf hin, dass es einer laufenden Aktualisierung der verwendeten Primer bedarf. HENRITZI et al. (2018) stellen eine weitere tetraplex real-time RT-PCR vor, mit der es möglich ist, auch neben dem Influenza Typ A, die Influenzatyphen B, C und D nachzuweisen. DECORTE et al. (2015) zeigen in ihrer Studie, dass der IAV-Nachweis aus OF mittels PCR der Virusisolierung überlegen ist. Ebenfalls wird festgestellt, dass die PCR-Untersuchung der OF bis 21 dpi positive Ergebnisse aufweist (DECORTE et al., 2015).

In der Studie von VANGROENWEGHE und THAS (2021) wurden Tracheobronchialtupfer in unterschiedlichen Altersgruppen entnommen und veranschaulicht, dass IAV mit einer multiplex-PCR darin detektiert werden kann, der Nachweis allerdings auch saisonal variieren kann. Weitere Studien belegen, dass der direkte IAV-Nachweis durch Umgebungsproben möglich ist (CHOI et al., 2015; NEIRA et al., 2016) und GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) bestimmen sogar eine höhere Nachweisrate mittels rRT-PCR der Umgebungsproben im Vergleich zu anderen Materialien. Ebenfalls eignen sich Gesäugewischproben (GWP)

um eine IAV-Infektion eines Wurfes zu bestimmen (GARRIDO-MANTILLA et al., 2019) und können als Ansatz einer Überwachungsstrategie / Surveillanceprogramms vor dem Absetzen der Ferkel dienen (DE LARA et al., 2022). Aufgrund der hohen Sensitivität sowie der zeit- und kostensparenden Durchführung der PCR (FOUCHIER et al., 2000), wird diese in der vorliegenden Studie als Nachweismethode der Wahl genutzt.

1.5.2. Indirekter Erregernachweis

Der indirekte Erregernachweis beruht auf dem Prinzip des spezifischen Antikörpernachweises im Serum (HAAS und BEER, 2015).

1.5.2.1. Virusneutralisationstest (VNT)

Mit diesem diagnostischen Verfahren werden vorhandene neutralisierende Antikörper gegen ein bestimmtes Virus gemessen (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2019), welche an die Oberflächenproteine des Virus binden und somit dessen Eintreten in die Wirtszelle verhindern (HAAS und BEER, 2015). Bleibt der zytopathische Effekt aus, beweist dieser das Vorhandensein neutralisierender Antikörper (HAAS und BEER, 2015). Die Durchführung des VNT dauert dementsprechend einige Tage und ist für eine große Probenanzahl nicht geeignet, da dieser nicht automatisierbar (HAAS und BEER, 2015) und sehr zeitintensiv in der Durchführung ist und zusätzlich materiellen Aufwand mit sich bringt (MÜLLER, 2013).

1.5.2.2. Enzyme linked immunosorbent Assay (ELISA)

Im ELISA sind Antigene an eine feste Phase gebunden, an welche die passenden Antikörper binden können, die wiederum in einem weiteren Schritt mit enzym-markierten Antispezies-Globulinantikörpern versehen werden und bei positiver Reaktion ein Farbumschlag stattfinden kann. Durch die Messung der Farbtintensität kann die Menge des gebundenen Antigens bestimmt werden (MÜLLER, 2013; HAAS und BEER, 2015). Diese Möglichkeit Antikörper nachzuweisen, wird als indirekter ELISA bezeichnet. Der kompetitive ELISA (Blocking-ELISA) wird ebenfalls den indirekten Nachweismethoden zugeordnet, der Sandwich-ELISA

hingegen wird zu den direkten Nachweismethoden gezählt, da Antigen detektiert wird (BEER und HAAS, 2015; HAAS und BEER, 2015). Um für Screening-Programme subtypübergreifende Infektionen (Nachweis von Nukleoprotein-spezifischer Antikörper) zu detektieren, eignet sich ein ELISA mit seiner hohen Sensitivität sehr gut (CIACCI-ZANELLA et al., 2010; BEER und HAAS, 2015). Der Subtypspezifische Nachweis (Nachweis von Hämagglutinin- bzw. Neuraminidase-spezifischer Antikörper) ist mit dem ELISA möglich (BEER und HAAS, 2015), allerdings weniger sensitiv als der Hämagglutinationshemmungstest (LEUWERKE et al., 2008; BARBÉ et al., 2009). Wegen der besseren Differenzierung der Subtypen sollte nach GROSSE BEILAGE (2013) die serologische Standardmethode, der Hämagglutinationshemmungstest (HAH), verwendet werden. RIZZO et al. (2016) zeigen, dass der ELISA bei der frühen Identifizierung IAV positiver Tiere dem HAH unterlegen ist.

1.5.2.3. Hämagglutinationshemmungstest

Die Hämagglutinine auf der Virushülle können mit Rezeptorstrukturen auf der Erythrozytenoberfläche reagieren, was wiederum zu der Ausbildung eines Erythrozyten-Virus-Komplex führt, die durch Zugabe von spezifischen Antikörpern gehemmt werden können (GROSSE BEILAGE, 2013; NATHUES et al., 2013). Somit ist das Ausbleiben der Hämagglutination als positiver Befund zu interpretieren (HAAS und BEER, 2015; CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2019), da die vorhandenen spezifischen Antikörper mit dem Virusantigen einen Komplex bilden und nicht mit den Erythrozyten agglutinieren (MÜLLER, 2013). Entsprechend kann der HAH Aussagen über die Titerhöhe der Antikörper geben (BEER und HAAS, 2015), der Infektionszeitpunkt lässt sich jedoch nicht bestimmen (NATHUES und GROSSE BEILAGE, 2010). Der HAH-Titer wird durch den Kehrwert bestimmt, bei dessen Serumverdünnung noch eine vollständige Hämagglutination zu erkennen ist (HAAS und BEER, 2015). Nach einer Impfung reagiert das Immunsystem schnell, es können HAH-Antikörper nach sieben bis zehn Tagen im Serum nachgewiesen werden und erreichen ihren Höhepunkt bereits nach zwei bis drei Wochen (LARSEN et al., 2000). Es empfiehlt sich die Untersuchung einer

sogenannten gepaarten Serumprobe, die erste Probe bestenfalls während der akuten Infektion, die zweite Probe nach drei bis vier Wochen, um einen ansteigenden Serumtiter festzustellen (GROSSE BEILAGE, 2013). Der HAH zeichnet sich durch seine Sensitivität und Spezifität aus, der es ermöglicht einen subtypspezifischen Nachweis der Influenza A Viren zu erzielen (GROSSE BEILAGE, 2013; HAAS und BEER, 2015). Allerdings kann nicht zwischen Impfantikörpern, maternalen Antikörpern oder einer Infektion differenziert werden, zusätzlich erschwert das Auftreten von Kreuzreaktionen verschiedener Subtypen die Interpretation der Serologie (VAN REETH et al., 2006; UNTERWEGER et al., 2021).

1.5.2.4. Kreuzreaktivität

Die Wahrscheinlichkeit einer Kreuzreaktivität wird in Zusammenhang mit dem Alter der beprobten Tiere, bei welchen bereits Antigenkontakte vorhanden waren, gebracht (VAN REETH et al., 2006). Bei einer Screeninguntersuchung einer Herde beschreiben UNTERWEGER et al. (2021), dass ungeimpfte Altsauen HAH-Titer gegenüber H1avN1 und pandemischen Stämmen aufwiesen. Für die Interpretation des HAH gilt eine Kreuzreaktivität bei den in Europa am häufigsten vorkommenden Subtypen H1N1, H1N2, H3N2 und dem pandemischen H1N1 zu beachten (KYRIAKIS et al., 2010). Auch die Ergebnisse von DÜRRWALD et al. (2010) lassen darauf schließen, dass eine Kreuzreaktivität zwischen dem porzinen H1N1 und dem pandemischen Stamm vorhanden ist. VAN REETH et al. (2004) wiesen in einer Studie, mittels HAH und VNT, sowohl nach einer Infektion als auch nach einer Impfung, Kreuzreaktionen bei den Subtypen H1avN1, H1huN2 und H3N2 nach. In einer weiteren Studie zeigten VAN REETH et al. (2006) ähnliche serologische Ergebnisse in Bezug auf die Kreuzreaktivität der genannten Subtypen. Aufgrund der serologischen Kreuzreaktion wird angenommen, dass eine vorherige Infektion mit einem aviären H1N1 vor einer folgenden Infektion mit dem pandemischen H1N1 schützen kann (BUSQUETS et al., 2010; QIU et al., 2015).

1.6. Monitoring- und Surveillance-Systeme

Der Begriff Monitoring wird als passives Beobachtungssystem zur

systematischen Erfassung und kontinuierlichen Überwachung von Vorgängen oder Prozessen mit Hilfe technischer Hilfsmittel oder anderer Systeme definiert. Essentiell ist zudem die wiederholte Durchführung der Überwachung (NATHUES et al., 2011; NATHUES und GROSSE BEILAGE, 2013). Im Gegensatz dazu gehört zur Surveillance zusätzlich die Interpretation der Ergebnisse und das Ergreifen nötiger Maßnahmen im Bestand (NATHUES et al., 2011; NATHUES und GROSSE BEILAGE, 2013). Nach European Surveillance Network for Influenza in Pigs 3 (ESNIP 3) (2010-2013) gab es keine weiteren europaweiten Surveillance Programme mehr (10.1371/journal.pone.0115815). In Deutschland wird aktuell keine staatliche Überwachung der IAV beim Schwein durchgeführt.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Arbeitshypothesen

Ziel dieser Arbeit war es, die Diagnostik in endemisch infizierten Ferkelerzeugerbetrieben mit angeschlossener Aufzucht zu verbessern.

Bei endemisch infizierten Betrieben wird eine unspezifische Klinik und eine niedrige Intraherdenprävalenz erwartet, weshalb man mit einer umfangreichen Einzeltierdiagnostik an eine Kosten-/ Machbarkeitsgrenze stößt. So ist die Auswahl geeigneter Untersuchungsmaterialien unter Berücksichtigung verschiedener Altersgruppen von hoher Relevanz für den Nachweis von IAV insbesondere auf endemisch infizierten Betrieben.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung sollen folgende Arbeitshypothesen überprüft werden:

1. Bei IAV verdächtigen Betrieben eignen sich Gruppenuntersuchungsmethoden für ein Influenza A Virus Monitoring ebenso wie die Einzeltierdiagnostik.
2. Der Nachweis von IAV in den unterschiedlichen Produktionsstufen bzw. Altersgruppen differiert.
3. Der IAV-Nachweis bei Schweinen ist nicht immer mit klinischen Anzeichen assoziiert.

2. Auswahl der Bestände

Die vorliegende Arbeit wurde durch die Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät Ludwig-Maximilians-Universität München, unter dem Aktenzeichen 254-10-02-2021 genehmigt.

Es wurden insgesamt 25 Betriebe aus ganz Deutschland in der vorliegenden Studie ausgewertet. Die Probenentnahmen fanden von März

2021 bis Februar 2022 statt. Es wurden neun Betriebe in Ostdeutschland, acht Betriebe in Norddeutschland und acht Betriebe in Süddeutschland beprobt (siehe Abbildung 1).



Abbildung 1: Verteilung der untersuchten Betriebe, gekennzeichnet durch rote Stecknadeln auf einer Deutschlandkarte. *Google Maps*, 2022.

Es wurden nur IAV verdächtige Ferkelerzeuger mit angeschlossener Aufzucht beprobt. Bei den eingeschlossenen Betrieben musste der Verdacht einer Influenzainfektion im Bestand bestehen und der / die bestandsbetreuende Tierarzt:in sollte zeitnah Proben im Rahmen der Routinediagnostik zur Identifizierung einer IAV-Infektion entnehmen. Im Abferkelstall, Deckzentrum und Wartestall sollten immer vier Jungsauen, drei Sauen mit zweitem bis vierten Wurf (mittlere Parität) und drei Sauen mit mehr als vier Würfen zu beproben sein. Die Sauen im Abferkelstall sollten Saugferkel im Alter von zwei bis drei Wochen säugen. In der Aufzucht mussten drei Altersgruppen vorhanden sein, welche in Anfang Aufzucht, Mitte Aufzucht und Ende Aufzucht eingeteilt wurden. Die Ferkel der Anfang Aufzucht waren in der vierten bis sechsten, die Mitte Aufzucht siebte bis achte und die Ende Aufzucht neunte bis zehnte Lebenswoche. Des Weiteren sollte der Impfstatus der Tiere bekannt sein.

3. Beprobung

3.1. Beprobungsschema

Das Beprobungsschema wird in Tabelle 1 dargestellt. In jedem Produktionsbereich der Sauen wurden jeweils vier Jungsauen, drei Sauen mittlerer Parität (zwei bis vier Würfe) und drei Sauen mit über vier Würfen ausgewählt. Die zu beprobenden Saugferkel wurden zufällig aus den Würfen der beprobten Muttersauen ausgewählt. In der Aufzucht wurden jeweils drei Altersgruppen beprobt.

Tabelle 1: Beprobungsschema.

(Nasentupfer (NT), Blutproben (BP), Umgebungsprobe Tierbereich (UT), Umgebungsprobe Staub (US), Gesäugewischprobe (GWP), Tracheobronchialtupfer (TBS), Oral Fluids (OF), Lebenswoche (LW))

Sauen		
Standort	Routine	sonstige
Abferkelstall	10 NT 10 BP	1 UT 1 US
Deckzentrum	10 NT 10 BP	1 UT 1 US
Wartestall	10 NT 10 BP	1 UT 1 US
→ jeweils 4 Jungsaunen, 3 Saunen 2.-4. Wurf, 3 Altsauen > 4. Wurf		
Saugferkel		
Altersstufe	Routine	sonstige
2. – 3. LW	10 NT	10 GWP
→ je ein Ferkel pro Wurf der beprobten Saunen		
Aufzucht		
Altersstufe	Routine	sonstige
Anfang Aufzucht	10 NT 5 TBS	1 UT 1 US

		4 OF
Mitte Aufzucht	10 NT 5 TBS	1 UT 1 US 4 OF
Ende Aufzucht	10 NT 5 TBS	1 UT 1 US 4 OF

3.2. Einzelproben und Poolproben

Die Nasentupferproben der Sauen wurden in allen Produktionsstufen nach Parität der Sauen gepoolt. Ebenso wurden die Nasentupferproben der Ferkel im Abferkelstall nach der Parität der Muttersau gepoolt. Die Gesäugewischproben wurden einzeln in Röhrchen überführt und anschließend im Labor nach Parität der Sauen gepoolt. Die Nasentupfer der Aufzuchttiere wurden pro Altersgruppe in zwei Poolproben, jeweils bestehend aus fünf Einzelproben aufgeteilt, die TBS wurden pro Altersgruppe in einem Pool aus fünf Proben gesammelt. Die Umgebungsproben sowie die OF wurden einzeln in Röhrchen überführt und einzeln untersucht. Eine Übersicht der Pool-/ und Einzelproben ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Übersicht der Einzelproben und Poolproben anhand des Beprobungsschemas.

Sauen		
Standort	Routine	sonstige
Abferkelstall	3 Poolproben NT: (bestehend aus 4, 3 und 3 Einzelproben) 10 BP einzeln	1 UT 1 US
Deckzentrum	3 Poolproben NT: (bestehend aus 4, 3 und 3 Einzelproben) 10 BP einzeln	1 UT 1 US
Wartestall	3 Poolproben NT: (bestehend aus 4, 3 und 3 Einzelproben) 10 BP einzeln	1 UT 1 US
→ jeweils 4 Jungsauen, 3 Sauen 2.-4. Wurf, 3 Altsauen > 4. Wurf,		
Saugferkel		
Altersstufe	Routine	sonstige
2. – 3. LW	3 Poolproben NT: (bestehend aus 4, 3 und 3 Einzelproben)	10 GWP Einzelproben
→ je ein Ferkel pro Wurf der beprobten Sauen		

Aufzucht		
Altersstufe	Routine	sonstige
Anfang Aufzucht	2 Poolproben NT (bestehend aus jeweils 5 Einzelproben) eine Poolprobe TBS (bestehend aus 5 Einzelproben)	1 UT 1 US 4 OF
Mitte Aufzucht	2 Poolproben NT (bestehend aus jeweils 5 Einzelproben) eine Poolprobe TBS (bestehend aus 5 Einzelproben)	1 UT 1 US 4 OF
Ende Aufzucht	2 Poolproben NT (bestehend aus jeweils 5 Einzelproben) eine Poolprobe TBS (bestehend aus 5 Einzelproben)	1 UT 1 US 4 OF

3.3. Durchführung der Probenentnahme

Die Entnahme der Blutproben, Nasentupfer und Tracheobronchialtupfer fanden im Rahmen der Routinediagnostik der bestandsbetreuenden Tierärzt:innen statt. Es handelte sich um eine einmalige Beprobung der Tiere. Bei der Probenentnahme wurden die bestandsbetreuenden Tierärzt:innen durch Mitarbeiter:innen der Klinik für Schweine unterstützt.

3.3.1. Gewinnung der Blutproben

Die ausgewählten Sauen wurden mit einer Oberkieferschlinge von einer Hilfsperson fixiert und die Blutentnahme erfolgte nach HEINRITZI (2006).

3.3.2. Gewinnung der Nasentupfer

Unmittelbar nach der Blutprobenentnahme der Sauen wurden von der durchführenden Person die Nasentupfer (Dryswab™ MW113 von Check Diagnostics GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland) entnommen, indem der Tupfer in beide Nasenlöcher des Tieres eingeführt und mehrmals gedreht wurde. Die Saugferkel wurden von einer Hilfsperson fixiert und mit kleineren Nasentupfern (Dryswab™ MW112 von Check Diagnostics GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland) beprobt. Die Auswahl der Nasentupfergröße wurde bei den Aufzuchtieren individuell nach der Größe des Tieres entschieden. Die Ferkel Anfang und Mitte Aufzucht wurden zur Entnahme des Nasentupfers auf dem Arm fixiert, während die Ferkel Ende Aufzucht mit einer Oberkieferschlinge fixiert wurden. Alle entnommenen Tupfer wurden nach dem oben beschriebenen Schema in 2ml Virocult®-Medium (Sigma-Virocult® MW950S von Check Diagnostics GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland) gepoolt, welches aufgrund seiner geeigneten Eigenschaften als Transportmedium, wie von PEREZ et al. (1984) beschrieben, ausgewählt wurde.

3.3.3. Gewinnung der Gesäugewischproben

Um die Ergebnisse der Blutproben und Nasentupfer mit weiteren Untersuchungsmethoden zu vergleichen, dient die GWP als Gruppenuntersuchungsmethode der Gewinnung einer Probe aller säugenden Ferkel. Da sich die Sauen des Abferkelstalls im Kastenstand befinden, war es nicht nötig diese zusätzlich zu fixieren. Die durchführende Person wischte mit einem sterilen Gazetupfer (OP-Mullkompressen Gazin® 5x5cm von WDT eG, Garbsen, Deutschland), der mit Natriumchlorid (Isot. Kochsalzlösung NaCl Braun 0,9 % ad us. vet. von WDT eG, Garbsen, Deutschland) benetzt war, über das Gesäuge (Abbildung 2) und verbrachte den Tupfer anschließend in 2ml Virocult®-Medium.



Abbildung 2: Entnahme der Gesäugewischprobe im Abferkelstall.

3.3.4. Gewinnung der Umgebungsproben

Für die Gewinnung der Umgebungsproben wurden sterile Gazetupfer mit NaCl benetzt. Die Umgebungsproben setzten sich aus jeweils zwei Proben (Umgebungsprobe Tierbereich (UT) und Umgebungsprobe Staub (US)) zusammen, wobei für die Umgebungsprobe UT alle Bereiche abgewischt

wurden, welche die Tiere mit Nase und Maul berühren, wie beispielsweise die Tränke, den Futtertrog oder auch Beschäftigungsmaterial (siehe Abbildung 3). Bei der Umgebungsprobe US wurden alle Bereiche abgewischt, die außerhalb der Reichweite der Tiere waren, wie beispielsweise Futterrohre, Fensterbänke oder Wasserleitungen (siehe Abbildung 4). Die Tupfer wurden jeweils in 2ml Virocult®-Medium überführt.



Abbildung 3: Entnahme der Umgebungsprobe Tierbereich (UT) bei Beschäftigungsmaterial.



Abbildung 4: Entnahme einer Staubprobe (US) bei Aufzuchtferkeln.

3.3.5. Gewinnung der Tracheobronchialtupfer

Im Rahmen der Routinediagnostik wurden in der Aufzucht je Altersgruppe zehn Tiere beprobt. Bei jedem zweiten Ferkel, das auch mittels Nasentupfer beprobt wurde, wurde zusätzlich noch ein TBS entnommen. In ihrer Studie zeigte WEIß (2015), dass der kurzzeitige Stress einer TBS-Entnahme mit dem einer Nasentupferentnahme vergleichbar ist. Um TBS zu entnehmen, wurde entsprechend nach FABLET et al. (2010) vorgegangen. Die Spitze des Katheters (ca. 5cm) wurde mit einer sterilen Schere abgeschnitten und in ein Röhrchen mit 4ml Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) (Roti®-CELL PBS, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) verbracht. Die beprobten Tiere wurden markiert, um nicht zweimal das gleiche Tier zu fangen und zu beproben. Die Tiere der Ende Aufzucht wurden mit einer Oberkieferschlinge fixiert, um die TBS ungehindert entnehmen zu können, während die Tiere am Anfang und Mitte der Aufzucht auf dem Arm fixiert werden konnten (siehe Abbildung 5).



Abbildung 5: Entnahme eines Tracheobronchialtupfers bei einem Ferkel Anfang Aufzucht.

3.3.6. Gewinnung der Oral Fluids

Für die Entnahme der Speichelsproben, auch als OF bezeichnet, wurden die Oral Fluid Sample Collection Accessory Kits von IDEXX, Westbrook, Maine, USA verwendet.

In diesem Kit befindet sich Material für die Entnahme von fünf OF, welches aus fünf Baumwollstricken und fünf Trichtertüten mit einem am Ende befestigten Probenröhrchen besteht. In dem Kit befinden sich zusätzlich Handschuhe und fünf Deckel, um die Röhrchen zu verschließen. Die Beprobung erfolgte wie von HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017) beschrieben: die Kaustricke wurden an der Buchtenwand mit dem Ende auf Höhe der Schulter der Tiere angebracht (siehe Abbildung 6). Abhängig von der Buchtengröße, wurde ein Baumwollstrick bei unter 25 Tieren, bei einer Gruppenzahl über 25 zwei Baumwollstricke befestigt. Die Stricke wurden, um eine Verschmutzung zu vermeiden, nicht direkt neben dem Futterplatz angebracht. Die natürliche Neugierde und das Erkundungsverhalten der Schweine stellen die Möglichkeit eines nicht invasiven und kostengünstigen Herdenmonitorings dar (ROMAGOSA et al., 2011; RAMIREZ et al., 2012). In der Bucht verblieben die Stricke für 20-30 Minuten und wurden anschließend mit den mitgelieferten Trichtertüten in die daran befestigten Probenröhrchen ausgedrückt. Die Oral Fluids

wurden im Verhältnis 1:1 einzeln in 2ml Virocult®-Medium überführt.



Abbildung 6: Gewinnung von Oral Fluids bei Aufzuchtferkeln.

3.3.7. Erhebung des Husten- und Niesindex

Das klinische Erscheinungsbild bzw. respiratorische Symptome ausgewählter Tiere wurde anhand des Husten- und Niesindex definiert. Der Hustenindex (HI) wurde nach NATHUES et al. (2012) bei den Saugferkeln und bei den drei beprobten Altersgruppen der Aufzucht erhoben. Der Niesindex (NI) wurde nach dem gleichen Schema durchgeführt und berechnet.

Der Index umfasst zwei Durchgänge, die aus jeweils zwei Beobachtungszeiträumen bestehen. Ein Durchgang dauert sieben Minuten und setzt sich aus drei Minuten Beobachtungszeitraum, einer Minute Pause und nochmals drei Minuten Beobachtungszeitraum zusammen. In diesen drei Minuten werden separat alle Husten- und Niesanfälle gezählt. Vor Beginn eines Durchganges sowie am Ende der einminütigen Pause werden die Tiere, mit Ausnahme der Saugferkel, aufgetrieben. Die Anzahl der zu beobachtenden Tiere sollte mindestens 20 Tiere pro Bucht oder in zwei benachbarten Buchten betragen.

Der zweite Durchgang wurde im selben Abteil, aber mit neuen Tieren aus einer neuen Bucht bzw. Buchten, durchgeführt. Zwischen zwei

aufeinanderfolgenden Husten- oder Niesanfällen musste eine Pause von mindestens zehn Sekunden liegen. Anschließend konnte daraus der Index berechnet werden:

$$HI = \frac{\text{Anzahl gezählter Hustenanfälle}}{\text{Anzahl untersuchter Tiere} \cdot \text{Untersuchungszeit in min}}$$

$$NI = \frac{\text{Anzahl gezählter Niesanfälle}}{\text{Anzahl untersuchter Tiere} \cdot \text{Untersuchungszeit in min}}$$

3.4. Probenversand und Lagerung

Die NT, OF, TBS, Umgebungsproben und GWP wurden am Tag der Probenahme direkt am Betrieb abgeholt und gekühlt per Expressversand über Nacht an das Labor von Vaxxinova Diagnostics GmbH in Leipzig geschickt.

Die BP wurden gekühlt transportiert und in der Klinik für Schweine (Ludwig-Maximilians-Universität, München) weiterverarbeitet. Dort wurden die Proben im Labor für 10 Minuten bei 20°C, 3000 RPM und 1560 g zentrifugiert (Rotana 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland), in 1,5ml Safe-Lock Tubes der Firma Eppendorf (Hamburg, Deutschland) pipettiert und anschließend bei -20°C eingefroren. Die Blutproben wurden gesammelt und an das Labor der Ceva Innovation Center GmbH in Dessau-Roßlau zur Untersuchung auf IAV-Antikörper geschickt.

