

Nachweis von porzinem Teschovirus und Genotypen des porzinen
Circovirus 2 aus diagnostischen Einsendungen in Fällen von stillbirth,
mummification, embryonic death und infertility (SMEDI) syndrome

Von Clara Julia Ursula Reichl

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

Nachweis von porzinem Teschovirus und Genotypen des porzinen
Circovirus 2 aus diagnostischen Einsendungen in Fällen von
stillbirth, mummification, embryonic death und infertility
(SMEDI) syndrome

von Clara Julia Ursula Reichl
aus Trostberg

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: Priv.-Doz. Dr. Matthias Eddicks

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Matthias Eddicks
Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Tag der Promotion: 06. Juli 2024

Meinen Liebsten.

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	SMEDI	3
1.1.	Klinisches Erscheinungsbild	3
1.2.	Ätiologie.....	4
1.3.	Pathogenese	4
2.	Porzines Circovirus 2	7
2.1.	Taxonomie und Morphologie	7
2.2.	Genotypen.....	8
2.3.	Epidemiologie	9
2.4.	Erregerübertragung	10
2.5.	Klinisches Bild	11
2.6.	Nachweis von PCV2.....	13
2.7.	Prophylaxe	16
3.	Porzines Teschovirus	17
3.1.	Taxonomie	17
3.2.	Morphologie	18
3.3.	Epidemiologie	18
3.4.	Erregerübertragung	19
3.5.	Klinisches Bild	19
3.6.	Nachweis von PTV in Fällen von Reproduktionsstörungen	20
3.7.	Prophylaxe	21
4.	SMEDI in Zusammenhang mit PCV2 und PTV	21
III.	MATERIAL UND METHODEN	23
1.	Ethikvotum.....	23
2.	Ziel dieser Arbeit.....	23
3.	Durchführung der Untersuchung	23
3.1.	Makroskopische Untersuchung der Föten.....	25
3.2.	Probengewinnung für die molekularbiologischen Untersuchungen	28

4.	Labordiagnostische Untersuchungen	29
5.	Statistik.....	32
IV.	ERGEBNISSE	33
1.	Deskriptive Auswertung der Untersuchungsergebnisse.....	33
1.1.	Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Bestandsebene ...	34
1.2.	Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Wurf- und Sauenebene	37
1.3.	Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Fötenebene.....	39
2.	Ergebnisse molekularbiologischer Untersuchungen	45
2.1.	Qualitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV2 - DNA in fötalen Gewebepoolproben.....	46
2.1.1.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene.....	46
2.1.2.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus	48
2.1.3.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau des Fötus	50
2.1.4.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau des Fötus	51
2.1.5.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsaunen - Quarantäne	53
2.1.6.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße	54
2.2.	Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV2 - DNA in fötalen Gewebepoolproben.....	55
2.2.1.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene.....	56
2.2.2.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus	57
2.2.3.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen	

	Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau des Fötus.....	59
2.2.4.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau des Fötus.....	61
2.2.5.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsauen - Quarantäne	62
2.2.6.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße	63
V.	DISKUSSION	65
1.	Methodenkritik	65
2.	Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung	65
2.1.	Nachweis des porcinen Teschovirus in SMEDI - assoziierten Würfen	65
2.2.	Nachweis des porcinen Circovirus 2 in SMEDI - assoziierten Würfen	67
2.3.	Nachweis von PCV2 - Genotypen a, b und d in SMEDI - assoziierten Würfen	69
2.4.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus	71
2.5.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau	72
2.6.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau	74
2.7.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsauen - Quarantäne	76
2.8.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße	77

VI.	ZUSAMMENFASSUNG.....	81
VII.	SUMMARY.....	85
VIII.	TABELLENVERZEICHNIS	89
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	93
X.	LITERATURVERZEICHNIS	95
XI.	ANHANG.....	121
XII.	DANKSAGUNG	135

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abh.	Abhängig
AK	Aujeszký'sche Krankheit
Bzw.	Beziehungsweise
°C	Grad Celsius
cm	Centimeter
Cp	Capsidprotein
Ct	Cycle threshold
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
g	Gramm
GE	genome equivalents
IgG	Immunglobulin G
IRES	interne ribosomale Eintrittsstelle
JS	Jungsau
Kb	Kilobase
KSP	Klassische Schweinepest
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
Max	Maximum
Md	Median
Min	Minimum
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Mw	Mittelwert
Nb-HRP	Nanobody-horseradish peroxidase fusion protein
nm	nanometer
NRW	Nordrhein-Westfalen
OR	Odds Ratio
ORF	Open Reading Frame
ORF1	Open Reading Frame 1
ORF2	Open Reading Frame 2

ORF3	Open Reading Frame 3
ORF4	Open Reading Frame 4
P1	Polyprotein 1
P2	Polyprotein 2
P3	Polyprotein 3
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PCV	Porzines Circovirus
PCV1	Porzines-Circovirus 1
PCV2	Porzines-Circovirus 2
PCV3	Porzines-Circovirus 3
PCV4	Porzines Circovirus 4
PCV2a	PCV2 Genotyp a
PCV2b	PCV2 Genotyp b
PCV2d	PCV2-Genotyp d
PCVad	PCV2 Genotyp a und Genotyp d
PCVD	porcine circovirus diseases
PCV-ED	porcine circovirus enteric disease
PCV-LD	porcine circovirus lung disease
PCV-RD	porcine circovirus reproductive disease
PCV-SD	porcine circovirus systemic disease
PCV-SI	porcine circovirus subclinical infection
PDNS	Porzines Dermatitis Nephropathie Syndrom
PEV	Porzines Enterovirus
pH	Pondus hydrogenii
PMWS	Post-weaning multisystemic wasting syndrome
PPV	Porzines Parvovirus
PPV1	Porzines Parvovirus 1
PRDC	Porcine respiratory disease complex
PRRSV	Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
PSV	Porzines Sapelovirus
PTV	Porzines Teschovirus

qPCR	Quantitative PCR
RD	Reproductive Disease
rep	replikationsassoziiertes Protein
RNA	Ribonucleic acid
RT-PCR	Reverse Transkriptase-PCR
sec	Sekunden
SMEDI	Stillbirth, mummification, embryonic death, infertility
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
StabW	Standardabweichung
Unabh.	unabhängig
UTR	Untranslatierte Region
Vs	Versus
VP1	Virales Protein 1
VP2	Virales Protein 2
VP3	Virales Protein 3
VP4	Virales Protein 4
ZNS	Zentralnervensystem
µl	Mikroliter

I. EINLEITUNG

Der Begriff „SMEDI“-Syndrom steht für *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (Embryonaler Fruchttod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) syndrome (Dunne et al. 1965) und bezeichnet Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein (Sydler et al. 2011). Typisch für das SMEDI-Syndrom ist das Bild der orgelpfeifenartig angeordneten Föten, welche als Mumien, lebensschwache und teilweise autolytisch veränderte Tiere geboren werden (Barlow 1998, Plonait and Bickhardt 2004). Das SMEDI-Syndrom ist aber kein einheitlich ätiologisch definiertes Krankheitsbild (Plonait and Bickhardt 2004). Verursacht wird das klinische Bild durch verschiedene Viren, unter anderem durch das porcine Teschovirus (PTV) und das porcine Circovirus 2 (PCV2), die beide ubiquitär in der Hausschweinepopulation vorkommen (Segalés et al. 2005a, Chiu et al. 2012), des Weiteren werden das porcine Parvovirus 1 (PPV1), das Virus der Aujeszky'schen Krankheit (AK) sowie das Virus der Klassischen Schweinepest (KSP) (Sydler et al. 2011, Streck and Truyen 2020) mit SMEDI in Verbindung gebracht. Von PCV2 gibt es aktuell 9 definierte Genotypen (PCV2 a-i) (Franzo and Segalés 2018, Wang et al. 2020), von welchen c, e, f, g, h und i derzeit für schweinehaltende Betriebe eine untergeordnete Rolle in Bezug auf ihre Prävalenz und Infektionsgefahr spielen (Link et al. 2021). Der Genotyp PCV2d kann in die Untergruppen PCV2d-1 und PCV2d-2 unterteilt werden (Xiao et al. 2016) und ist neben PCV2a und PCV2b der mittlerweile dominierende Genotyp bei PCV2 assoziierten Krankheiten weltweit (Franzo and Segalés 2020). Zum Vorkommen von PCV2-Genotypen in Fällen von SMEDI ist bis auf einen Fallbericht aus Österreich (Unterweger et al. 2023) wenig bekannt. Eine Studie aus dem Jahr 2011 berichtet erstmals von PCV2-bedingten SMEDI-Fällen in der Schweiz (Sydler et al. 2011). Eine weitere aktuelle Studie aus Deutschland zeigt ebenfalls Nachweise von PCV2 in derartigen Fällen (Eddicks et al. 2023). Für das porcine Teschovirus gibt es nur sehr wenige Untersuchungen zum Vorkommen in Fällen von SMEDI. Bereits von 1965 gibt es Veröffentlichungen von Dunne et al. (1965), die das

porzine Teschovirus als Auslöser für Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein mit dem SMEDI-Syndrom in Zusammenhang bringen. Weitere Studien, welche das porzine Teschovirus mit dem SMEDI-Syndrom in Verbindung bringen stammen von Knowles et al. (2006) und Sundberg (2016). Daten aus der Schweiz zeigen ebenfalls das Auftreten von PTV bei Föten aus SMEDI-Würfen (Handke et al. 2012). Als pathogen für Föten gelten die Serotypen PTV 1, 3 und 6 sowie PEV 8 (Knowles et al. 2006). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen sollte das Vorkommen von PCV2 Genotypen in Fällen von SMEDI evaluiert werden und überprüft werden, inwiefern PTV in entsprechenden Fällen nachgewiesen werden kann.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. SMEDI

1.1. Klinisches Erscheinungsbild

Das SMEDI-Syndrom fasst als Akronym klinische Erscheinungen bei Fruchtbarkeitsstörungen (Sydler et al. 2011) zusammen, ist aber kein einheitlich ätiologisch definiertes Krankheitsbild (Plonait and Bickhardt 2004). Es steht für *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (Embryonaler Fruchttod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) syndrome (Dunne et al. 1965). Da betroffene Würfe zum errechneten Geburtstermin zur Welt kommen, stellt SMEDI keinen Abort dar (Plonait and Bickhardt 2004). Das typische Erscheinungsbild von SMEDI ist durch das Bild orgelpfeifenartig angeordneter toter Föten gekennzeichnet, was sich aufgrund der intrauterinen horizontalen Ausbreitung der Infektion, infolgedessen die Tiere in verschiedenen Entwicklungsstadien versterben, erklären lässt. Dabei können Mumien, autolytische Föten, kleine, lebensschwache und voll entwickelte Föten geboren werden (Barlow 1998, Plonait and Bickhardt 2004).

Die Haut mumifizierter Föten erscheint faltig, ledrig, dehydriert und ist dunkelbraun bis schwarz verfärbt (Lefebvre 2015). Autolytische Tiere, die 1-3 Tage vor der Geburt sterben weisen ein subkutanes Ödem auf und die Haut ist gelblich verfärbt. Totgeborene Föten, welche während der Geburt versterben, haben eine rosa gefärbte Haut und in manchen Fällen subkutan hämorrhagische Bereiche (Christianson 1992). Lebensschwach geborene Ferkel, die kurz nach der Geburt versterben unterscheiden sich optisch nicht von totgeborenen Tieren. Hier gibt die Untersuchung mittels Lungenschwimmprobe Aufschluss. Im Gegensatz zu totgeborenen Ferkeln verläuft die Lungenschwimmprobe bei Lebensschwachen positiv, da die Lunge für kurze Zeit belüftet wurde.



Abbildung 1: Beispielhafte Fotodokumentation von SMEDI-Würfen.
Bild: Klinik für Schweine, LMU

1.2. Ätiologie

Verursacht wird das klinische Bild durch verschiedene Virusinfektionen, besonders das porcine Parvovirus (PPV), außerdem kommen Viren wie das porcine Enterovirus, das porcine Circovirus 2 (PCV2), das Virus der klassischen Schweinepest, das Virus des porcinen reproduktiven und respiratorischen Syndrom Virus (PRRSV), das Enzephalomyokarditisvirus und das Virus der Aujeszky'schen Krankheit als Ursache in Frage (Sydler et al. 2011, Streck and Truyen 2020). Auch bakterielle Erreger wie *Leptospira spp.* können das SMEDI-Syndrom hervorrufen (Barlow 1998).

1.3. Pathogenese

Das typische Bild eines SMEDI-Wurfes mit orgelpfeifenartig angeordneten Föten ergibt sich aus der horizontalen intrauterinen Ausbreitung der Infektion. Laut Literatur wird angenommen, dass zunächst nur ein Fötus infiziert wird. Daraufhin breitet sich die Infektion mit zeitlicher Verzögerung im Uterus aus („horizontale Infektion“) und infiziert der Reihe nach alle weiteren Föten. Diese befinden sich jeweils in unterschiedlichen Entwicklungsstadien, was am Ende zu dem typischen Erscheinungsbild von SMEDI führt (Plonait and Bickhardt 2004). Wie schnell sich die Infektion intrauterin horizontal ausbreitet, hängt von der Virulenz des Erregers ab (Althouse et al. 2019).

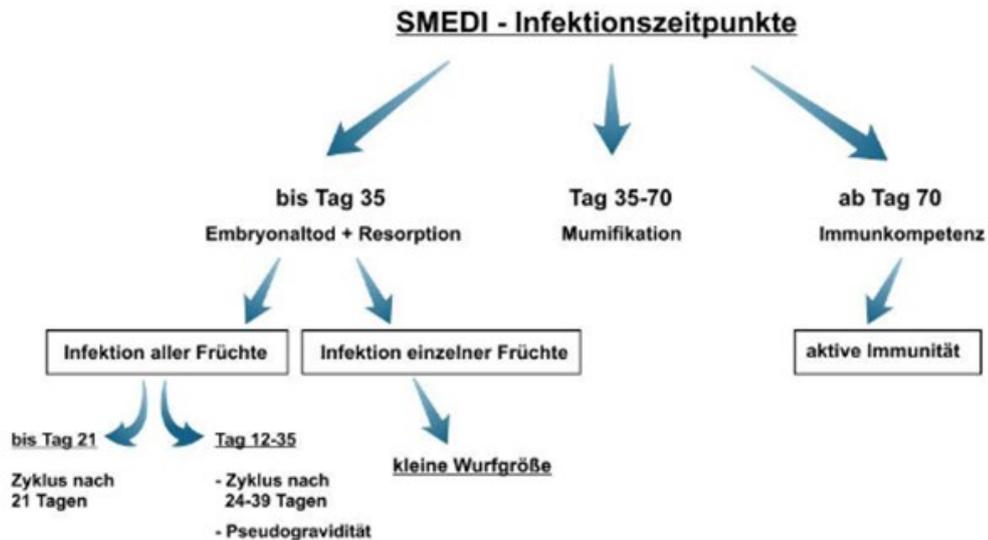


Abbildung 2: Übersicht über die Folgen einer intrauterinen Infektion der Ferkel in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt und Entwicklungsstadium der Föten, nach (Plonait and Bickhardt 2004)

Infektionen bis zum 35. Tag post conceptionem führen zum Absterben des Embryos (**Embryonaler Fruchttod**). Bis zu diesem Zeitpunkt der Gravidität kann die Frucht resorbiert werden, da das Skelett noch nicht mineralisiert ist (Plonait and Bickhardt 2004). Werden bis zum 11. Graviditätstag alle Embryonen resorbiert erfolgt am 21. Tag der Östrus mit der Folge regelmäßigen Umrauschens (**infertility**) (Camenisch et al. 2004). Kommt es zwischen dem 12. und 35. Graviditätstag zum Tod aller Embryonen folgen Komplikationen wie Pseudogravidität oder ein verzögert einsetzender Zyklus an Tag 24-39 (unregelmäßiges Umrauschen) (Camenisch et al. 2004). Überleben jedoch einer oder mehrere Embryonen so entstehen kleine Würfe (Plonait and Bickhardt 2004).

Als fötaler Fruchttod wird der Tod der Föten definiert, wenn er zwischen dem 35. und 110. Graviditätstag eintritt. In diesem Zeitraum können die Föten bereits Skelettanlagen entwickeln (Plonait and Bickhardt 2004). Kann keine Resorption mehr erfolgen, da bereits Skelettanlagen gebildet wurden, können die Tiere, je nach Entwicklungsstadium zum Infektionszeitpunkt, als Mumien oder autolytisch veränderte Föten geboren werden (Givens and Marley 2008).

Als **Mumifikation** wird per definitionem eine Dehydratation des Fötus im Uterus beschrieben (Plonait and Bickhardt 2004). Mumifizierte Tiere erscheinen ledrig, dehydriert und dunkelbraun bis schwarz verfärbt, die Körperoberfläche ist faltenreich und die Augen eingesunken (Christianson 1992, Lefebvre 2015). Mumifikation findet für gewöhnlich steril, ohne bakterielle Infektionen, statt, dafür sind Viren eine häufige Ursache (Givens and Marley 2008).

Ein **totgeborener** Fötus ist im Gegensatz zum Abort voll entwickelt und bis auf fehlende Lebenszeichen unverändert. Der Magen totgeborener Föten kann Fruchtwasser enthalten und die Föten sind häufig mit Mekonium verunreinigt (Plonait and Bickhardt 2004). Im Gegensatz zu lebensschwach geborenen Föten, die bereits geatmet haben, ist die Lungenschwimmprobe bei totgeborenen Föten negativ (Plonait and Bickhardt 2004). Totgeborene und lebensschwach geborene Tiere können ebenso wie lebend geborene Tiere infiziert sein. Findet eine Infektion ab dem 70. Trächtigkeitstag statt befinden sich die Föten in der Phase der Immunkompetenz (Plonait and Bickhardt 2004).