3.5. Labordiagnostik

3.5.1. PCR zum Nachweis von Influenza A Viren

In einem externen Labor wurden die NT, GWP, Umgebungsproben UT und US, OF sowie TBS mittels Influenza A RT-qPCR auf IAV untersucht.

Es wurden die Influenza A Viren mit einem modifizierten Primersystem nach SPACKMAN et al. (2002) nachgewiesen. Mittels RT-qPCR wird ein

Abschnitt des M-Gens amplifiziert. Die gemessenen Ergebnisse wurden in Cycle threshold-Werten (Ct-Werten) angegeben.

3.5.2. Hämagglutinationshemmungstest zum Nachweis von IAV-Antikörpern

Im Labor der Ceva Innovation Center GmbH wurden die Serumproben mittels Hämagglutinationshemmungstest untersucht. Zuvor wurden die Serumproben mit Hilfe einer Neuraminidase und einer Adsorptionsreaktion mit Erythrozyten vorbehandelt, da in den Seren mancher Tiere unspezifische Agglutinationsinhibitoren / unspezifische Agglutinine enthalten sein können. Anschließend wurde von jeder Serumprobe auf einer 96-Loch-Rundbodenplatte eine Verdünnungsreihe in log₂-Stufen durchgeführt. Auf eine 96-Loch-Rundbodenplatte passen insgesamt 8 Proben, je 1 Serum pro Reihe. Es wurden 50µl PBS in die Kavitäten der ersten Spalte (A1 bis H1) und 25µl PBS in die der zweiten bis zur 11. Spalte vorgelegt. Die letzte Spalte (A12 bis H12) blieb leer. 50µl des zu untersuchenden Serums wurden bei einer Verdünnungsstufe von 1:20 in Kavität A1 bis H1 pipettiert. 50µl aus diesen Kavitäten der ersten Spalte wurden nun in die letzte Spalte (A12 bis H12) pipettiert und dienten als Serumkontrolle. Weitere 25µl aus der ersten Spalte wurden in die zweite Spalte (A2 bis H2) pipettiert. Dann lief die Verdünnungsreihe in log₂-Stufen bis zu 11. Spalte an. Aus der letzten Spalte wurden 25µl verworfen. In die angefertigte Verdünnungsreihe wurden jeweils 25µl Antigen (8 hämagglutinierende Einheiten (HAE)) in jede Kavität, ausgenommen die 12. Spalte, pipettiert. Die Antigen-Antikörper-Reaktion wurde für 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Abschließend erfolgte die Zugabe der Erythrozytensuspension (0,5 %ig), 50µl in jede Kavität. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten bei Raumtemperatur erfolgte die Auswertung.

Um die Präsenz oder das Fehlen der Hämagglutination zu beurteilen, wurde die Platte mit einem Winkel von ca. 70-80° für 30 – 45 Sekunden aufgestellt und das Auflaufen der sedimentierten Erythrozyten bewertet. Eine Hämagglutination liegt vor, wenn bei Schrägstellung der Platte keine sedimentierten Erythrozyten auslaufen. Demgegenüber liegt keine Hämagglutination vor, wenn eine vollständige Sedimentation der

Erythrozyten, als sogenannte Knopfbildung, erkennbar ist und aus den Kavitäten auslaufen. Letzteres wird als positiv für die Anwesenheit hämagglutinationshemmender Antikörper einer Influenza A Virus bedingten Hämagglutination gewertet. Zusätzlich wurden auf einer Kontrollplatte die Positivkontrollseren eingesetzt. Der Testansatz zählt als auswertbar, wenn bestimmte Kriterien erfüllt sind.

Das Ergebnis der Untersuchung wird als Titer der hämagglutinationshemmenden Antikörper (HAH-Titer) der jeweils zu untersuchenden Serumprobe angegeben. Dieser entspricht der höchsten Verdünnungsstufe der Serumprobe, in der eine vollständige Hemmung der Hämagglutination auftritt.

3.5.3. Weitere Untersuchungen

Die im Rahmen der Routinediagnostik entnommenen Tracheobronchialtupfer wurden zusätzlich auf verschiedene, differentialdiagnostisch beim Schwein relevanten Pathogene mittels einem Sequenzierungssystem der dritten Generation (Nanopore Technologie) untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung werden in der vorliegenden Arbeit nicht weiter thematisiert.

3.6. Statistische Auswertung

Alle gesammelten Daten wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel® 2016 (Microsoft Office, Fa. Microsoft, Redmond, USA) erfasst. Die deskriptive Datenauswertung der RT-qPCR Ergebnisse sowie die Diagrammerstellung erfolgte ebenfalls mit diesem Programm sowie mit der Statistiksoftware IBM SPSS® Statistics Version 26 (Fa. IBM Corp., Armonk, USA). Der restliche Teil der statistischen Auswertungen wurde mit Stata 13.1 (Stata Statistical Software, College Station, TX, USA) durchgeführt. Ein Betrieb galt als positiv, wenn mindestens eine der untersuchten Proben, unabhängig vom Probenmaterial und der Altersgruppe, mittels RT-qPCR positiv getestet wurde.

Bei allen Berechnungen wurde das Signifikanzniveau auf 5 % ($p \leq 0,05$) festgelegt, das Konfidenzintervall betrug 95 %.

Der Cochran Q-Test wurde verwendet, um Unterschiede im Anteil der Nachweisraten zwischen den verschiedenen Untersuchungsmaterialien in den jeweiligen Altersgruppen zu ermitteln.

Um das Maß der Übereinstimmung der Ergebnisse (positiv oder negatives RT-qPCR Ergebnis) zwischen den Untersuchungsmaterialien zu überprüfen, wurde der Cohens Kappa bzw. für den Vergleich mehrerer Gruppen der Fleiss' Kappa berechnet.

Die Übereinstimmung wurde nach ALTMAN (1991), wie in Tabelle 3 dargestellt, angepasst.

Tabelle 3: Interpretation des Cohens Kappa

Mangelhafte Übereinstimmung	$\leq 0,2$
Geringe Übereinstimmung	$0,21 \leq \kappa \leq 0,4$
Moderate Übereinstimmung	$0,41 \leq \kappa \leq 0,6$
Gute Übereinstimmung	$0,61 \leq \kappa \leq 0,8$
Sehr gute Übereinstimmung	$\kappa > 0,8$

Wenn ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt wurde ($p < 0,05$), wurden alle paarweisen Vergleiche nach der Bonferroni-Korrektur ($p_{\text{corrected}} = 0,05/n$) ausgewertet, wobei n die Anzahl der durchgeführten Tests oder Vergleiche darstellt.

Es wurde ein logistisches Regressionsmodell mit gemischten Effekten berechnet, um den potenziellen Zusammenhang zwischen der Altersgruppe, Produktionsgruppe bzw. Parität und dem Auftreten eines positiven Ergebnisses in der RT-qPCR zu untersuchen. Die abhängige Variable war das binäre Ergebnis des Untersuchungsmaterials, die unabhängige Variable war die Altersgruppe bzw. Produktionsgruppe der Tiere (Sauen (Abferkelstall, Deckzentrum, Wartestall), Saugferkel und Aufzuchtferkel) sowie die Parität der Sauen.

In allen Modellen wurden Zufallseffekte auf Betriebsebene berücksichtigt, um die Abhängigkeit der Beobachtungen innerhalb des Betriebs zu berücksichtigen.

Der berechnete Stichprobenumfang für Einzelproben ermöglicht den

Nachweis von mindestens einer positiven Probe unter der Annahme einer innerbetrieblichen Prävalenz von 15 % mit einem Konfidenzintervall von 95 % und einer Sensitivität von 90 % sowie einer Spezifität von 100 %. Für Gruppenproben wurde der Stichprobenumfang so berechnet, dass eine innerbetriebliche IAV-Prävalenz von 30 % nachgewiesen werden kann, wobei die oben genannte Sensitivität, Spezifität und das Konfidenzintervall zugrunde gelegt wurden. Alle Berechnungen des Stichprobenumfangs wurden mit dem Epitools Epidemiological Calculator durchgeführt (Sergeant ESG. Epitools epidemiological calculators: Ausvet Pty Ltd.;2017. Verfügbar unter: <http://epitools.ausvet.com>).

IV. ERGEBNISSE

1. Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren

1.1. Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren aller untersuchter Materialien auf Betriebsebene

In 20 Betrieben gelang in mindestens einer Probe der Nachweis von IAV mittels RT-qPCR. In 5 Betrieben hingegen war der direkte Erregernachweis aus den untersuchten Materialien nicht möglich. In 90 % der 20 positiven Betriebe (n= 18) konnte IAV in den Nasentupferpoolproben nachgewiesen werden. Positive Umgebungsproben UT konnten in 70 % (n= 14), US in 95 % (n= 19) und positive GWP in 30 % (n= 6) der Betriebe detektiert werden. Die Nachweisrate der OF lag bei 85 % (n= 17) der Betriebe, die der TBS bei 45 % (n= 9).

1.2. Direkter Erregernachweis von Influenza A Viren aller untersuchter Materialien auf Probenebene

In den 20 IAV positiven Betrieben wurde in 24,8 % (n= 233/938) aller insgesamt untersuchten Proben IAV mittels RT-qPCR nachgewiesen. Die Nachweisrate in den verschiedenen Beprobungsmaterialien lag bei 16,7 % (n= 60/360) in den Nasentupferpoolproben, 20,8 % (n= 25/120) in den Umgebungsproben UT, 30 % (n= 36/120) in den Umgebungsproben US, 25 % (n= 15/60) in den GWP, 38,2 % (n= 83/217) in den OF und 23,3 % (n= 14/60) in den Tracheobronchialtupferpoolproben (Tabelle 4).

In Tabelle 4 ist der Nachweis von IAV in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien für die einzelnen Produktionsstufen und Altersgruppen sowohl auf Betriebsebene als auch auf Probenebene zusammenfassend dargestellt. In der Gruppe Anfang Aufzucht sowie Mitte Aufzucht konnten OF nicht von allen Tiergruppen entnommen werden. Aus diesem Grund differiert die Anzahl der untersuchten OF in den unterschiedlichen Aufzuchtgruppen.

Tabelle 4: Nachweis von Influenza A Viren in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien innerhalb der Produktionsstufen bzw. Altersgruppen auf Betriebsebene (BE) und Probenebene (PE) in % mit Anteil positiver Proben (n= x/y), und Durchschnitt Ø des Mittelwertes des prozentualen Anteils positiver Proben / Betrieb in % mit Konfidenzintervall (CI)

Material	Ebene CI	Abferkelstall		Deck- zentrum	Warte- stall	Aufzucht			Gesamt
		SF	Sauen	Sauen	Sauen	AA	MA	EA	
NT	BE (n)	40 % (8/20)	20 % (4/20)	10 % (2/20)	0 % (0/20)	45 % (9/20)	30 % (6/20)	40 % (8/20)	90 % (18/20)
	PE (n)	28,3 % (17/60)	11,7 % (7/60)	3,3 % (2/60)	0 % (0/60)	37,5 % (15/40)	25 % (10/40)	22,5 % (9/40)	16,7 % (60/360)
	Ø (CI)	28,3 % (11,1-45,6)	11,7 % (-0,2-23,5)	3,3 % (-1,2-7,8)	0 % (0,0-0,0)	37,5 % (17,5-57,5)	25 % (6,9-43,1)	22,5 % (9,2-35,8)	
UT	BE (n)	15 % (3/20)		0 % (0/20)	0 % (0/20)	50 % (10/20)	35 % (7/20)	25 % (5/20)	70 % (14/20)
	PE (n)	15 % (3/20)		0 % (0/20)	0 % (0/20)	50 % (10/20)	35 % (7/20)	25 % (5/20)	20,8 % (25/120)
	Ø (CI)	15 % (-1,1-31,1)		0 % (0,0-0,0)	0 % (0,0-0,0)	50 % (27,5-72,5)	35 % (13,6-56,4)	25 % (5,5-44,5)	
US	BE (n)	20 % (4/20)		5 % (1/20)	0 % (0/20)	70 % (14/20)	55 % (11/20)	30 % (6/20)	95 % (19/20)
	PE (n)	20 % (4/20)		5 % (1/20)	0 % (0/20)	70 % (14/20)	55 % (11/20)	30 % (6/20)	30 % (36/120)
	Ø (CI)	20 % (2,0-38,0)		5 % (-4,8-14,8)	0 % (0,0-0,0)	70 % (49,4-90,6)	55 % (32,6-77,4)	30 % (9,4-50,6)	
GWP	BE (n)	30 % (6/20)							30 % (6/20)
	PE (n)	25 % (15/60)							25 % (15/60)
	Ø (CI)	25 % (7,3-42,7)							

OF	BE (n)					58,8 % (10/17)	70 % (14/20)	50 % (10/20)	85 % (17/20)
	PE (n)					44,1 % (26/59)	43,6 % (34/78)	28,8 % (23/80)	38,2 % (83/217)
	∅ (CI)					42,6 % (22,8-62,4)	42,5 % (26,2-58,8)	28,8 % (14,0-43,5)	
TBS	BE (n)					25 % (5/20)	30 % (6/20)	15 % (3/20)	45 % (9/20)
	PE (n)					25 % (5/20)	30 % (6/20)	15 % (3/20)	23,3 % (14/60)
	∅ (CI)					25 % (5,5-44,5)	30 % (9,4-50,6)	15 % (-1,1-31,1)	

Tabelle 5 zeigt den Nachweis von IAV in den einzelnen Produktionsstufen und Altersgruppen, sowie den verschiedenen Untersuchungsmaterialien detailliert für jeden einzelnen der 20 RT-qPCR positiven Betriebe.

Tabelle 5: Anzahl sowie Prozentsatz positiver Proben in den 20 RT-qPCR positiven Betrieben aufgeteilt nach Produktionsstufen bzw. Altersgruppen sowie Untersuchungsmaterialien

Betrieb	Abferkelstall Saugferkel + Sauen				Deckzentrum/ Wartestall Sauen				Aufzucht AA + MA + EA					
	SF NT (%)	UT (%)	US (%)	GWP (%)	Sauen NT (%)	NT (%)	UT (%)	US (%)	Positivität n= x/y (%)	NT (%)	UT (%)	US (%)	OF (%)	TBS (%)
1	2/3 (66,7)	1/1 (100)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/12 (0)	0/3 (0)
2	3/3 (100)	0/1 (0)	0/1 (0)	3/3 (100)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	2/6 (33,3)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	3/12 (25)	0/3 (0)
3	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	2/6 (33,3)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	4/12 (33,3)	1/3 (33,3)
4	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	5/6 (83,3)	2/3 (66,7)	3/3 (100)	8/12 (66,7)	2/3 (66,7)
5	2/3 (66,7)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	1/3 (33,3)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/12 (0)	0/3 (0)
6	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	2/6 (33,3)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	5/11 (45,5)	0/3 (0)
7	3/3 (100)	0/1 (0)	1/1 (100)	3/3 (100)	2/3 (66,7)	1/6 (16,7)	0/2 (0)	0/2 (0)	1	0/6 (0)	0/3 (0)	2/3 (66,7)	1/11 (9,1)	0/3 (0)
8	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	3/6 (50)	2/3 (66,7)	3/3 (100)	10/12 (83,3)	1/3 (33,3)
9	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	4/6 (66,7)	2/3 (66,7)	2/3 (66,7)	4/8 (50)	2/3 (66,7)
10	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	1/6 (16,7)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	4/12 (33,3)	1/3 (33,3)
11	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	0/3 (0)	1/3 (33,3)	0/12 (0)	0/3 (0)
12	1/3 (33,3)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	3/6 (50)	3/3 (100)	2/3 (66,7)	5/12 (41,7)	3/3 (100)
13	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	3/6 (50)	2/3 (66,7)	1/3 (33,3)	7/12 (58,3)	0/3 (0)
14	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	2/6 (33,3)	1/3 (33,3)	2/3 (66,7)	2/8 (25)	0/3 (0)
15	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	1/2 (50)	1	4/6 (66,7)	2/3 (66,6)	3/3 (100)	7/8 (87,5)	2/3 (66,7)
16	2/3 (66,7)	0/1 (0)	0/1 (0)	2/3 (66,7)	1/3 (33,3)	1/6 (16,7)	0/2 (0)	0/2 (0)	1	1/6 (16,7)	0/3 (0)	1/3 (33,3)	2/8 (25)	0/3 (0)
17	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	0/6 (0)	2/3 (66,7)	3/11 (27,3)	0/3 (0)
18	3/3 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	2/3 (66,7)	3/3 (100)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	0/6 (0)	2/3 (66,7)	4/9 (44,4)	1/3 (33,3)
19	1/3 (33,3)	1/1 (100)	1/1 (100)	3/3 (100)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	0/6 (0)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	5/11 (45,5)	0/3 (0)
20	0/3 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/3 (0)	0/3 (0)	0/6 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0	2/6 (33,3)	3/3 (33,3)	2/3 (66,7)	9/12 (75)	1/3 (33,3)

1.2.1. Nachweis von IAV mittels RT-qPCR in den einzelnen Altersgruppen

1.2.1.1. Ergebnisse der Sauen

In Abbildung 7 ist der direkte Erregernachweis mittels RT-qPCR in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien aufgeteilt nach den Produktionsstandorten der Sauen dargestellt.

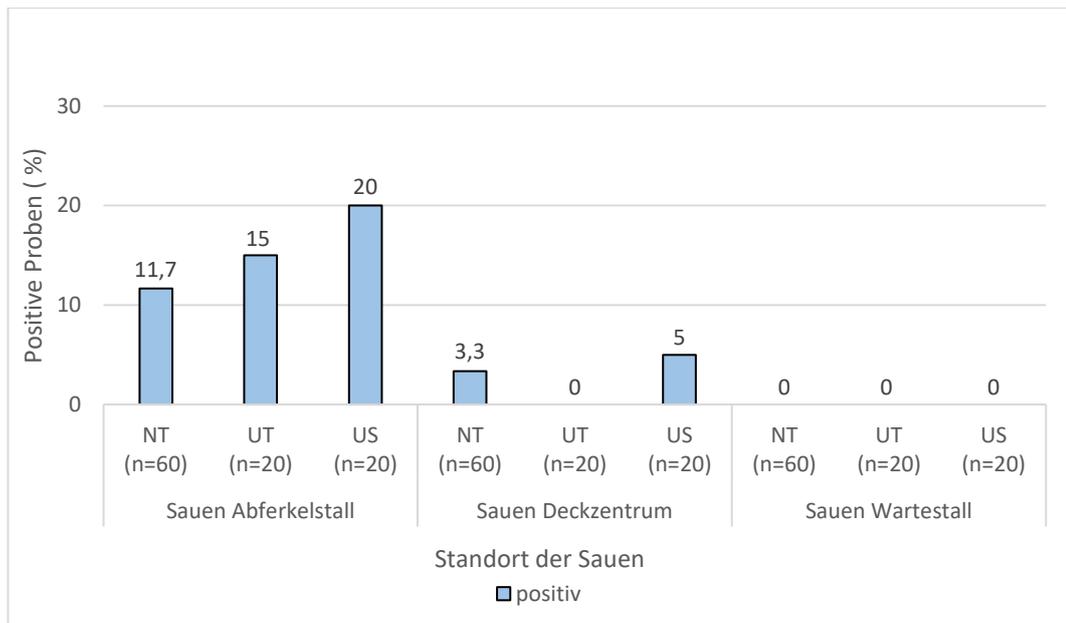


Abbildung 7: Prozentualer Anteil des IAV-Nachweises in den unterschiedlichen Materialien aufgeteilt in die drei Produktionsstandorte der Sauen

Nasentupfer (NT), Umgebungsprobe Tierbereich (UT), Umgebungsprobe Staub (US)

Nachweisraten zwischen den verschiedenen Untersuchungsmaterialien (Nasentupfer, Umgebungsprobe UT und US) bei Sauen an einem Standort (Cochran`s Q= 4,5, $p= 0,1054$).

Laut Ergebnissen des logistischen Regressionsmodells mit gemischten Effekten hatten Sauen im Abferkelstall eine 16,66-mal höhere Wahrscheinlichkeit ($p= 0,004$, 95 %CI: 2,42 - 114,65) des Nachweises von IAV in Staubproben (Umgebungsproben US) als Sauen im Deckzentrum. Es konnte jedoch kein signifikanter Einfluss der Parität ($p= 1,00$) und des Standortes ($p= 0,054$) der Sau auf die Wahrscheinlichkeit des Nachweises von IAV in Nasentupfern festgestellt werden.

1.2.1.2. Ergebnisse der Saugferkel

In Abbildung 8 sind die IAV-Nachweise in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien der Saugferkel dargestellt.

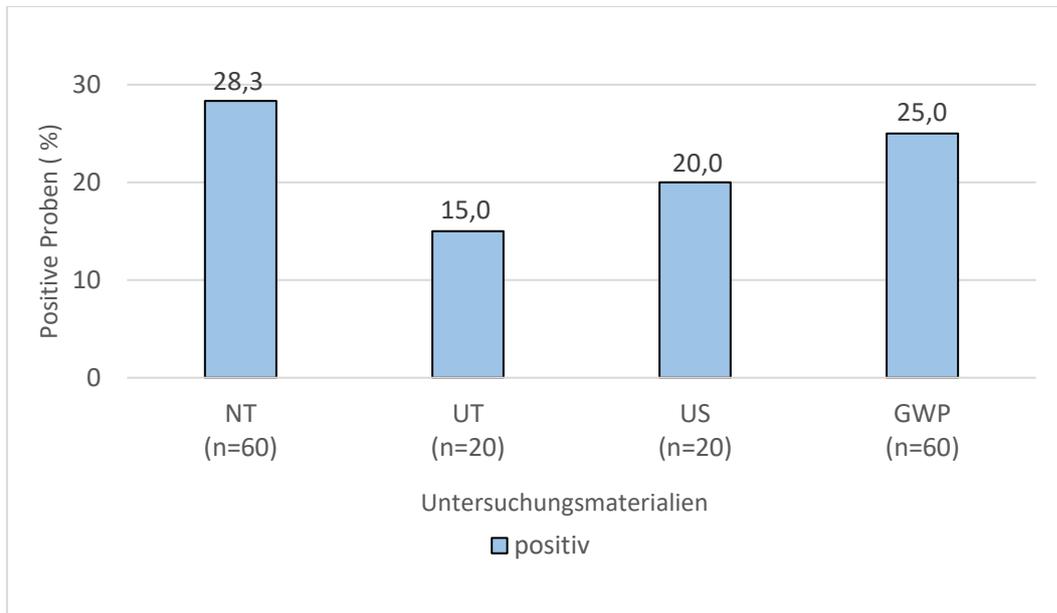


Abbildung 8: Prozentualer Anteil des Nachweises von IAV in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien der Saugferkel

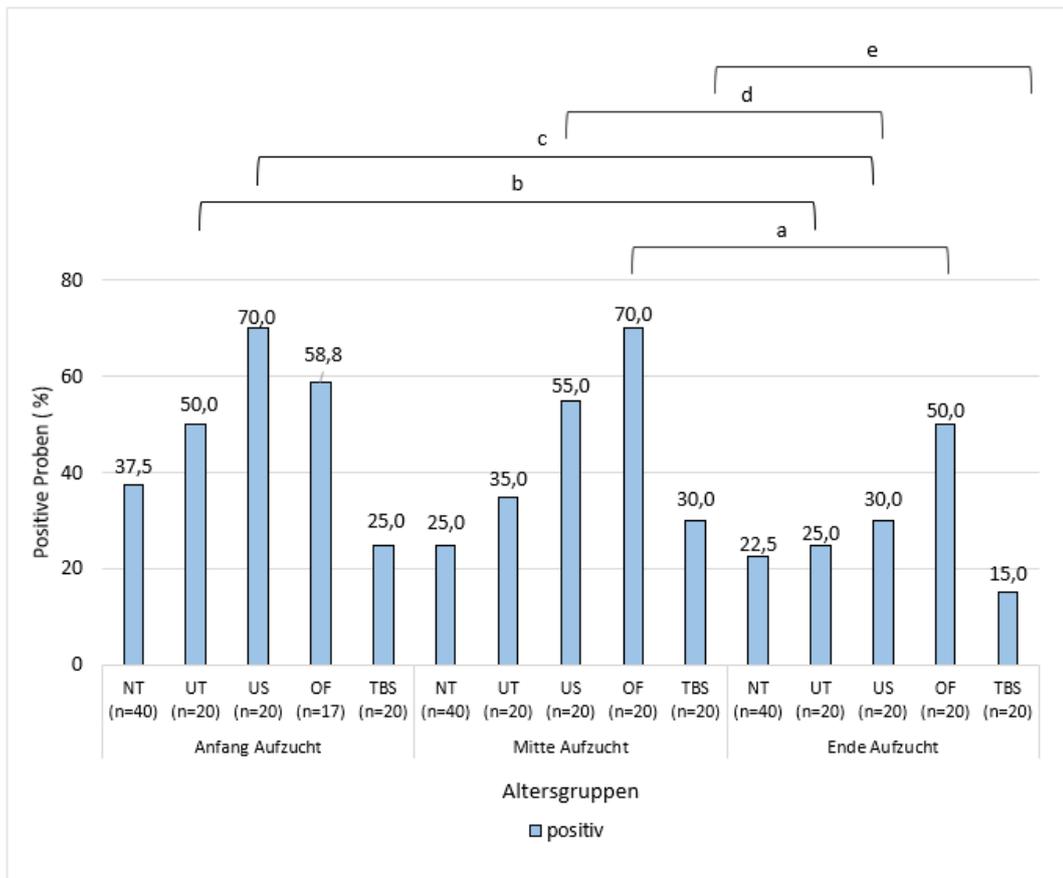
Nasentupfer (NT), Umgebungsprobe Tierbereich (UT), Umgebungsprobe Staub (US), Gesäugewischprobe (GWP)

Bei den Saugferkeln wurden signifikante Unterschiede in den Nachweisraten bei den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien festgestellt (Cochran's Q= 8,6470, $p= 0,0344$).

Die Parität der Muttersau hatte keinen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit eines IAV-Nachweises in NT von Saugferkeln ($p= 0,583$, OR= 0,732, 95% CI: 0,241; 2,223). Darüber hinaus gab es keinen Unterschied in der Wahrscheinlichkeit eines IAV-Nachweises in GWP zwischen Sauen mittlerer Parität und Jungsaunen (OR: 5,82, 95% CI: 0,068; 493,55, $p= 0,437$), Sauen mit > 4 Würfen und Jungsaunen (OR: 0,23, 95% CI: 0,0006; 8,44, $p= 0,423$) sowie zwischen Sauen mittlerer Parität und Sauen mit > 4 Würfen (OR: 0,04, 95% CI: 0,0003; 5,49, $p= 0,199$).

1.2.1.3. Ergebnisse der Aufzuchtferkel

Der Cochran Q-Test zeigte Unterschiede in den Nachweisraten bei den einzelnen Untersuchungsmaterialien der Aufzuchtferkel (NT, Umgebungsprobe UT und US, OF und TBS) (Cochran's $Q = 84.27273$, $p < 0.001$). In Abbildung 9 ist der Nachweis von IAV in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien aufgeteilt nach den drei Altersgruppen der Aufzuchtferkeln dargestellt.



a = OF: $p = 0,042$, OR = 5, 95% CI: 1,06; 24,25

b = UT: $p = 0,012$, OR = 4.29, 95% CI: 1,38; 13,37

c = US: $p < 0,001$, OR = 10.41, 95% CI: 3,01; 36,00

d = US: $p = 0,005$, OR = 6.92, 95% CI: 1,78; 27,00

Abbildung 9: Prozentualer Anteil des IAV-Nachweises in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien bei den drei Altersgruppen der Aufzuchtferkel

Nasentupfer (NT), Umgebungsprobe Tierbereich (UT), Umgebungsprobe Staub (US), Oral Fluids (OF), Tracheobronchialtupfer (TBS)

Anfang und Mitte Aufzucht signifikant häufiger IAV mittels RT-qPCR

detektiert werden als bei Ferkeln Ende Aufzucht (OR: 4,32; 95 % CI: 1,87; 9,95; $p=0,001$) bzw. (OR: 3,15; 95 % CI: 1,36; 7,32; $p=0,007$).

Zwischen Ferkeln Mitte und Ende Aufzucht konnte ein statistisch signifikanter Unterschied in der Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines positiven Ergebnisses bei OF festgestellt. Die Wahrscheinlichkeit eines positiven OF-Ergebnisses war bei Tieren Mitte der Aufzucht 4,3-mal höher (95 % CI: 1,21; 15,22, $p=0,024$) als bei Tieren am Ende der Aufzucht.

Bei Ferkeln Ende Aufzucht war die Wahrscheinlichkeit eines Nachweises von IAV in der Umgebungsprobe UT fast siebenmal geringer ($p=0,005$, OR= 6,92, 95 % CI:1,78; 27,00) als bei Ferkeln Anfang Aufzucht.

Bei Tieren am Anfang der Aufzucht war die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses in den Umgebungsprobe US 10,4-mal höher ($p<0,001$, OR= 10,41, 95 % CI:3,01; 36,00) als bei Ferkeln in der Ende Aufzucht. Bei Ferkeln Mitte der Aufzucht war die Wahrscheinlichkeit, dass die Umgebungsprobe US positiv auf IAV getestet wird, fast 4,3-mal höher ($p=0,012$, OR= 4,29, 95 % CI: 1,38; 13,37) als bei Ferkeln am Ende der Aufzucht. Es gab keinen statistischen Unterschied zwischen den Altersgruppen Mitte Aufzucht und Anfang Aufzucht ($p=0,112$).

Bei den TBS wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in der Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines positiven Ergebnisses zwischen Ferkeln der Mitte und Ende der Aufzucht festgestellt. Insbesondere war die Wahrscheinlichkeit eines positiven TBS bei Ferkeln in der Mitte Aufzucht fast fünfmal höher (95 % CI: 1,06; 24,25, $p=0,042$) als bei Tieren der Ende Aufzucht. Alle signifikanten Unterschiede werden in Abbildung 9 dargestellt.

In Tabelle 6 ist die Übereinstimmung der Nachweisrate von IAV zwischen den verschiedenen Untersuchungsmaterialien innerhalb der jeweiligen Altersgruppen dargestellt.

Bei den Sauen zeigte sich eine moderate Übereinstimmung zwischen den einzelnen Untersuchungsmaterialien (Scott/Fleiss' $\kappa = 0,4836$; $p<0,001$), bei Saugferkeln ebenfalls eine moderate (Scott/Fleiss' $\kappa = 0,5883$; $p<0,0001$) und in der Aufzucht eine geringe Übereinstimmung (Scott/Fleiss'

$\kappa = 0,3927$; $p < 0,001$).

Tabelle 6: Cohen's Kappa-Koeffizient (κ) und p-Wert der Übereinstimmung der Ergebnisse auf Probenebene für die binäre Variable (positives oder negatives Ergebnis des Nachweises von Influenza A) innerhalb der Altersstufen.

Nasentupfer (NT), Umgebungsprobe Tierbereich (UT), Umgebungsprobe Staub (US), Gesäugewischprobe (GWP), Oral Fluids (OF), Tracheobronchialtupfer (TBS)

	Sauen		Saugferkel			Aufzucht			
	UT	US	UT	US	GWP	UT	US	OF	TBS
NT kappa	0.2982 (0.0001)	0.3778 (0.0001)	0.3301 (0.0028)	0.5045 (0.0001)	0.7447 (0.0001)	0.6231 (0.0001)	0.3757 (0.0001)	0.3507 (0.0001)	0.4364 (0.0001)
UT kappa		0.7333 (0.0001)		0.8276 (0.0001)	0.4872 (0.0001)		0.4383 (0.0001)	0.4237 (0.0001)	0.5337 (0.0001)
US kappa					0.6667 (0.0001)			0.4572 (0.0001)	0.1812 (0.0084)
OF kappa									0.1288 (0.0228)

1.2.2. Nachweis in den unterschiedlichen Produktionsstufen bzw. Altersgruppen auf Betriebsebene

Die untersuchten Altersgruppen umfassen Sauen, Saugferkel und Aufzuchtferkel. In 55 % der 20 Betriebe ($n = 11$) wurde IAV in nur einer Altersgruppe nachgewiesen, bei 25 % ($n = 5$) in zwei Altersgruppen und bei 20 % ($n = 4$) in allen drei Altersgruppen. Wurde IAV in nur einer Produktionsstufe nachgewiesen, so war waren dies immer die Aufzuchtferkel (Abbildung 10).

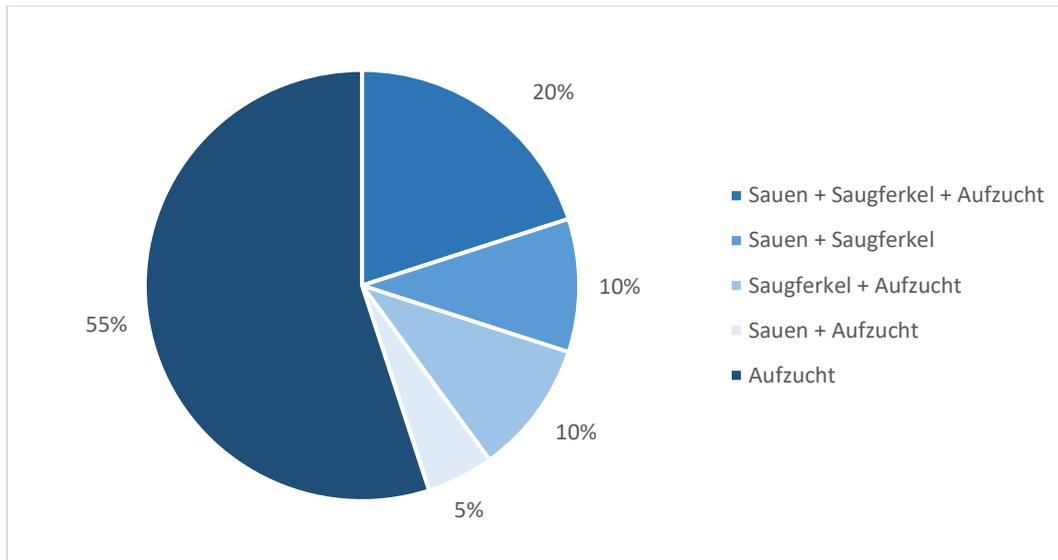


Abbildung 10: Prozentueller Anteil der Verteilung des IAV-Nachweises in einer bzw. mehrerer Produktionsstufen sowie die Verteilung innerhalb der Altersgruppen.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der Altersgruppe und der Wahrscheinlichkeit des Nachweises von IAV im NT zu untersuchen, wurde ein logistisches Regressionsmodell mit gemischten Effekten gerechnet. Hierbei konnte ein Zusammenhang zwischen der Altersgruppe und der Wahrscheinlichkeit des Nachweises von IAV im NT festgestellt werden. Bei Saugferkeln war die Wahrscheinlichkeit des Nachweises von IAV im NT 7,9-mal ($p < 0,001$, 95 % CI: 3,24; 19,28) höher als bei den Sauen. Bei der Untersuchung der NT von Aufzuchtferkeln war die Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines positiven IAV-Ergebnisses ebenfalls 7,9-mal ($p < 0,001$, 95 % CI: 3,58; 17,50) höher als bei den Sauen. Es wurde jedoch kein Unterschied in der Wahrscheinlichkeit eines IAV-Nachweises in NT zwischen Saugferkeln und Aufzuchtferkeln festgestellt ($p = 1,000$).

2. Indirekter Erregernachweis von Influenza A Viren mittels Hämagglutinationshemmungstest

In allen 25 Betrieben wurden jeweils in mindestens einer der 30 entnommenen Blutproben pro Betrieb Antikörper gegen einen der untersuchten Stämme nachgewiesen werden. Die 20 Befunde der RT-qPCR-positiven Betriebe befinden sich im Anhang. Die Befunde der fünf RT-qPCR-negativen Betriebe werden nachfolgend in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Befunde des HAH der fünf RT-qPCR negativen Betriebe (Betrieb 1-5)

∅ = negativ, AF = Abferkelstall, DZ = Deckzentrum, WS = Wartestall, JS = Jungsau, MP = Mittlere Parität (2.-4. Wurf), AS = Altsau (> 4. Wurf)

Betrieb 1 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1 pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	80	∅	∅	∅	20	∅	20	∅	∅
AF-JS	40	∅	∅	∅	∅	∅	40	20	40
AF-JS	160	∅	∅	80	80	20	40	∅	∅
AF-JS	160	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-MP	40	∅	∅	∅	20	∅	20	∅	∅
AF-MP	∅	∅	∅	∅	20	∅	40	40	40
AF-MP	40	∅	∅	20	40	20	40	40	20
AF-AS	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-AS	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-AS	160	∅	∅	20	20	∅	40	∅	∅
DZ-JS	320	∅	∅	40	40	∅	40	∅	∅
DZ-JS	160	∅	∅	20	40	∅	40	∅	∅
DZ-JS	320	∅	∅	20	40	∅	40	∅	∅
DZ-JS	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
DZ-MP	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
DZ-MP	80	∅	∅	20	40	∅	20	∅	∅
DZ-MP	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
DZ-AS	40	∅	∅	∅	∅	∅	20	∅	∅
DZ-AS	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
DZ-AS	40	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-JS	40	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-JS	320	∅	∅	40	20	∅	40	∅	∅
WS-JS	160	∅	∅	20	20	∅	20	∅	∅
WS-JS	320	∅	∅	40	40	∅	80	∅	∅
WS-MP	40	∅	∅	80	160	40	160	40	20
WS-MP	160	∅	∅	40	20	∅	20	∅	∅
WS-MP	80	∅	∅	80	80	20	80	∅	∅
WS-AS	80	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-AS	20	∅	∅	∅	20	∅	∅	∅	∅
WS-AS	160	∅	∅	20	20	∅	20	∅	∅

Betrieb 2 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werlte IDT22071/15
AF-JS	40	80	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	20	20	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	Ø	40	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	80	160	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	80	160	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	40	80	320	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	640	160	320	160	320	40	80	Ø	Ø
AF-AS	160	40	160	40	80	Ø	40	Ø	Ø
AF-AS	320	160	160	160	320	80	160	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	80	320	20	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	20	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	20	20	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	20	80	40	80	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	320	80	160	320	640	80	320	Ø	20
DZ-AS	320	80	160	160	320	40	80	Ø	Ø
WS-JS	20	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	160	320	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	80	320	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	160	320	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	160	20	40	80	80	20	40	Ø	Ø
WS-AS	80	40	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	160	40	40	80	160	80	40	Ø	Ø

Betrieb 3 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	320	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	Ø	20
AF-AS	1280	80	Ø	160	160	40	80	Ø	40
AF-AS	640	Ø	Ø	80	40	Ø	80	Ø	40
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	640	40	Ø	160	160	40	80	Ø	40
WS-AS	1280	160	Ø	80	80	20	80	Ø	20
WS-AS	1280	180	Ø	80	80	40	40	Ø	20

Betrieb 4 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	160	Ø	Ø	Ø	20	20	160	Ø	Ø
AF-JS	80	Ø	Ø	20	40	20	80	Ø	20
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	20	80	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	40	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
AF-MP	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	80	Ø	40	20	20	Ø	40	Ø	Ø
AF-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40
DZ-JS	40	Ø	Ø	20	20	20	40	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-JS	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	40	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	40	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	20	Ø	20	40	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	80	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
WS-MP	160	20	40	Ø	Ø	20	40	Ø	20
WS-MP	160	Ø	Ø	80	20	20	80	Ø	20
WS-MP	80	Ø	Ø	20	20	Ø	40	Ø	Ø
WS-AS	40	Ø	20	20	20	Ø	20	Ø	20
WS-AS	160	160	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
WS-AS	80	Ø	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø

Betrieb 5 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	160	Ø	Ø	Ø	20	20	160	Ø	Ø
AF-JS	80	Ø	Ø	20	40	20	Ø	Ø	20
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	20	80	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	40	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
AF-MP	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	80	Ø	40	20	20	Ø	40	Ø	Ø
AF-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40
DZ-JS	40	Ø	Ø	20	20	20	40	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	40	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	40	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	20	Ø	20	40	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	80	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
WS-MP	160	20	40	Ø	Ø	20	40	Ø	20
WS-MP	160	Ø	Ø	80	20	20	80	Ø	20
WS-MP	80	Ø	Ø	20	20	Ø	40	Ø	Ø
WS-AS	40	Ø	20	20	20	Ø	20	Ø	20
WS-AS	160	160	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
WS-AS	80	Ø	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø

3. Klinisches Erscheinungsbild

Sowohl in den 20 Betrieben, in denen IAV mittels RT-qPCR nachgewiesen wurde, als auch in den fünf RT-qPCR negativen Betrieben, konnten bei den untersuchten Saugferkeln und Aufzuchtferkeln respiratorische Symptome wie Husten und Niesen beobachtet werden. Bei den Saugferkeln zeigten 60 % (n= 15/25) der Tiere dieses klinische Erscheinungsbild. Anfang Aufzucht wiesen 84 % (n= 21/25), Mitte Aufzucht 96 % (n= 24/25) und Ende Aufzucht 92 % (n= 23/25) der Tiere klinische Anzeichen auf. Die Verteilung des klinischen Erscheinungsbildes als auch das Auftreten in den jeweiligen Altersgruppen ist in Abbildung 11 dargestellt.

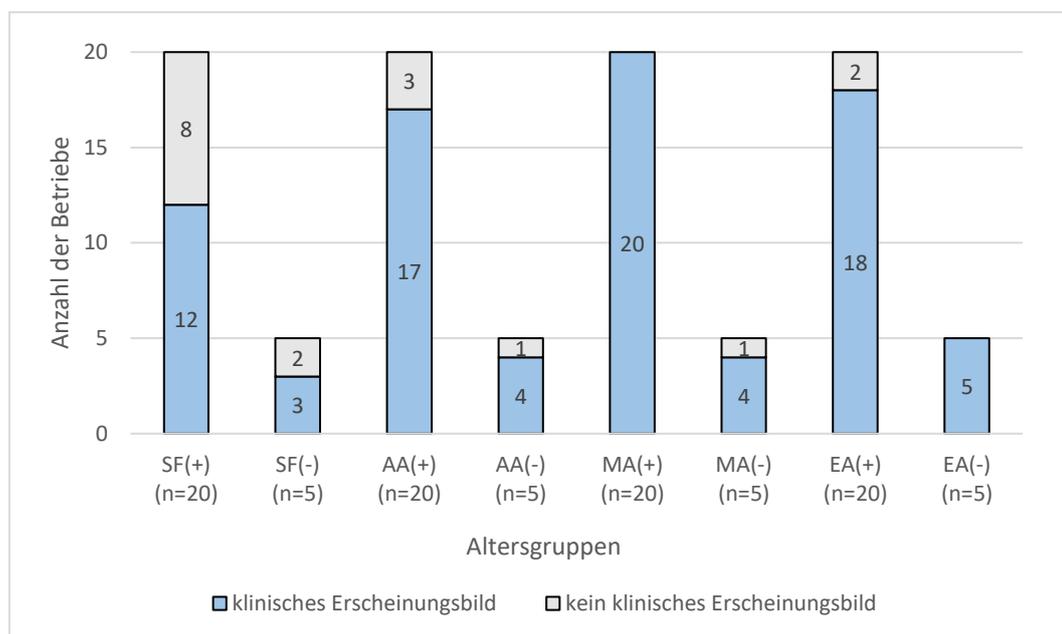


Abbildung 11: Prozentualer Anteil der Altersgruppen mit bzw. ohne klinisches Erscheinungsbild auf Betriebsebene, aufgeteilt in RT-qPCR-positive (+) und RT-qPCR-negative (-) Betriebe

Saugferkel (SF), Anfang Aufzucht (AA), Mitte Aufzucht (MA), Ende Aufzucht (EA)

Das Auftreten der klinischen Anzeichen wie Niesen, Husten oder beide klinischen Anzeichen ist für die einzelnen Altersgruppen in Abbildung 12 dargestellt.

Bei den Aufzuchtstieren war die Wahrscheinlichkeit, klinische Anzeichen aufzuweisen, 81-mal höher als bei Saugferkeln (CI:11,75; 560,32,

$p < 0,001$).

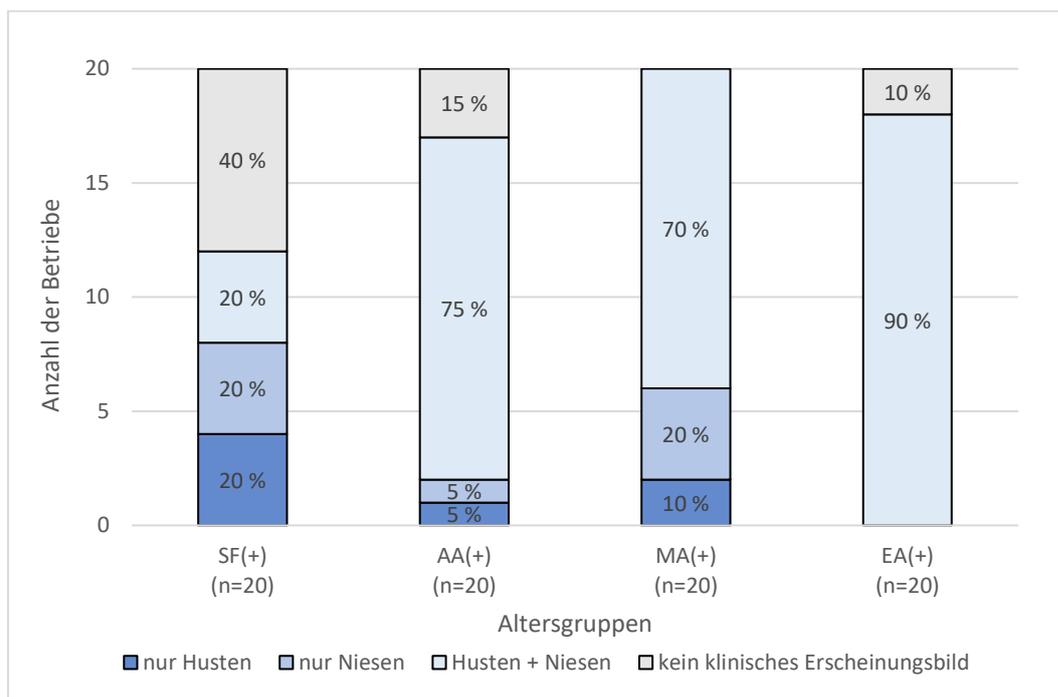
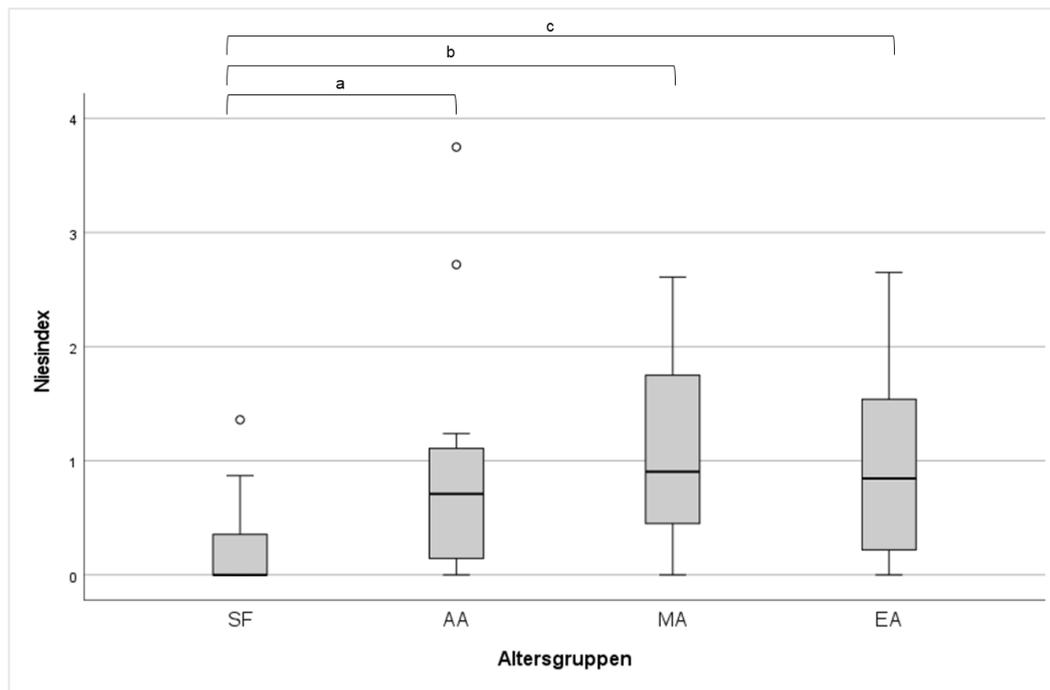


Abbildung 12: Prozentualer Anteil und Verteilung des klinischen Erscheinungsbildes in den Altersgruppen auf Betriebsebene der RT-qPCR-positiven (+) Betriebe

Saugferkel (SF), Anfang Aufzucht (AA), Mitte Aufzucht (MA), Ende Aufzucht (EA)

Es gab einen statistisch signifikanten Unterschied im Niesindex Median sowie dem Hustenindex Median der Saugferkel und jeder der drei Altersgruppen der Aufzucht wie in Abbildung 13 und Abbildung 14 dargestellt. Innerhalb der drei Altersgruppen und der Aufzucht unterschieden sich der Nies- oder Hustenindex signifikant.

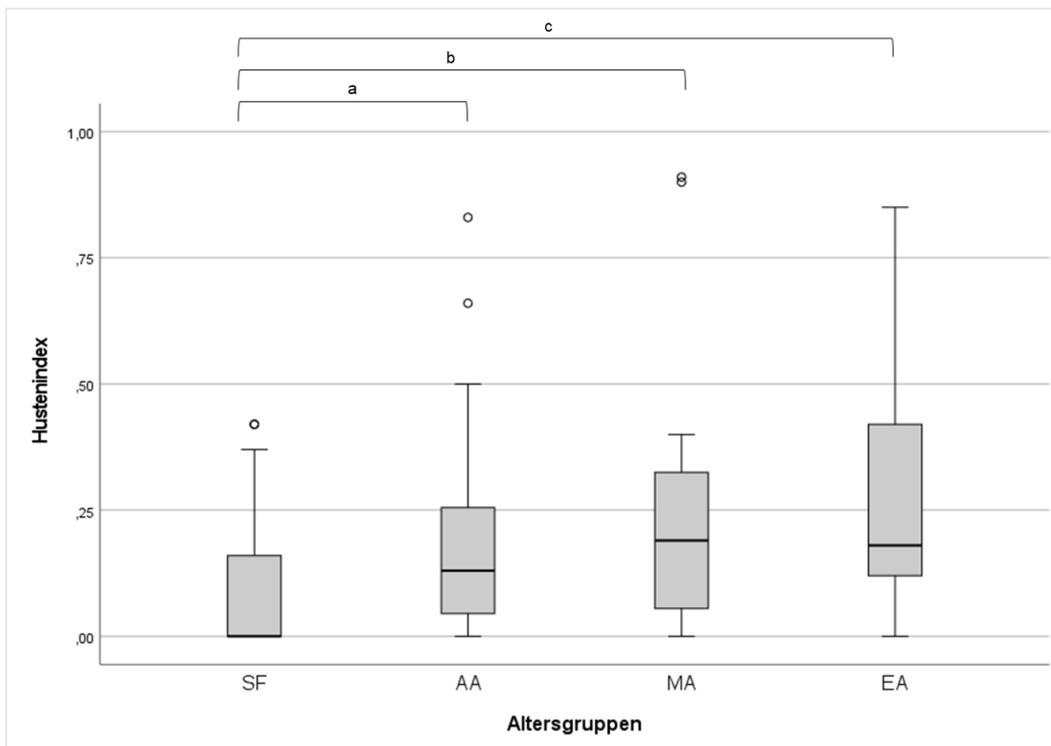


a = Coef: 0,71, p=0,006, 95 % CI: 0,207; 1,213

b = Coef: 0,92, p=0,003, 95 % CI: 0,315; 1,525

c = Coef: 1, p=0,009, 95 % CI: 0,25; 1,75

Abbildung 13: Verteilung des Niesindex anhand der Altersgruppen Saugferkel, Anfang / Mitte und Ende Aufzucht der RT-qPCR-positiven Betriebe (n=20). Die Kreise kennzeichnen Ausreißer.



a = Coef: 0,13, $p=0,005$, 95% CI: 0,039; 0,221

b = Coef: 0,2, $p=0,001$, 95% CI: 0,08; 0,32

c = Coef: 0,13, $p=0,005$, 95 % CI: 0,039; 0,221

Abbildung 14: Verteilung des Hustenindex anhand der Altersgruppen Saugferkel, Anfang / Mitte und Ende Aufzucht der RT-qPCR-positiven Betriebe (n=20). Die Kreise kennzeichnen Ausreißer. Bei der Gruppe der Ende Aufzucht lag ein Extremwert bei 5,3, der in dieser Abbildung nicht eingezeichnet ist.