Der Abort hingegen tritt beim SMEDI-Syndrom nicht auf. Dies wird dadurch erklärt, dass durch eine transplazentare Übertragung von viralen Erregern, die im Zusammenhang mit SMEDI stehen, eine Schädigung und Entwicklungshemmung des Embryos beziehungsweise Fötus auftritt. Dagegen kommt es aber nicht zur Geburtsauslösung und somit zum Abort, da die Plazenta nicht geschädigt wird (Plonait and Bickhardt 2004).

Um den ungefähren Geburtszeitpunkt der SMEDI-Föten zu bestimmen wird das Alter der abgestorbenen Föten bestimmt. Das Alter kann durch die Scheitel-Steiß-Länge (SSL) ermittelt werden. Diese wird am Rücken des Fötus gemessen und reicht vom Scheitel des Kopfes bis zum Ansatz des Schwanzes (Baxter et al. 2008). Das Alter der Föten kann anhand der Tabelle von Evans and Sack (1973) abgeschätzt werden.

Tabelle 1: Korrelation von Scheitel – Steiß – Länge und Alter der Föten nach Evans & Sack (1973) modifiziert.

Scheitel – Steiß – Länge (mm)	Alter der Föten (in Tagen)
65	45
125	60
160	70
210	80
240	90
270	100

2. Porzines Circovirus 2

2.1. Taxonomie und Morphologie

Porzine Circoviren (PCV) des Genus *Circovirus* gehören zur Familie der *Circoviridae*, Ordnung *Cirivirales* (Rosario et al. 2017). Dabei handelt es sich um unbehüllte Viren mit kovalent geschlossener, zirkulärer, einzelsträngiger DNA mit einem Molekulargewicht von $0,58 \times 10^6$ und einem Durchmesser von 17nm (Tischer et al. 1982). Die Viren wurden von Tischer erstmalig in Schweinenierenzellen (PK-15) entdeckt (Tischer et al. 1974). Aufgrund der Ähnlichkeit unter dem Elektronenmikroskop bezeichnete Tischer sie zuerst als Papovavirus- oder Picornavirus-ähnliche Partikel, erst kurz darauf wurden die relevanten Merkmale des Virus publiziert (Tischer et al. 1974, Tischer et al. 1982). Es werden verschiedene Spezies des Porzinen Circovirus in der Literatur beschrieben: PCV1 (Tischer et al. 1982), PCV2 (Meehan et al. 1998), PCV3 (Phan et al. 2016, Palinski et al. 2017) und PCV4 (Zhang et al. 2020, Sun et al. 2021). Dabei wird PCV1 als apathogen (Fenaux et al. 2003, Li et al. 2013, Cao et al. 2018) und PCV2, PCV3 und auch PCV4 als pathogen eingestuft (Segalés 2012, Palinski et al. 2017, Geng et al. 2020, Zhang et al. 2020). Weitere Merkmale der Circoviren sind mehrere offene Leserahmen (ORFs) (Bassami et al. 1998, Hamel et al. 1998), die für verschiedene Proteine codieren. Der ORF1 kodiert für das replikationsassoziierte Protein (Rep) und der ORF2 für das Kapsidprotein (Cp) (Rosario et al., 2017). Es ist außerdem bekannt, dass ORF3 für VP3,

ein drittes Protein, codiert, welches apoptotische Kapazität hat (Kiupel et al. 2005), und ORF4 für ein Protein mit potenziell anti-apoptotischer Funktion (Lv et al. 2016).

2.2. Genotypen

Aktuell sind insgesamt 9 Genotypen (PCV2 a-i) bekannt (Franzo and Segalés 2018, Wang et al. 2020), wobei die Genotypen e, f, g, h und i derzeit eine sehr geringe Rolle in Bezug auf ihre Nachweishäufigkeit spielen (Link et al. 2021). Seit der Erstbeschreibung des porcinen Circovirus von Tischer et al. (1974) gab es einige Um- und Neubenennungen. Zunächst wurde 1998* die Differenzierung von PCV1 und PCV2 in Zusammenhang mit dem PMWS beschrieben (Meehan et al. 1998), weitere Aufgliederung von PCV2 in Sub- bzw. Genotypen war zunächst uneinheitlich. Die Mitglieder des Europäischen Konsortiums für porcine circovirus diseases (PCVD) (www.pcvd.org) schlagen schließlich die einheitliche Benennung der Genotypen als PCV2a und PCV2b vor* (Segalés et al. 2008). Innerhalb dieser beiden Genotypen werden weitere Subcluster unterschieden: Für PCV2a fünf (PCV2a 2A-E) und für PCV2b drei (PCV2b 1A-C) (Olvera et al. 2007). Allerdings werden Stämme, die ursprünglich zu PCV2b-1C gezählt wurden, mittlerweile dem Genotyp PCV2d zugeordnet*, sodass dem Genotyp PCV2b nur zwei Subcluster, PCV2b 1A-B, zugeordnet werden (Franzo et al. 2015). Seit 2008 wurden durch Sequenzierung neben PCV2d ein weiterer Genotyp unterschieden: PCV2c*. Dieser Genotyp spielt jedoch eine eher untergeordnete Rolle und ist aus den 1980er Jahren aus dänischen Proben publik (Dupont et al. 2008). Der Genotyp PCV2d kann in die Untergruppen PCV2d-1 und PCV2d-2 unterteilt werden (Xiao et al. 2016). Über die letzten Jahre und der Entdeckung immer neuer PCV2 Genotypen hat sich auch die weltweite Dominanz hinsichtlich der Nachweishäufigkeit und klinischer Relevanz der Genotypen geändert. Nachdem anfänglich PCV2a bis 2004 der vorherrschende Genotyp in Zusammenhang mit PCVD war, wurde 2004/2005 vermehrt der Genotyp PCV2b in Fällen von PCVD nachgewiesen (Gagnon et al. 2007, Carman et al. 2008). Gleichartig zum Genotypenshift von PCV2a zu PCV2b ist in den vergangenen Jahren der

Genotyp PCV2d vermehrt nachgewiesen worden und stellt mittlerweile den weltweit dominierenden Genotyp bei PCV2 assoziierten Krankheiten dar (Franzo and Segalés 2020). Der Genotyp e wurde erstmals 2016 von Davies genannt (Davies et al. 2016), danach folgten weitere Nachweise aus Asien und Amerika (Liu et al. 2018, Park et al. 2020, Link et al. 2021, Park and Chae 2021, Xu et al. 2022, Miotto et al. 2023). Die Genotypen f, g und h wurden bis jetzt hauptsächlich in Asien, Europa und Südamerika nachgewiesen (Link et al. 2021). Ein möglicher neuer Genotyp PCV2i wurde anhand der aktuellen Methode in den USA identifiziert, bedarf aber noch weiterer epidemiologischer Studien und weiterer Analysen (Wang et al. 2020).

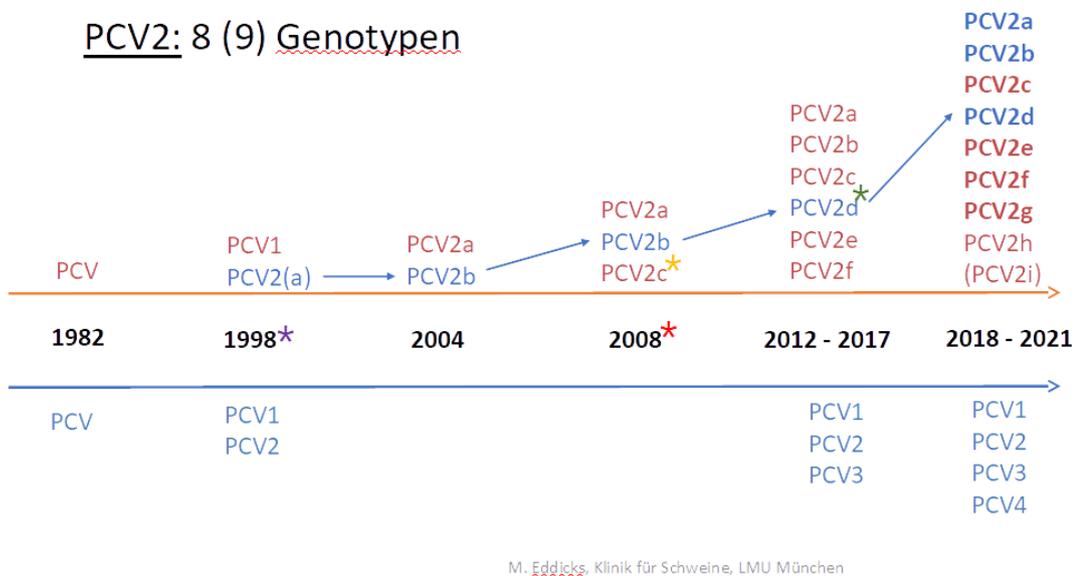


Abbildung 3: Entwicklung von PCV und den Genotypen-Shifts von PCV2 über die vergangenen Jahre; Bild: Matthias Eddicks, Klinik für Schweine

Obwohl mittlerweile mehrere verschiedene Genotypen von PCV2 bekannt sind, gibt es keinen Genotyp, der mit einer der beschriebenen porcine circovirus diseases (PCVD) besonders assoziiert ist. In wie weit sich die Genotypen in ihrer Virulenz unterscheiden ist noch nicht ausreichend geklärt (Opriessnig et al. 2008).

2.3. Epidemiologie

Das porcine Circovirus 2 ist ubiquitär in der Hausschweinepopulation verbreitet und auf der ganzen Welt von wirtschaftlicher Bedeutung für

die Schweineindustrie (Segalés, Allan et al. 2005, Rose, Opriessnig et al. 2012).

2.4. Erregerübertragung

PCV2 kann sowohl vertikal (Brunborg et al. 2007, Ha et al. 2008), als auch horizontal übertragen werden (Boros et al. 2012, Rose et al. 2012). Die vertikale Übertragung kann zu virämisch neugeborenen Ferkeln, sowie zu PCV2-assoziierten Reproduktionsstörungen führen (Rose et al. 2007, Madson et al. 2009b). Der häufigste Übertragungsweg von PCV2 ist oro-nasal, was durch verschiedene Studien belegt wurde (Balasch et al. 1999, Ellis et al. 1999, Krakowka et al. 2000). Des Weiteren zeigen mehrere Untersuchungen, dass PCV2 über alle Se- und Exkrete ausgeschieden wird. PCV2-DNA kann in Speichel, Augen- und Nasenausfluss, als auch in Harn, Sperma und Kolostrum, sowie in Serum infizierter Tiere nachgewiesen werden (Shibata et al. 2003, Segalés et al. 2005b, Shibata et al. 2006, Madson et al. 2009b, McIntosh et al. 2009, Gerber et al. 2011, Rose et al. 2012), wobei belegt wurde, dass die Viruslast in den Ausscheidungen bei erkrankten Tieren höher ist, als bei gesunden Tieren (Calsamiglia et al. 2004). Außerdem wurde die letzten Jahre vermehrt untersucht, welche Rolle die intrauterine Erregerübertragung von PCV2 spielt. Nicht nur die experimentelle transuterine Inokulation von PCV2 in Föten (Sanchez Jr et al. 2001, Johnson et al. 2002, Yoon et al. 2004), sondern auch die künstliche Besamung mit PCV2-versetztem Sperma (Madson et al. 2009b) sowie die experimentelle intranasale Infektion trächtiger Sauen mit PCV2 (Nielsen et al. 2004, Park et al. 2005) führten zu einer Infektion der Föten mit Virusvermehrung, Organläsionen und Absterben von Föten. Auch in verschiedenen Feldstudien aus Kanada und Nordamerika konnte eine intrauterine Übertragung gezeigt werden (Shen et al. 2010, Gerber et al. 2012, Dvorak et al. 2013, Dvorak et al. 2016). Eine Virämie der Muttersau in der frühen Trächtigkeit kann eine bedeutende Möglichkeit für eine intrauterine Infektion sein (Eddicks et al. 2019). Die Transmission über die Plazenta findet zellvermittelt oder zellfrei durch freie PCV2-Partikel statt. Wenn PCV2 in der Lage ist, eine Virämie bei einer trächtigen Sau hervorzurufen, ist eine transplazentare Übertragung vom Muttertier auf

die Ferkel umso wahrscheinlicher, je länger diese Virämie andauert (Pensaert et al. 2004). Außerdem ist auch eine in utero Übertragung während der Periode der Immunkompetenz (>70 Tage der Trächtigkeit) möglich, da Ferkel mit nachgewiesenen PCV2-Antikörpern geboren wurden (Shen et al. 2010, Gerber et al. 2012, Dvorak et al. 2013). In neueren Studien aus Bayern hingegen wurden weder IgG-Antikörper gegen PCV2 in prä-kolostralen Serumproben von Ferkeln gefunden, noch PCV2-DNA, was die These nicht unterstützt, dass die Ferkel immer virämisch geboren werden (Eddicks et al. 2016).

2.5. Klinisches Bild

Infektionen mit dem porcinen Circovirus 2 zeigen sich klinisch in verschiedenen Krankheitsbildern. Diese werden unter dem Begriff porcine circovirus diseases (PCVD) zusammengefasst (Segalés 2012). Zu diesen Krankheiten gehören das post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (auch genannt PCV2-systemic disease, PCV2-SD), das porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS), die PCV2-enteric disease (PCV2-ED), die PCV2-lung disease (PCV2-LD), die PCV2-reproductive disease (PCV2-RD) sowie die PCV2-subclinical infection (PCV2-SI) (Segalés 2012).

Das **post-weaning multisystemic wasting syndrome** tritt in einem Alter zwischen einem und sechs Monaten, die meisten Fälle zwischen zwei und drei Monaten, auf (Segalés and Cortey 2010). Das bedeutendste klinische Erscheinungsbild bei Ferkeln mit PMWS ist das Kümmern, dazu kommen weitere klinische Anzeichen wie blasse Haut, Atemnot, Durchfall und gelegentlich Ikterus (Harding and Clark 1997). Da es sich um eine multifaktorielle Erkrankung handelt, sind für die vollständige Ausprägung weitere Faktoren nötig, wie beispielsweise der generelle Gesundheitszustand während der Saugferkelphase oder die Biosicherheit (Segalés et al. 2005a, Madec et al. 2008).

Das **porcine dermatitis and nephropathy syndrome** ist eine Gefäß-Erkrankung von Absetzern und Schweinen in der Mast, gelegentlich auch von adulten Tieren. In der akuten Phase zeigt sich das klinische Erscheinungsbild in runden bis unregelmäßigen Hautläsionen, die von

roten bis violetten Makeln und Papeln gekennzeichnet sind. Bei dem typischen Erscheinungsbild zeigen sich die Läsionen in der Perinealregion, den Hintergliedmaßen und der ventralen Seite des Bauches und Thorax sowie an den Ohren. Je nach Schweregrad und Ausmaß der (Gefäß-) Läsionen sterben die Tiere innerhalb weniger Tage nach Auftreten der klinischen Symptome (Segalés et al. 1998, Drolet et al. 1999). Die hauptsächliche Todesursache ist ein akutes Nierenversagen (Smith et al. 1993, Helie et al. 1995).

Bei der **PCV2 enteric disease**, die vor Allem bei Aufzuchtferkeln und Mastschweinen vorkommt, zeigen die Tiere hauptsächlich Diarrhoe (Kim et al. 2004a). Weitere morphologische Veränderungen in der histopathologischen Untersuchung beschränken sich auf den Darmtrakt, histopathologisch gekennzeichnet durch granulomatöse Entzündungen und Lymphozytendepletion in den Peyer'schen Platten (Kim et al. 2004a). Bei Kim et al. (2004a) wird die enteric disease als eigenständige klinische Manifestation von PCV2 definiert, da das klinische Erscheinungsbild aber auch bei der systemischen PCV2-Erkrankung auftritt, wird die Möglichkeit eines „diagnostic overlap“ diskutiert und die Eigenständigkeit der enteric disease in Frage gestellt (Opriessnig et al. 2007, Baró et al. 2015).

Ähnlich wie bei der PCV2 enteric disease gibt es auch bei der **PCV2 lung disease** ein klinisch sichtbares Hauptmerkmal: respiratorische Störungen (Harms et al. 2002). Histologisch kennzeichnet sich die PCV2 lung disease durch granulomatöse bronchointerstitielle Pneumonie mit oder ohne Bronchiolitis und bronchioläre Fibrose. Außerdem gilt PCV2 als wesentlicher Bestandteil des porcine respiratory disease complex (PRDC) (Harms et al. 2002). Auch in diesem Fall wird der „diagnostic overlap“ diskutiert, da in der systemischen PCV2-Erkrankung respiratorische Symptome auftreten (Opriessnig et al. 2007).

Wie oben bereits erwähnt, ist PCV2 weltweit ubiquitär verbreitet (Segalés et al. 2005a). Die am weitesten verbreitete Form ist die **subklinische Infektion** mit PCV2 (Segalés 2012). Die Prävalenz der klinischen Formen der porcine circovirus diseases ist deutlich niedriger (Segalés 2012). Außerdem gibt es Studien, dass trotz fehlender klinischer Anzeichen eine

Impfung gegen PCV2 zu einer Verbesserung von Produktionsparametern (durchschnittliche Tageszunahmen, Körperkondition und Schlachtgewicht) führen kann (Young et al. 2011).