Bei den Saugferkeln zeigte sich keine Übereinstimmung zwischen dem Auftreten klinischer Anzeichen und dem Nachweis des Virus in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien (NT ($\kappa= -0,1350$; $p= 0,909$), Umgebungsproben UT ($\kappa= -0,1404$; $p= 0,9617$), US ($\kappa= -0,1404$; $p= 0,9617$) und der GWP ($\kappa= -0,2424$; $p= 0,9925$)). Im Gegensatz dazu waren die GWP von Saugferkeln ohne klinische Anzeichen signifikant häufiger positiv als bei Ferkeln mit klinischen Anzeichen einer IAV-Infektion ($p= 0,049$, OR= 0,0035, 95 %CI: 0,00001; 0,97).

In der Aufzucht war die Übereinstimmung zwischen dem Vorhandensein von klinischen Anzeichen und dem Nachweis von IAV in NT ($\kappa= -0,0041$;

$p= 0,5486$), den Umgebungsproben UT ($\kappa= 0,0455$; $p= 0,1267$), US ($\kappa= 0,0286$; $p= 0,7091$), der TBS ($\kappa= 0,0538$; $p= 0,0342$) und den OF ($\kappa= 0,0341$; $p= 0,2635$) mangelhaft.

Mittels eines zweistufigen logistischen Regressionsmodells mit gemischtem Effekt wurde die Assoziation zwischen klinischen Anzeichen und dem Auftreten eines positiven RT-qPCR-Ergebnisses in den jeweiligen Untersuchungsmaterialien in den drei Altersgruppen in der Aufzucht analysiert. Es zeigte sich, dass Ferkel Anfang Aufzucht häufiger positiv in den Umgebungsproben UT und US sind, wenn sie auch klinische Anzeichen aufweisen. So ist es 7,27-mal (95 % CI: 1,85; 28,53, $P= 0,004$) wahrscheinlicher, IAV in einer Umgebungsprobe UT nachzuweisen, und 3,18-mal (95 % CI: 1,17; 8,65, $P= 0,023$) wahrscheinlicher, in der Umgebungsprobe US, verglichen mit klinisch auffälligen Ferkeln Mitte und Ende Aufzucht. Mitte und Ende Aufzucht wurde dieser Zusammenhang zwischen klinischem Erscheinungsbild und einem IAV-Nachweis für keines der beiden Untersuchungsmaterialien festgestellt. Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines klinischen Erscheinungsbildes und IAV-Nachweis bei OF und NT wurde nicht nachgewiesen. In den TBS der Aufzuchtferkel (alle 3 Altersgruppen) stammten alle IAV positiven Proben aus Pools mit klinischen Anzeichen.

V. DISKUSSION

1. Auswahl der Betriebe und Studiendesign

Da das Influenza A Virus in Schweinebeständen erhebliche wirtschaftliche Schäden verursachen kann und zudem als Zoonoseerreger fungiert (BENNETT und IJPELAAR, 2005; ER et al., 2014; FREIDL et al., 2014), ist ein kontinuierliches Monitoring des Erregers unerlässlich. Besonders der endemische Verlauf einer IAV-Infektion stellt die Diagnostik vor große Herausforderungen, da dieser durch wiederkehrende Krankheitsverläufen sowie einer oft unspezifischen Klinik gekennzeichnet ist (YOON und JANKE, 2008; SIMON-GRIFÉ et al., 2012; KYRIAKIS et al., 2013). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollen als Grundlage für die diagnostische Vorgehensweise der bestandsbetreuenden Tierärzte:innen bei Verdacht einer endemischen Verlaufsform von IAV dienen. In die Untersuchungen wurden Ferkelerzeugerbetriebe mit angeschlossener Aufzucht aus ganz Deutschland eingeschlossen, bei denen der Verdacht einer endemischen Influenza Infektion bestand. Ziel war es alternative Untersuchungsmaterialien für die Routinediagnostik zu evaluieren, um ein Gleichgewicht zwischen Probenumfang, Kosteneffizienz und Machbarkeit zu schaffen.

Da die Beprobung von Einzeltieren ein aufwendiges Verfahren darstellt und hohe Kosten mit sich bringt, wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Untersuchung von Tiergruppen bzw. der Umgebung der Tiere die klassische Einzeltieruntersuchung ersetzen können. In einer Studie von GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) aus den USA wurde bereits die Eignung von Gruppen- bzw. Umgebungsuntersuchungen für den Nachweis von IAV beim Schwein bestätigt. Allerdings können diese Ergebnisse nicht uneingeschränkt auf europäische Verhältnisse übertragen werden. Dies liegt zum einen daran, dass sich die Infektionsdynamiken aufgrund der unterschiedlichen Haltungs- und Managementbedingungen in den USA und Deutschland unterscheiden. So stützen sich beispielsweise die Betriebsstrukturen in den USA vor allem auf sogenannte Multi-Site Produktionssysteme (TOKACH et al., 2016), bei denen nach

Produktionsstufen voneinander getrennte Standorte vorhanden sind (HARRIS, 2008). In Deutschland sind hingegen vor allem One-Site Produktionssysteme geläufig, bei denen sich alle Produktionsstufen an einem Standort befinden. Darüber hinaus unterscheiden sich die in den USA zirkulierenden Stämmen von den in Europa vorkommenden (NELSON et al., 2015; RAJÃO et al., 2015).

Im Gegensatz zu GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) wurden in der vorliegenden Studie eine höhere Anzahl an Betrieben untersucht und mehrere Altersgruppen in die Untersuchungen eingeschlossen. Diese Untersuchung aller in den Ferkelerzeugerbetrieben vorhandenen Produktionsstufen bzw. Altersgruppen hatte zum Ziel zu untersuchen welche Altersgruppe sich auf endemisch infizierten Beständen zum Nachweis von IAV am besten eignet. Die Studie wurde als Querschnittsstudie angelegt, um die Vorgehensweise der bestandsbetreuenden Tierärzte:innen möglichst praxisnah widerzuspiegeln und Proben aus der Routinediagnostik nutzen zu können. Da es einen Einfluss der Parität sowie des Reproduktionsstadiums der Sauen auf das Vorkommen von IAV innerhalb eines Bestandes geben kann, wurden Sauen verschiedener Paritäten sowie Produktionsstadien untersucht. Die Saugferkel wurden ebenfalls nach den Paritäten der Muttersauen eingeteilt, um auch hier einen möglichen Zusammenhang zwischen IAV-Nachweis und der Parität der Muttersau zu berücksichtigen. Bei den Aufzuchtferkeln wurden drei verschiedene Altersgruppen untersucht, da verschiedene Faktoren, wie das Mischen von Tiergruppen oder die Gruppengröße, wie bereits von FERREIRA et al. (2017) beschrieben einen Einfluss auf die Infektionsdynamik haben können.

Die Betriebsgröße der eingeschlossenen Betriebe umfasste 100 bis 7000 Sauen. Aufgrund des Studiendesigns mussten vorrangig größere Betriebe mit mehr als 100 Sauen eingeschlossen werden, um gewährleisten zu können, dass in jeder Produktionsstufe alle geforderten Paritäten und Altersgruppen vorhanden sind.

2. Nachweis von IAV in den Betrieben

Bei der Auswertung auf Betriebsebene wurde ein Betrieb als positiv gewertet, sobald mindestens eine Probe im molekularbiologischen Erregernachweis positiv war. Entsprechend waren 20 der 25 ausgewerteten Betriebe mittels RT-qPCR IAV positiv gewertet. Allerdings bestand bei den fünf RT-qPCR-negativ getesteten Betrieben ebenso ein klinischer Verdacht auf eine IAV-Infektion. So zeigten auch diese Tiere sowohl vorberichtlich als auch bei der Probenahme in unterschiedlichen Altersgruppen Husten, vereinzelt Niesen und es wurden auch laut bestandsbetreuendem Tierarzt:in und Landwirt:innen Fruchtbarkeitsstörungen beobachtet, welche auf eine IAV-Infektion hindeuten könnten (BROOKES et al., 2010; VAN REETH und VINCENT, 2019; GUMBERT et al., 2020). Bei den fünf negativen Betrieben ergaben sowohl die diagnostische Historie als auch der Krankheitsverlauf einen starken Verdacht auf eine endemische IAV-Infektion. Dieser Verdacht wurde durch die Auswertung des indirekten Erregernachweises mittels HAH bestätigt und ergab bei allen fünf Betrieben den Nachweis von Antikörpern gegen IAV. Antikörper können im Serum ab sieben bis zehn Tage nach Infektion nachgewiesen werden und erreichen ihren höchsten Titer nach zwei bis drei Wochen (LARSEN et al., 2000). Allerdings können Antikörper infolge einer Impfung nicht von Antikörpern nach einer Infektion unterschieden werden (REETH et al., 2006; UNTERWEGER et al., 2021). Zwei der fünf negativen Betriebe setzten eine Impfung mit Respiporc FLU3® (Ceva Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf, Deutschland) gegen die Influenza Stämme H1N1, H1N2 und H3N2 ein, was demnach die Interpretation des HAH erschwert. Bei einem der beiden Impfbetriebe konnten bei einer Sau geringgradig erhöhte Titer gegenüber einem pandemischen Isolat (pdmH1N1), das im eingesetzten Impfstoff nicht enthalten ist, festgestellt werden. Dies könnte als Hinweis auf eine Feldinfektion mit pandemischen Stämmen gedeutet werden. Eine zweite Beprobung drei bis vier Wochen später als gepaarte Serumprobe, hätte in diesem Fall Aufschluss über die Veränderung der Titer geben und bei der Interpretation des vorliegenden Befundes helfen können (UNTERWEGER et al., 2021). Bei diesen beiden Impfbetrieben konnte somit nicht

abschließend geklärt werden, ob es sich um Antikörper infolge der Impfung oder einer Feldinfektion gehandelt hat. Bei den drei ungeimpften Betrieben lagen bei Sauen unterschiedlicher Paritäten Antikörper gegen IAV vor, sodass von einer vorangegangenen IAV-Infektion ausgegangen werden kann. Die Ergebnisse des HAHs sowie die Influenza Historie der Betriebe deuten bei diesen drei Betrieben auf einen endemischen Infektionsstatus hin, der anschließend mithilfe des direkten Erregernachweises nicht erfasst werden konnte. Die Zeitspanne des direkten Virusnachweises ist mit nur sieben Tage p. i. sehr kurz (BROOKES et al., 2010). Studien zufolge wird das Virus bereits nach neun bis elf Tagen aus der Lunge eliminiert (DUERRWALD et al., 2013; DEBLANC et al., 2020). In einer Untersuchung von ROMAGOSA et al. (2011) wurde der Erreger mittels PCR in OF bis zehn Tage nach Infektion gefunden, bei DECORTE et al. (2015) sogar bis 21 dpi. Die Prävalenz von IAV positiven Tieren ist in endemisch infizierten Beständen häufig gering (ALLERSON et al., 2014). Die RT-qPCR negativen Befunde können demnach daraufhin deuten, dass die Prävalenz an Virusträgern in den Studienbeständen unter der für die Studie angenommenen Prävalenz von 15% lag. Um in solchen Betrieben IAV nachweisen zu können, empfiehlt es sich den Probenumfang zu erhöhen und / oder eine wiederholte Untersuchung auf IAV in Betracht zu ziehen. Auch LILLIE-JASCHNISKI et al. (2022) empfehlen bei einer Prävalenz von unter 15 % mehr als 10 Einzeltierproben in drei Altersgruppen (Saugferkel, Anfang und Mitte Aufzucht) zu entnehmen oder mit zusätzlichen Gruppenuntersuchungsmethoden die Diagnostik zu ergänzen.

Auch eine Unterbrechung der Kühlkette oder eine Verunreinigung der Proben könnte ebenfalls zum Auftreten von falsch negativen Ergebnissen in der PCR führen. ARRUDA und GAUGER (2019) weisen darauf hin, dass beispielsweise OF zügig zu kühlen und mit Kühlpacks an das Labor zu senden sind. Da in der vorliegenden Studie alle entnommenen Proben in Virocult®-Medium als Transport-/ Stabilisatormedium überführt und unmittelbar per Express an das Labor versandt wurden, ist das Auftreten von falsch-negativen Ergebnissen aufgrund falscher Lagerung der Proben eher unwahrscheinlich. Laut Hersteller sowie RUDSDALE und SHEDDEN

(2009) und VALETTE et al. (2010) können IAV in diesem Medium auch bei Lagerung der Proben bei Raumtemperatur nachgewiesen werden.

3. Nachweis in den unterschiedlichen Altersgruppen

In 20 der 25 untersuchten Betriebe wurde in mindestens einer Probe IAV nachgewiesen.

3.1. Nachweis bei den Sauen

In der vorliegenden Studie waren die Nachweisraten bei den Sauen signifikant niedriger als bei den Saugferkeln und Aufzuchtferkeln. Auch vergangene Untersuchungen stellten bereits fest, dass Sauen offensichtlich nicht die zu favorisierende Altersgruppe für den direkten Nachweis von IAV darstellen (CORZO et al., 2012; ALLERSON et al., 2014; MEINERS et al., 2014). Insbesondere in endemisch infizierten Beständen herrscht eine geringe Nachweisrate bei den Sauen (CORZO et al., 2012; ALLERSON et al., 2014). In vorherigen Untersuchungen wurde die Rolle der Jungsau als mögliche Eintragsquelle im Rahmen von Zukauf in die bestehende Herde untersucht (DIAZ et al., 2015; CHAMBA PARDO et al., 2018). RYT-HANSEN et al. (2022) beprobten ungeimpfte und geimpfte Jungsauen erstmals in verschiedenen Produktionsstadien bis nach dem ersten Wurf mittels Nasentupfer sowie Blutproben und stellen ebenso wie WHITE et al. (2017) fest, dass die Jungsauen eine entscheidende Rolle bei der Infektionsdynamik im Bestand spielen können. Nach CHAMBA PARDO et al. (2018) steht die Eingliederung von IAV-negativen Jungsauen in die bestehende Herde ebenfalls im Zusammenhang mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit bei abgesetzten Ferkeln IAV nachzuweisen. In der vorliegenden Studie konnte allerdings kein Einfluss der Parität auf den Nachweis von Influenza festgestellt werden. Möglicherweise ist dies damit zu begründen, dass bei den Sauen insgesamt nur wenige IAV positive Nasentupferproben (n= 9) vorhanden waren. RYT-HANSEN et al. (2022) fanden heraus, dass eine längere Quarantänezeit sowie eine Impfung der Jungsauen während der Quarantäne zu einer Reduktion der Anzahl positiver Jungsauen führen kann. Ob die oben genannten Maßnahmen in den Studienbetrieben angewendet wurden und somit eine mögliche

Begründung für die geringe Nachweisrate bei den Jungsauen darstellen, wurde im Rahmen der vorliegenden Studie nicht untersucht.

Hinsichtlich des Nachweises von Influenza in den unterschiedlichen Produktionsstadien der Sauen (Abferkelstall, Wartebereich, Deckzentrum) waren interessanterweise alle untersuchten Proben der Sauen im Wartebereich negativ. Die höchste Anzahl an positiven Nasentupferproben ($n=7$) konnte im Abferkelstall detektiert werden. Möglicherweise sind Sauen im Abferkelstall häufiger positiv, da das Immunsystem im Zeitraum der Geburt supprimiert sein kann. Analog dazu finden EDDICKS et al. (2019) in einer Studie zu PCV-2 weniger IgG-positive Sauen zum Zeitpunkt des Abferkelns bzw. bei hochtragenden Sauen als bei frühträchtigen Sauen. Dieses Ergebnis lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass kurz vor dem Abferkeln Immunglobuline in das Kolostrum abgegeben werden (BOURNE und CURTIS, 1973; DEVILLERS et al., 2004). Eine weitere mögliche Erklärung für die höhere Nachweisrate bei Sauen im Abferkelstall im Vergleich zu anderen Produktionsstadien könnte ein erhöhter Infektionsdruck im Abferkelstall infolge der Saugferkel sein. In verschiedenen Studien wurde bereits nachgewiesen, dass Saugferkel eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung von Influenza Infektionen in endemisch infizierten Beständen spielen (LARSEN et al., 2010; ALLERSON et al., 2014; DIAZ et al., 2015; WHITE et al., 2017; RYTHANSEN et al., 2022). GARRIDO-MANTILLA et al. (2020) stellten bei einem Infektionsversuch mit Ammensauen fest, dass sowohl eine Infektion Ferkel - Sau als auch umgekehrt möglich ist. In einer weiteren Studie weisen GARRIDO-MANTILLA et al. (2021) darauf hin, dass auch diesen Ammensauen eine wichtige Rolle im Infektionsgeschehen zugesprochen wird, da sie nicht nur IAV auf die Saugferkel übertragen sondern auch Infektionen in der Herde aufrechterhalten können. Diese Untersuchung zeigt zudem, dass sich Sauen im Abferkelstall während der Säugezeit infizieren können und vermuten, dass die Kontamination der Umgebung maßgeblich eine Rolle in der Übertragung und Verbreitung spielt. Auch in den vorliegenden Ergebnissen weisen sowohl 20 % ($n=4/20$) der Staubproben als auch 15 % ($n=3/20$) der Proben des Spielzeuges im Abferkelstall IAV nach. Allerdings lässt sich in der vorliegenden

Untersuchung nicht unterscheiden, ob dieser Nachweis von dem aktuellen oder dem vorherigen Durchgang stammt, wenn nicht ausreichend gereinigt und desinfiziert wurde. Sowohl Untersuchungen von GARRIDO-MANTILLA et al. (2021) als auch von LOPEZ-MORENO et al. (2022) deuten darauf hin, dass IAV-positive Sauen wiederum nach dem Absetzen eine potentielle Gefahr für weitere Sauen im Deckzentrum besonders für neu eingestellte Jungsauen, darstellen.

Weiterhin könnte ein intensiverer Tier-Mensch-Kontakt in der vorliegenden Untersuchung für die höhere Nachweisrate von IAV bei Sauen im Abferkelstall verantwortlich sein, da sich Mitarbeiter:innen rund um die Geburt vermehrt im Stall aufhalten. Daneben besteht durch das Handling der Tiere rund um die Ferkelerstversorgung sowie später die Kastration, eine erhöhte Frequenz der Mitarbeiter:innen im Abferkelstall. Zudem befinden sich in größeren schweinehaltenden Betrieben oftmals wechselnde Teilzeitkräfte im Abferkelstall. Diese erhöhte Frequenz möglicherweise von verschiedenen Mitarbeiter:innen könnte ebenso einen Einfluss auf die Infektionsdynamik haben. So weisen LOPEZ-MORENO et al. (2022) darauf hin, dass die Biosicherheit ein wichtiger Faktor ist, um IAV-Übertragung zwischen Schweinen und Menschen vorzubeugen. Bei häufigerem Kontakt können wie bereits von CHASTAGNER et al. (2019) und KURODA et al. (2022) beschrieben, Übertragungen von Mensch zu Schwein aber auch von Schwein zu Mensch erfolgen. Im Vergleich zum Abferkelstall und Deckzentrum ist der Tier-Mensch-Kontakt im Wartebereich deutlich geringer. Zum anderen könnte es sein, dass die Sauen zum Zeitpunkt der Probenahme im Wartestall kein Virus mehr ausgeschieden haben, da sie sich bereits im Deckzentrum oder auch Abferkelstall mit dem IAV auseinandergesetzt haben.

3.2. Nachweis bei den Saugferkeln

In der vorliegenden Studie wurde im Abferkelstall bei 28,3 % (n= 17/60) der Saugferkel IAV im Nasentupfer nachgewiesen, bei den Sauen hingegen nur bei 11,7 % (n= 7/60). Diese Ergebnisse bestätigen auch die Untersuchungen von RYT-HANSEN et al. (2022) sowie Untersuchungen

von ALLERSON et al. (2014) und LARSEN et al. (2010), die in ihren Studien mehr IAV-positive Saugferkel als Sauen finden. In eigenen Untersuchungen wurden Saugferkel in der zweiten bis dritten Lebenswoche beprobt, da in diesem Alter eine hohe Wahrscheinlichkeit besteht IAV nachzuweisen (ALLERSON et al., 2014). Laut verschiedenen Studien kann die Infektion mit IAV bereits in den ersten Lebenstagen erfolgen (RYT-HANSEN et al., 2019a; GARRIDO-MANTILLA et al., 2021). Dies ist darauf zurück zu führen, dass Sauen, die bereits Kontakt zu IAV hatten zwar maternale Antikörper (maternally-derived antibodies; MDAs) über das Kolostrum auf ihre Ferkel übertragen (CHAMBA PARDO et al., 2019), diese maternalen Antikörper können jedoch nicht Infektion (RYT-HANSEN et al., 2019a) sowie Replikation verhindern (DEBLANC et al., 2018). Auch frühere Untersuchungen bestätigen, dass MDA-positive Ferkel nicht vollständig vor einer Infektion geschützt sind, jedoch die klinischen Anzeichen einer IAV-Infektion reduziert sind (LOEFFEN et al., 2003; CHOI et al., 2004; KITIKOON et al., 2006). CADOR et al. (2016) weisen darauf hin, dass das Vorhandensein von MDA-positiven Ferkeln mit hoher Wahrscheinlichkeit dazu führt, dass IAV auf einem Bestand persistiert. Folglich können sich Saugferkel ohne MDAs mit IAV infizieren und erkranken.

Die Prävalenz IAV-positiver Saugferkel war in der vorliegenden Arbeit niedriger als in vorherigen Studien (GARRIDO-MANTILLA et al., 2019; LOPEZ-MORENO et al., 2022). Mögliche Erklärungsansätze für den höheren Prozentsatz positiver Saugferkel könnte eine unterschiedliche Infektionsdynamik sein. Faktoren, die mit einem erhöhten Infektionsdruck bei den Saugferkeln assoziiert sein könnten, wären beispielsweise die Betriebsgröße, der Personenverkehr oder das Management im Abferkelstall. Untersuchungen von TAKEMAE et al. (2016) zufolge steigt der Infektionsdruck mit zunehmender Bestandsgröße. Wie bereits erwähnt steigt auch mit der Anzahl an Mitarbeitern das Risiko des Eintrags von IAV in den Bestand (CHASTAGNER et al., 2019; KURODA et al., 2022). Daneben könnte auch das Management im Abferkelstall und hier insbesondere der Einsatz von Ammensauen für einen erhöhten Infektionsdruck im Abferkelstall verantwortlich sein.

So konnten GARRIDO-MANTILLA et al. (2021) zeigen, dass Ammensauen eine bedeutende Rolle in der Infektionsdynamik im Abferkelstall zukommt. Dabei wiesen Ammensauen signifikant häufiger IAV-positive Gesäugewischproben bei der Einstellung in den Abferkelstall auf als herkömmliche Sauen. Da abzusetzende Ferkel hohe IAV-Infektionsraten aufweisen (ALLERSON et al., 2014; LILLIE-JASCHNISKI et al., 2022) könnte das Gesäuge die Infektionsquelle für die den Ammensauen neu zugewetzten Saugferkeln sein. Somit steigt der Infektionsdruck weiter an, da sich sowohl die Ferkel als auch die Sauen innerhalb des Abferkelstalls infizieren. Ob die Ammensauen auf Betrieben in Deutschland einen ähnlichen Einfluss auf die Infektionsdynamik haben, könnte in nachfolgenden Studien untersucht werden.

In der vorliegenden Studie hatte die Parität der Muttersauen wie auch in den Untersuchungen von LOPEZ-MORENO et al. (2022) keinen Einfluss auf den IAV-Infektionsstatus des Saugferkels.

3.3. Nachweis bei den Aufzuchtferkeln

In der vorliegenden Studie gelang der IAV-Nachweis in allen drei Produktionsstufen (Sauen, Saugferkel und Aufzuchtferkel) in nur vier der 20 RT-qPCR positiven Beständen. Dies verdeutlicht, dass es in endemisch infizierten Beständen erforderlich ist mehrere Altersgruppen zu beproben. Andernfalls würde das Virus in möglicherweise infizierten Altersgruppen nicht detektiert werden. Auch LILLIE-JASCHNISKI et al. (2022) weisen darauf hin, mehrere Altersgruppen auf einem Bestand in die Beprobungen einzuschließen, zumal in der von ihnen durchgeführten Studie auch verschiedene Subtypen in unterschiedlichen Altersgruppen nachgewiesen wurden.