Ein weiteres Krankheitsbild, das mit einer PCV2 Infektion einhergeht, ist die **PCV2 reproductive disease**. Wenn auch selten unter Feldbedingungen zu sehen (Pensaert et al. 2004) sind die Charakteristika der PCV2-RD Mumifikation, Spätaborte und Totgeburten (West et al. 1999, Brunborg et al. 2007, Madson et al. 2009b), sowie lebensschwache Ferkel (Madson and Opriessnig 2011). Außerdem kann regelmäßiges Umrauschen auftreten, da PCV2 in Embryonen replizieren kann und so möglicherweise zum Embryonaltod führt (Mateusen et al. 2007). Die Zahl der fötalen oder neugeborenen Infektionen kann in einigen Fällen hoch sein, obwohl keine klinischen Reproduktionssymptome vorliegen (Shen et al. 2010). Eine mögliche Ursache für das seltene klinische Erscheinungsbild der PCV2-RD ist die hohe Seroprävalenz von PCV2 bei adulten Schweinen und somit das Ausbleiben klinischer Erscheinungen in Zuchtbeständen. Treten klinische Anzeichen auf betrifft dies vor Allem neue Herden, Gruppen mit vielen Jungsauen oder PCV2 seronegative Bestände (West et al. 1999, Opriessnig et al. 2007, Togashi et al. 2011). Um von „PCV2 bedingten Fruchtbarkeitsstörungen“ sprechen zu können, müssen laut Segalés et al. (2005a) drei Kriterien erfüllt werden: Spätaborte und Totgeburten, die teilweise mit einer Hypertrophie des fötalen Herzens einhergehen. Das Vorhandensein von Herzläsionen, die durch eine ausgedehnte fibrosierende und/oder nekrotisierende Myokarditis gekennzeichnet sind und drittens große Mengen von PCV2 in Myokardläsionen und anderen fötalen Geweben.

2.6. Nachweis von PCV2

Für den Nachweis von Antikörpern gegen PCV2, eignet sich das enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Die Untersuchungen können mittels Sandwich-ELISA (Allan and Ellis 2000) oder kompetitivem ELISA (Walker et al. 2000) durchgeführt werden. Aktuelle Studien berichten über eine neue Methode für einen kompetitiven ELISA: Nb-HRP fusion protein-based competitive ELISA (nanobody-horseradish peroxidase fusion protein), welcher als praktikabel für die Nutzung in der Praxis

entwickelt wurde (Mu et al. 2021). Für die zeitliche Eingrenzung einer PCV2 Infektion eignet sich der INgezim Circovirus IgM/IgG double antibody ELISA von Ingenasa, dabei können die beiden PCV2 spezifischen Antikörperklassen IgG und IgM und deren relative Mengen bestimmt werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse gilt folgendes zu beachten: Wird IgM in höheren Mengen als IgG nachgewiesen, liegt eine aktive Infektion vor, sind dagegen geringere Mengen von IgM als IgG vorhanden ist die Infektion kürzlich erfolgt. Kann IgM nicht nachgewiesen werden, sondern nur IgG gab es entfernten Kontakt mit dem Pathogen, kann weder IgM noch IgG nachgewiesen werden fand kein Erregerkontakt statt (Ingenasa, Madrid, Spain).

Der direkte Nachweis von Genomfragmenten oder anderen Teilen des Virus ist ebenfalls möglich (Opriessnig et al. 2007) und es stehen verschiedenen Möglichkeiten der Untersuchung für die Routinediagnostik zur Verfügung. Mittels elektronenmikroskopischer Untersuchung des Probenmaterials können Circovirus-ähnliche Strukturen innerhalb der Zelle dargestellt werden. Diese Diagnostik ist allerdings sehr zeit- und kostenintensiv und wird deshalb nicht standardmäßig durchgeführt (Opriessnig et al. 2007). Am geläufigsten zur Diagnose von PCV2-bedingten Krankheiten und zum Nachweis von PCV2-DNA ist die quantitative PCR (Segalés 2012). PCV2-Genomfragmente sind in sämtlichen Organen nachweisbar (Bolin et al. 2001), außerdem eignet sich Blut, Nasensekret oder auch Kot (Shibata et al. 2003).

Um die PCV2 reproductive disease nachzuweisen und eine sichere Diagnose stellen zu können, gilt nach wie vor die Erfüllung der von Segales festgelegter diagnostischer Trias (Segalés 2012, Segalés and Sibila 2022):

- 1) Klinisches Erscheinungsbild: SMEDI–Symptomatik oder vermehrt Reproduktionsstörungen in der späten Trächtigkeit
- 2) Vorhandensein spezifischer Läsionen in den Zielgeweben betroffener Tiere, bei PCV2-RD Herzläsionen, mit ausgedehnter fibrosierender und/oder nekrotisierender Myokarditis

3) Nachweis von mäßigen bis hohen Mengen PCV2 aus Herzgewebe anhand quantitativer PCR

Inwieweit diese drei Punkte noch aktuell sind und wie relevant histopathologische Veränderungen für die Diagnosestellung sind, reevaluiert eine Studie aus dem Jahr 2021. Die Ergebnisse zeigen trotz hoher Viruslast im Myokard der Föten keine Myokarditis (Unterweger et al. 2021). Um das Vorliegen einer PCV2-RD sicher zu bestätigen sollten Läsionen im Myokard trotzdem in die Falldefinition mitaufgenommen werden (Segalés and Sibila 2022).

Außerdem beschreiben Segalés and Sibila (2022) zwei Kriterien für die Diagnostik von PCV2-RD im frühen Stadium der Trächtigkeit:

- 1) Reguläres Umrauschen/Unfruchtbarkeit
- 2) PCV2 Serokonversion der Sau nach dem Umrauschen und/oder positive PCV2 PCR/qPCR rund um das Umrauschen

Die Methode der Wahl zum direkten Nachweis von PCV2-DNA ist die quantitative PCR (qPCR) (Segalés and Sibila 2022). Als Gewebeprobe eignet sich laut Brunborg neben Myokard am besten auch Leber und Milz totgeborener Ferkel (Brunborg et al. 2007). Auch neuere Studien sind sich einig, dass Myokard am relevantesten für den Erregernachweis ist. Teilweise sind auch Lunge, Niere, Lymphknoten sowie Darm sinnvoll für einen Organpool (Kim et al. 2004b, Brunborg et al. 2007, Dvorak et al. 2013, Oropeza-Moe et al. 2017, Unterweger et al. 2021). Beruht die Diagnosestellung rein auf die Viruslast gibt es in der Literatur verschiedene Ansätze. Bei (Unterweger et al. 2021) gilt ein Schwellenwert von 10^9 genome equivalents (GE)/g fetalem Herzgewebe. Obwohl gezeigt werden konnte, dass die Viruslast positiv mit der Schwere der Erkrankung korreliert, gilt immer noch, dass für eine sichere Diagnosestellung pathomorphologische Untersuchungen durchgeführt werden sollten (Segalés 2012).

Zur Genotypisierung und für die phylogenetische Einordnung der verschiedenen PCV2-Isolate eignet sich die Kombination differenzierender real-time PCRs (Eddicks et al. 2015). Um den vorhandenen Genotyp zu bestimmen, gibt es entweder die Möglichkeit

der Sequenzierung des Gesamtgenoms oder der eines bestimmten Genomabschnitts: dem Open Reading Frame 2 (ORF2), welcher für das Nukleokapsidprotein kodiert. Die ORF2-basierte Einordnung ist das übliche Standardverfahren, da sich die Ergebnisse beider Methoden nicht signifikant voneinander unterscheiden (Olvera et al. 2007, Tribble and Rowland 2012). Das derzeit am meisten akzeptierte Schema zur Definition von PCV2 Genotypen beruht auf drei Kriterien: maximale Intra-Genotyp-P-Distanz von 13% (berechnet auf dem ORF2-Gen), Bootstrap-Unterstützung am entsprechenden internen Knotenpunkt von mehr als 70% und mindestens 15 verfügbare Sequenzen (Franzo and Segalés 2018). Für die Diagnostik in der Praxis stellt der Nachweis des Genotyps keine Relevanz dar, da sich nicht von der Sequenz des Genoms auf die Virulenz schließen lässt. Bei Problemen wie etwa möglichen Impfversagen dagegen stellt die Genomsequenzierung eine wichtige Methodik dar (Eddicks and Fux 2017).

Ob sich fötale Blutproben zum Nachweis von intrauterinen Infektionen eignen, analysiert Saha et al. (2014). Es wird vermutet, dass sich bei Sauen mit einer hohen Menge an PCV2-Antikörpern geringe Mengen davon transplazentar über kleine Läsionen in der Plazentaschranke verbreiten. Bei Ferkeln von Sauen mit sehr hohen Antikörpertitern wurden direkt nach der Geburt, präkolostral, Serum-Antikörper nachgewiesen, jedoch keine virale DNA. Nach dieser Hypothese würden sich fötale Blutproben nicht für den Antikörper-Nachweis zur Bestimmung einer vertikalen Infektion eignen (Saha et al. 2014).

2.7. Prophylaxe

Bereits vor Etablierung der Impfung wurde der „20-Punkte-Plan“ publiziert und nennt Management- und Hygienemaßnahmen, wie Impfung, Reduktion von Stressfaktoren, angemessene Fütterung oder striktes All-In-, All-Out-Verfahren, als entscheidend in der Bekämpfung von PCV2-Virämien (Madec et al. 1999). Eine Impfung gegen PCV2 ist ein bewährtes Mittel gegen klinische Erkrankungen durch PCV2 (Martelli et al. 2011) und führt neben einer Verkürzung der virämischen Phase und der Herabsenkung der Viruslast im Blut (Kixmüller et al. 2008) auch zu einer Reduktion der Virusausscheidung über Se- und Exkrete (Gerber et

al. 2011). Auch das Auftreten von Ko-Infektionen geht positiv mit dem Auftreten von PCV2-bedingten klinischen Anzeichen ein her (Brunborg et al. 2004, Olvera et al. 2004). Neben Impfungen in Mastschweinebeständen (Puvanendiran et al. 2011), gibt es auch die Möglichkeit der aktiven Ferkelimmunisierung (Feng et al. 2014, Davies et al. 2016) und der passiven Mutterschutzimpfung (Gerber et al. 2011). Da PCV2 weltweit ubiquitär in Beständen verbreitet ist, sind vor allem naive Jungsauen von PCV2-assoziierten Reproduktionsstörungen infolge von Infektionen betroffen. Vor allem bei einem hohen Anteil an Jungsauen in der Herde zeigt sich die PCV2 reproductive disease (O'Connor et al. 2001, Oropeza-Moe et al. 2017). Wie Studien belegen, kann die Einführung einer PCV2-Impfung das Auftreten von neuen Fällen von SMEDI-assoziierten Würfen verhindern (Oropeza-Moe et al. 2017). Auch die vertikale Transmission von PCV2-DNA auf Föten kann durch eine Impfung des Bestandes reduziert werden (Pleguezuelos et al. 2021).

3. Porzines Teschovirus

3.1. Taxonomie

Das porzine Teschovirus (PTV) des Genus *Teschovirus* gehört zur Familie der *Picornaviridae*, Ordnung *Picornavirales* (Chiu et al. 2012). Bis 1999 wurde das Virus als porzines Enterovirus (PEV) bezeichnet, bevor es auf dem 11. Internationalen Kongress der Virologie in Sydney neu benannt wurde. Außerdem zeigte sich durch molekulare Analysen, dass sie sich deutlich von der Enterovirus-Gruppe unterscheiden (Kaku et al. 2001). Vor der Neuklassifizierung wurden PEV's in 3 Untergruppen eingeteilt: (I) PEV-Typen 1-7 und 11-13, (II) PEV-Typ 8 und (III) PEV-Typen 9 und 10. Im Jahr 1999 ergaben neuere vollständige Genomanalysen, dass sich Mitglieder der Gruppe (I) von anderen Enteroviren unterscheiden. Daher wurden sie als neue Gattung Teschovirus klassifiziert, die eine einzige Art PTV mit mehreren Serotypen enthält (Zell et al. 2001). Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es 12 verschiedene Serotypen von PTV (PTV 1-12) und 14 verschiedene Genotypen (Liang et al. 2023). Zur Charakterisierung von PTV-Genotypen wird die phylogenetische Analyse verwendet (Ma et al. 2021, Liang et al. 2023) oder cross-neutralisation Tests angewandt

(Malik et al. 2020). Diese Stämme PTV 1-12 werden alle zur Spezies Teschovirus A gezählt (Yang et al. 2020b). Der Stamm PTV-21 wurde als neuartige Spezies Teschovirus B festgelegt (Yang et al. 2018). Endgültig konnte allerdings nur das nahezu gesamte Genom eines PTV-Stranges sequenziert werden, welcher vorläufig PTV-22JiangX1 benannt wird (Yang et al. 2020a).

3.2. Morphologie

PTV ist ein kleines, unbehülltes Virus mit einzelsträngiger RNA (Malik et al. 2020) mit einer Genomgröße von etwa 7,1kb (Yang et al. 2020a) und nur einem Open Reading Frame (ORF). Dieser kodiert für das Leaderprotein und drei Polyproteine (P1, P2 und P3), von denen P1 proteolytisch in VP1, VP2, VP3 und VP4 gespalten wird. Diese vier Proteine bilden das virale Kapsid. Hauptbestandteil des Kapsids ist VP1 und das am stärksten diversifizierte virale Protein, weshalb es für phylogenetische Analysen verwendet wird (Ma et al. 2021, Liang et al. 2023). Die untranslatierte 5'-Region (UTR) enthält eine interne ribosomale Eintrittsstelle (IRES) vom Typ IV mit einer Länge von 290 nt, die bei der Translation des viralen Genoms eine Rolle spielt (Zell et al. 2001, Zell et al. 2017).

3.3. Epidemiologie

Das porcine Teschovirus ist auf der ganzen Welt nachzuweisen (Malik et al. 2020). Eine durch das Teschovirus bedingte Enzephalitis wurde bei Schweinen erstmals im Jahr 1929 in der tschechischen Gemeinde Teschen beschrieben (Trefny 1930). Die Ausprägung des klinischen Erscheinungsbildes, das mit PTV assoziiert wird, ist von der Virulenz der jeweiligen Virusstämme abhängig. Heute sind weniger virulente Stämme verbreitet welche die sogenannte Talfan-Erkrankung, eine mildere Form als die Teschen-Disease, verursachen (Sundberg 2016). Die einzig bekannten natürlichen Wirte sind Hausschweine und Wildschweine (Cano-Gomez et al. 2017), dabei stellen Saugferkel und Aufzuchtferkel die anfälligste Altersgruppe für eine Infektion dar (Malik et al. 2020). Zusammen mit anderen pathogenen Faktoren (multi infection status) haben sie Schweinebestände weltweit infiziert (endemisch/enzootisch)

(Chiu et al. 2012). Infektionen mit dem porcinen Teschovirus treten mittlerweile aber hauptsächlich asymptomatisch in Schweinebeständen auf (Cano-Gomez et al. 2017). Es sind jedoch auch Krankheitsverläufe unter Beteiligung des zentralen Nervensystems, Reproduktions- und Verdauungs-, sowie Respirationstraktes beschrieben (Knowles 2015) . In Zusammenhang mit Reproduktionsstörungen gibt es bisweilen wenig Publikationen.

3.4. Erregerübertragung

Das porcine Teschovirus wird fäkal-oral übertragen, Infektionen mit dem Virus erfolgen oral oder intranasal (Chiu et al. 2012, Chiu et al. 2014). Die Ausscheidung findet über Fäkalien und orale Sekrete statt und kann bis zu sieben Wochen dauern (Malik et al. 2020). Dass das Virus aus dem männlichen Genitaltrakt isoliert und auch durch Sperma übertragen werden kann ist schon länger bekannt (Phillips et al. 1972), außerdem zeigte eine Studie von Huang et al. (1980), dass eine direkte Inokulation des Virus in den Uterus zu einer Infektion der Föten führt, unabhängig vom serologischen Status der Sau. Des Weiteren zeigen Studien, dass sich PTV über intranasale Inokulation bis in den Uterus ausbreiten und die Embryonen und Ferkel infizieren kann (Chiu et al. 2014), allerdings nur dann, wenn die Muttersauen seronegativ waren, bei seropositiven Jungsaunen konnte dies nicht beobachtet werden und es wird vermutet, dass Antikörper das Virus neutralisieren, bevor es in den Uterus gelangt (Huang et al. 1980). Nach der fäkalen-oralen Übertragung repliziert das Virus primär in den Tonsillen und dem Darmtrakt, hauptsächlich im Dickdarm, Ileum und den regionalen Lymphknoten, mit anschließender vorübergehender Virämie (Chiu et al. 2012, Chiu et al. 2014). Das porcine Teschovirus kann sich durch nahezu alle ansteckungsgefährlichen Stoffen verbreiten und ist in der Umwelt über 5 Monate bei 15°C resistent (Horak et al. 2016). Auch in pH-Werten von 2-9 und Hitze, Fettlösemittel und verschiedenen Desinfektionsmitteln ist PTV lebensfähig (Derbyshire and Arkell 1971).

3.5. Klinisches Bild

Das bekannteste klinische Bild, welches durch das porcine Teschovirus

verursacht wird, ist die Teschovirus-Enzephalomyelitis. Benannt nach dem Ort der Erstbeschreibung, der Gemeinde Teschen, wurde diese hochgradig tödliche Form der Enzephalomyelitis als Teschen Disease bezeichnet (Trefny 1930). Bevor Paralyse und Parese auftreten, können verschiedene klinische Anzeichen wie Fieber, Anorexie, Antriebslosigkeit und Ataxie, beobachtet werden. Drei bis vier Tagen nach Auftreten der Klinik verenden die Tiere (Yamada et al. 2014). Heute sind weniger virulente Stämme verbreitet und verursachen die sogenannte Talfan-Erkrankung, eine mildere Form der Krankheit mit deutlich geringerer Sterblichkeit (Knowles 2015, Sundberg 2016). Es wird außerdem beobachtet, dass die meisten Tiere asymptomatisch infiziert sind und Virus in Faeces klinisch unauffälliger Tiere nachgewiesen werden kann (Forman et al. 1982). Bei Sauen und Jungsauen verbreiten sich virulente Stämme unter anderem über den Blutkreislauf und gelangen so in das ZNS, vermutlich gelangt so das Virus in die Plazenta von trächtigen Sauen und verursacht Reproduktionsstörung (Malik et al. 2020). So kann eine PTV-Infektion zu Unfruchtbarkeit, Embryotod, Totgeburten und Mumien führen, ohne dass andere klinische Anzeichen auftreten (Givens and Marley 2008).