Bei insgesamt 55 % (n= 11/20) der Betriebe sind die Aufzuchtferkel die einzige Produktionsstufe, in der das IAV detektiert werden konnte. Die Auswertung der vorliegenden Untersuchung zeigt, dass die Wahrscheinlichkeit IAV nachzuweisen, bei den Gruppen Anfang und Mitte Aufzucht höher ist als bei den Tieren Ende Aufzucht. Die höchste Nachweisrate innerhalb der Aufzucht wiesen Ferkel Anfang Aufzucht auf.

Zu diesem Ergebnis kommen auch BHATTA et al. (2020) bei einer Studie zur Untersuchung der Infektionsdynamik von IAV, sowie GOECKE et al. (2020). CHAMBA PARDO et al. (2019) untersuchten bei Aufzuchtstieren in bestimmten Abständen während der Aufzuchtphase die Infektionsdynamik der Influenzaviren. Auch hier konnte man in Ferkelgruppen ungeimpfter Sauen erkennen, dass der prozentuale Anteil der infizierten Ferkel zu Beginn der Aufzucht höher ist als gegen Ende der Aufzucht, obwohl die Seroprävalenz und Prävalenz bei den unterschiedlichen Gruppen durchaus variierten. Auch LILLIE-JASCHNISKI et al. (2022) stellten fest, dass bei den Tieren in der vierten bis sechsten Woche der Aufzucht IAV mittels PCR häufiger nachweisbar ist als zu späterem Zeitpunkt der Aufzucht. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die Ferkel nicht wurfweise abgesetzt werden, sondern Würfe gemischt werden und somit Kontakt zu neuen, IAV positiven Ferkeln bestehen kann und diese sich somit infizieren können.

4. Nachweis von IAV in unterschiedlichen Materialien

In der Literatur werden Nasentupfer als Goldstandard für den direkten IAV-Nachweis beschrieben (OIE WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2015; HENRITZI und HARDER, 2017; VAN REETH und VINCENT, 2019). Bei den 20 RT-qPCR positiv getesteten Betrieben wurde bei 90 % (n=18/20) der Betriebe IAV mittels Nasentupfer nachgewiesen. Allerdings war die Probenanzahl der Nasentupfer mit 18 Poolproben bestehend aus 70 einzelnen Proben deutlich höher als in anderen Studien (GARRIDO-MANTILLA et al., 2019; LILLIE-JASCHNISKI et al., 2022). Trotz der hohen Probenanzahl waren auf Probenebene betrachtet nur wenige der Poolproben IAV positiv (n= 60/360). Dies verdeutlicht, dass eine hohe Anzahl von Nasentupferproben notwendig ist, um bei einem endemischen Infektionsgeschehen einen positiven Bestand als solchen identifizieren zu können. Umgebungsproben sind einfach zu gewinnen und stellen eine Tier- als auch anwenderfreundlich Alternative für den Nachweis von IAV dar. Bereits in den Untersuchungen von NEIRA et al. (2016) konnte IAV in Umgebungsproben nachgewiesen werden. Allerdings wurden in der

Studie hauptsächlich Stellen beprobt, mit denen die Mitarbeiter:innen Kontakt hatten und zudem wurden, anders als in der vorliegenden Studie, bei NEIRA et al. (2016) Bestände mit akutem klinischem Erscheinungsbild ausgewählt. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei unterschiedliche Umgebungsproben miteinander verglichen. Mit der Umgebungsprobe UT wurden Stellen beprobt, mit denen die Tiere in direktem Kontakt treten können (Tränke, Trog, Spielzeug). Nach BROOKES et al. (2010) wird IAV über nasale sowie orale Sekrete ausgeschieden, die somit mit der UT Beprobung gesammelt werden. Mit der Umgebungsprobe US hingegen wurde Staub von verschiedenen Stellen außerhalb der Reichweite der Tiere gesammelt. Interessanterweise wiesen die Staubproben im Vergleich zu der Umgebungsprobe UT eine höhere Nachweisrate von IAV auf. Allerdings besteht bei der US im Unterschied zu UT eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass auch Staub aus bereits vorherigen Durchgängen mit beprobt wird. In einer Untersuchung von HORM et al. (2012) wurden zum Nachweis des hoch pathogenen aviären H5N1 verschiedene Bereiche der Umgebung (Staub, Schlamm und der Boden) beprobt wobei das Virus in der Staubprobe am häufigsten detektiert wurde. Auch im Geflügelbereich werden Staubproben als geeignetes, nicht invasives und kostengünstiges Material zur schnellen Detektion von IAV beschrieben (FILAIRE et al., 2022). GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) weisen darauf hin, dass die Umgebung in Bezug auf eine potenzielle Übertragung von Influenza eine wichtige Rolle spielt. So könnte eine regelmäßige Beprobung der Umgebung möglicherweise helfen, die Virusverbreitung im Bestand zu monitoren und möglicherweise die Landwirte:innen zu einer gründlichen Reinigung und Desinfektion der Ställe motivieren. Bei den im Abferkelstall entnommenen Umgebungsprobe UT und US lässt sich nicht differenzieren, ob die nachgewiesenen IAV eher von Sauen oder Saugferkeln stammen. Aufgrund der höheren Nachweisrate in NT von Saugferkeln im Gegensatz zu den NT von Sauen könnte jedoch gemutmaßt werden, dass vor allem die Saugferkel für den Nachweis von IAV in den Umgebungsproben des Abferkelstalls verantwortlich waren.

Als ebenfalls nicht invasives Beprobungsverfahren gelang der IAV-Nachweis mittels OF in 85 % (n= 17/20) der Betriebe. Nach ROMAGOSA

et al. (2011) ist die Anbringung und die Gewinnung der OF von einer Person durchführbar und selbst bei einer niedrigen Prävalenz eignen sich OF als Untersuchungsmaterial für den Nachweis von IAV. Auch CIUODERIS et al. (2022) kamen zu dem Entschluss, dass OF eine gute Möglichkeit zur Betriebsüberwachung darstellen, da hiermit selbst mit niedrigem Probenumfang in Beständen mit niedriger Intraherdenprävalenz eine hohe Spezifität und Sensitivität erreicht werden kann (ROMAGOSA et al., 2011; PANYASING et al., 2016; CHAMBA PARDO et al., 2017). Bei der Entnahme von OF muss allerdings beachtet werden, dass frisch abgesetzte Ferkel nicht die geeignete Altersgruppe für dieses Beprobungsverfahren darstellen. In der vorliegenden Studie konnten bei drei Betrieben Anfang Aufzucht keine OF gewonnen werden, da die Tiere kein Interesse an den Kaustricken zeigten. Um mehr Speichelflüssigkeit zu gewinnen verwendeten DAWSON und EDWARDS (2015) mit Geschmack versetzte Kaustricke und konnten feststellen, dass der Geschmackzusatz offensichtlich das Speicheln der Tiere beeinflusst. BLACKIE und DE SOUSA (2019) zeigten, dass Absatzferkel mit konzentriertem Knoblauchölextrakt getränkte Kaustricke den normalen Kaustricken bevorzugen. Auch ALMEIDA et al. (2020) verbesserten durch Zusatz von Ergänzungsfuttermittel die Akzeptanz der Ferkel für Kaustricke. Diese Möglichkeiten könnte man bei der Beprobung von frisch abgesetzten Ferkeln oder auf Stroh stehenden Ferkeln in Betracht ziehen. Allerdings muss beachtet werden, dass diese Methode eine Verunreinigung der Proben darstellt und es dadurch zu einer Beeinflussung der labordiagnostischen Untersuchungen kommen kann. Eine weitere Möglichkeit das Interesse der Tiere an Kaustricken zu wecken, könnte wie bereits von HENAO-DIAZ et al. (2019) beschrieben ein Training der Tiere sein.

Nach Empfehlung von HERNANDEZ-GARCIA et al. (2017) wurde ein Kaustrick für eine Gruppe von 25 Ferkeln verwendet. In der vorliegenden Studie wurden in jede Altersgruppe der Aufzucht vier Kaustricke angebracht und im Labor einzeln untersucht. Für die statistische Auswertung wurden die vier einzelnen Ergebnisse jedoch zu einem Ergebnis zusammengefasst. Die Werte der OF als

Gruppenuntersuchungsmethode, waren auf Betriebsebene öfter positiv als die NT, die jeweils in Poolproben, bestehend aus fünf Einzelproben, untersucht wurden. Möglicherweise könnte man in weiteren Untersuchungen, ähnlich wie bei der Untersuchung von DE LARA et al. (2022) zu GWP, die einzelnen OF poolen und überprüfen, ob sich somit eine noch größere Anzahl an Tieren ohne Sensitivitätsverlust untersuchen lässt. Verschiedene Studien weisen jedoch darauf hin, dass OF nicht als geeignetes Untersuchungsmaterial für eine Virusanzucht anzusehen sind (DETMER et al., 2011; ROMAGOSA et al., 2011; GOODELL et al., 2016; GARRIDO-MANTILLA et al., 2019).

Die TBS schnitten mit 45 % (n= 9/20) Nachweisrate auf Betriebsebene im Vergleich zu NT, Umgebungsproben und OF schlechter ab. Auch auf Probenebene zeigten sich die TBS mit 23,3 % (n= 14/60) als weniger geeignetes Untersuchungsmaterial für den Nachweis von IAV. Möglicherweise ist das Virus länger im oberen Respirationstrakt als im unteren nachweisbar. Nach FABLET et al. (2010) eignen sich TBS um Sekret aus den tiefen Atemwegen zu gewinnen. Allerdings wird das Virus nach neun bis elf Tagen aus der Lunge eliminiert (DUERRWALD et al., 2013; DEBLANC et al., 2020). Im Gegensatz dazu finden DECORTE et al. (2015) IAV bis 21 dpi in OF. VANGROENWEGHE und THAS (2021) berichten zudem von einem saisonal abhängigen Nachweis mittels TBS. In der vorliegenden Studie konnte in allen drei Altersgruppen in der Aufzucht IAV in den TBS nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Untersuchungen von ZORIĆ et al. (2020), die TBS bei Ferkeln in unterschiedlichen Altersgruppen entnahmen und in keiner der Proben IAV nachweisen konnten. Die Entnahme von TBS kann mitunter den Probennehmer vor Herausforderungen stellen. Um die zu beprobenden Tiere optimal zu lagern und zu fixieren sind drei Personen nötig. Nach WEIß (2015) ist der kurzzeitige Stress der Entnahme von TBS mit der Entnahme von NT vergleichbar, wird sich aber als alternatives Beprobungsverfahren vermutlich nicht durchsetzen. Zum einen ist die Entnahme mit hohem personellem Aufwand verbunden und zum anderen sollte der / die Tierarzt:in geübt sein um die TBS korrekt entnehmen zu können. Zudem steht dieser Aufwand nicht im Verhältnis mit den

vergleichsweise geringeren Nachweisraten der TBS. Die geringe Nachweisrate in TBS in der vorliegenden Studie könnte auf das Studiendesign mit der Fokussierung auf endemisch infizierte Betriebe zurückzuführen sein. Interessanterweise stammen alle positiven Tracheobronchialtupfer von Aufzuchttieren mit klinischen Anzeichen. Bei einem Challengeversuch von SMITS et al. (2023) stellte sich der IAV-Nachweis aus TBS vergleichbar mit dem Virusnachweis in Lungenproben dar. Dies deutet daraufhin, dass sich TBS für den Nachweis bei akut infizierten Tieren mit hohen Erregermengen eignen. Im Umkehrschluss sind TBS bei endemisch infizierten Betrieben, die zudem kein offensichtliches klinisches Erscheinungsbild aufweisen, vermutlich weniger geeignet.

Laut Untersuchungen von GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) stellt der Nachweis mittels Gesäugewischproben eine geeignete Methode zum Monitoring von IAV dar. Mittels diesem nicht invasiven Verfahren kann das während des Saugakts hinterlassene Sekret der Saugferkel beprobt werden. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen der vorliegenden Arbeit, da die GWP auf Betriebsebene mit 30 % (n= 6/20) die niedrigste Nachweisrate hatten. Auf Probenebene betrachtet lag die Nachweisrate von IAV in GWP mit 25 % (n= 15/60) im Mittelfeld. Somit ist nach unseren Ergebnissen die GWP für die Identifizierung eines IAV positiven Betriebes nur bedingt geeignet. Laut Auswertung mittels Cohens Kappa herrscht in der vorliegenden Studie eine gute Übereinstimmung zwischen dem Nachweis von Influenza in NT von Saugferkeln und GWP, was impliziert, dass Betriebe deren Saugferkel positive NT aufweisen meist auch positive GWP hatten. Dies könnte daraufhin deuten, dass in der vorliegenden Studie ein niedrigerer Infektionsdruck bei den Saugferkeln vorherrscht als in den Untersuchungen von GARRIDO-MANTILLA et al. (2019).

Zusammenfassend waren Gruppenuntersuchungsmethoden wie Umgebungsprobe UT und US bei Sauen und Aufzuchtieren sowie die bei den Aufzuchtieren entnommenen OF für den Nachweis von IAV ebenso geeignet wie NT. Bei den Saugferkeln konnten höhere Nachweisraten im NT als in den Umgebungsproben festgestellt werden wobei hier einschränkend berücksichtigt werden muss, dass im Abferkelstall nicht

differenziert werden kann, ob der Nachweis von IAV in den Umgebungsproben vor allem durch Saugferkel oder durch Sauen verursacht wird.

5. Klinisches Erscheinungsbild

In der vorliegenden Studie wurde bei Saugferkeln sowie allen drei Altersgruppen in der Aufzucht ein Husten- und Niesindex erhoben. Bei der Beprobung wurde darauf geachtet nicht nur offensichtlich kranke Tiere, sondern auch Tiere mit milderem Anzeichen zu beproben. Insgesamt wiesen die untersuchten Tiere häufiger Niesen als Husten auf. Untersuchungen von EVERETT et al. (2021) zeigte, dass Tiere mit hohem Gesundheitsstatus nach IAV-Kontakt eine milde Klinik auf oder waren asymptomatisch. Generell zeigten in der vorliegenden Untersuchung die Saugferkel im Vergleich zu allen drei Altersgruppen der Aufzucht weniger häufig klinische Anzeichen. Interessanterweise konnte bei Saugferkel ohne offensichtliche klinische Anzeichen häufiger IAV in der GWP nachgewiesen werden als bei Saugferkeln, die Husten und Niesen gezeigt haben. Auch bei LILLIE-JASCHNISKI et al. (2022) konnte bei Beprobung der Saugferkel mittels Nasentupfer kein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von IAV und klinischen Symptomen nachgewiesen werden. Wenige bis keine klinischen Symptome bei den Saugferkeln sind auf das Vorhandensein von maternalen Antikörpern zurückzuführen, die Ferkel vor klinischen Anzeichen schützen (RENSHAW, 1975; DEBLANC et al., 2018), jedoch weder die Infektion (RYT-HANSEN et al., 2019a) noch die Replikation des Virus verhindern (DEBLANC et al., 2018).

Auch in der Aufzucht war nicht bei allen Altersgruppen ein Zusammenhang zwischen klinischem Erscheinungsbild und IAV erkennbar. Dies deckt sich mit der von RYT-HANSEN et al. (2019a) durchgeführten Feldstudie bei der ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem Hustenindex und dem IAV-Nachweis festgestellt werden konnte. Allerdings wiesen in eigenen Untersuchungen Ferkel Anfang Aufzucht, die Niesen und Husten zeigten, häufiger positive Umgebungsproben UT und US auf als Tiere ohne respiratorische

Symptomatik. Auch bei den Untersuchungen von LILLIE-JASCHNISKI et al. (2022) konnte lediglich bei den Ferkel zu Beginn der Aufzucht ein Zusammenhang zwischen IAV-Nachweis und dem klinischen Erscheinungsbild festgestellt werden.

Da IAV Bestandteil des PRDC ist und zahlreiche Koinfektionen begünstigen kann (SCHMIDT et al., 2016; RECH et al., 2018; SARLI et al., 2021) könnte die respiratorische Symptomatik bei fehlendem IAV-Nachweis auf bestehende Koinfektionen zurückführen sein. LIN et al. (2015) weisen beispielsweise darauf hin, dass Tiere nach *Streptococcus suis Typ 2* und Influenza Koinfektionen deutlich länger klinische Anzeichen aufweisen als Tiere nach IAV-Monoinfektionen. Auch bei POMORSKA-MÓL et al. (2017b) weisen Koinfektionen mit anderen Pathogenen auf schwere klinische Verläufe sowie Lungenläsionen hin. Zudem beeinflusst eine IAV-Infektion die Replikation des *Haemophilus parasuis* in der Lunge (POMORSKA-MÓL et al., 2017b). Schweine, die zeitgleich mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* und IAV infiziert sind, zeigen schwerwiegendere klinische Anzeichen und Lungenläsionen als Schweine, die nur mit IAV infiziert waren (POMORSKA-MÓL et al., 2017a).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die kontinuierliche Überwachung von Influenza A Viren (IAV) hat sowohl für die Eindämmung von wirtschaftlichen Verlusten in der Schweineproduktion sowie die Aufrechterhaltung der öffentlichen Gesundheit oberste Priorität. Endemische Verlaufsformen erschweren aufgrund des unspezifischen klinischen Erscheinungsbildes sowie der niedrigen Intraherdenprävalenz die Diagnostik. Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Diagnostik in endemisch infizierten Betrieben durch Evaluierung des geeigneten Untersuchungsmaterials sowie der zu beprobenden Altersgruppe zu verbessern. Hierzu wurden im Rahmen einer Querschnittsuntersuchung Gruppenuntersuchungsmethoden (zwei unterschiedliche Umgebungsproben, Oral Fluids und Gesäugewischproben) mit Einzeltierproben (Nasentupfer, Tracheobronchialtupfer, Blutproben) verglichen, die im Rahmen der Routinediagnostik zum Nachweis von IAV auf endemisch infizierten Beständen gewonnen wurden.

Es wurden 25 Ferkelerzeugerbetriebe mit angeschlossener Aufzucht in ganz Deutschland ausgewertet. Die Untersuchungen schlossen verschiedene Altersgruppen und Produktionsstufen (Sauen verschiedener Paritäten und Standorte, Saugferkel aus verschiedenen Paritäten der Muttersauen sowie drei Altersgruppen von Aufzuchtferkeln) ein. Alle entnommenen Proben wurden mittels RT-qPCR auf IAV untersucht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigten, dass sich Gruppenuntersuchungsmaterialien wie OF oder Umgebungsproben als nicht invasives, kostengünstiges Beprobungsverfahren für ein Monitoring von IAV eignen. Zudem kann in endemisch infizierten Beständen mit einer niedrigen Intraherdenprävalenz der indirekte Nachweis mittels HAH die Diagnostik von IAV ergänzen.

Hinsichtlich der zu beprobenden Altersgruppe zeigte sich, dass Saugferkel und Aufzuchtferkel signifikant häufiger IAV aufwiesen als Sauen. Auch innerhalb der Aufzucht konnte ein Einfluss der Altersgruppe auf den Nachweis von IAV festgestellt werden, da unabhängig vom

Untersuchungsmaterial bei Ferkeln Anfang sowie Ferkeln Mitte Aufzucht signifikant häufiger der Nachweis von IAV gelang als bei Ferkeln Ende Aufzucht.

Das klinische Erscheinungsbild einer IAV-Infektion konnten am häufigsten bei Aufzuchtstieren beobachtet werden. Da dieses jedoch nicht zwangsläufig mit dem Nachweis von IAV korreliert, sollten nicht nur Tiere mit offensichtlichen klinischen Anzeichen in die Untersuchungen eingeschlossen werden.

Demnach ist zu empfehlen, mehrere Altersgruppen in die Beprobung mit einzuschließen und sich somit auf Saugferkel und Aufzuchtferkel, insbesondere Ferkel Anfang und Mitte Aufzucht zu konzentrieren. Jedoch sollte man auch Tiere ohne klinisches Erscheinungsbild in die Beprobung mit einbeziehen. Bei einem Monitoring können OF in der Aufzucht sowie Umgebungsproben im Abferkelstall sowie in der Aufzucht verwendet werden, die durch einen HAH ergänzt werden können.

VII. SUMMARY

Continuous surveillance of influenza A viruses (IAV) is a top priority for both mitigating economic losses in swine production and maintaining public health. Endemic courses complicate diagnosis due to the nonspecific clinical presentation as well as low intraherd prevalence. The aim of the present work was to improve diagnostics in endemically infected farms by evaluating the appropriate test material as well as the age group to be sampled. For this purpose, group testing methods (two different environmental samples, oral fluids and udder skin wipes) were compared with individual animal samples (nasal swabs, tracheobronchial swabs, blood samples) obtained in routine diagnostics for the detection of IAV on endemically infected farms in a cross-sectional study.

Twenty-five piglet production farms with associated nursery throughout Germany were sampled. The investigations included different age groups and production stages (sows of different parities and locations, suckling piglets from different parities of mother sows, and three age groups of the nursery). All samples collected were tested for IAV by RT-qPCR.

The results of the present study showed that group testing materials such as OF or environmental samples are suitable as a non-invasive, cost-effective sampling method for monitoring IAV. Moreover, in endemically infected herds with a low intraherd prevalence, indirect detection using HAH can complement the diagnosis of IAV.

Regarding the age group to be sampled, it was found that suckling piglets and nursery piglets showed IAV significantly more frequently than sows. Within the nursery, an influence of the age group on the detection of IAV could also be determined, since regardless of the material, the detection of IAV was significantly more frequent in piglets at the beginning and in piglets in the middle of nursery than in piglets at the end of nursery.

Clinical signs of IAV infection were most frequently observed in the nursery. However, since the clinical appearance does not necessarily correlate with the detection of IAV, not only piglets with obvious clinical signs were included in the studies.

It is recommended to include several age groups in the sampling and thus to concentrate on suckling piglets and the nursery, especially piglets at the beginning and in the middle of nursery. However, animals without clinical signs should also be included in the sampling. Monitoring can use OF in the nursery and environmental samples in the farrowing unit as well as in the nursery, which can be supplemented by a HAH.

VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Beprobungsschema.</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht der Einzelproben und Poolproben anhand des Beprobungsschemas.</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 3: Interpretation des Cohens Kappa.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 4: Nachweis von Influenza A Viren in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien innerhalb der Produktionsstufen bzw. Altersgruppen auf Betriebsebene (BE) und Probenebene (PE) in % mit Anteil positiver Proben (n= x/y), und Durchschnitt Ø des Mittelwertes des prozentualen Anteils positiver Proben / Betrieb in % mit Konfidenzintervall (CI).....</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 5: Anzahl sowie Prozentsatz positiver Proben in den 20 RT-qPCR positiven Betrieben aufgeteilt nach Produktionsstufen bzw. Altersgruppen sowie Untersuchungsmaterialien</i>	<i>40</i>
<i>Tabelle 6: Cohen's Kappa-Koeffizient (κ) und p-Wert der Übereinstimmung der Ergebnisse auf Probenebene für die binäre Variable (positives oder negatives Ergebnis des Nachweises von Influenza A) innerhalb der Altersstufen.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabelle 7: Befunde des HAH der fünf RT-qPCR negativen Betriebe (Betrieb 1-5)</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 8: Befunde des HAH der 20 RT-qPCR positiven Betriebe (Betrieb 1-20)</i>	<i>113</i>

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Verteilung der untersuchten Betriebe, gekennzeichnet durch rote Stecknadeln auf einer Deutschlandkarte. Google Maps, 2022.</i>	20
<i>Abbildung 2: Entnahme der Gesäugewischprobe im Abferkelstall.</i>	27
<i>Abbildung 3: Entnahme der Umgebungsprobe Tierbereich (UT) bei Beschäftigungsmaterial.</i>	28
<i>Abbildung 4: Entnahme einer Staubprobe (US) bei Aufzuchtferkeln.</i>	29
<i>Abbildung 5: Entnahme eines Tracheobronchialtupfers bei einem Ferkel Anfang Aufzucht.</i>	30
<i>Abbildung 6: Gewinnung von Oral Fluids bei Aufzuchtferkeln.</i>	31
<i>Abbildung 7: Prozentualer Anteil des IAV-Nachweises in den unterschiedlichen Materialien aufgeteilt in die drei Produktionsstandorte der Sauen.</i>	41
<i>Abbildung 8: Prozentualer Anteil des Nachweises von IAV in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien der Saugferkel</i>	42
<i>Abbildung 9: Prozentualer Anteil des IAV-Nachweises in den unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien bei den drei Altersgruppen der Aufzuchtferkel</i>	43
<i>Abbildung 10: Prozentueller Anteil der Verteilung des IAV-Nachweises in einer bzw. mehrerer Produktionsstufen sowie die Verteilung innerhalb der Altersgruppen.</i>	46
<i>Abbildung 11: Prozentualer Anteil der Altersgruppen mit bzw. ohne klinisches Erscheinungsbild auf Betriebsebene, aufgeteilt in RT-qPCR-positive (+) und RT-qPCR-negative (-) Betriebe</i>	53
<i>Abbildung 12: Prozentualer Anteil und Verteilung des klinischen Erscheinungsbildes in den Altersgruppen auf Betriebsebene der RT-qPCR-positiven (+) Betriebe</i>	54
<i>Abbildung 13: Verteilung des Niesindex anhand der Altersgruppen Saugferkel, Anfang / Mitte und Ende Aufzucht der RT-qPCR-positiven Betriebe (n=20). Die Kreise kennzeichnen Ausreißer.</i>	55
<i>Abbildung 14: Verteilung des Hustenindex anhand der Altersgruppen Saugferkel, Anfang / Mitte und Ende Aufzucht der RT-qPCR-positiven</i>	

Betriebe (n=20). Die Kreise kennzeichnen Ausreißer. Bei der Gruppe der Ende Aufzucht lag ein Extremwert bei 5,3, der in dieser Abbildung nicht eingezeichnet ist.56

X. LITERATURVERZEICHNIS

Allerson M, Davies P, Gramer M, Torremorell M (2014). Infection Dynamics of Pandemic 2009 H1N1 Influenza Virus in a Two-Site Swine Herd. *Transboundary and emerging diseases*, 61 (6): 490-499.

Almeida MN, Rotto H, Schneider P, Robb C, Zimmerman JJ, Holtkamp DJ, Rademacher CJ, Linhares DCL (2020). Collecting oral fluid samples from due-to-wean litters. *Preventive veterinary medicine*, 174: 104810.

Alvarez J, Sarradell J, Kerkaert B, Bandyopadhyay D, Torremorell M, Morrison R, Perez A (2015). Association of the presence of influenza A virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in sow farms with post-weaning mortality. *Preventive veterinary medicine*, 121 (3-4): 240-245.

Anderson TK, Macken CA, Lewis NS, Scheuermann RH, Reeth KV, Brown IH, Swenson SL, Simon G, Saito T, Berhane Y, Ciacci-Zanella J, Pereda A, Davis CT, Donis RO, Webby RJ, Vincent AL (2016). A Phylogeny-Based Global Nomenclature System and Automated Annotation Tool for H1 Hemagglutinin Genes from Swine Influenza A Viruses. *mSphere*, 1 (6): e00275-00216.

Arruda PHE, Gauger P (2019). Optimizing Sample Selection, Collection, and Submission to Optimize Diagnostic Value. In: *Diseases of Swine*. 11th; Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, Zhang J (Hrsg.), John Wiley & Sons, Inc.: 98-111.

Baltimore D (1971). Expression of animal virus genomes. *Bacteriological reviews*, 35 (3): 235-241.

Barbé F, Labarque G, Pensaert M, Van Reeth K (2009). Performance of a commercial Swine influenza virus H1N1 and H3N2 antibody enzyme-linked immunosorbent assay in pigs experimentally infected with European influenza viruses. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 21 (1): 88-96.

Beer M (2015). Familie Orthomyxoviridae. In: *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 10., aktualisierte Auflage; Selbitz H-J, Truyen U, Valentin-Weigand P (Hrsg.), Enke Verlag: 546-555.

Beer M, Haas L (2015). Direkter Erregernachweis bei Virusinfektionen. In: *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 10., aktualisierte Auflage; Selbitz H-J, Truyen U, Valentin-Weigand P (Hrsg.), Enke Verlag: 75-90.

Bennett R, Ijpelaar J (2005). Updated estimates of the costs associated with thirty four endemic livestock diseases in Great Britain: a note. *Journal of Agricultural Economics*, 56 (1): 135-144.

Bhatta TR, Ryt-Hansen P, Nielsen JP, Larsen LE, Larsen I, Chamings A, Goecke NB, Alexandersen S (2020). Infection dynamics of swine influenza virus in a danish pig herd reveals recurrent infections with different variants of the H1N2 Swine Influenza A virus subtype. *Viruses*, 12 (9): 1013.

Blackie N, de Sousa M (2019). The Use of Garlic Oil for Olfactory Enrichment Increases the Use of Ropes in Weaned Pigs. *Animals (Basel)*, 9 (4).

Bourne FJ, Curtis J (1973). The transfer of immunoglobins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology*, 24 (1): 157-162.

Bouvier NM, Palese P (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 26 Suppl 4 (Suppl 4): D49-53.

Brockmeier SL, Halbur PG, Thacker EL (2002). Porcine respiratory disease complex. *Polymicrobial diseases*: 231-258.

Brookes SM, Núñez A, Choudhury B, Matrosovich M, Essen SC, Clifford D, Slomka MJ, Kuntz-Simon G, Garcon F, Nash B, Hanna A, Heegaard PMH, Quéguiner S, Chiapponi C, Bublot M, Garcia JM, Gardner R, Foni E, Loeffen W, Larsen L, Van Reeth K, Banks J, Irvine RM, Brown IH (2010). Replication, Pathogenesis and Transmission of Pandemic (H1N1) 2009 Virus in Non-Immune Pigs. *PloS one*, 5 (2): e9068.

Brown I, Harris P, McCauley J, Alexander D (1998). Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *Journal of General Virology*, 79 (12): 2947-2955.

Brown IH (2013). History and epidemiology of swine influenza in Europe. *Swine influenza*: 133-146.

Bui M, Whittaker G, Helenius A (1996). Effect of M1 protein and low pH on nuclear transport of influenza virus ribonucleoproteins. *Journal of virology*, 70 (12): 8391-8401.

Busquets N, Segalés J, Córdoba L, Mussá T, Crisci E, Martín-Valls GE, Simon-Grifé M, Pérez-Simó M, Pérez-Maíllo M, Núñez JI, Abad FX, Fraile L, Pina S, Majó N, Bensaid A, Domingo M, Montoya M (2010). Experimental infection with H1N1 European swine influenza virus protects pigs from an infection with the 2009 pandemic H1N1 human influenza virus. *Veterinary Research*, 41 (5): 74.

Cador C, Rose N, Willem L, Andraud M (2016). Maternally derived immunity extends swine influenza A virus persistence within farrow-to-finish pig farms: insights from a stochastic event-driven metapopulation model. *PloS one*, 11 (9): e0163672.

Castrucci MR, Donatelli I, Sidoli L, Barigazzi G, Kawaoka Y, Webster RG (1993). Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology*, 193 (1): 503-506.

Chamba Pardo FO, Alba-Casals A, Nerem J, Morrison RB, Puig P, Torremorell M (2017). Influenza Herd-Level Prevalence and Seasonality in Breed-to-Wean Pig Farms in the Midwestern United States. *Frontiers in Veterinary Science*, 4: 167.

Chamba Pardo FO, Schelkopf A, Allerson M, Morrison R, Culhane M, Perez A, Torremorell M (2018). Breed-to-wean farm factors associated with influenza A virus infection in piglets at weaning. *Preventive veterinary medicine*, 161: 33-40.

Chamba Pardo FO, Wayne S, Culhane MR, Perez A, Allerson M, Torremorell M (2019). Effect of strain-specific maternally-derived antibodies on influenza A virus infection dynamics in nursery pigs. *PloS one*, 14 (1): e0210700.

Chastagner A, Hervé S, Bonin E, Quéguiner S, Hirchaud E, Henritzi D, Béven V, Gorin S, Barbier N, Blanchard Y (2018). Spatiotemporal distribution and evolution of the A/H1N1 2009 pandemic influenza virus in pigs in France from 2009 to 2017: identification of a potential swine-specific lineage. *Journal of virology*, 92 (24): e00988-00918.

Chastagner A, Enouf V, Peroz D, Hervé S, Lucas P, Quéguiner S, Gorin S, Beven V, Behillil S, Leneveu P, Garin E, Blanchard Y, van der Werf S, Simon G (2019). Bidirectional Human-Swine Transmission of Seasonal Influenza A(H1N1)pdm09 Virus in Pig Herd, France, 2018. *Emerging infectious diseases*, 25 (10): 1940-1943.

Chen JM, Sun YX, Chen JW, Liu S, Yu JM, Shen CJ, Sun XD, Peng D (2009). Panorama phylogenetic diversity and distribution of type A influenza viruses based on their six internal gene sequences. *Virology journal*, 6: 137.

Chiapponi C, Ebranati E, Pariani E, Faccini S, Luppi A, Baioni L, Manfredi R, Carta V, Merenda M, Affanni P, Colucci ME, Veronesi L, Zehender G, Foni E (2018). Genetic analysis of human and swine influenza A viruses isolated in Northern Italy during 2010-2015. *Zoonoses and Public Health*, 65 (1): 114-123.

Choi MJ, Torremorell M, Bender JB, Smith K, Boxrud D, Ertl JR, Yang M, Suwannakarn K, Her D, Nguyen J, Uyeki TM, Levine M, Lindstrom S, Katz JM, Jhung M, Vetter S, Wong KK, Sreevatsan S, Lynfield R (2015). Live Animal Markets in Minnesota: A Potential Source for Emergence of Novel Influenza A Viruses and Interspecies Transmission. *Clinical Infectious Diseases*, 61 (9): 1355-1362.

Choi YK, Goyal SM, Joo HS (2004). Evaluation of transmission of swine influenza type A subtype H1N2 virus in seropositive pigs. *American journal of veterinary research*, 65 (3): 303-306.

Christopher-Hennings J, Erickson GA, Hesse RA, Nelson EA, Rossow S, Scaria J, Slavic D (2019). Diagnostic Tests, Test Performance, and Considerations for Interpretation. In: *Diseases of Swine*; Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J (Hrsg.), John Wiley & Sons, Inc.: 75-97.

Ciacchi-Zanella JR, Vincent AL, Prickett JR, Zimmerman SM, Zimmerman JJ (2010). Detection of anti-influenza A nucleoprotein antibodies in pigs using a commercial influenza epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assay developed for avian species. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 22 (1): 3-9.

Ciuoderis KA, Perez LS, Cardona A, Hernandez-Ortíz JP, Osorio JE (2022). Use of oral fluids for efficient monitoring of influenza viruses in swine herds in Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 35 (3).

Corzo CA, Gramer M, Kuhn M, Mohr M, Morrison R (2012). Observations regarding influenza A virus shedding in a swine breeding farm after mass vaccination. *Journal of Swine Health and Production*, 20 (6): 283-289.

Corzo CA, Culhane M, Juleen K, Stigger-Rosser E, Ducatez MF, Webby RJ, Lowe JF (2013). Active surveillance for influenza A virus among swine, midwestern United States, 2009-2011. *Emerging infectious diseases*, 19 (6): 954-960.

Dawson LL, Edwards SA (2015). The effects of flavored rope additives on commercial pen-based oral fluid yield in pigs. *Journal of Veterinary Behavior*, 10 (3): 267-271.

de Lara AC, Garrido-Mantilla J, Lopez-Moreno G, Yang M, Barcellos DE, Torremorell M (2022). Effect of pooling udder skin wipes on the detection of influenza A virus in preweaning pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 34 (1): 133-135.

Deblanc C, Hervé S, Gorin S, Cador C, Andraud M, Quéguiner S, Barbier N, Paboeuf F, Rose N, Simon G (2018). Maternally-derived antibodies do not inhibit swine influenza virus replication in piglets but decrease excreted virus infectivity and impair post-infectious immune responses. *Veterinary microbiology*, 216: 142-152.

Deblanc C, Quéguiner S, Gorin S, Chastagner A, Hervé S, Paboeuf F, Simon G (2020). Evaluation of the pathogenicity and the escape from vaccine protection of a new antigenic variant derived from the european human-like reassortant swine H1N2 influenza virus. *Viruses*, 12 (10): 1155.

Decorte I, Steensels M, Lambrecht B, Cay AB, De Regge N (2015). Detection and isolation of swine influenza A virus in spiked oral fluid and samples from individually housed, experimentally infected pigs: potential role of porcine oral fluid in active influenza A virus surveillance in swine. *PloS one*, 10 (10): e0139586.

Detmer S, Gramer M, Goyal S, Torremorell M, Torrison J (2013). Diagnostics and surveillance for Swine influenza. *Current topics in microbiology and immunology*, 370: 85-112.

Detmer SE, Patnayak DP, Jiang Y, Gramer MR, Goyal SM (2011). Detection of Influenza A virus in porcine oral fluid samples. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 23 (2): 241-247.

Devillers N, Farmer C, Mounier AM, Le Dividich J, Prunier A (2004). Hormones, IgG and lactose changes around parturition in plasma, and colostrum or saliva of multiparous sows. *Reproduction, nutrition, development*, 44 (4): 381-396.

Diaz A, Perez A, Sreevatsan S, Davies P, Culhane M, Torremorell M (2015). Association between Influenza A Virus Infection and Pigs Subpopulations in Endemically Infected Breeding Herds. *PloS one*, 10 (6): e0129213.

Drake JW (1993). Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (9): 4171-4175.

Duerrwald R, Schlegel M, Bauer K, Vissiennon T, Wutzler P, Schmidtke M (2013). Efficacy of influenza vaccination and tamiflu® treatment-comparative studies with Eurasian Swine influenza viruses in pigs. *PLoS one*, 8 (4): e61597.

Duesberg PH (1968). The RNA of influenza virus. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 930-937.

Dürrwald R, Krumbholz A, Baumgarte S, Schlegel M, Vahlenkamp TW, Selbitz H-J, Wutzler P, Zell R (2010). Swine Influenza A Vaccines, Pandemic (H1N1) 2009 Virus, and Cross-Reactivity. *Emerging Infectious Diseases*, 16 (6): 1029-1030.

Easterday B (1980). The epidemiology and ecology of swine influenza as a zoonotic disease. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 3 (1-2): 105-109.

Eddicks M, Beuter B, Stuhldreier R, Nolte T, Reese S, Sutter G, Ritzmann M, Fux R (2019). Cross-sectional study on viraemia and shedding of porcine circovirus type 2 in a subclinically infected multiplier sow herd. *Veterinary Record*, 184 (6): 189-189.

Edmans M, McNee A, Porter E, Vatzia E, Paudyal B, Martini V, Gubbins S, Francis O, Harley R, Thomas A, Burt R, Morgan S, Fuller A, Sewell A, Charleston B, Bailey M, Tchilian E (2021). Magnitude and Kinetics of T Cell and Antibody Responses During H1N1pdm09 Infection in Inbred Babraham Pigs and Outbred Pigs. *Frontiers in immunology*, 11: 604913.

Er C, Lium B, Tavnornpanich S, Hofmo PO, Forberg H, Hauge AG, Grøntvedt CA, Framstad T, Brun E (2014). Adverse effects of Influenza A(H1N1)pdm09 virus infection on growth performance of Norwegian pigs - a longitudinal study at a boar testing station. *BMC veterinary research*, 10: 284.

Er C, Skjerve E, Brun E, Hofmo PO, Framstad T, Lium B (2016). Production impact of influenza A (H1N1) pdm09 virus infection on fattening pigs in Norway. *Journal of Animal Science*, 94 (2): 751-759.

Everett HE, van Diemen PM, Aramouni M, Ramsay A, Coward VJ, Pavot V, Canini L, Holzer B, Morgan S, the Dynamics sLoLa C, Woolhouse MEJ, Tchilian E, Brookes SM, Brown IH, Charleston B, Gilbert S (2021). Vaccines That Reduce Viral Shedding Do Not Prevent Transmission of H1N1 Pandemic 2009 Swine Influenza A Virus Infection to Unvaccinated Pigs. *Journal of Virology*, 95 (4): e01787-01720.

Fablet C, Marois C, Kobisch M, Madec F, Rose N (2010). Estimation of the sensitivity of four sampling methods for *Mycoplasma hyopneumoniae* detection in live pigs using a Bayesian approach. *Vet Microbiol*, 143 (2-4): 238-245.

Ferrari M, Scalvini A, Losio M, Corradi A, Soncini M, Bignotti E, Milanese E, Ajmone-Marsan P, Barlati S, Bellotti D (2003). Establishment and characterization of two new pig cell lines for use in virological diagnostic laboratories. *Journal of virological methods*, 107 (2): 205-212.

Ferreira JB, Grgić H, Friendship R, Wideman G, Nagy É, Poljak Z (2017). Longitudinal study of influenza A virus circulation in a nursery swine barn. *Veterinary research*, 48 (1): 63.

Filaire F, Lebre L, Foret-Lucas C, Vergne T, Daniel P, Lelièvre A, de Barros A, Jbenyeni A, Bolon P, Paul M, Croville G, Guérin JL (2022). Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8) Clade 2.3.4.4b Virus in Dust Samples from Poultry Farms, France, 2021. *Emerging infectious diseases*, 28 (7): 1446-1450.

Fouchier RAM, Bestebroer TM, Herfst S, Kemp LVD, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME (2000). Detection of Influenza A Viruses from Different Species by PCR Amplification of Conserved Sequences in the Matrix Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (11): 4096-4101.

Freidl GS, Meijer A, de Bruin E, de Nardi M, Munoz O, Capua I, Breed AC, Harris K, Hill A, Kosmider R (2014). Influenza at the animal–human interface: a review of the literature for virological evidence of human infection with swine or avian influenza viruses other than A (H5N1). *Eurosurveillance*, 19 (18).

Garrido-Mantilla J, Alvarez J, Culhane M, Nirmala J, Cano JP, Torremorell M (2019). Comparison of individual, group and environmental sampling strategies to conduct influenza surveillance in pigs. *BMC veterinary research*, 15 (1): 1-10.

Garrido-Mantilla J, Culhane MR, Torremorell M (2020). Transmission of influenza A virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a novel nurse sow model: a proof of concept. *BMC veterinary research*, 51 (1): 42.

Garrido-Mantilla J, Sanhueza J, Alvarez J, Culhane MR, Davies P, Allerson MW, Torremorell M (2021). Impact of nurse sows on influenza A virus transmission in pigs under field conditions. *Preventive veterinary medicine*, 188: 105257.

Goecke NB, Kobberø M, Kusk TK, Hjulsager CK, Pedersen KS, Kristensen CS, Larsen LE (2020). Objective pathogen monitoring in nursery and finisher pigs by monthly laboratory diagnostic testing. *Porcine health management*, 6: 1-14.

Goodell CK, Prickett J, Kittawornrat A, Zhou F, Rauh R, Nelson W, O'Connell C, Burrell A, Wang C, Yoon K-J (2013). Probability of detecting influenza A virus subtypes H1N1 and H3N2 in individual pig nasal swabs and pen-based oral fluid specimens over time. *Veterinary microbiology*, 166 (3-4): 450-460.

Goodell CK, Zhang J, Strait E, Harmon K, Patnayak D, Otterson T, Culhane M, Christopher-Hennings J, Clement T, Leslie-Steen P, Hesse R, Anderson J, Skarbek K, Vincent A, Kitikoon P, Swenson S, Jenkins-Moore M, McGill J, Rauh R, Nelson W, O'Connell C, Shah R, Wang C, Main R, Zimmerman JJ (2016). Ring test evaluation of the detection of influenza A virus in swine oral fluids by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction and virus isolation. *Canadian journal of veterinary research*, 80 (1): 12-20.

Gourreau J, Kaiser C, Madec F, Labie J, Vannier P, Aymard M, Vigouroux A, Salingardes F (1985). Transplacental passage of influenza virus in the sow under natural conditions [placental barrier, abortion; mortinatalité, Brittany (France)]. *Annales de l'Institut Pasteur Virologie (France)*, 136 (1): 55-63.

Grøntvedt CA, Er C, Gjerset B, Germundsson A, Framstad T, Brun E, Jørgensen A, Lium B (2011). Clinical impact of infection with pandemic influenza (H1N1) 2009 virus in naïve nucleus and multiplier pig herds in Norway. *Influenza Research and Treatment*, 2011.

grosse Beilage E (2013). Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand. 1. Auflage; grosse Beilage E, Wendt M (Hrsg.); Stuttgart, utb GmbH: 200-262.

Gumbert S, Froehlich S, Rieger A, Stadler J, Ritzmann M, Zoels S (2020). Reproductive performance of pandemic influenza A virus infected sow herds before and after implementation of a vaccine against the influenza A (H1N1) pdm09 virus. *Porcine health management*, 6 (1): 1-9.

Haas L, Beer M (2015). Indirekter Erregernachweis. In: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 10., aktualisierte Auflage; Selbitz H-J, Truyen U, Valentin-Weigand P (Hrsg.), Enke Verlag: 90-95.

Haesebrouck F, Pensaert M (1986). Effect of intratracheal challenge of fattening pigs previously immunised with an inactivated influenza H1N1 vaccine. *Veterinary microbiology*, 11 (3): 239-249.

Hancock K, Veguilla V, Lu X, Zhong W, Butler EN, Sun H, Liu F, Dong L, DeVos JR, Gargiullo PM, Brammer TL, Cox NJ, Tumpey TM, Katz JM (2009). Cross-Reactive Antibody Responses to the 2009 Pandemic H1N1 Influenza Virus. *New England Journal of Medicine*, 361 (20): 1945-1952.

Harder TC, grosse Beilage E, Lange E, Meiners C, Döhning S, Pesch S, Noé T, Grund C, Beer M, Starick E (2013). Expanded Cocirculation of Stable Subtypes, Emerging Lineages, and New Sporadic Reassortants of Porcine Influenza Viruses in Swine Populations in Northwest Germany. *Journal of Virology*, 87 (19): 10460-10476.

Harris DL (2008). Multi-site pig production. 1st edition; Iowa, John Wiley & Sons; 217.

Heinritzi K (2006). Laboruntersuchungen. In: Schweinekrankheiten; Heinritzi K, Gindele H, Reiner G, Schnurrbusch U (Hrsg.), Eugen Ulmer Stuttgart: 35-40.

Henao-Diaz A, Giménez-Lirola L, Magtoto R, Ji J, Zimmerman J (2019). Evaluation of three commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) oral fluid antibody ELISAs using samples of known status. *Research in veterinary science*, 125: 113-118.

Hennig C, Graaf A, Petric PP, Graf L, Schwemmler M, Beer M, Harder T (2022). Are pigs overestimated as a source of zoonotic influenza viruses? *Porcine health management*, 8 (1): 1-12.

Henritzi D, Zhao N, Starick E, Simon G, Krog JS, Larsen LE, Reid SM, Brown IH, Chiapponi C, Foni E (2016). Rapid detection and subtyping of European swine influenza viruses in porcine clinical samples by haemagglutinin-and neuraminidase-specific tetra-and triplex real-time RT-PCRs. *Influenza and other respiratory viruses*, 10 (6): 504-517.

Henritzi D, Harder T (2017). Ordnung, Chaos und Neuordnung: Entwicklungen der Sub- und Genotypen porciner Influenzaviren in Deutschland und Europa. *Leipziger Blaue Hefte*: 88.

Henritzi D, Hoffmann B, Wacheck S, Pesch S, Herrler G, Beer M, Harder TC (2018). A newly developed tetraplex real-time RT-PCR for simultaneous screening of influenza virus types A, B, C and D. *Influenza Other Respir Viruses*, 13 (1): 71-82.

Henritzi D, Petric PP, Lewis NS, Graaf A, Pessia A, Starick E, Breithaupt A, Strebelow G, Luttermann C, Parker LMK (2020). Surveillance of European domestic pig populations identifies an emerging reservoir of potentially zoonotic swine influenza A viruses. *Cell host & microbe*, 28 (4): 614-627. e616.

Hernandez-Garcia J, Robben N, Magnée D, Eley T, Dennis I, Kayes SM, Thomson JR, Tucker AW (2017). The use of oral fluids to monitor key pathogens in porcine respiratory disease complex. *Porcine health management*, 3 (1): 1-13.

Herz C, Stavnezer E, Krug RM, Gurney Jr T (1981). Influenza virus, an RNA virus, synthesizes its messenger RNA in the nucleus of infected cells. *Cell*, 26 (3): 391-400.

Holland J, Spindler K, Horodyski F, Grabau E, Nichol S, VandePol S (1982). Rapid evolution of RNA genomes. *Science*, 215 (4540): 1577-1585.

Holyoake P, Kirkland P, Davis R, Arzey K, Watson J, Lunt R, Wang J, Wong F, Moloney B, Dunn S (2011). The first identified case of pandemic H1N1 influenza in pigs in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 89 (11): 427-431.

Horm SV, Gutiérrez RA, Sorn S, Buchy P (2012). Environment: a potential source of animal and human infection with influenza A (H5N1) virus. *Influenza Other Respir Viruses*, 6 (6): 442-448.

Horne R, Waterson A, Wildy P, Farnham A (1960). The structure and composition of the myxoviruses: I. Electron microscope studies of the structure of myxovirus particles by negative staining techniques. *Virology*, 11 (1): 79-98.

Howden KJ, Brockhoff EJ, Caya FD, McLeod LJ, Lavoie M, Ing JD, Bystrom JM, Alexandersen S, Pasick JM, Berhane Y, Morrison ME, Keenliside JM, Laurendeau S, Rohonczy EB (2009). An investigation into human pandemic influenza virus (H1N1) 2009 on an Alberta swine farm. *The Canadian veterinary journal*, 50 (11): 1153-1161.

International Committee on Taxonomy of Viruses (2021). Current ICTV Taxonomy Release. <https://ictv.global/taxonomy>. accessed: 24.01.2023.

Ito T, Couceiro JNS, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, Donatelli I, Kida H, Paulson JC, Webster RG (1998). Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *Journal of virology*, 72 (9): 7367-7373.

Khatri M, Dwivedi V, Krakowka S, Manickam C, Ali A, Wang L, Qin Z, Renukaradhya GJ, Lee C-W (2010). Swine Influenza H1N1 Virus Induces Acute Inflammatory Immune Responses in Pig Lungs: a Potential Animal Model for Human H1N1 Influenza Virus. *Journal of Virology*, 84 (21): 11210-11218.

Kitikoon P, Nilubol D, Erickson BJ, Janke BH, Hoover TC, Sornsen SA, Thacker EL (2006). The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. *Veterinary immunology and immunopathology*, 112 (3-4): 117-128.

Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, Peiris M, Kedzierska K, Doherty PC, Palese P, Shaw ML, Treanor J, Webster RG, García-Sastre A (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4 (1): 3.

Kuroda M, Usui T, Shibata C, Nishigaki H, Yamaguchi T (2022). Possible bidirectional human–swine and subsequent human–human transmission of influenza virus A (H1N1)/2009 in Japan. *Zoonoses and Public Health*, 69 (6): 721-728.

Kyriakis CS, Olsen CW, Carman S, Brown IH, Brookes SM, Van Doorselaere J, Van Reeth K (2010). Serologic cross-reactivity with pandemic (H1N1) 2009 virus in pigs, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 16 (1): 96.

Kyriakis CS, Rose N, Foni E, Maldonado J, Loeffen WLA, Madec F, Simon G, Van Reeth K (2013). Influenza A virus infection dynamics in swine farms in Belgium, France, Italy and Spain, 2006–2008. *Veterinary microbiology*, 162 (2-4): 543-550.

Lamb RA, Choppin PW (1983). The gene structure and replication of influenza virus. *Annual review of biochemistry*, 52 (1): 467-506.