3.6. Nachweis von PTV in Fällen von Reproduktionsstörungen

Bei klinischen Erscheinungen von totgeborenen oder mumifizierten Föten kann dies auf eine PTV-induzierte Fortpflanzungsstörung hindeuten. In Studien, bei denen PTV bei Reproduktionsstörungen in Geweben von Föten nachgewiesen werden konnte, wurden Gewebeproben aus Herz, Lunge, Leber und Niere untersucht (Handke et al. 2012). Zum Nachweis von PTV sind RT-PCR-Tests immer noch die beste Methode, da sie sehr spezifisch, empfindlich und schnell sind. Die „Palmquist-RT-PCR“ ermöglicht den Nachweis mit einem einzigen Primerpaar und kann PTV von porzinem Sapelovirus (PSV) differenzieren und die Multiplex-„Zell-RT-PCR“ mit drei Primerpaaren zwischen PTV, PSV und PEV (Zell et al. 2000, Palmquist et al. 2002). Eine sondenbasierte Echtzeit-RT-PCR nach Zhang weist eine hohe Empfindlichkeit und Spezifität auf und ermöglicht eine Nachweisgrenze von zehn Kopien (Zhang et al. 2013).

3.7. Prophylaxe

Zur erfolgreichen Bekämpfung von Infektionen mit PTV, die vor Allem zu Enzephalomyelitis führten, gehören Transportkontrollen, Quarantäne, Schlachtung und Ringimpfung (Knowles 2015). Während der hohen Inzidenzen von klinischen PTV-Fällen waren in Mitteleuropa abgeschwächte und inaktive Impfstoffe verfügbar. Deren Produktion wurde allerdings eingestellt (Knowles 2015). In schweren Fällen von PTV-induzierten Krankheitsbildern, wie der virulenten Form der Teschener Disease, kann eine bestandsspezifische Impfung wirtschaftlich sein, um die Krankheit zu kontrollieren und wertvolle Zuchtbestände, Sauen oder Mastschweine zu schützen (Knowles 2015).

4. SMEDI in Zusammenhang mit PCV2 und PTV

Das SMEDI-Syndrom in Zusammenhang mit dem porcinen Circovirus 2 wurde bis dato wenig erforscht. Eine Studie aus dem Jahr 2011 aus der Schweiz von Sydler et al. (2011) untersucht Totgeburten, Mumien und autolytische Ferkel aus Würfen von verschiedenen Beständen aus insgesamt vier Fällen von Reproduktionsstörungen mit jeweils mehreren dazugehörigen Betrieben. Mittels quantitativer PCR-Methode wurde die Menge an PCV2-DNA in der Gewebeflüssigkeit von homogenisiertem, unfixiertem Gewebe verschiedener Organe der Mumien aus einem Betrieb und in Gewebeschnitten von Paraffinblöcken von Föten der anderen Betriebe bestimmt. Die Ergebnisse zeigen einen Nachweis von PCV2-DNA in den Betrieben des ersten Falls und auch in den Betrieben des zweiten Falls. Die DNA positiver Proben wurden sequenziert und in beiden Fällen wurde der Genotyp PCV2b nachgewiesen. Da alle Föten mit positivem PCV2-Nachweis auch die anderen beiden Kriterien des diagnostischen Trias von Segalés erfüllten, nämlich SMEDI-Symptomatik oder vermehrt Reproduktionsstörungen in der späten Trächtigkeit und das Vorhandensein spezifischer Läsionen in den Zielgeweben betroffener Tiere (Segalés and Sibila 2022), wurde PCV2 als Ursache für die Fruchtbarkeitsstörungen diagnostiziert (Sydler et al. 2011). Im Jahr 2017 konnten Oropeza-Moe et al. (2017) in einem Fallbericht das Auftreten von PCV2-assoziierten Reproduktionsstörungen in spezifisch pathogenfreien Ferkelerzeugerbetrieben in Norwegen zeigen. Bei drei Jungsauen traten

mumifizierte Föten und totgeborene Ferkel auf und mittels real time-PCR konnte in Herzmuskelproben hohe Mengen PCV2-DNA ($>10^7$ virale genomische Kopien/500ng Gewebe) nachgewiesen werden (Oropeza-Moe et al. 2017). Eine aktuelle Studie aus dem Jahr 2023 zeigt ebenfalls Nachweise von PCV2 aus Fällen von SMEDI. Es wurden 40 SMEDI-assoziierte Würfe aus fünf Bundesländern gesammelt und mittels quantitativer PCR untersucht. Für die PCR-Untersuchung wurden Poolproben aus vier fötalen Gewebeproben (Herz, Lunge, Thymus und Milz) erstellt. In 28,5% der SMEDI-Ferkel konnte PCV2 nachgewiesen werden (Eddicks et al. 2023).

Auch Untersuchungen von Zusammenhängen von PTV und SMEDI sind selten. Nachweise einer möglichen Beteiligung liefern ältere Studien und ein neuerer Bericht aus der Schweiz. Bereits 1965 veröffentlicht Dunne eine Publikation in welcher PTV mit SMEDI-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen in Verbindung gebracht wird (Dunne et al. 1965). Im Jahr 2006 wird das porcine Teschovirus als Verursacher von Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein diskutiert (Knowles et al. 2006) und auch bei Sundberg (2016) wird das Porcine Teschovirus mit dem SMEDI-Syndrom in Verbindung gebracht.

Wie auch bei PCV2 gibt es für PTV eine Studie aus der Schweiz aus dem Jahr 2012, die das Auftreten von PTV bei Ferkeln aus SMEDI-Würfen zeigt (Handke et al. 2012). Hier wurde bei ätiologisch unklaren Fällen von Ferkeln aus Würfen mit dem typischen Bild für das SMEDI-Syndrom, mumifizierte, autolytische und lebensschwache Ferkel, stichprobenweise auf PTV getestet. Es wurden Ferkel aus SMEDI-Würfen gesammelt und ein Gewebehomogenat bestehend aus Herz, Lunge, Leber und Niere mittels PCR untersucht. Daraus wurde eine Prävalenz von 11% positiven Proben für PTV ermittelt (Handke et al. 2012).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Ethikvotum

Die Durchführung der vorliegenden Studie wurde von der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt: Aktenzeichen 382-06-12-2023.

2. Ziel dieser Arbeit

Ein Ziel dieser Arbeit war es, aufgrund sporadischer Berichte, das Vorkommen von PTV in Fällen von SMEDI zu evaluieren um einen möglichen „blinden Fleck“ bei der SMEDI Diagnostik zu beleuchten. Des Weiteren sollte die Verbreitung von den sogenannten „*major genotypes*“ von PCV2 in Fällen von SMEDI eruiert werden, um epidemiologische Daten zum aktuellen PCV2-Genotypenshift auch in Fällen von Fruchtbarkeitsstörungen zu generieren.

Folgende Arbeitshypothesen sollten überprüft werden:

1. Da das porcine Teschovirus als weit in der Hausschweinepopulation verbreitet und laut einzelner Literaturnachweise mit SMEDI assoziiert gilt, wird erwartet, dass PTV in den Fällen von SMEDI nachgewiesen werden kann.
2. Es wird erwartet, dass PCV2d als der, in der Hausschweine Population dominierende Genotyp, auch in SMEDI-Fällen häufiger nachzuweisen ist, als die anderen als „*major genotypes*“ bezeichneten Genotypen PCV2a und PCV2b.

3. Durchführung der Untersuchung

Für die Durchführung der vorliegenden Studie wurden teils Föten aus zu diagnostischen Zwecken eingesandten SMEDI-assoziierten Würfen aus dem Jahr 2023 als auch Proben aus einer bereits bestehenden SMEDI-Datenbank eingeschlossen.

Bei den neu dazugekommenen Wurfen handelt es sich um insgesamt 13 Würfe aus 9 Betrieben mit 111 Föten. Diese wurden im Zeitraum von

April 2023 bis Oktober 2023 an die Klinik für Schweine zur diagnostischen Aufarbeitung eingesendet, untersucht und ausgewertet. Die Verteilung der untersuchten Föten, Würfe und Bestände auf verschiedene Bundesländer sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Anzahl (n) eingesandter Föten, Würfe und Bestände pro Bundesland (2021 – 2023).

<i>Bundesland</i>	<i>Föten (n)</i>	<i>Würfe (n)</i>	<i>Bestände (n)</i>	<i>Anteil Bestände</i>
<i>Bayern</i>	170	19	9	33,3%
<i>Niedersachsen</i>	193	20	9	33,3%
<i>NRW</i>	53	6	4	14,8%
<i>Thüringen</i>	3	1	1	3,7%
<i>Baden-Württemberg</i>	30	4	1	3,7%
<i>Sachsen-Anhalt</i>	13	1	1	3,7%
<i>Mecklenburg-Vorpommern</i>	4	1	1	3,7%
<i>Schleswig-Holstein</i>	3	1	1	3,7%
<i>Gesamt</i>	469	53	27	100%

Die Betriebsleiter*innen oder bestandsbetreuenden Tierärzt*innen wurden gebeten, zusammen mit dem diagnostischen Material, einen Fragebogen über epidemiologische Kennzahlen sowie das Bestandsmanagement auszufüllen. Das Ausfüllen des Fragebogens war freiwillig. Die Einsendung des Untersuchungsmaterials erfolgte anonymisiert über die bestandsbetreuenden Tierarztpraxen. Die gewonnenen Daten wurden in anonymisierter Form zur Auswertung in Excel gespeichert.

Anhand des Fragebogens konnten mehrere Parameter erfasst werden. Für die spätere Auswertung der molekularbiologischen Ergebnisse wurden die Parameter Bestandsgröße, Impfschema und die Parität der Muttersauen der Föten in verschiedene Kategorien eingeteilt. Die

Bestände wurden nach Größe in drei Gruppen eingeteilt: ≤ 300 Sauen, 300-900 Sauen oder >900 Sauen. Das Impfreime der Bestände wurde unterteilt in „Jungsauen Impfung“, „Jungsauen und Altsauen Impfung“, „Altsauenimpfung“ und „keine Impfung“. Außerdem wurde die jeweilige Parität der Muttersauen erfasst und somit in Gruppen von Parität 1-9 eingeteilt. Der Fragebogen ist in Anhang 1 beigefügt.

Probenverarbeitung und Auswahl der Föten für die weiterführenden Untersuchungen:

Für die Studie wurden ausschließlich Würfe ausgewählt, deren Erscheinungsbild mit dem typischen SMEDI-Syndrom übereinstimmt. Es wurden nur vollständige Würfe in die Untersuchung eingeschlossen, die, bis auf die lebenden Ferkel, alle mumifizierten und totgeborenen Tiere enthielten. Die Würfe wurden entweder gefroren und per Express an die Klinik für Schweine der LMU versandt oder persönlich abgeholt. Bis die Föten im Institut für Tierpathologie der LMU München untersucht werden konnten, wurden sie in der Klinik für Schweine der LMU bei -20°C tiefgekühlt gelagert.

3.1. Makroskopische Untersuchung der Föten

Alle eingesandten Föten wurden im Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München zuerst aufgetaut. Im Anschluss wurde von jedem Tier das Gewicht mittels Neigungswaage (Bizerba ASE C109, August Sauter KG, Ebingen/Württ.) und die Scheitel-Steiß-Länge ermittelt. Daraufhin wurden die Tiere der Größe nach aufsteigend angeordnet und aufsteigend nummeriert und fotodokumentiert. Jedes Tier wurde mit einer individuellen Nummer gekennzeichnet, welche sich aus der Bestandsnummer (erste Nummer), der Wurfnummer innerhalb des Bestandes (zweite Nummer) und der individuellen Nummer innerhalb des Wurfes (dritte Nummer; von der Scheitel-Steiß-Länge abhängig) ergab. Mittels Scheitel-Steiß-Länge konnte anschließend das geschätzte Alter der Föten ermittelt werden. Hierfür wurde basierend auf den von Evans and Sack (1973) publizierten Daten mittels SPSS eine Regressionsgleichung aufgestellt, um eine lückenlose Altersabschätzung zu ermöglichen.

$$\text{Alter in Tagen} = 0,27 * \text{SSL in mm} + 25$$



Abbildung 4: Fotodokumentation der SMEDI-Würfe; Bild: Klinik für Schweine, LMU München. Beschriftung von oben nach unten: Nummer Bestand.Wurf.Ferkelnummer, Gewicht (g), Größe (cm)

Die Föten wurden anhand ihres phänotypischen Aussehens in drei verschiedene Kategorien eingeteilt: „totgeboren autolytisch, totgeboren frisch und mumifiziert“. Die untenstehende Abbildung 5 zeigt die verschiedenen phänotypischen Kategorien.



Mumifizierter Fötus

**Autolytischer
totgeborener Fötus**

**Frisch
totgeborener Fötus**

Abbildung 5: Kategorisierung der verschiedenen Phänotypen

Bei allen „frisch totgeborenen“ und „autolytisch totgeborenen“ Föten wurde eine Lungenschwimmprobe durchgeführt. Dadurch sollte überprüft werden, ob die Föten zweifelsfrei totgeboren wurden, oder postpartum gestorben sind. Dafür wurde nach Eröffnung des Brustkorbes ein Stück Lunge entnommen und in ein Behältnis mit Wasser gelegt.

Schwimmt das Stück Lunge an der Wasseroberfläche, so wurde die Lunge postnatal belüftet und der Fötus wurde nachträglich als „lebensschwach geboren“ kategorisiert.

Beprobungskonzept

Aus dem Gesamtpool von SMEDI-assoziierten Föten wurden nicht alle in die vorliegende Studie eingeschossen. Die Anzahl der zu untersuchenden Föten pro Wurf wurde basierend auf Althouse et al. (2019) mit vier definiert. Damit sollte es möglich sein mit einem Konfidenzintervall von 90-95% mindestens einen positiven Fötus zu diagnostizieren, wenn 50% der Föten aus einem Wurf mit 12 Föten für ein entsprechendes Pathogen positiv wären. Die konkrete Auswahl pro Wurf erfolgte mittels systemic random sampling. Die Reihenfolge der zu beprobenden Föten ergab sich aus dem Quotienten von der Anzahl eingesandter Föten pro Wurf und der Anzahl der zu beprobenden Föten ($n = 4$). Um die Gesamtheit der eingesendeten Föten möglichst optimal zu repräsentieren wurde der Startpunkt der Fötenauswahl beginnend vom kleinsten Fötus, um jeweils einen Punkt nach vorne verschoben, bis zum Startpunkt 4. Anschließend wurde wieder beim kleinsten Fötus begonnen.

Tabelle 3: Konzept zur Auswahl des Fötus – Angabe des ersten eingeschlossenen Fötus.

Wurfnummer fortlaufend (1-53)	Erster eingeschlossener Fötus
1	Nr. 1
2	Nr. 2
3	Nr. 3
4	Nr. 4
5	Nr. 1
...	...

Waren in einem Wurf nur drei oder vier Föten, welche aber aufgrund typischer SMEDI-Merkmale ebenfalls untersucht werden sollte, wurden von allen Tieren des Wurfs Proben genommen.

Zum besseren Verständnis wird im Weiteren ein Beispiel gezeigt: In Abbildung 6 stellen die blauen Kreise Föten aus SMEDI-assoziierten Würfen dar, welche nach Scheitel-Steiß-Länge fortlaufend nummeriert sind. Die Pfeile zeigen die Auswahl der Föten und die roten Zahlen stellen von eins bis vier die Reihenfolge der Auswahl dar. Da es sich im Beispiel um SMEDI-Wurf Nummer zwei handelt ist der erste eingeschlossene Fötus nach Tabelle 3 Fötus Nummer 2. Da es sich um sechs Föten handelt muss jeder zweite Fötus beprobt werden. Da Fötus Nummer zwei nach dem Beprobungskonzept doppelt ausgewählt würde, wird das nächstgrößere Tier beprobt, also Fötus Nummer drei.

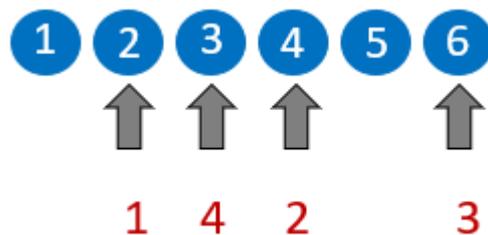


Abbildung 6: Beispiel – Auswahl der Föten für die molekularebiologische Untersuchung. Bild: (Gründl 2023)

3.2. Probengewinnung für die molekularebiologischen Untersuchungen

Die Gewinnung der fötalen Gewebeproben erfolgte in den Räumlichkeiten des Instituts für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München. Von den 53 ausgewählten Ferkeln SMEDI-assoziiierter Würfe wurden jeweils fünf verschiedene fötale Organgewebeproben (Thymus, Herz, Lunge, Leber und Darm) gewonnen. Eine genaue Zuteilung der Ferkel pro Wurf und Bestand mit entsprechender Probennummer befindet sich in Tabelle 39 in Anhang 3 der Anlage. Zwischen der Entnahme der einzelnen Gewebeproben wurde das Sektionsbesteck zur Beseitigung anhaftender Nukleinsäure der Pathogene zuerst in 95%-igen Alkohol getaucht und anschließend abgeflammt.