Landolt GA, Karasin AI, Phillips L, Olsen CW (2003). Comparison of the pathogenesis of two genetically different H3N2 influenza A viruses in pigs. *Journal of clinical microbiology*, 41 (5): 1936-1941.

Lange E, Kalthoff D, Blohm U, Teifke JP, Breithaupt A, Maresch C, Starick E, Fereidouni S, Hoffmann B, Mettenleiter TC, Beer M, Vahlenkamp TW

(2009). Pathogenesis and transmission of the novel swine-origin influenza virus A/H1N1 after experimental infection of pigs. *Journal of General Virology*, 90 (9): 2119-2123.

Lange W (2007). Aufbau der Influenzaviren. In: *Pferdeinfluenza*. 2., vollständig überarbeitete Auflage; Lange W (Hrsg.), Parey Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG: 4-24.

Larsen D, Karasin A, Zuckermann F, Olsen C (2000). Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Veterinary microbiology*, 74 (1-2): 117-131.

Larsen LE, Nielsen CK, Aakerblom S, Hjulsager CK, Nielsen JP, Stege HH, Kristensen CS, Elvstrom A, Lau L (2010). Dynamics of swine influenza infections in the farrowing unit of a Danish sow herd. 21st International Pig Veterinary Society Congress, Vancouver, Canada, O. 042.

Leuwerke B, Kitikoon P, Evans R, Thacker E (2008). Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. swine influenza viruses. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 20 (4): 426-432.

Lillie-Jaschniski K, Lisgara M, Pileri E, Jardin A, Velazquez E, Köchling M, Albin M, Casanovas C, Skampardonis V, Stadler J (2022). A New Sampling Approach for the Detection of Swine Influenza a Virus on European Sow Farms. *Veterinary sciences*, 9 (7): 338.

Lin D, Lan J, Zhang Z (2007). Structure and function of the NS1 protein of influenza A virus. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 39 (3): 155-162.

Lin X, Huang C, Shi J, Wang R, Sun X, Liu X, Zhao L, Jin M (2015). Investigation of Pathogenesis of H1N1 Influenza Virus and Swine Streptococcus suis Serotype 2 Co-Infection in Pigs by Microarray Analysis. *PloS one*, 10 (4): e0124086.

Loeffen W, Kamp E, Stockhofe-Zurwieden N, Van Nieuwstadt A, Bongers J, Hunneman W, Elbers A, Baars J, Nell T, Van Zijderveld F (1999). Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs. *Veterinary Record*, 145 (5): 123-129.

Loeffen WLA, Heinen PP, Bianchi ATJ, Hunneman WA, Verheijden JHM (2003). Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus. *Veterinary immunology and immunopathology*, 92 (1-2): 23-35.

Lopez-Moreno G, Garrido-Mantilla J, Sanhueza JM, Rendahl A, Davies P, Culhane M, McDowell E, Fano E, Goodell C, Torremorell M (2022). Evaluation of dam parity and internal biosecurity practices in influenza infections in piglets prior to weaning. *Preventive veterinary medicine*, 208: 105764.

Lopez-Moreno G, Davies P, Yang M, Culhane MR, Corzo Cesar A, Li C, Rendahl A, Torremorell M (2022). Evidence of influenza A infection and risk of transmission between pigs and farmworkers. *Zoonoses and Public Health*: zph.12948.

Lopez Moreno G, Nirmala J, Goodell C, Culhane M, Torremorell M (2021). Shedding and transmission of a live attenuated influenza A virus vaccine in pre-weaned pigs under field conditions. *PloS one*, 16 (2): e0246690.

Ma W, Vincent AL, Lager KM, Janke BH, Henry SC, Rowland RRR, Hesse RA, Richt JA (2009). Identification and characterization of a highly virulent triple reassortant H1N1 swine influenza virus in the United States. *Virus Genes*, 40 (1): 28-36.

Ma W, García-Sastre A, Schwemmle M (2015). Expected and unexpected features of the newly discovered bat influenza A-like viruses. *PLoS pathogens*, 11 (6): e1004819.

Ma W (2020). Swine influenza virus: Current status and challenge. *Virus research*, 288: 198118.

Martin K, Helenius A (1991). Transport of incoming influenza virus nucleocapsids into the nucleus. *Journal of virology*, 65 (1): 232-244.

Medina RA, García-Sastre A (2011). Influenza A viruses: new research developments. *Nature Reviews Microbiology*, 9 (8): 590-603.

Meiners C, Loesken S, Doehring S, Starick E, Pesch S, Maas A, Noe T, Beer M, Harder T, grosse Beilage E (2014). Field study on swine influenza virus (SIV) infection in weaner pigs and sows. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere*, 42 (06): 351-359.

Meseko C, Kumar B, Sanicas M (2018). Preventing zoonotic influenza. In: *Influenza - Therapeutics and Challenges* Saxena S (Hrsg.); London, UK, 33-55.

Miwa Y, Piao FZ, Goto H, Noro S (1987). Isolation of human (H3N2) influenza virus and prevalence of the virus-antibody in swine. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 49 (6): 1168-1170.

Modrow S, Truyen U, Schätzl H (2021). Viren mit einzelsträngigem, segmentiertem RNA-Genom in Negativstrangorientierung. In: Molekulare Virologie, Springer: 403-474.

Müller E (2013). Klinische Mikrobiologie. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 7., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage; Moritz A (Hrsg.), Schattauer GmbH: 595-627.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, 263-273.

Nathues H, grosse Beilage E (2010). Labordiagnostik an Probenmaterial aus Schweinebeständen. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere / Nutztiere, 38 (01): 57-64.

Nathues H, Nienhoff H, grosse Beilage E, Blaha T, Ritzmann M, Reiner G, Lahrman K-H, Kaufhold J, Waberski D, Hennig-Pauka I, Wendt M, Waldmann K-H (2011). Monitoring-Systeme in Zuchtschweinebeständen aus Sicht der Wissenschaft. Deutsches Tierärzteblatt: 1324-1334.

Nathues H, Spergser J, Rosengarten R, Kreienbrock L, grosse Beilage E (2012). Value of the clinical examination in diagnosing enzootic pneumonia in fattening pigs. The Veterinary Journal, 193 (2): 443-447.

Nathues H, grosse Beilage E (2013). Monitoring- und Surveillance-Systeme in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand; grosse Beilage E, Wendt M (Hrsg.), Verlag Eugen Ulmer Stuttgart: 151-167.

Nathues H, Grummer B, Rohde J, grosse Beilage E (2013). Labordiagnostik an Probenmaterial aus Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand; grosse Beilage E, Wendt M (Hrsg.); eds. Stuttgart, Eugen Ulmer KG: 132-150.

Neira V, Rabinowitz P, Rendahl A, Paccha B, Gibbs SG, Torremorell M (2016). Characterization of Viral Load, Viability and Persistence of Influenza A Virus in Air and on Surfaces of Swine Production Facilities. *PloS one*, 11 (1): e0146616.

Nelson M, Culhane MR, Rovira A, Torremorell M, Guerrero P, Norambuena J (2015). Novel Human-like Influenza A Viruses Circulate in Swine in Mexico and Chile. *PLoS Curr*, 7.

Nelson MI, Holmes EC (2007). The evolution of epidemic influenza. *Nature reviews Genetics*, 8 (3): 196-205.

Nieto A, de la Luna S, Bárcena J, Portela A, Ortin J (1994). Complex structure of the nuclear translocation signal of influenza virus polymerase PA subunit. *Journal of general virology*, 75 (1): 29-36.

OIE World Organisation for Animal Health (2015). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.07_INF_A_SWINE.pdf. accessed.

Panyasing Y, Goodell C, Kittawornrat A, Wang C, Levis I, Desfresne L, Rauh R, Gauger PC, Zhang J, Lin X, Azeem S, Ghorbani-Nezami S, Yoon KJ, Zimmerman J (2016). Influenza A Virus Surveillance Based on Pre-Weaning Piglet Oral Fluid Samples. *Transboundary and emerging diseases*, 63 (5): e328-e338.

Parvin JD, Moscona A, Pan W, Leider J, Palese P (1986). Measurement of the mutation rates of animal viruses: influenza A virus and poliovirus type 1. *Journal of virology*, 59 (2): 377-383.

Pensaert M, Ottis K, Vandeputte J, Kaplan MM, Bachmann PA (1981). Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducts to swine and its potential importance for man. *Bull World Health Organ*, 59 (1): 75-78.

Pinto LH, Holsinger LJ, Lamb RA (1992). Influenza virus M2 protein has ion channel activity. *Cell*, 69 (3): 517-528.

Pomorska-Mól M, Dors A, Kwit K, Kowalczyk A, Stasiak E, Pejsak Z (2017a). Kinetics of single and dual infection of pigs with swine influenza virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary microbiology*, 201: 113-120.

Pomorska-Mól M, Dors A, Kwit K, Czyżewska-Dors E, Pejsak Z (2017b). Coinfection modulates inflammatory responses, clinical outcome and pathogen load of H1N1 swine influenza virus and *Haemophilus parasuis* infections in pigs. *BMC veterinary research*, 13 (1): 376.

Qiu Y, De hert K, Van Reeth K (2015). Cross-protection against European swine influenza viruses in the context of infection immunity against the 2009 pandemic H1N1 virus: studies in the pig model of influenza. *Veterinary research*, 46 (1): 105.

Rajão DS, Gauger PC, Anderson TK, Lewis NS, Abente EJ, Killian ML, Perez DR, Sutton TC, Zhang J, Vincent AL (2015). Novel Reassortant Human-Like H3N2 and H3N1 Influenza A Viruses Detected in Pigs Are Virulent and Antigenically Distinct from Swine Viruses Endemic to the United States. *Journal of virology*, 89 (22): 11213-11222.

Ramirez A, Wang C, Prickett JR, Pogranichniy R, Yoon K-J, Main R, Johnson JK, Rademacher C, Hoogland M, Hoffmann P (2012). Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Preventive veterinary medicine*, 104 (3-4): 292-300.

Rech R, Gava D, Silva M, Fernandes L, Haach V, Ciacci-Zanella J, Schaefer R (2018). Porcine respiratory disease complex after the introduction of H1N1/2009 influenza virus in Brazil. *Zoonoses and public health*, 65 (1): e155-e161.

Reeth KV, Labarque G, Pensaert M (2006). Serological Profiles after Consecutive Experimental Infections of Pigs with European H1N1, H3N2, and H1N2 Swine Influenza Viruses. *Viral Immunology*, 19 (3): 373-382.

Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK (1999). Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96 (4): 1651-1656.

Reiner G (2015). Influenza A. In: *Krankes Schwein - kranker Bestand*; Reiner G (Hrsg.); Stuttgart, Eugen Ulmer KG: 117-119.

Renshaw HW (1975). Influence of antibody-mediated immune suppression on clinical, viral, and immune responses to swine influenza infection. *American journal of veterinary research*, 36 (1): 5-13.

Rizzo F, Lovecchio C, Ingravalle F, Ceccarelli L, Sona B, Mandola ML (2016). Swine influenza A serology: ELISA versus HI test. *International Journal of Infectious Diseases*, 53: 105.

Rogers GN, Paulson JC (1983). Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*, 127 (2): 361-373.

Rogers GN, D'Souza BL (1989). Receptor binding properties of human and animal H1 influenza virus isolates. *Virology*, 173 (1): 317-322.

Romagosa A, Gramer M, Joo HS, Torremorell M (2011). Sensitivity of oral fluids for detecting influenza A virus in populations of vaccinated and non-vaccinated pigs. *Influenza and other respiratory viruses*, 6 (2): 110-118.

Rudsdale A, Shedden D (2009). Investigation of the suitability of the virocult® swab transport device for influenza A specimens which are to be analyzed by cell culture or molecular techniques. *Clinical Virology Symposium*, Daytona Beach, Poster M42.

Ryt-Hansen P, Larsen I, Kristensen CS, Krog JS, Wacheck S, Larsen LE (2019a). Longitudinal field studies reveal early infection and persistence of influenza A virus in piglets despite the presence of maternally derived antibodies. *Veterinary research*, 50 (1): 36.

Ryt-Hansen P, Larsen I, Kristensen CS, Krog JS, Larsen LE (2019b). Limited impact of influenza A virus vaccination of piglets in an enzootic infected sow herd. *Research in veterinary science*, 127: 47-56.

Ryt-Hansen P, Nielsen HG, Sørensen SS, Larsen I, Kristensen CS, Larsen LE (2022). The role of gilts in transmission dynamics of swine influenza virus and impacts of vaccination strategies and quarantine management. *Porcine health management*, 8 (1): 1-12.

Saiki RK, Bugawan TL, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA (1986). Analysis of enzymatically amplified β -globin and HLA-DQ α DNA with allele-specific oligonucleotide probes. *Nature*, 324 (6093): 163-166.

Sarli G, D'Annunzio G, Gobbo F, Benazzi C, Ostanello F (2021). The Role of Pathology in the Diagnosis of Swine Respiratory Disease. *Veterinary sciences*, 8 (11): 256.

Schmidt C, Cibulski SP, Andrade CP, Teixeira TF, Varela AP, Scheffer CM, Franco AC, de Almeida LL, Roehe PM (2016). Swine Influenza Virus and Association with the Porcine Respiratory Disease Complex in Pig Farms in Southern Brazil. *Zoonoses Public Health*, 63 (3): 234-240.

Scholtissek C (1990). Pigs as 'Mixing Vessels' for the Creation of New Pandemic Influenza A Viruses. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 2 (2): 65-71.

Scholtissek C (1995). Molecular evolution of influenza viruses. *Virus Genes*, 11 (2): 209-215.

Shaw M, Palese P (2013). Orthomyxoviridae. In: *Fields Virology*; DM K, PM H (Hrsg.); eds. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 1151-1185.

Shope RE (1931). Swine Influenza. *Journal of Experimental Medicine*, 54 (3): 373-385.

Simon-Grifé M, Martín-Valls GE, Vilar MJ, Busquets N, Mora-Salvatierra M, Bestebroer TM, Fouchier RAM, Martín M, Mateu E, Casal J (2012). Swine influenza virus infection dynamics in two pig farms; results of a longitudinal assessment. *Veterinary research*, 43 (1): 24.

Simon G, Larsen LE, Dürrwald R, Foni E, Harder T, Van Reeth K, Markowska-Daniel I, Reid SM, Dan A, Maldonado J, Huovilainen A, Billinis C, Davidson I, Agüero M, Vila T, Hervé S, Breum SØ, Chiapponi C, Urbaniak K, Kyriakis CS, consortium E, Brown IH, Loeffen W (2014). European Surveillance Network for Influenza in Pigs: Surveillance Programs, Diagnostic Tools and Swine Influenza Virus Subtypes Identified in 14 European Countries from 2010 to 2013. *PLoS one*, 9 (12): e115815.

Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, Ma SK, Cheung CL, Raghvani J, Bhatt S (2009). Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*, 459 (7250): 1122-1125.

Smits H, Kiss I, Kovács E, Albert M, Pesch S, Halas M, Lillie-Jaschniski K (2023). Comparison of different Influenza sampling methods after a controlled challenge. 14th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), Thessaloniki, Greece, May 31 - June 2 2023, 313.

Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, Perdue ML, Lohman K, Daum LT, Suarez DL (2002). Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *Journal of clinical microbiology*, 40 (9): 3256-3260.

Sreta D, Kedkovid R, Tuamsang S, Kitikoon P, Thanawongnuwech R (2009). Pathogenesis of swine influenza virus (Thai isolates) in weanling pigs: an experimental trial. *Virology journal*, 6 (1): 1-11.

Stegmann T, White J, Helenius A (1990). Intermediates in influenza induced membrane fusion. *The EMBO journal*, 9 (13): 4231-4241.

Stegmann T, Delfino JM, Richards FM, Helenius A (1991). The HA2 subunit of influenza hemagglutinin inserts into the target membrane prior to fusion. *The journal of biology chemistry*, 266 (27): 18404-18410.

Suderman M, Moniwa M, Alkie TN, Ojkic D, Broes A, Pople N, Berhane Y (2021). Comparative Susceptibility of Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) Derived Cell Lines for Isolation of Swine Origin Influenza A Viruses from Different Clinical Specimens. *Viruses*, 13 (12).

Sugrue R, Hay A (1991). Structural characteristics of the M2 protein of influenza A viruses: Evidence that it forms a tetrameric channel. *Virology*, 180 (2): 617-624.

Sun X, Shi Y, Lu X, He J, Gao F, Yan J, Qi J, Gao GF (2013). Bat-derived influenza hemagglutinin H17 does not bind canonical avian or human receptors and most likely uses a unique entry mechanism. *Cell reports*, 3 (3): 769-778.

Swenson SL, Vincent LL, Lute BM, Janke BH, Lechtenberg KF, Landgraf JG, Schmitt BJ, Kinker DR, McMillen JK (2001). A Comparison of Diagnostic Assays for the Detection of Type A Swine Influenza Virus from Nasal Swabs and Lungs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13 (1): 36-42.

Takemae N, Shobugawa Y, Nguyen PT, Nguyen T, Nguyen TN, To TL, Thai PD, Nguyen TD, Nguyen DT, Nguyen DK, Do HT, Le TQA, Hua PT, Van Vo H, Nguyen DT, Nguyen DH, Uchida Y, Saito R, Saito T (2016). Effect of herd size on subclinical infection of swine in Vietnam with influenza A viruses. *BMC Veterinary Research*, 12 (1): 227.

Taubenberger JK, Morens DM (2006). 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Revista Biomedica*, 17 (1): 69-79.

Taubenberger JK, Morens DM (2010). Influenza: the once and future pandemic. *Public health reports*, 125 (3_suppl): 15-26.

Thacker EL (2001). Immunology of the Porcine Respiratory Disease Complex. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17 (3): 551-565.

Tokach MD, Goodband BD, O'Quinn TG (2016). Performance-enhancing technologies in swine production. *Animal Frontiers*, 6 (4): 15-21.

Tong S, Li Y, Rivaller P, Conrardy C, Castillo DA, Chen LM, Recuenco S, Ellison JA, Davis CT, York IA, Turmelle AS, Moran D, Rogers S, Shi M, Tao Y, Weil MR, Tang K, Rowe LA, Sammons S, Xu X, Frace M, Lindblade KA, Cox NJ, Anderson LJ, Rupprecht CE, Donis RO (2012). A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109 (11): 4269-4274.

Tong S, Zhu X, Li Y, Shi M, Zhang J, Bourgeois M, Yang H, Chen X, Recuenco S, Gomez J, Chen LM, Johnson A, Tao Y, Dreyfus C, Yu W, McBride R, Carney PJ, Gilbert AT, Chang J, Guo Z, Davis CT, Paulson JC, Stevens J, Rupprecht CE, Holmes EC, Wilson IA, Donis RO (2013). New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS pathogens*, 9 (10): e1003657.

Truyen U (2010). Schweineinfluenza. In: *Virusinfektionen bei Haus- und Nutztieren: Haussäugetiere, Fische, Geflügel; Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG (Hrsg.); Hannover, Liess B, Moennig V, Raue R: 95-97.*

Unterweger C, Debeerst S, Klingler E, Auer A, Redlberger-Fritz M, Stadler J, Pesch S, Lillie-Jaschniski K, Ladinig A (2021). Herausforderungen bei der Influenzadiagnostik in einem Schweinebetrieb – ein Fallbericht. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere*, 49 (06): 425-431.

Valette M, Bouscambert-Duchamp M, Fanget R, Lambert S, Lina B (2010). Comparison of Virocult® swab, Σ -Swab™ and Σ -Virocult® for Influenza A viability for cell culture and molecular detection. *Clinical Virology Symposium, Daytona Beach, Poster S84.*

Van Reeth K, Van Gucht S, Pensaert M (2002). In vivo studies on cytokine involvement during acute viral respiratory disease of swine: troublesome but rewarding. *Veterinary immunology and immunopathology*, 87 (3-4): 161-168.

Van Reeth K, Brown I, Essen S, Pensaert M (2004). Genetic relationships, serological cross-reaction and cross-protection between H1N2 and other influenza A virus subtypes endemic in European pigs. *Virus research*, 103 (1-2): 115-124.

Van Reeth K, Labarque G, Pensaert M (2006). Serological profiles after consecutive experimental infections of pigs with European H1N1, H3N2, and H1N2 swine influenza viruses. *Viral immunology*, 19 (3): 373-382.

Van Reeth K, Vincent AL (2019). Influenza Viruses. In: *Diseases of Swine*; Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J (Hrsg.), John Wiley & Sons, Inc.: 576-593.

Vangroenweghe F, Thas O (2021). Seasonal Variation in Prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* and Other Respiratory Pathogens in Peri-Weaned, Post-Weaned, and Fattening Pigs with Clinical Signs of Respiratory Diseases in Belgian and Dutch Pig Herds, Using a Tracheobronchial Swab Sampling Technique, and Their Associations with Local Weather Conditions. *Pathogens*, 10 (9).

Vincent AL, Lager KM, Faaberg KS, Harland M, Zanella EL, Ciacci-Zanella JR, Kehrli ME, Jr., Janke BH, Klimov A (2010). Experimental inoculation of pigs with pandemic H1N1 2009 virus and HI cross-reactivity with contemporary swine influenza virus antisera. *Influenza Other Respir Viruses*, 4 (2): 53-60.

Vincent LL, Janke BH, Paul PS, Halbur PG (1997). A monoclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of swine influenza virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 9 (2): 191-195.

Wang P, Palese P, O'Neill RE (1997). The NPI-1/NPI-3 (karyopherin alpha) binding site on the influenza A virus nucleoprotein NP is a nonconventional nuclear localization signal. *Journal of virology*, 71 (3): 1850-1856.

Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y (1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological reviews*, 56 (1): 152-179.

Weingartl HM, Berhane Y, Hisanaga T, Neufeld J, Kehler H, Emburry-Hyatt C, Hooper-McGreevy K, Kasloff S, Dalman B, Bystrom J (2010). Genetic and pathobiologic characterization of pandemic H1N1 2009 influenza viruses from a naturally infected swine herd. *Journal of virology*, 84 (5): 2245-2256.

Weiß C (2015). Stress- und Schmerzbelastung des Schweines bei Entnahme eines Tracheobronchialabstriches im Vergleich zum Nasentupfer und der Fixierung in der Oberkieferschlinge. *Diss. med. vet.*, Ludwig-Maximilians-Universität München.

White LA, Torremorell M, Craft ME (2017). Influenza A virus in swine breeding herds: Combination of vaccination and biosecurity practices can reduce likelihood of endemic piglet reservoir. *Preventive veterinary medicine*, 138: 55-69.

World Health Organization (1980). A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. *Bull World Health Organ*, 58 (4): 585-591.

Wright P, Neumann G, Kawaoka Y (2013). Orthomyxoviruses. In: *Fields virology*. 6th; Knipe DM, Howley P (Hrsg.); Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 1186–1243.

Yoon K-J, Janke BH (2008). Swine influenza: etiology, epidemiology, and diagnosis. In: *Trends in Emerging Viral Infections of Swine*, 23-28.

Zell R, Scholtissek C, Ludwig S (2013). Genetics, evolution, and the zoonotic capacity of European swine influenza viruses. *Swine influenza*: 29-55.

Zhang J, Gauger PC (2020). Isolation of Swine Influenza A Virus in Cell Cultures and Embryonated Chicken Eggs. *Journal of molecular biology and methods*, 2123: 281-294.

Zimmermann W, Plonait H (2004). Erkrankungen des Atmungsapparates. In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. 4. Auflage; Waldmann K-H, Wendt M (Hrsg.); Stuttgart, Parey Verlag: 111-149.

Zorić JM, Milićević V, Stevančević O, Chiapponi C, Potkonjak A, Stojanac N, Kureljušić B, Veljović L, Radosavljević V, Savić B (2020). Phylogenetic analysis of HA and NA genes of swine influenza viruses in Serbia in 2016-2018. *Acta Veterinaria*, 70 (1): 110-125.