Die Proben wurden in Reaktionsgefäßen mit Fassungsvermögen von 2ml (Spicker Safe-Lock Tubes, Spicker GmbH, Waldmünchen, Deutschland) bei -20°C tiefgekühlt.

4. Labordiagnostische Untersuchungen

Zuerst wurde pro Einzeltier eine Poolprobe aus oben genannten fünf fötalen Gewebeproben (Thymus, Herz, Lunge, Leber und Darm) vorbereitet. Da auch bereits gesammelte fötale Organgewebeproben aus einer vorangegangenen Studie in die Untersuchung miteingeschlossen werden sollten, wurden aus tiefgefroren aufbewahrten Einzelorganproben der SMEDI-Datenbank Pools aus den fünf fötalen Gewebeproben erstellt. Alle Gewebepoolproben wurden molekularbiologisch auf Genomfragmente von PCV2 und PTV untersucht. PCV2-positive Pools wurden mittels einer Genotypen-differenzierenden PCR auf die *major* Genotypen PCV2a, PCV2b und PCV2d untersucht.

PCV2

Extraktion viraler DNA aus fötalen Gewebeproben

Die DNA-Extraktion wurde mittels kommerziell erhältlichem QIAamp® DNA Mini Kits (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben durchgeführt. Die Isolierung viraler DNA aller Proben erfolgte manuell aus 200 µl lysiertem Organpool.

PCR (real time PCR)

Für den Nachweis von PCV2 wurde eine von Zhao et al. (2010) beschriebene, nach Eddicks et al. modifizierte, qPCR genutzt (Eddicks et al. 2016).

Für die Genotypisierung von PCV2-positiven Proben wurde das qPCR-System nach Link et al. (2021) genutzt.

Für die Amplifikation der extrahierten DNA wurde der Luna Universal Mastermix (New England Biolabs) verwendet. Das Gesamtvolumen jeder PCR-Reaktion betrug 20µl (16µl Mastermix inklusive Primer und Sonde, 4µl DNA-Template). Als Cut-off-Wert für positive Proben wurde ein Ct-Wert bis 35 festgelegt. Die Durchführung erfolgte mittels AriaMx Real-

Time-PCR-System (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) und wurde nach folgendem Temperaturprotokoll durchgeführt:

Tabelle 4: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PCV2.

	Aktivität	Zeit	Temperatur
1x	Polymeraseaktivierung	1 min	95°C
42x	a) Denaturierung	15 sec	94°C
	b) Annealing/Extension	60 sec	60°C

Für die Genotypisierungs-PCR wurden anschließend alle Proben mit einem Ct-Wert von ≤ 35 ausgewählt und mittels einem von Link/Fux (2019) beschriebenen Protokoll durchgeführt. Von zwei Proben stand nicht ausreichend Material zur Verfügung, weswegen nur 42 der 44 PCV2 positiven Proben genotypisiert werden konnten. Das Gesamtvolumen jeder PCR-Reaktion betrug 20 μ l (16 μ l Mastermix inklusive Primer und Sonde, 4 μ l DNA-Template). Die Durchführung erfolgte mittels AriaMx Real-Time-PCR-System (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) und wurde nach folgendem Temperaturprotokoll durchgeführt.

Tabelle 5: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis PCV2-spezifischer Genomfragmente.

	Aktivität	Zeit	Temperatur
1x	Polymeraseaktivierung	1 min	95°C
42x	a) Denaturierung	15 sec	95°C
	b) Annealing (Messung)	20 sec	59°C
	c) Extension	20 sec	68°C

PTV*Extraktion viraler RNA aus fötalen Gewebeproben*

Die RNA-Extraktion wurde mittels kommerziell erhältlichem QIAamp® RNeasy Mini Kits (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben durchgeführt. Die Isolierung viraler RNA aller Proben erfolgte manuell aus 200 µl lysiertem Organpool.

PCR (real time RT-PCR)

Für den Nachweis von PTV wurde eine von Zhang et al. (2013) publizierte RT-qPCR angewandt.

Für die Amplifikation der extrahierten RNA wurde der RT-PCR Luna Mastermix verwendet. Das Gesamtvolumen jeder RT-PCR Reaktion betrug 25µl (20µl Mastermix inklusive Primer, Sonde und RT-Mix; 5µl RNA-Template). Die Durchführung erfolgte mittels AriaMx Real-Time-PCR-System (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) und wurde nach folgendem Temperaturprotokoll durchgeführt:

Tabelle 6: Temperaturprotokoll der RT - qPCR zum Nachweis von PTV.

	Aktivität	Zeit	Temperatur
1x	a) Reverse Traskription	30 min	50°C
	b) Polymeraseaktivierung	15 min	95°C
42x	a) Denaturierung	15 sec	95°C
	b) Annealing (Messung!)	20 sec	58°C
	c) Extension	20 sec	68°C

Sequenzierung

Von den 42 Proben, die mittels Genotyp-spezifischer PCRs untersucht wurden, konnten vier Proben keinem eindeutigen Genotyp zugeordnet werden. Für diese vier Proben wurde am Lehrstuhl für Virologie,

Veterinärwissenschaftliches Department, LMU München eine Vollhängensequenzierung des PCV2-Genoms durchgeführt und damit der Genotyp festgestellt.

5. Statistik

Die statistische Verarbeitung und Auswertung der Daten erfolgte mit IBM SPSS® Statistics 26 und Microsoft Excel 2016. Das Signifikanzniveau lag bei 5% ($p=0,05$) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

Die gewonnenen Daten wurden zuerst deskriptiv dargestellt. Anschließend erfolgte eine statistische Auswertung der Daten. Dichotome Variablen wurden mittels Chi²-Test auf mögliche Zusammenhänge getestet. Dabei dienten die Ergebnisse der quantitativen PCR-Ergebnisse (positiv/negativ) als abhängige Variable. Falls mehrere unabhängige Variablen (siehe Tabelle Anhang 2) mit einer abhängigen Variable assoziiert waren, wurde eine binärlogistische Regressionsberechnung mit den signifikant assoziierten Variablen durchgeführt.

Für den Vergleich von quantitativen Daten wurde je nach Normalverteilung Mittelwerte (Mw) bzw. Median (Md) gebildet, sowie jeweils die Minimalwerte (Min), Maximalwerte (Max) und die Standardabweichung (StabW) berechnet. Metrische Daten wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet. Als abhängige metrische Variable wurden einerseits die Ct-Werte der PCR-Ergebnisse in Abhängigkeit von den unabhängigen Parametern Impfregime, Jungsaunen-Quarantäne und Parität der Muttersauen evaluiert und andererseits die abhängigen Variablen (siehe Tabelle Anhang 2) in Abhängigkeit von PCV2 pos./neg. evaluiert. Da sich die überwiegende Anzahl der metrischen Daten als nicht normalverteilt darstellten (außer SSL und Gewicht) wurden Assoziationen mit metrischen Daten mit nicht parametrischen Tests (Kruskal-Wallis Mehrfachvergleich mit Signifikanzkorrektur nach Bonferroni / Mann Whitney U, Paarvergleich) und mittels möglicher Korrelationen zwischen den metrischen Variablen CT-Wert Fötus und SSL sowie Gewicht mittels bivariater Korrelation nach Spearman evaluiert.

IV. ERGEBNISSE

1. Deskriptive Auswertung der Untersuchungsergebnisse

Insgesamt wurden 209 Föten aus 53 SMEDI-assoziierten Würfen in die Untersuchung miteingeschlossen. Die Würfe stammten aus 27 verschiedenen Beständen aus ganz Deutschland. Eine genaue Zuteilung der Föten pro Wurf und Bestand befindet sich in Tabelle 39 in Anhang 3 der Anlage.

Einen Überblick über die Phänotypen und das geschätzte Alter der Föten aus der Studienpopulation zeigt nachfolgende Tabelle 7. Um die Repräsentativität der Gesamtpopulation innerhalb der Proben zu zeigen, wurden neben den Daten der Studienpopulation zusätzlich die Häufigkeiten der phänotypischen Erscheinungen und der Altersgruppen aus der Gesamtpopulation dargestellt. Eine genauere Erläuterung über die Einteilung der Phänotypen und die Altersschätzung folgt in Abschnitt 1.3.

Tabelle 7: Einteilung der untersuchten Föten (n = 209) in Relation zu Föten gesamt (n = 476) nach Phänotyp und geschätztem Alter in absolute und relative Häufigkeiten.

		Studieneinschluss (n = 209)	Gesamtpopulation (n = 469)
Phänotyp der Föten	Mumifiziert	37,8% (79)	37,1% (174)
	Autolytisch	20,1% (42)	23,0% (108)
	Totgeboren	36,4% (76)	37,1% (174)
	Lebensschwach	5,7% (12)	2,8% (13)
	Embryonalphase ¹	0% (0)	0% (0)
Geschätztes Alter	Fötale Phase I ²	18,7% (39)	17,9% (84)
	Fötale Phase II der Immunkompetenz ³	81,3% (170)	82,1% (385)

¹0-35 Tage; ²36-69 Tage; ³70-115 Tage

1.1. Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Bestandsebene

Die Daten für die deskriptive Auswertung der Studienpopulation beruhen auf den Produktionsparametern, welche aus dem Fragebogen (siehe Anhang) entnommenen wurden.

35,9% (75) der 209 SMEDI-assoziierten Föten stammten aus Bayern. Auf Bestandsebene befanden sich mit jeweils 33,3% (9) der 27 Bestände diese gleichermaßen am häufigsten in Bayern und Niedersachsen. Eine Übersicht über die Verteilung der Föten und Bestände auf die verschiedenen Bundesländer zeigt untenstehende Tabelle 8.

Tabelle 8: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Bestände und Föten nach Bundesland.

<i>Bundesland</i>	<i>Anzahl Bestände (n = 27)</i>	<i>Anzahl Föten (n = 209)</i>
<i>Bayern</i>	33,3% (9)	35,9% (75)
<i>Baden-Württemberg</i>	3,7% (1)	7,7% (16)
<i>Mecklenburg- Vorpommern</i>	3,7% (1)	1,9% (4)
<i>Niedersachsen</i>	33,3% (9)	38,3% (80)
<i>Nordrhein-Westfalen</i>	14,8% (4)	11,5% (24)
<i>Sachsen-Anhalt</i>	3,7% (1)	1,9% (4)
<i>Schleswig-Holstein</i>	3,7% (1)	1,4% (3)
<i>Thüringen</i>	3,7% (1)	1,4% (3)

Die Bestandsgröße wurde im Fragebogen mit ≤ 300 , 300-900 oder >900 Sauen aufgeteilt. Die Anzahl der produzierenden Sauen lag im Mittel bei 793 pro Bestand (min: 83, max: 2800, StabW: 765). 37% (10/27) der

Bestände hatten weniger als 300 Sauen, 29,6% (8/27) hatten eine Betriebsgröße von 300-900 Sauen und 33,3% (9/27) der Bestände waren 900 Sauen oder größer.

Die Impfung gegen PTV wurde aufgrund der unüblichen Verwendung nicht erfragt, weshalb sich nachfolgende Auswertungen in Bezug auf die Impfstrategie der Bestände rein auf die Impfung gegen PCV2 bezieht. Bei insgesamt 18 der 27 Bestände (66,7%) wurden die Jungsauen gegen PCV2 geimpft, davon wurden bei 5 Beständen (18,5%) zusätzlich die Altsauen gegen PCV2 geimpft. Ein Bestand impfte nur die Altsauen (3,7%) und 8 Bestände (29,6%) führten keine Impfung gegen PCV2 durch. Tabelle 9 zeigt eine Übersicht über die Bestände, eingeteilt nach PCV2-Impfschema und Bestandsgröße.

Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeiten der Bestände (n = 27) unterteilt in die Bestandsgröße und Durchführung von PCV2 - Impfung bei Jung- und Altsauen.

<i>Bestandsgröße</i>	<i>Impfung PCV2*</i>	<i>(n) Bestände</i>	<i>(%) Bestände</i>
<i>≤300 (n = 10)</i>	Jungsauen	2	20%
	Altsauen	0	0%
	Jungsauen & Altsauen	2	20%
<i>300-900 (n=8)</i>	Jungauen	5	62,5%
	Altsauen	0	0%
	Jungsauen & Altsauen	2	25%
<i>>900 (n=9)</i>	Jungsauen	6	66,7%
	Altsauen	1	11,1%
	Jungsauen & Altsauen	1	11,1%

*Bestände, die keine Impfung durchführen, werden in der Tabelle nicht aufgezählt

Des Weiteren wurden die Reproduktionsschemata der Bestände mit verschiedenen Parametern untersucht. Zum einen die Remontierungsrate/Jahr mit $\leq 40\%$ und $> 40\%$, die Abferkelung/Sau/Jahr mit $< 2,3$ und $\geq 2,3$, außerdem die Abortrate mit 0-1,4%; 1,5-2%; 2,1-4% und 4,1-7% und die Umrauschquote mit 0-17%, 18-39% und 40-60%. Tabelle 10 gibt einen Überblick.

Tabelle 10: Einteilung der Bestände (n = 27) und Sauen (n = 53) nach den verschiedenen Reproduktionsparametern der Betriebe und der Bestandsgrößen in absolute und relative Häufigkeiten.

<i>Parameter</i>	<i>Kategorie</i>	<i>Bestände (n)</i>	<i>Sauen (n)</i>	<i>Sauen (%)</i>
<i>Remontierungsrate/Jahr*</i>	$\leq 40\%$	61,5% (16)	16	61,5
	$> 40\%$	38,5% (10)	10	38,5
<i>Abferkelung/Sau/Jahr*</i>	$< 2,3$	38,5% (10)	20	40%
	$\geq 2,3$	61,5% (16)	30	60%
<i>Abortrate**</i>	0-1,4%	52,4% (11)	20	45,5%
	1,5-2%	28,6% (6)	12	27,3%
	2,1-4%	0% (0)	0	0%
	4,1-7%	19% (4)	12	27,3%
<i>Umrauscherquote*</i>	0-17%	84,6% (22)	45	90%
	18-39%	11,5% (3)	4	8%
	40-60%	3,8% (1)	1	2%
<i>Bestandsgröße</i>	≤ 300 Sauen	37% (10)	19	35,8%
	300 – 900 Sauen	29,6% (8)	19	35,8%

>900 Sauen	33,3% (9)	15	28,3%
------------	-----------	----	-------

*fehlende Daten bei einem Betrieb; ** fehlende Daten bei 6 Betrieben

1.2. Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Wurf- und Sauenebene

Werden die Impfungen auf Wurfebene betrachtet, so stammen 49% (26/53) der Sauen aus Betrieben, die nur Jungsauen gegen PCV2 impfen, 18,9% (10/53) der Sauen stammen aus Betrieben, welche Jungsauen und Altsauen impfen, 30,2% (16/53) der Muttertiere kamen aus Betrieben, die keine Impfung durchführen und eine Sau (1,9%) stammt von einem Betrieb, der nur die Altsauen impft.

Des Weiteren wurden mittels Fragebogen die Paritäten der Sauen ermittelt. Von 94,3% (50/53) der Sauen konnte die Parität erfasst werden. Diese lag im Mittel bei 3,8 Würfen (min:1; max:9; StabW: 2,2).

Die Sauen wurden anhand der Parität in Jungsauen und junge bzw. alte Altsauen (multipare) unterteilt. Als junge Altsauen galten Muttertiere mit zwei bis einschließlich vier Würfen, als alte Altsauen Tiere mit fünf oder mehr Würfen. Untenstehende Tabelle 11 zeigt die Aufteilung der Sauen nach Parität.

Tabelle 11: Einteilung der Sauen nach Parität in absolute und relative Häufigkeiten.

<i>Paritätsgruppe</i>	<i>Parität*</i>	<i>Anzahl Sauen</i>	<i>Anteil Sauen</i>
		(n)	(%)
<i>Jungsauen</i>	1. Wurf	9	18%
<i>Junge Altsauen</i>	2. - 4. Wurf	25	50%
<i>Alte Altsauen</i>	≥ 5. Wurf	16	32%
	gesamt	50	100%

*Daten zur Parität fehlen von 3 Sauen

Mittels Fragebogen wurde außerdem das Besamungs- und Abferkeldatum erfasst. Von 88,68% (47/53) der Sauen konnten Daten erfasst und die Trächtigkeitsdauer errechnet werden, welche im Mittel bei 113,4 Tagen lag (min: 81; max: 119; StabW: 7,37). Nachfolgend wird die Trächtigkeitsdauer (d) der einzelnen Würfe in einem Balkendiagramm dargestellt (Abbildung 7).

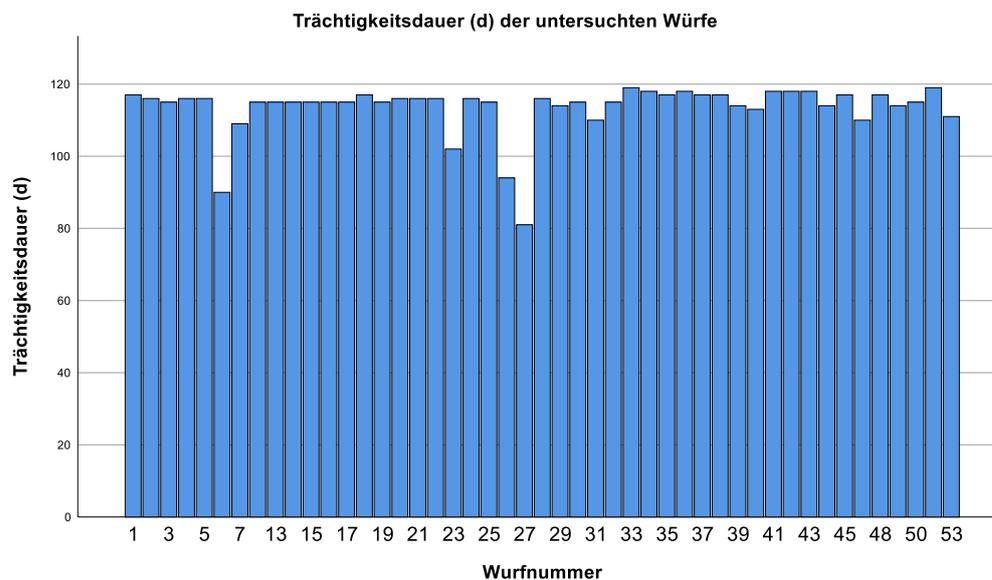


Abbildung 7: Anzahl der Würfe (n = 53) und die jeweilige Trächtigkeitsdauer (d).

Die Anzahl der Föten pro Wurf lag im Mittel bei 16,5 Ferkeln (min: 3; max: 27; StabW: 5,24). Hier wurden in der Berechnung alle Föten der Würfe miteinbezogen, neben den phänotypisch unterschiedlichen Totgeborenen auch die Lebendgeborenen. Die untenstehende Abbildung 8 zeigt die untersuchten Würfe (n = 53) und die Anzahl der jeweiligen Föten.

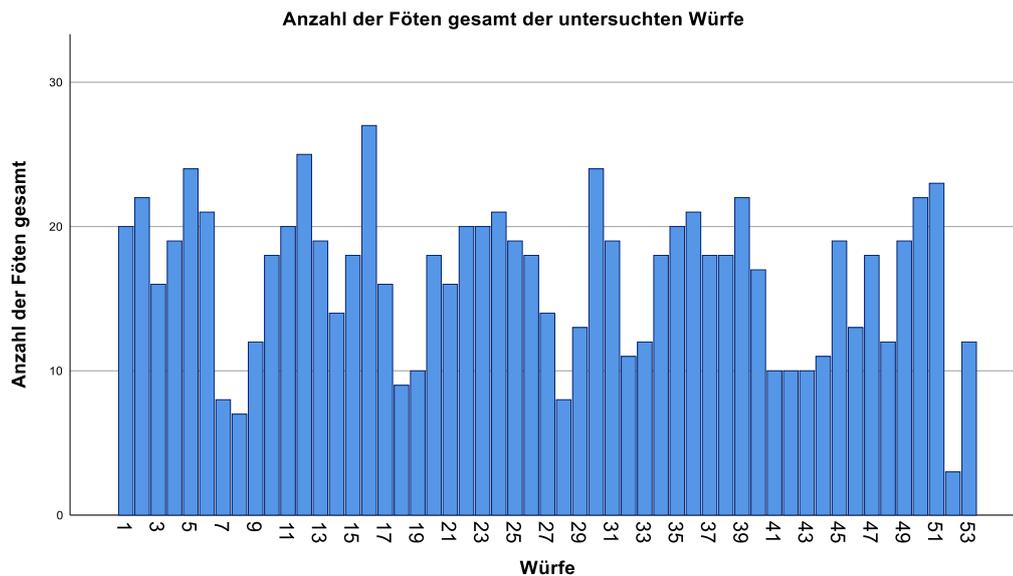


Abbildung 8: Darstellung der Wurfgröße mit Anzahl der Föten.

1.3. Auswertung der Untersuchungsergebnisse auf Fötenebene

Die Föten wurden, wie in Abschnitt 1.3. Literaturteil bereits beschrieben, je nach Phänotyp und Ergebnis der Lungenschwimmprobe in mumifizierte, autolytische, totgeborene oder lebensschwach geborene Tiere eingeteilt. Einen Überblick über die Verteilung der Phänotypen und der Altersgruppen zeigt Tabelle 7 in Abschnitt 1. Die Ermittlung des Alters erfolgte mit Hilfe der Scheitel-Steiß-Länge nach Evans and Sack (1973) modifiziert und wird in drei unterschiedliche Phasen aufgeteilt: Embryonalphase von Tag 0-35, Fötale Phase I von Tag 36-69 und die Fötale Phase (II) der Immunkompetenz von Tag 70-115. Von den 209 beprobten Föten waren 37,8% mumifiziert, 19,6% autolytisch, 36,8% der Föten waren totgeboren und 5,7% lebensschwach geboren. Laut Altersschätzung gab es keinen Fötus, der sich zum Zeitpunkt des Absterbens in der Embryonalphase befand, 18,7% starben in der Fötalen Phase I und 81,3% in der Fötalen Phase (II) der Immunkompetenz. Nachfolgende Abbildung 9 zeigt die Verteilung der vier Phänotypen der Föten der Studienpopulation und anteilig die Verteilung der Phänotypen auf die Gesamtzahl der Föten.

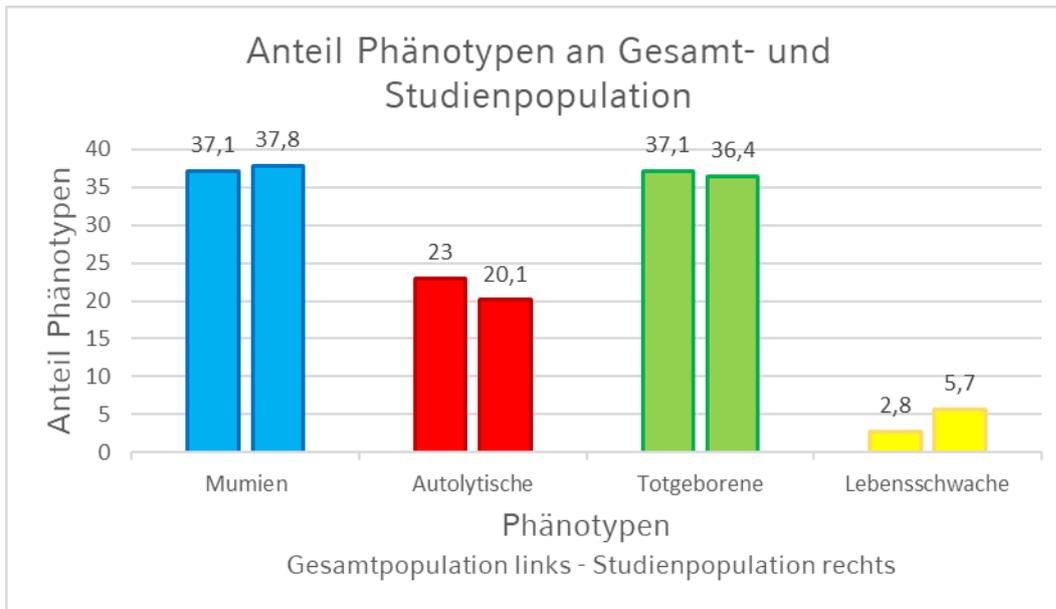


Abbildung 9: Anteil der vier Phänotypen an der Gesamtpopulation sowie an der Studienpopulation.

Des Weiteren wurde, sofern möglich, das Geschlecht der Föten ermittelt. 49,8% (104/209) der Föten waren weiblich, 44% (92/209) männlich und 0,5% (1/209) der Föten wurden als Freemartin festgelegt. 5,7% (12/209) der Tiere konnten keinem Geschlecht zugeordnet werden.

Die Lungenschwimmprobe war bei 94,3% (197/209) der Föten negativ und bei 5,7% (12/209) positiv. Diese 12 Tiere wurden nachträglich als lebensschwach geboren kategorisiert.

Um einen Zusammenhang von Körpergewicht und Größe mit dem geschätzten Alter der Föten zu erhalten wurde von den 209 eingeschlossenen Föten die Scheitel-Steiß-Länge gemessen, welche im Mittel bei 222,34mm lag (min: 63; max: 390; StabW: 62,27). Außerdem wurden die Tiere gewogen. Das mittlere Gewicht lag bei 536,9g (min: 10; max: 1940; StabW: 435,17). Mit dem Parameter Scheitel-Steiß-Länge (mm), kann das Alter der Tiere mittels Formel berechnet werden. Untenstehende Abbildung 10 zeigt eine Gesamtübersicht über die Verteilung des Körpergewichts (g) in Abhängigkeit des geschätzten Alters, zusätzlich unterteilt in die vier Phänotypen.

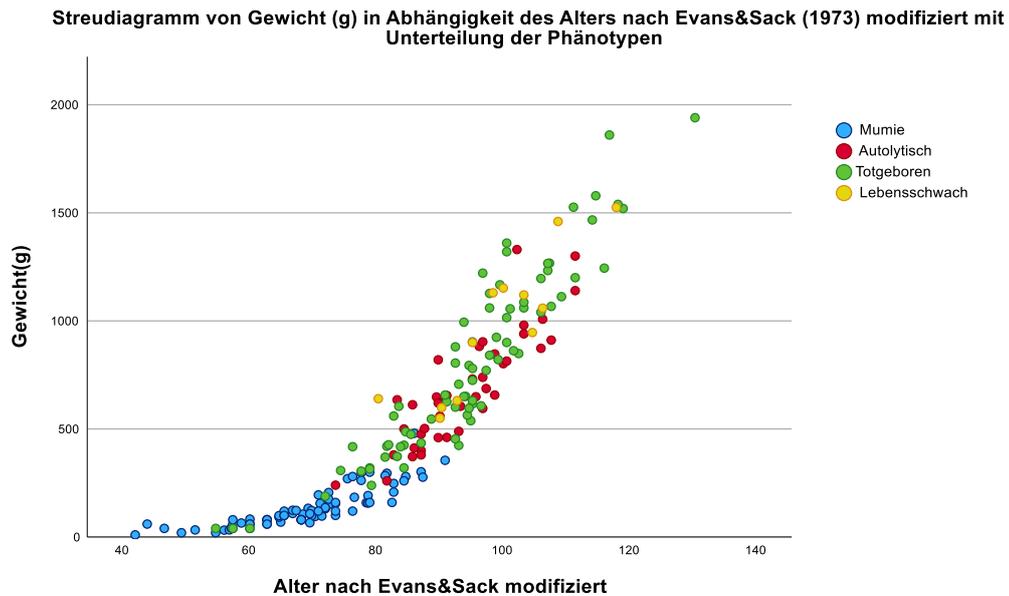
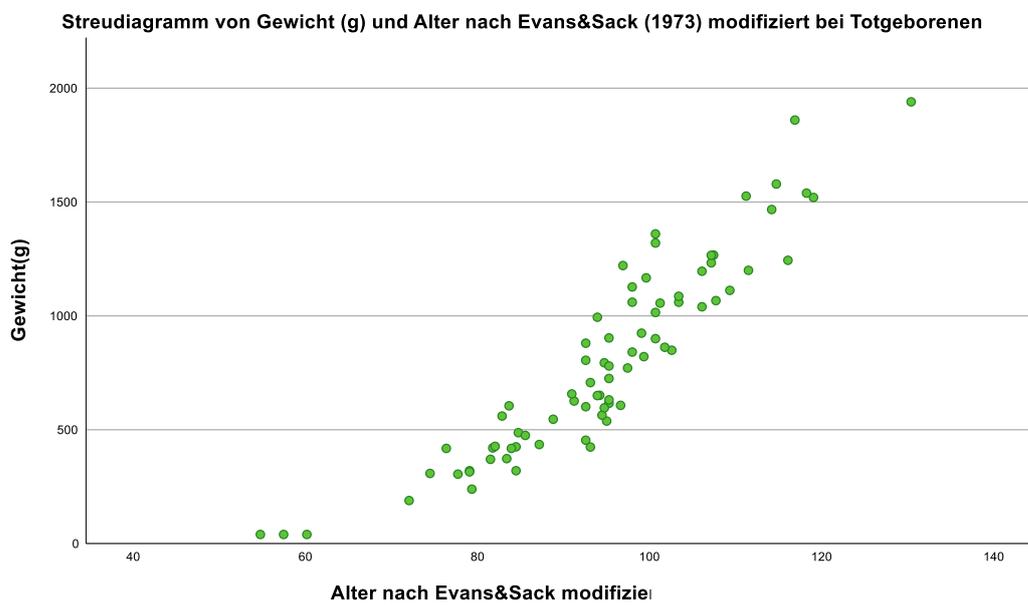
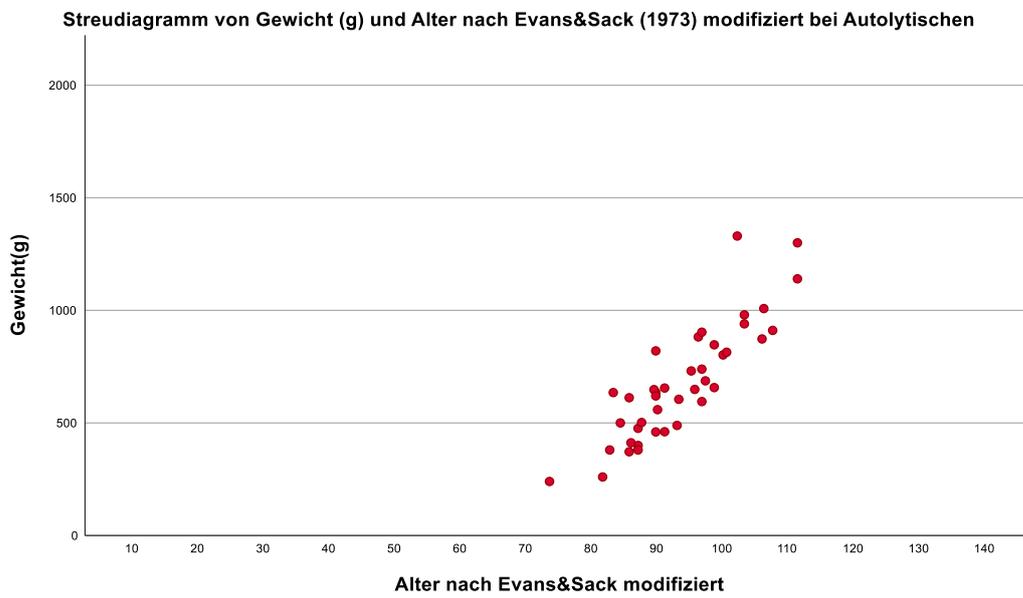
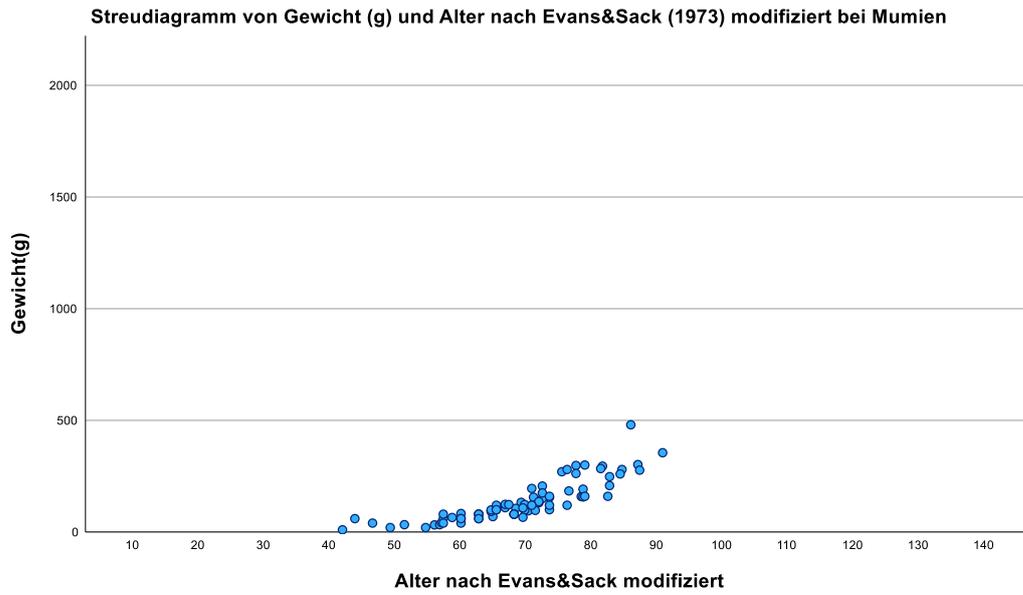


Abbildung 10: Darstellung des Gewichts (g) und des geschätzten Alters der untersuchten Föten (n = 209) nach Evans&Sack (1973) modifiziert, unterteilt in die vier Phänotypen.

Bei mumifizierten Föten lag die SSL im Mittel bei 165,8mm (min: 63; max: 257; StabW: 37,08), bei autolytischen Föten bei 252,4 mm (min: 180; max: 321; StabW: 32,8), bei Totgeborenen bei 257,7 mm (min: 110; max: 390; StabW: 49,91) und bei lebensschwach geborenen Föten bei 272,85 mm (min: 205; max: 344; StabW: 35,92).

Das Gewicht lag bei mumifizierten Föten im Mittel bei 142,65g (min: 10; max: 497; StabW: 96,04), bei autolytischen bei 698,63g (min: 240; max: 1440; StabW: 276,76), bei Totgeborenen lag das Gewicht im Mittel bei 813,6g (min: 40; max: 1940; StabW: 426,87) und bei lebensschwach geborenen Föten bei 956,9g (min: 550; max: 1525; StabW: 321,06).

In den folgenden vier Abbildungen wird die Größe (g) der Föten abhängig vom geschätzten Alter einzeln in die vier verschiedenen Phänotypen unterteilt dargestellt.