XI. ANHANG

Tabelle 8: Befunde des HAH der 20 RT-qPCR positiven Betriebe (Betrieb 1-20)

∅ = negativ, AF (Abferkelung), DZ (Deckzentrum), WS (Wartestall), JS (Jungsau), MP (Mittlere Parität, 2.-4. Wurf), AS (Altsau, > 4. Wurf)

Betrieb 1 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-JS	40	∅	∅	∅	∅	∅	20	∅	20
AF-JS	∅	∅	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-JS	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
AF-MP	40	∅	∅	40	40	∅	20	∅	∅
AF-MP	∅	∅	∅	80	80	40	80	∅	∅
AF-MP	20	∅	∅	80	640	80	160	40	∅
AF-AS	40	∅	20	80	1280	320	640	80	∅
AF-AS	40	∅	20	∅	320	40	160	40	20
AF-AS	40	∅	∅	∅	40	∅	∅	∅	∅
DZ-JS	20	∅	∅	20	80	∅	20	∅	∅
DZ-JS	160	∅	∅	∅	160	∅	∅	∅	∅
DZ-JS	80	∅	∅	∅	80	∅	∅	∅	∅
DZ-JS	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
DZ-MP	80	∅	∅	∅	40	∅	40	160	∅
DZ-MP	320	∅	∅	320	1280	640	320	160	40
DZ-MP	20	∅	20	∅	160	40	160	40	∅
DZ-AS	320	∅	∅	20	640	40	160	∅	∅
DZ-AS	40	∅	40	∅	320	20	160	∅	∅
DZ-AS	80	∅	20	160	640	160	320	80	40
WS-JS	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-JS	∅	∅	20	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-JS	20	∅	40	∅	80	∅	160	∅	∅
WS-JS	40	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-MP	20	∅	20	∅	160	20	80	∅	∅
WS-MP	40	∅	∅	∅	160	20	80	40	20
WS-MP	∅	∅	40	∅	∅	∅	∅	∅	∅
WS-AS	80	∅	∅	80	160	40	80	20	20
WS-AS	20	∅	∅	∅	80	40	40	∅	∅
WS-AS	160	∅	∅	80	160	40	80	40	20

Betrieb 2 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	80	40	Ø	40	160	40	80	80	40
AF-JS	40	20	Ø	80	640	160	160	160	80
AF-JS	160	80	Ø	20	160	20	80	80	80
AF-JS	160	40	Ø	40	80	20	40	40	40
AF-MP	40	160	20	Ø	160	80	40	Ø	Ø
AF-MP	320	640	Ø	40	320	40	80	20	20
AF-MP	160	160	Ø	40	320	40	40	Ø	Ø
AF-AS	40	20	Ø	Ø	40	Ø	40	Ø	20
AF-AS	40	20	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	Ø	20	Ø	40	Ø	20	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	20	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	20	160	Ø	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	160	Ø	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	160	Ø	Ø	80	20	20	Ø	Ø
DZ-AS	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	80	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	320	160	Ø	40	80	40	40	20	Ø
WS-JS	20	20	Ø	20	80	Ø	20	80	20
WS-JS	40	Ø	Ø	40	160	20	80	80	Ø
WS-JS	40	Ø	Ø	40	160	20	80	Ø	Ø
WS-JS	40	20	Ø	20	80	Ø	40	Ø	Ø
WS-MP	40	160	Ø	40	160	80	40	Ø	Ø
WS-MP	80	160	Ø	40	160	20	80	Ø	Ø
WS-MP	320	640	Ø	Ø	80	40	80	40	40
WS-AS	80	320	Ø	40	160	40	40	Ø	Ø
WS-AS	80	160	Ø	Ø	80	Ø	40	Ø	Ø
WS-AS	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø

Betrieb 3 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	80	160	40	Ø	40	Ø	Ø	80	20
AF-JS	20	20	Ø	Ø	40	Ø	Ø	40	20
AF-JS	40	160	40	80	640	80	160	320	160
AF-JS	40	20	Ø	Ø	80	20	40	40	
AF-MP	80	320	80	80	640	80	160	160	160
AF-MP	20	40	Ø	40	160	20	160	80	40
AF-MP	80	40	Ø	Ø	20	Ø	Ø	20	Ø
AF-AS	640	80	Ø	20	160	Ø	80	80	20
AF-AS	2560	160	640	40	320	80	80	20	Ø
AF-AS	160	20	Ø	Ø	80	20	80	80	80
DZ-JS	Ø	40	Ø	40	80	Ø	20	20	Ø
DZ-JS	160	80	40	20	80	Ø	40	Ø	Ø
DZ-JS	40	160	80	80	160	40	160	20	Ø
DZ-JS	Ø	20	Ø	40	20	40	20	Ø	Ø
DZ-MP	40	80	40	Ø	20	20	20	20	20
DZ-MP	20	320	20	40	160	40	80	80	40
DZ-MP	80	160	80	Ø	160	40	80	160	80
DZ-AS	320	Ø	Ø	80	160	20	160	20	20
DZ-AS	320	640	160	Ø	1280	20	Ø	640	20
DZ-AS	80	320	160	Ø	80	40	Ø	40	Ø
WS-JS	80	80	80	160	320	80	160	160	80
WS-JS	40	80	40	80	160	40	80	80	40
WS-JS	40	80	20	80	160	20	40	40	Ø
WS-JS	160	160	20	80	320	80	160	160	80
WS-MP	80	320	40	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø
WS-MP	320	320	80	40	640	40	80	320	40
WS-MP	40	20	40	40	320	40	160	320	80
WS-AS	640	40	80	40	160	Ø	40	20	40
WS-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	160	80	Ø	20	40	Ø	40	80	Ø

Betrieb 4 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	160	Ø	Ø	320	80	20	80	40	20
AF-JS	640	20	Ø	320	160	80	160	Ø	Ø
AF-JS	320	Ø	Ø	320	160	80	320	Ø	20
AF-JS	160	Ø	Ø	160	160	80	160	Ø	Ø
AF-MP	80	Ø	Ø	80	40	40	80	Ø	Ø
AF-MP	20	Ø	Ø	160	80	40	80	20	Ø
AF-MP	80	Ø	Ø	80	40	40	80	Ø	20
AF-AS	320	80	320	160	160	40	320	Ø	Ø
AF-AS	80	40	Ø	320	160	80	160	20	20
AF-AS	80	Ø	Ø	2560	640	320	640	40	40
DZ-JS	160	Ø	Ø	40	40	Ø	40	Ø	Ø
DZ-JS	640	Ø	Ø	160	160	40	160	Ø	20
DZ-JS	40	Ø	40	80	40	Ø	80	Ø	20
DZ-JS	640	Ø	Ø	160	160	40	160	20	20
DZ-MP	40	Ø	Ø	80	80	20	80	Ø	Ø
DZ-MP	160	Ø	Ø	320	160	40	160	40	20
DZ-MP	80	Ø	Ø	160	80	20	80	20	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	40	80	20	80	Ø	Ø
DZ-AS	320	40	Ø	640	640	640	640	320	70
DZ-AS	160	Ø	Ø	320	320	160	320	40	40
WS-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	Ø	Ø	80	40	40	80	Ø	Ø
WS-MP	80	Ø	20	160	80	20	80	Ø	20
WS-MP	80	Ø	Ø	160	160	20	80	Ø	20
WS-AS	20	Ø	20	160	80	40	80	Ø	Ø
WS-AS	160	20	160	160	160	40	160	40	20
WS-AS	320	40	160	640	320	160	640	80	80

Betrieb 6 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSV/Jena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werlte IDT22071/15
AF-JS	640	1280	320	320	160	160	80	Ø	Ø
AF-JS	160	320	160	40	80	Ø	40	Ø	Ø
AF-JS	640	320	640	80	160	40	160	Ø	Ø
AF-JS	40	40	320	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	80	160	640	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	160	320	640	160	80	160	40	Ø	Ø
AF-MP	320	160	320	40	80	20	40	Ø	Ø
AF-AS	320	160	320	80	80	20	80	Ø	Ø
AF-AS	40	80	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	160	80	320	Ø	20	20	40	Ø	Ø
DZ-JS	320	320	320	80	80	80	80	Ø	Ø
DZ-JS	160	80	80	20	20	Ø	Ø	20	Ø
DZ-JS	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	640	40	160	40	80	80	320	80	40
DZ-MP	80	80	160	20	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	160	640	320	20	40	20	40	40	Ø
DZ-MP	320	640	1280	80	160	80	160	Ø	Ø
DZ-AS	320	320	320	Ø	20	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	80	80	320	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	40	160	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	160	320	40	Ø	80	Ø	40	2560	2560
WS-JS	160	640	80	Ø	20	20	40	Ø	Ø
WS-JS	80	80	Ø	Ø	20	20	40	40	Ø
WS-JS	80	160	40	20	40	20	40	Ø	20
WS-MP	640	320	2560	80	160	80	80	Ø	20
WS-MP	640	640	1280	160	1280	160	320	20	20
WS-MP	160	640	1280	80	80	80	40	Ø	Ø
WS-AS	320	640	640	80	320	160	160	Ø	Ø
WS-AS	160	320	320	20	160	40	80	Ø	Ø
WS-AS	320	320	320	Ø	40	40	80	Ø	40

Betrieb 7 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	320	80	Ø	20	160	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	1280	Ø	Ø	640	640	160	80	40	20
AF-MP	80	Ø	Ø	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	160	Ø	Ø	160	640	Ø	160	40	20
AF-AS	320	Ø	Ø	20	40	Ø	20	20	20
AF-AS	80	Ø	Ø	40	40	Ø	Ø	20	Ø
AF-AS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	160	Ø	Ø	80	80	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	320	Ø	Ø	160	160	Ø	40	Ø	Ø
DZ-MP	640	Ø	Ø	640	320	80	160	320	160
DZ-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	320	Ø	40	160	160	20	80	80	80
DZ-AS	160	Ø	Ø	20	20	Ø	20	20	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20
WS-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	40	Ø	Ø	40	40	Ø	Ø	Ø	20
WS-AS	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	320	Ø	Ø	160	320	20	40	80	80

Betrieb 8 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	2560	640	40	20	160	Ø	40	40	160
AF-JS	320	160	80	20	20	20	20	40	40
AF-JS	1280	320	20	40	80	40	40	20	40
AF-JS	160	40	20	160	160	40	40	20	40
AF-MP	320	160	80	40	40	20	40	20	20
AF-MP	640	320	160	320	160	80	80	160	80
AF-MP	160	80	40	160	80	20	20	40	20
AF-AS	160	160	80	20	20	20	Ø	40	40
AF-AS	160	320	80	Ø	Ø	Ø	Ø	80	40
AF-AS	80	80	40	Ø	20	20	Ø	20	Ø
AF-AS	160	80	20	Ø	20	20	Ø	80	80
DZ-JS	320	160	20	Ø	Ø	Ø	Ø	40	20
DZ-JS	1280	320	Ø	80	80	Ø	20	20	20
DZ-JS	80	160	40	Ø	Ø	Ø	Ø	40	40
DZ-MP	160	160	40	160	160	80	80	80	80
DZ-MP	160	80	Ø	Ø	20	20	Ø	80	40
DZ-MP	40	80	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	40	40	Ø	Ø	Ø	20	20	160	80
DZ-AS	160	160	40	Ø	Ø	20	Ø	40	40
DZ-AS	320	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20
WS-JS	40	80	Ø	20	40	20	20	20	20
WS-JS	320	320	20	Ø	Ø	Ø	Ø	80	Ø
WS-JS	40	160	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	160	160	20	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	80	80	80	80	40	40	80	40
WS-MP	320	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-AS	20	160	20	20	20	Ø	Ø	20	20
WS-AS	320	320	40	20	80	40	40	160	80
WS-AS	160	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	80	40

Betrieb 9 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	40	Ø	Ø	40	40	20	Ø	20	Ø
AF-JS	80	40	Ø	80	160	80	40	40	40
AF-JS	160	20	Ø	160	80	80	40	80	80
AF-JS	40	Ø	Ø	80	40	Ø	20	Ø	Ø
AF-MP	320	20	40	160	80	40	40	20	20
AF-MP	320	Ø	Ø	320	320	40	80	40	20
AF-MP	320	20	Ø	320	160	20	40	80	80
AF-AS	80	20	20	40	40	40	40	Ø	Ø
AF-AS	320	20	Ø	160	80	40	40	40	Ø
AF-AS	640	20	80	160	320	40	80	40	40
DZ-JS	80	Ø	Ø	40	20	Ø	20	20	20
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø
DZ-JS	80	40	Ø	40	80	20	20	20	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	320	640	320	80	Ø	Ø
DZ-MP	80	80	Ø	40	80	80	20	160	80
DZ-MP	320	20	Ø	320	640	320	160	160	160
DZ-MP	640	80	Ø	320	320	80	80	160	80
DZ-AS	320	40	Ø	160	320	40	40	80	40
DZ-AS	160	80	Ø	40	80	40	40	160	80
DZ-AS	160	40	20	160	40	40	40	80	40
WS-JS	1280	320	40	20	160	Ø	20	40	40
WS-JS	160	Ø	Ø	160	80	Ø	20	20	40
WS-JS	20	Ø	Ø	160	320	160	40	20	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	320	320	320	160	80	Ø
WS-MP	160	80	Ø	80	80	40	20	160	80
WS-MP	80	20	Ø	160	640	320	160	1280	320
WS-MP	80	Ø	Ø	160	160	160	80	Ø	Ø
WS-AS	160	20	Ø	80	160	80	80	40	80
WS-AS	160	Ø	40	40	40	Ø	40	20	40
WS-AS	160	40	Ø	80	320	40	80	80	80

Betrieb 10 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSV/Jena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	20	80	80	80	80	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	Ø	Ø	Ø	80	Ø	80	20	Ø
AF-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	40	320	80	160	40	20
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	40	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	40	Ø	Ø	Ø	80	Ø	80	Ø	Ø
DZ-AS	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	40	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	160	Ø	Ø	Ø	40	Ø	40	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	20	40	Ø	40	Ø	Ø
WS-MP	20	Ø	Ø	40	160	40	80	Ø	Ø
WS-MP	40	Ø	Ø	40	160	40	80	40	40
WS-MP	160	Ø	Ø	320	640	40	320	80	80
WS-AS	80	20	Ø	20	80	40	80	Ø	20
WS-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	40	Ø	Ø	20	80	Ø	80	Ø	Ø

Betrieb 12 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSV/Jena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2 pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1 pan Riems/AR 2279/16	H1N1 pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1 pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	80	80	20	320	80	20	40	20	20
AF-JS	40	40	40	320	80	20	20	20	40
AF-JS	40	80	80	80	20	20	20	20	40
AF-JS	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø	20	20	20
AF-MP	20	160	40	80	20	Ø	20	Ø	20
AF-MP	80	160	20	160	40	20	20	Ø	Ø
AF-MP	80	80	40	40	40	20	20	20	40
AF-AS	80	40	Ø	40	Ø	Ø	20	20	20
AF-AS	20	40	20	160	20	Ø	20	Ø	Ø
AF-AS	20	40	Ø	160	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	40	Ø	80	20	20	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	40	20	40	20	Ø	20	20	20
DZ-JS	20	20	Ø	160	80	20	20	Ø	20
DZ-JS	20	20	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	80	20	80	20	20	20	20	20
DZ-MP	80	40	Ø	160	80	Ø	40	20	40
DZ-MP	40	Ø	Ø	320	80	20	40	20	20
DZ-AS	80	40	Ø	160	80	Ø	40	20	20
DZ-AS	40	80	Ø	20	Ø	Ø	20	20	40
DZ-AS	80	40	80	80	40	20	80	80	80
WS-JS	160	320	160	80	20	20	40	20	20
WS-JS	20	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-JS	80	80	40	80	20	Ø	20	20	20
WS-JS	40	80	40	40	Ø	Ø	20	Ø	20
WS-MP	320	160	40	320	80	Ø	20	20	20
WS-MP	320	320	40	640	80	80	40	40	20
WS-MP	160	160	20	40	20	Ø	20	20	40
WS-AS	640	320	80	320	320	40	160	40	20
WS-AS	40	160	80	80	40	Ø	20	Ø	Ø
WS-AS	160	80	Ø	160	80	40	80	20	20

Betrieb 13 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	Ø	Ø	20	40	Ø	Ø	20	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	Ø	80	20	20	20	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	Ø	80	40	40	40	20	Ø
AF-JS	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	160	40	20	40	Ø	20
AF-MP	20	Ø	Ø	1280	160	160	160	20	20
AF-MP	320	Ø	Ø	5120	320	160	320	80	80
AF-AS	Ø	Ø	Ø	640	80	40	40	Ø	Ø
AF-AS	80	Ø	Ø	640	80	40	40	Ø	20
AF-AS	80	Ø	Ø	2560	160	160	160	40	20
DZ-JS	20	Ø	40	80	40	Ø	40	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	160	20	Ø	20	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	160	40	20	20	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	160	20	20	20	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	640	160	80	80	40	40
DZ-MP	Ø	Ø	Ø	160	40	40	40	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	160	20	20	20	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	Ø	80	40	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	160	40	Ø	320	160	80	160	80	40
DZ-AS	80	40	Ø	1280	160	160	160	40	40
WS-JS	Ø	Ø	Ø	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	40	20	20	20	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	80	20	Ø	20	Ø	Ø
WS-MP	80	Ø	Ø	640	160	40	160	Ø	Ø
WS-MP	160	Ø	Ø	1280	320	40	160	20	80
WS-MP	80	Ø	Ø	320	160	80	80	80	80
WS-AS	40	Ø	Ø	640	160	160	80	Ø	20
WS-AS	80	Ø	Ø	320	160	40	80	Ø	20
WS-AS	40	Ø	Ø	640	160	160	40	40	20

Betrieb 14 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	20	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	80	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	80	40	80	80	20	20	Ø	Ø
AF-JS	80	160	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	20
AF-MP	160	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	160	80	40	40	40	Ø	Ø	Ø	20
AF-MP	80	160	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	80	80	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	160	160	20	40	40	40	20	Ø	20
DZ-JS	80	160	40	80	160	80	80	Ø	Ø
DZ-JS	40	40	40	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	40	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	80	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	80	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	80	40	20	40	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	80	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	2560	160	Ø	80	160	20	40	Ø	Ø
DZ-AS	80	160	20	20	40	40	20	Ø	Ø
WS-JS	80	160	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	160	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	160	80	Ø	320	160	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	20	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	640	80	40	80	40	Ø	20	Ø	20
WS-AS	160	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-AS	160	80	Ø	20	40	20	Ø	Ø	20
WS-AS	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø

Betrieb 15 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	160	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	320	40	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	320	40	20	40	80	Ø	20	Ø	Ø
AF-JS	160	40	40	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	1280	640	320	80	160	Ø	40	20	20
AF-MP	320	640	640	20	40	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	160	40	40	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	640	160	40	Ø	80	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	320	160	20	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	40	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	160	160	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	1280	80	80	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	160	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	160	20	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	160	160	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
DZ-MP	320	80	80	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	160	320	80	20	40	20	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	160	40	40	Ø	Ø	20	40	Ø	20
DZ-AS	640	40	20	Ø	80	40	20	20	20
WS-JS	2560	320	Ø	80	80	20	Ø	Ø	Ø
WS-JS	2560	160	20	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	2560	640	Ø	Ø	40	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	320	40	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-MP	80	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	160	640	80	320	320	640	160	40	40
WS-AS	320	160	20	Ø	40	Ø	Ø	Ø	20
WS-AS	160	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø

Betrieb 16 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSV/Jena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	80	80
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	160	160
AF-JS	Ø	20	Ø	Ø	20	20	20	Ø	20
AF-JS	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	40
AF-MP	80	20	Ø	40	40	20	20	Ø	Ø
AF-MP	40	Ø	Ø	20	40	40	40	20	20
AF-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	320	20	Ø	Ø	40	20	Ø	Ø	Ø
AF-AS	80	Ø	Ø	20	40	20	40	80	80
AF-AS	160	Ø	20	Ø	80	40	40	20	80
DZ-JS	160	40	Ø	Ø	20	640	640	Ø	40
DZ-JS	320	20	Ø	Ø	80	1280	1280	40	80
DZ-JS	80	Ø	Ø	20	80	640	640	40	40
DZ-JS	40	Ø	Ø	Ø	80	40	80	20	20
DZ-MP	320	20	Ø	40	80	80	40	20	80
DZ-MP	320	20	Ø	20	20	40	20	40	40
DZ-MP	80	Ø	Ø	Ø	20	20	20	40	40
DZ-AS	160	Ø	20	Ø	20	40	Ø	20	80
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	40	20	20	20	20
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	40	20	20	20	20
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	40
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	40
WS-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	80
WS-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	80
WS-MP	160	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	640	640
WS-MP	20	20	Ø	20	40	20	20	20	40
WS-AS	20	20	Ø	Ø	40	40	40	160	80
WS-AS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	40
WS-AS	40	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	80	80

Betrieb 17 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werlte IDT22071/15
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	20	Ø	20	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20	20
AF-JS	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	20	40	320	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	640	160	320	80	40	80	80	20	20
AF-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	160	40	80	40	40	20	20	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	40	20	80	40	40	40	20	Ø	Ø
DZ-MP	320	320	320	640	320	320	160	20	20
DZ-AS	80	80	320	40	40	20	20	20	Ø
DZ-AS	160	20	80	20	40	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	160	80	160	80	160	20	20	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	160	80	80	320	160	160	80	20	20
WS-MP	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-AS	160	80	80	80	40	20	20	20	20
WS-AS	80	40	80	40	40	20	20	40	20
WS-AS	160	80	160	Ø	40	20	Ø	40	Ø

Betrieb 18 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werthe IDT22071/15
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	80	80	80	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø
AF-JS	160	160	1280	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	640	160	640	20	80	20	20	Ø	Ø
AF-MP	20	40	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	80	40	160	20	40	20	20	Ø	Ø
AF-MP	320	320	640	80	160	160	80	Ø	Ø
AF-AS	320	320	160	40	80	80	40	Ø	20
AF-AS	40	80	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-AS	320	160	640	40	80	20	20	Ø	Ø
DZ-JS	320	320	40	Ø	320	40	40	Ø	Ø
DZ-JS	320	320	40	Ø	320	160	80	Ø	Ø
DZ-JS	160	640	80	Ø	320	160	80	20	Ø
DZ-JS	80	640	40	Ø	80	80	20	Ø	Ø
DZ-MP	320	40	80	40	20	20	20	Ø	Ø
DZ-MP	80	20	40	20	40	Ø	20	Ø	Ø
DZ-MP	160	80	320	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	320	80	80	40	80	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	80	40	320	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	80	80	320	Ø	20	20	Ø	20	Ø
WS-JS	320	640	640	Ø	320	320	80	Ø	Ø
WS-JS	320	320	640	80	160	20	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	80	20	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	40	80	Ø	20	Ø	20	Ø	Ø
WS-MP	160	20	160	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	40	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	40	20	320	20	20	20	20	Ø	Ø
WS-AS	40	40	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	20	20	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	320	160	320	20	40	Ø	20	Ø	20

Betrieb 19 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werlte IDT22071/15
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20
AF-JS	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20	40
AF-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
AF-MP	80	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20	Ø	20
AF-MP	80	Ø	Ø	Ø	40	Ø	40	Ø	Ø
AF-AS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20
AF-AS	80	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20	20	Ø
AF-AS	20	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	40
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	80	Ø	20	20	20
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20	40
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	80	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	160	Ø	Ø	Ø	40	Ø	80	40	Ø
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
DZ-AS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	40	20
DZ-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	40	20	40	20	20
WS-JS	40	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20
WS-MP	40	Ø	Ø	Ø	40	Ø	40	20	20
WS-MP	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20
WS-AS	80	Ø	Ø	20	80	Ø	20	20	20
WS-AS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-AS	80	Ø	Ø	Ø	160	Ø	80	Ø	Ø

Betrieb 20 Probe/ Tier Nr.	H1N1 Haselünne/ IDT2617/03	H1N2 Bakum/ 1832/00	H3N2 Bakum/ IDT1769/03	H1N1 pan MSVJena/ 5258/09	H1N1 pan Hamburg/ 1580/09	H1N2pan Papenburg IDT/12653/10	H1N1pan Riems/AR 2279/16	H1N1pan Visselhöfede IDT23245/16	H1N1pan Werlte IDT22071/15
AF-JS	20	40	20	Ø	20	20	40	40	40
AF-JS	80	Ø	Ø	20	20	Ø	40	Ø	20
AF-JS	160	Ø	Ø	20	20	Ø	80	40	40
AF-JS	160	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	Ø	20
AF-MP	40	Ø	Ø	20	160	80	80	160	Ø
AF-MP	20	Ø	Ø	Ø	160	80	160	320	20
AF-MP	80	Ø	Ø	20	80	40	80	80	40
AF-AS	160	80	Ø	80	320	160	160	320	40
AF-AS	Ø	80	Ø	Ø	20	Ø	80	40	40
AF-AS	40	40	20	Ø	80	20	40	Ø	20
DZ-JS	80	80	80	40	160	20	80	20	20
DZ-JS	640	640	Ø	320	640	320	320	320	40
DZ-JS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-JS	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	40	40
DZ-MP	80	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-MP	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
DZ-AS	160	Ø	Ø	80	320	20	80	40	20
DZ-AS	20	Ø	Ø	Ø	40	20	20	Ø	20
DZ-AS	40	Ø	Ø	20	80	80	80	160	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	40	Ø	Ø	Ø	20
WS-JS	80	20	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20	20
WS-JS	20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-JS	80	Ø	Ø	Ø	20	Ø	Ø	Ø	Ø
WS-MP	80	Ø	Ø	Ø	40	Ø	20	Ø	Ø
WS-MP	320	20	Ø	20	40	20	80	Ø	20
WS-MP	40	80	Ø	Ø	80	Ø	40	Ø	Ø
WS-AS	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	20	20
WS-AS	40	80	Ø	20	80	80	80	20	20
WS-AS	20	40	Ø	Ø	80	20	40	80	Ø

XII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung dieses spannenden Themas bedanken. Vielen Dank für die gute Betreuung sowie für die Möglichkeit der Mitarbeit an der Klinik für Schweine.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. Julia Stadler und Frau Dr. Sophie Gumbert bedanken, die bei fachlichen Fragen immer ein offenes Ohr für mich hatten und mich bei der Anfertigung der Arbeit immer unterstützt haben.

Ein weiterer Dank geht ganz besonders an Frau Dr. Anja Wernecke, Frau Dr. Sigena Junker und Frau Dr. Julia Gründl, die mit mir tausende Kilometer zurückgelegt und mich jederzeit bei den Ausfahrten unterstützt haben. Wir waren immer ein super Team!

Bei der Firma CEVA Tiergesundheit, insbesondere bei Frau Dr. Kathrin Lillie-Jaschniski, möchte ich mich für die bereitgestellten finanziellen Mittel bedanken sowie bei allen Projektpartnern für die kollegiale Zusammenarbeit. Ein weiterer Dank geht an alle Landwirte:innen, Betriebsleiter:innen und die bestandsbetreuenden Tierärzte:innen, die diese Studie unterstützt haben. Vielen Dank für das entgegengebrachte Vertrauen und die Mithilfe!

Ein großes Dankeschön geht an das Team sowie an alle ehemaligen Mitarbeiter der Klinik für Schweine. Auch während der Pandemie konnte man auf Eure Hilfe sowohl in der Klinik als auch bei den Ausfahrten zählen. Vielen Dank dafür!

Außerdem möchte mich bei meinen Freunden bedanken, die mich immer aufgefangen haben. Danke, dass ihr an mich glaubt und immer für mich da seid! Nicht zu vergessen mein Hund Buster, der mich auch mal vom Schreibtisch weggeholt hat.

Zu guter Letzt geht ein besonderer Dank an meine Eltern, die mich schon während des Studiums immer unterstützt haben und es mir ermöglicht haben, diesen Weg zu gehen!