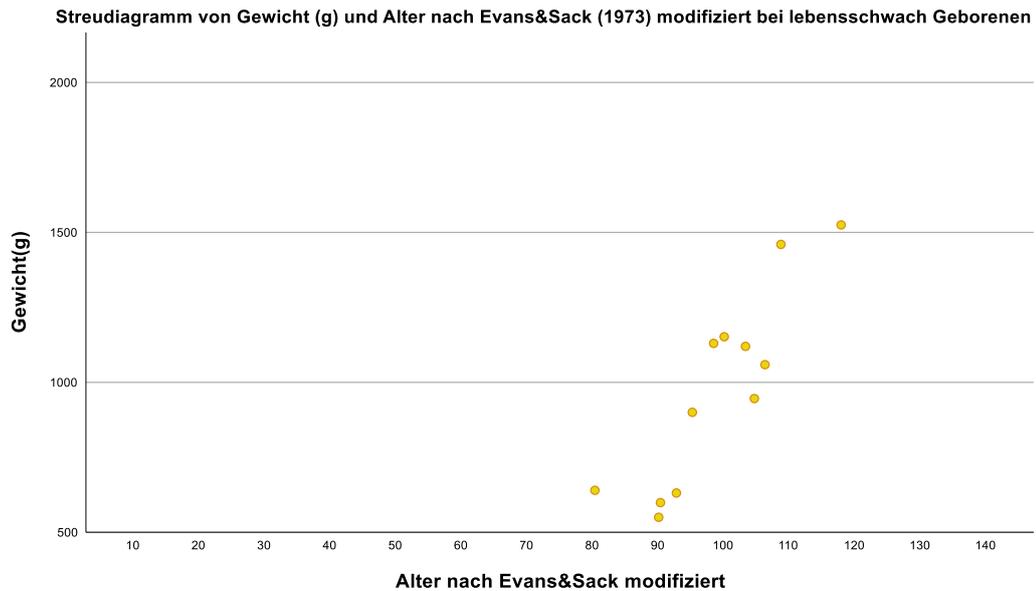


Abbildung 11: Darstellungen des Gewichts (g) und des geschätzten Alters der untersuchten Föten (n = 209) nach Evans&Sack (1973) modifiziert, abhängig vom phänotypischen Erscheinungsbild.

Weiterführend wurde die Anzahl der Föten abhängig von der Parität der Muttersau betrachtet. Um zu verdeutlichen, dass auch die Verteilung der Paritäten in der Gesamtpopulation repräsentativ in die Studienpopulation übernommen werden konnte, folgt in untenstehender Tabelle 12 die Betrachtung von Föten der Studienpopulation sowie von Föten der Gesamtpopulation.

Tabelle 12: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Föten (n = 209) und der gesamten Föten (n = 476) aufgeteilt auf die jeweilige Parität der Muttersau.

	<i>Studieneinschluss*</i> (n = 209)	<i>Föten gesamt**</i> (n = 476)
1. Parität	36 (18,3%)	88 (20,2%)
2. Parität	24 (12,2%)	60 (13,8%)
3. Parität	31 (15,7%)	66 (15,2%)
4. Parität	43 (21,8%)	90 (20,7%)

5. Parität	31 (15,7%)	72 (16,6%)
6. Parität	4 (2,0%)	9 (2,1%)
7. Parität	4 (2,0%)	13 (3,0%)
8. Parität	20 (10,2%)	33 (7,6%)
9. Parität	4 (2,0%)	4 (0,9%)

*Daten zur Parität fehlen von 12 Tieren

**Daten zur Parität fehlen von 34 Tieren

Als weiterer bestandsspezifischer Parameter wurde das Impfregeime der Bestände in die Auswertung mit einbezogen. Eine Übersicht über die Verteilung der verschiedenen Impfschemata der Bestände wird in nachfolgender Tabelle 13 gezeigt. Außerdem wurde die Verteilung auch auf Ebene der Phänotypen betrachtet. Die Ergebnisse werden unterteilt in Impfungen bei Jungsauen, Impfungen bei Jungsauen und Altsauen, keine Impfungen und Impfungen nur bei Altsauen.

Tabelle 13: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Föten (n = 209) und der einzelnen Phänotypen unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.

	<i>Impfung Jungsauen</i>	<i>Impfung Jungsauen & Altsauen</i>	<i>Impfung Altsauen</i>	<i>Keine Impfung</i>
<i>Föten gesamt (n = 209)</i>	103 (49,3%)	40 (19,1%)	4 (1,9%)	62 (29,7%)
<i>davon Mumien (n = 79)</i>	42 (53,2%)	22 (27,8%)	2 (2,5%)	13 (16,5%)
<i>davon Autolytische (n = 41)</i>	21 (51,2%)	7 (17,1%)	1 (2,4%)	12 (29,3%)
<i>davon Totgeborene (n = 77)</i>	34 (44,2%)	9 (11,7%)	1 (1,3%)	33 (42,9%)
<i>davon</i>	6	2	0	4

<i>Lebensschwache</i> (n = 12)	(50%)	(16,7%)	(0%)	(33,3%)
-----------------------------------	-------	---------	------	---------

Zur besseren Veranschaulichung der Verteilung der Phänotypen abhängig vom Impfschema der Bestände gibt die nachfolgende Abbildung 12 eine Übersicht.

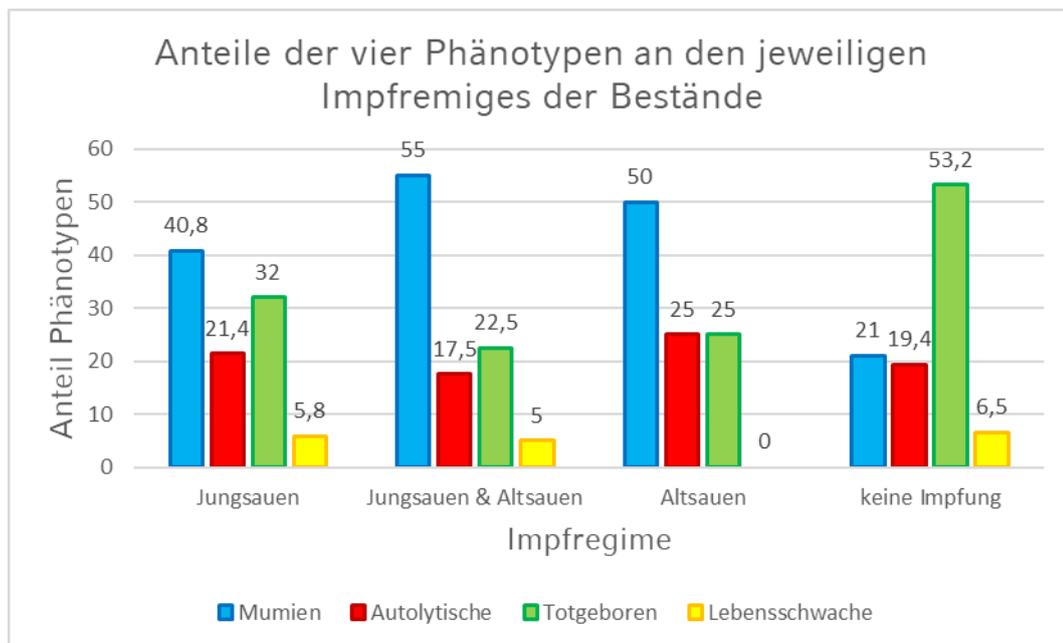


Abbildung 12: Verteilung der Phänotypen je nach Impfschema des Bestandes.

2. Ergebnisse molekularbiologischer Untersuchungen

Die Untersuchung der 209 Gewebepoolproben auf die RNA des porcinen Teschovirus ergab in allen Fällen ein negatives Ergebnis und wird deshalb in der weiteren Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung nicht weiter miteinbezogen, lediglich für die Vollständigkeit wird PTV in Tabelle 14 dargestellt.

Darüber hinaus konnten aus den 209 Gewebepoolproben 44 PCV2-DNA-positive Proben nachgewiesen werden. Von den 44 positiven Proben konnten 42 Proben genotypisiert werden, da für 2 Proben kein ausreichendes Gewebepoolmaterial mehr zur Verfügung stand. Eine Probe konnte trotz Genotypisierung und Sequenzierung keinem Genotyp zugeordnet werden, weshalb in der folgenden Auswertung der

Ergebnisse die Anzahl genotypisierter Proben bei $n = 41$ liegt.

2.1. Qualitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV2 - DNA in fötalen Gewebepoolproben

2.1.1. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene

Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von fötalen Poolproben der 209 Föten aus SMEDI-assoziierten Würfen auf die virale DNA von PCV2 und die RNA von PTV sind in der untenstehenden Tabelle 14 zusammengefasst.

Tabelle 14: Vorkommen von PCV2 und PTV in den untersuchten Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten.

	<i>PCV2 positiv</i>	<i>PCV2 negativ</i>	<i>PTV positiv</i>
<i>Bestand (n = 27)</i>	40,7% (11/27)	59,3% (16/27)	0% (0/27)
<i>Wurf (n = 53)</i>	37,7% (20/53)	62,3% (33/53)	0% (0/53)
<i>Föten (n = 209)</i>	21,1% (44/209)	78,9% (165/209)	0% (0/209)

Die folgende Tabelle 15 zeigt eine Übersicht über die Verteilung der Genotypen PCV2a, b und d sowie ad auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene.

Tabelle 15: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten.

	<i>PCV2 a</i>	<i>PCV2 b</i>	<i>PCV2 d</i>	<i>PCV2 ad</i>
<i>Bestand (n = 27)</i>	0% (0/27)	0% (0/27)	37% (10/27)	3,7% (1/27)

<i>Wurf</i> (<i>n</i> = 53)	0% (0/53)	0% (0/53)	32,1% (17/53)	1,9% (1/53)
<i>Föten</i> (<i>n</i> = 209)	0% (0/209)	0% (0/209)	19,1% (40/209)	0,5% (1/209)

Zudem zeigt Tabelle 16 die Anteile der Genotypen an den positiven Proben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene:

Tabelle 16: Anteile von PCV2 - Genotypen an den positiven Proben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten

	<i>PCV2 d</i>	<i>PCV2 ad</i>
<i>Bestand (n=27)</i>	90,9% (10/11)	9,1% (1/11)
<i>Wurf (n=53)</i>	85% (17/20)	5% (1/20)
<i>Föten (n=209)</i>	90,9% (40/44)	2,3% (1/44)

Bei 15% (3/20) der PCV2-DNA positiven Würfe waren die Muttertiere Jungsaunen, bei 85% (17/20) der positiven Würfe handelte es sich bei den Muttertieren um multipare Saunen. Von den 3 Jungsaunen waren alle 3 (100%) geimpft, von den 17 Altsaunen keine (0%). 12 (70,6%) der 17 Altsaunen stammten aus Beständen, welche nur die Jungsaunen impfen, die restlichen 5 Altsaunen waren aus Betrieben, welche keine Impfung gegen PCV2 durchführen. Gegen PTV impfte keiner der Bestände. Außerdem konnte durch Auswertung des Fragebogens gezeigt werden, dass Bestände mit einer Remontierungsrate von mehr als 40% zu 40% (4/10) positive DNA-Nachweise von PCV2 zeigten, während Bestände mit einer Remontierungsrate von weniger als 40% 43,8% (7/16) PCV2 DNA-positive Ergebnisse zeigten.

2.1.2. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus

Im weiteren Vorgehen werden die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung in Bezug auf das phänotypische Erscheinungsbild der Föten ausgewertet und in Tabelle 17 dargestellt. Mittels Chi²-Test konnte festgestellt werden, dass für keinen der Phänotypen eine signifikante Assoziation zum Nachweis von PCV2-DNA besteht.

Tabelle 17: Vorkommen von PCV2 in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die vier verschiedenen Phänotypen.

		<i>PCV2 – DNA positiv (44/209)</i>	<i>PCV2 – DNA negativ (165/209)</i>
<i>Phänotyp</i>	Mumifiziert (79/209)	40,9% (18/44)	37% (61/165)
	Autolytisch (41/209)	25% (11/44)	18,2% (30/165)
	Totgeboren (77/209)	31,8% (14/44)	38,2% (63/165)
	Lebensschwach (12/209)	2,3% (1/44)	6,7% (11/165)

Zur besseren Veranschaulichung zeigt nachfolgende Abbildung 13 die Verteilung der PCV2-DNA-positiven Proben auf die vier verschiedenen Phänotypen.

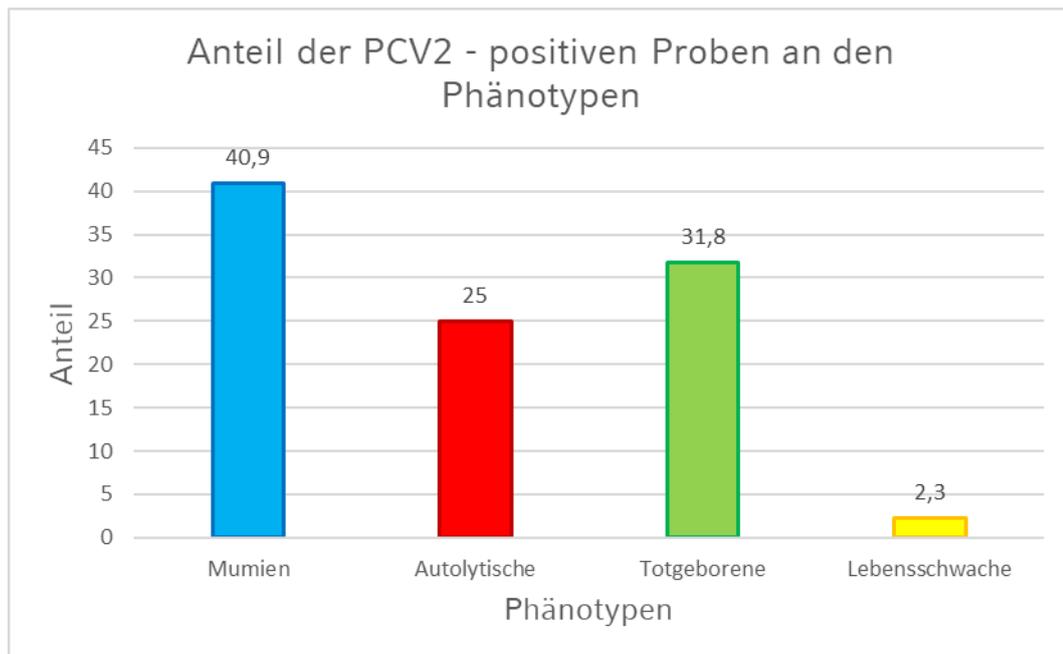


Abbildung 13: Vorkommen von PCV2-DNA in den vier verschiedenen Phänotypen.

Weiter wird die Verteilung der Genotypen a, b, d und ad auf die verschiedenen Phänotypen der untersuchten Tiere in Tabelle 18 gezeigt. Auch bei PCV2-Genotypen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Phänotypen und dem Nachweis von PCV2-Genotypen festgestellt werden.

Tabelle 18: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die vier verschiedenen Phänotypen.

Phänotyp	PCV2 a	PCV2 b	PCV2 d	PCV2 ad
Mumifiziert	0% (0/0)	0% (0/0)	45% (18/40)	0% (0/1)
Autolytisch	0% (0/0)	0% (0/0)	22,5% (9/40)	100% (1/1)
Totgeboren	0% (0/0)	0% (0/0)	32,5% (13/40)	0% (0/1)
Lebensschwach	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/40)	0% (0/1)

2.1.3. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau des Fötus

Als weiterer Parameter wird die Parität der Muttersauen in die Auswertung miteinbezogen. Tabelle 19 zeigt die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Föten und deren Verteilung auf die verschiedenen Paritäten. Mittels Chi²-Test konnten keine signifikanten Assoziationen zwischen der Parität der Muttersau und dem Nachweis von PCV2-DNA festgestellt werden.

Tabelle 19: Vorkommen von PCV2 - DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die verschiedenen Paritäten.

		<i>PCV2 – DNA positiv n_{ges.} = 209 (%)</i>	<i>Anteil innerhalb der Parität</i>
<i>Parität der Sau*</i>	1.	7 (3,4%)	7/36 (19,4%)
	2.	9 (4,3%)	9/24 (37,5%)
	3.	4 (1,9%)	4/31 (12,9%)
	4.	14 (6,7%)	14/43 (32,6%)
	5.	2 (1,0%)	2/31 (6,5%)
	6.	2 (1,0%)	2/4 (50%)
	7.	-	-
	8.	5 (2,4%)	5/20 (25%)
	9.	1 (0,5%)	1/4 (25%)

*Daten zur Parität fehlen von 12 Tieren

Außerdem wird die Verteilung der verschiedenen Genotypen a, b, d und ad auf die Paritäten der Muttersauen der untersuchten Tiere ausgewertet und in Tabelle 20 dargestellt. Auch hier konnten keine signifikanten Assoziationen zwischen der Parität des Muttertieres und dem Nachweis von PCV2-Genotypen festgestellt werden.

Tabelle 20: Vorkommen von PCV2-Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die verschiedenen Paritäten.

<i>Parität</i>	<i>PCV2 a</i>	<i>PCV2 b</i>	<i>PCV2 d</i>	<i>PCV2 ad</i>
1.	0% (0/0)	0% (0/0)	17,5% (7/40)	0% (0/1)
2.	0% (0/0)	0% (0/0)	17,5% (7/40)	100% (1/1)
3.	0% (0/0)	0% (0/0)	10% (4/40)	0% (0/1)
4.	0% (0/0)	0% (0/0)	32,5% (13/40)	0% (0/1)
5.	0% (0/0)	0% (0/0)	5% (2/40)	0% (0/1)
6.	0% (0/0)	0% (0/0)	5% (2/40)	0% (0/1)
7.	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/40)	0% (0/1)
8.	0% (0/0)	0% (0/0)	10% (4/40)	0% (0/1)
9.	0% (0/0)	0% (0/0)	2,5% (1/40)	0% (0/1)

2.1.4. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau des Fötus

Ein weiterer Parameter, der in der Auswertung der molekularbiologischen Ergebnisse berücksichtigt wurde, ist das Impfgeme der verschiedenen Bestände. Es zeigte sich, dass sich die Impfung in Beständen als Schutzfaktor für die Föten darstellt (OR: 0,7). In Bezug auf die Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA konnte jedoch mittels binärlogistischer Regressionsberechnung kein signifikanter Zusammenhang mit den jeweiligen Impfschemata der Bestände beobachtet werden und ebenso keine signifikanten Assoziationen zwischen dem Impfschema und dem Nachweis von PCV2-Genotypen festgestellt werden.

In Tabelle 21 und Tabelle 22 werden relative und absolute Häufigkeiten

zum Nachweis von PCV2-DNA und den jeweiligen Genotypen der fötalen Proben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sauen dargestellt. Der Nachweis wird aufgeteilt in Ergebnisse nur bei Jungsaunen, Jungsaunen und Altsauen, nur bei Altsauen und keine Impfung.

Tabelle 21: Vorkommen von PCV2-DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.

	<i>Impfung Jungsaunen (n = 103)</i>	<i>Impfung Jungsaunen & Altsauen (n = 40)</i>	<i>Impfung Altsauen (n = 4)</i>	<i>Keine Impfung (n = 62)</i>
<i>PCV2 - positiv</i>	31,1% (32/103)	-	-	19,4% (12/62)
<i>PV2 - negativ</i>	68,9% (71/103)	100% (40/40)	100% (4/4)	80,6% (50/62)

Tabelle 22: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.

	<i>Impfung Jungsaunen</i>	<i>Impfung Jungsaunen & Altsauen</i>	<i>Impfung Altsauen</i>	<i>Keine Impfung</i>
<i>PCV2 a</i>	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/0)
<i>PV2 b</i>	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/0)	0% (0/0)
<i>PCV2 d</i>	72,5% (29/40)	0% (0/40)	0% (0/40)	27,5% (11/40)
<i>PCV2 ad</i>	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)

2.1.5. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsauen - Quarantäne

Außerdem wurde als bestandsspezifischer Parameter das Vorhandensein einer Jungsauen-Quarantäne in den Beständen in die Auswertung miteinbezogen. Hier konnte mittels Chi²-Test ein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (siehe Tabelle 27). Eine Übersicht über die Ergebnisse des PCV2-DNA-Nachweis und der PCV2-Genotypen in Bezug auf die Jungsauen-Quarantäne sind in nachfolgenden Tabelle 23 und Tabelle 24 gezeigt.

Tabelle 23: Vorkommen von PCV2 - DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf das Vorhandensein einer Jungsauen - Quarantäne in den Beständen.

	<i>Jungsauen Quarantäne</i>	<i>Keine Jungsauen Quarantäne</i>
<i>PCV2 - positiv</i>	28,5% (39/137)	6,9% (5/72)
<i>PCV2 - negativ</i>	71,5% (98/137)	93,1% (67/72)

Tabelle 24: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf das Vorhandensein einer Jungsauen - Quarantäne in den Beständen.

	<i>Jungsauen Quarantäne</i>	<i>Keine Jungsauen Quarantäne</i>
<i>PCV2 a</i>	0% (0/137)	0% (0/72)
<i>PCV2 b</i>	0% (0/137)	0% (0/72)
<i>PCV2 d</i>	26,28% (36/137)	5,56% (4/72)
<i>PCV2 ad</i>	0,73% (1/137)	0% (0/72)

2.1.6. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße

Abschließend wird die Bestandsgröße als Parameter in die Auswertung miteinbezogen. Mittels Chi²-Test konnte ermittelt werden, dass eine signifikante Assoziation zwischen der Bestandsgröße und dem Nachweis von PCV2-DNA besteht. Tabelle 25 zeigt eine Übersicht der Verteilung der PCV2-DNA positiven Proben auf die jeweilige Bestandsgröße.

Tabelle 25: Anteil der PCV2-DNA-Nachweise an den verschiedenen Gruppen der Bestandsgrößen.

	<i>Bestandsgröße ≤300 Sauen</i>	<i>Bestandsgröße 300-900 Sauen</i>	<i>Bestandsgröße >900 Sauen</i>
<i>PCV2 positiv</i>	12% (9/75)	17,3% (13/75)	37,3% (22/59)
<i>PCV2 negativ</i>	88% (66/75)	82,7% (62/75)	62,7% (37/59)

Zudem wird die Verteilung der verschiedenen Genotypen a, b, d und ad auf die Bestandsgröße in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Anteil der PCV2 - Genotypen an den verschiedenen Gruppen der Bestandsgrößen.

	<i>Bestandsgröße ≤300 Sauen</i>	<i>Bestandsgröße 300-900 Sauen</i>	<i>Bestandsgröße >900 Sauen</i>
<i>PCV2 a</i>	0% (0/75)	0% (0/75)	0% (0/59)
<i>PCV2 b</i>	0% (0/75)	0% (0/75)	0% (0/59)
<i>PCV2 d</i>	12% (9/75)	16% (12/75)	32,2% (19/59)
<i>PCV2 ad</i>	0% (0/75)	0% (0/75)	1,7% (1/59)

In untenstehender Tabelle 27 werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der Bestandsparameter gezeigt. Es wurde für alle fünf Parameter ein Chi²-Test durchgeführt und nachfolgend für die Parameter mit statistisch signifikanten Ergebnissen eine binärlogistische Regression der dichotomen Variable für PCV2 durchgeführt. Es zeigte sich, dass bei Beständen mit Jungsauen-Quarantäne und Beständen der Größe 1 (≤ 300 Sauen) signifikant häufiger PCV2-DNA nachgewiesen werden konnte, als bei Beständen ohne Jungsauen-Quarantäne und Beständen der Größe 2 oder 3 (300-900 Sauen bzw. >900 Sauen) (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Statistische Auswertung unabhängiger Variablen in Bezug auf den Nachweis von PCV2 - DNA

Unabh. Variable	Abh. Variable	<i>p</i> – value Chi ² -Test	<i>p</i> – value bin. log. Reg.	OR	Unterer Wert	Oberer Wert
Phänotypen	Mumien	0,632				
	Autolytische	0,312				
	Totgeborene	0,222				
	Lebensschwache	0,222				
Geschlecht		0,167				
Parität (Jungsau)		0,645				
Jungsauenimpfung		0,489				
Sauenimpfung	PCV2 – positive Föten	<0,001	0,997			
Jungsauen Quarantäne		<0,001	0,025	3,228	1,157	9,011
Bestandsgröße	1 vgl. mit 2	0,356				
	1 vgl. mit 3	<0,001	0,007	1,928	1,194	3,1114
	2 vgl. mit 3	0,009				
	1: ≤ 300 2: 300 – 900 3: > 900					

2.2. Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV2 - DNA in fötalen Gewebepoolproben

Bei der quantitativen Auswertung der molekularbiologischen Ergebnisse werden die Genotypen PCV2a und PCV2b nicht berücksichtigt, da diese

nicht nachgewiesen werden konnten und somit keine Ct-Werte vorliegen. Die Probe mit dem Nachweis von PCV2ad wird ebenfalls nicht berücksichtigt, da es sich nur um eine einzige Probe handelt und somit keine sinnvollen Mittelwerte berechnet werden können.

2.2.1. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene

Für die quantitative Auswertung werden ebenfalls zuerst die statistisch relevanten Ergebnisse in Tabelle 28 dargestellt. Es wurden verschiedene abhängige Variablen auf Föten-, Wurf- und Bestandsebene auf Signifikanz untersucht.

Tabelle 28: Statistische Auswertung von abhängigen Variablen auf Föten-, Wurf- und Bestandsebene in Bezug auf den Nachweis von PCV2 - DNA.

Ebene	Abhängige Variable	PCV2		p - value
		Positiv	Negativ	
Föten	SSL	223,23	222,10	0,907
	Gewicht	465,52	555,92	0,680
Würfe	Wurfgröße	16,3	16,61	0,679
	Lebendgeboren	7,25	7,88	0,632
	Lebensschwach	0,2	0,24	0,914
	Trächtigkeitsdauer	112,56	113,87	0,130
Bestand	Umrauschquote	13,58%	12,14%	0,919
	Remontierungsrate/Jahr	41,54%	41,26%	0,893
	Durchgänge/Sau/Jahr	2,31	2,29	0,202

Des Weiteren wurden unabhängige Variablen auf signifikante Assoziation in Bezug auf die abhängige Variable „PCV2 Ct-Wert“ untersucht. Die

Ergebnisse zeigen bei der Betrachtung der Parameter Bestandsgröße (p-value: <0,001) und Impfregeime (p-value: 0,035) einen signifikanten Zusammenhang. Es konnten in Beständen mit ≤ 300 Sauen signifikant niedrigere Ct-Werte nachgewiesen werden als in Beständen mit 300-900 bzw. >900 Sauen (siehe Tabelle 37). In Beständen, welche keine Impfung gegen PCV2 durchführen, wurden signifikant niedrigere Ct-Werte detektiert als in Beständen, welche Jungsaunen gegen PCV2 impfen (siehe Tabelle 33). Bei drei weiteren Parametern konnte kein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden. In der Berechnung wurden die Unterscheidung von Jungsaunen und Altsaunen, außerdem die Jungsaunen-Quarantäne und die Remontierungsrate berücksichtigt.

Die Auswertung der quantitativen Ergebnisse ergibt einen Median des Ct-Wertes von PCV2 von 31,64 (Mittelwert: 29,47) (min: 7,86; max: 34,89; StabW: 6,38). Ein Ct-Wert von ≤ 20 lag bei 6,8% (3/44) der PCV2-DNA-positiven Poolproben vor, bei 29,5% (13/44) wurde ein Ct-Wert zwischen 20 und 30 gemessen und ein Ct-Wert über 30 wurde in 63,6% (28/44) der PCV2-DNA positiven Proben nachgewiesen.

Bei den Proben, bei denen der Genotyp PCV2d nachgewiesen werden konnte, lag der Median des Ct-Wertes bei 31,63 (Mittelwert: 29,37) (min: 7,86; max: 34,89; StabW: 6,58). Ein Ct-Wert von ≤ 25 lag bei 43,9% (18/41) der PCV2d-positiven Proben vor, ein Ct-Wert zwischen 25 und 30 wurde bei 21,95% (9/41) und ein Ct-Wert über 30 bei 34,15% (14/41) der Proben, bei denen der Genotyp PCV2d nachgewiesen werden konnte, gefunden.

2.2.2. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus

Auch bei der quantitativen Auswertung wurden die molekularbiologischen Ergebnisse zunächst in Bezug auf das phänotypische Erscheinungsbild der Föten beurteilt. Die PCV2-Ct-Werte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den vier Phänotypen, sie unterscheiden sich lediglich numerisch. Die untenstehende Tabelle 29 gibt eine Übersicht.

Tabelle 29: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Phänotyp des Fötus.

		<i>Phänotyp</i>			
		Mumie	Autolytisch	Totgeboren	Lebensschwach
<i>PCV2</i>	Md.	32,23	31,69	28,8	32,54
	StabW	6,04	7,34	6,34	-
	Mittelwert	30,65	29,23	27,91	32,54

Die nachfolgende Abbildung 14 zeigt die Verteilung der Ct-Werte abhängig von den verschiedenen Phänotypen in einem Boxplot.

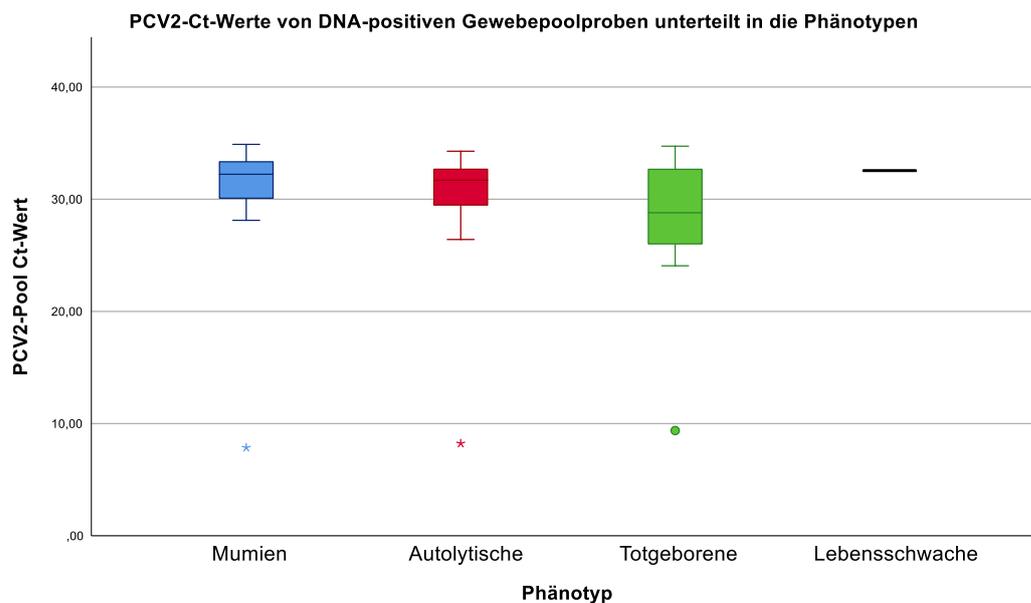


Abbildung 14: Boxplot mit PCV2 - Ct - Werten von DNA - positiven Proben je nach Phänotyp des Fötus.

Auch die Ergebnisse der Genotypisierung zeigen, dass sich die Ct-Werte des Genotyps PCV2d nicht signifikant zwischen den vier Phänotypen unterscheiden. In der untenstehenden Tabelle 30 wird eine Übersicht über die jeweiligen Werte in Bezug auf die Phänotypen dargestellt.

Tabelle 30: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Phänotyp des Fötus.

		<i>Phänotyp</i>			
		Mumie	Autolytisch	Totgeboren	Lebensschwach
<i>PCV2 d</i> <i>Ct - Wert</i>	Md.	32,23	31,66	29,31	-
	StabW	6,04	7,68	6,6	-
	Mittelwert	30,65	28,98	27,87	-

Die Verteilung der PCV2d-Ct-Werte auf die verschiedenen Phänotypen wird in nachfolgender Abbildung 15 dargestellt.

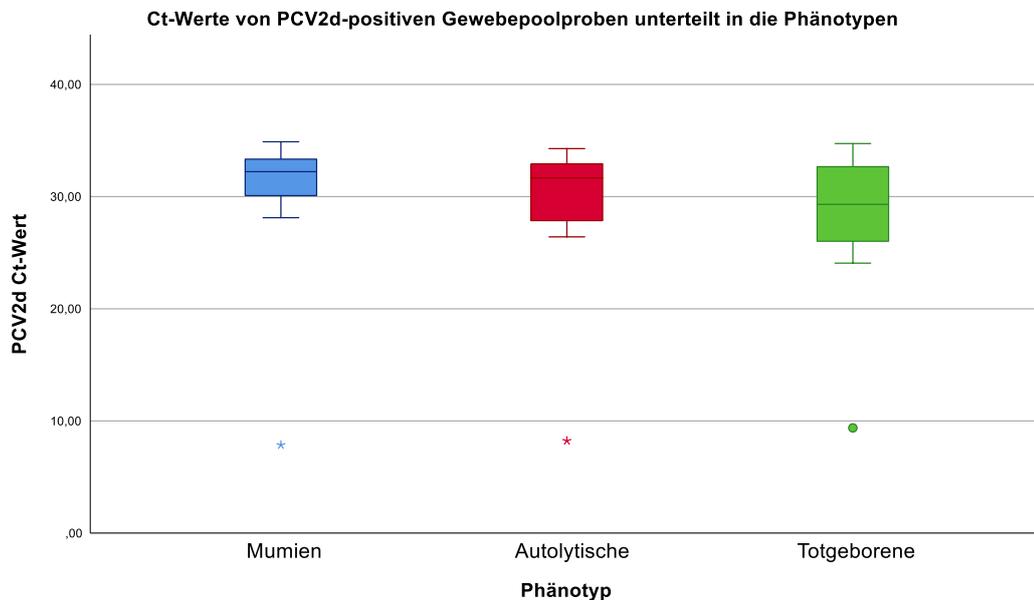


Abbildung 15: Boxplot mit PCV2d - Ct - Werten von DNA - positiven Proben je nach Phänotyp des Ferkels.

2.2.3. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau des Fötus

Als weiterer Parameter wird die Parität der Muttersauen in der quantitativen Auswertung beurteilt. Die PCV2-Ct-Werte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Paritäten der Muttersauen, auch hier gab es lediglich numerische Unterschiede. Die

untenstehende Tabelle 31 gibt eine Übersicht über die Werte verteilt auf die Paritäten. Auch bei alleiniger Betrachtung Jungsau vs. Altsau ergab die statistische Auswertung keine Assoziation mit dem PCV2 Ct-Wert.

Tabelle 31: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Paritäten der Muttersauen.

Ct – Werte PCV2

<i>Parität*</i>	Anzahl	Median	StabW	Mittelwert	Minimum	Maximum
1.	7	32,66	1,75	32,56	30,09	34,89
2.	9	28,28	3,46	28,7	24,07	33,28
3.	4	29,34	2,5	29,48	26,57	32,67
4.	14	30,07	9,7	26,04	7,86	34,48
5.	2	33,55	0,29	33,5	33,34	33,75
6.	2	33,6	0,96	33,6		
7.	-	-	-	-	-	-
8.	5	32,54	3,21	32,14	26,85	34,73
9.	1	32,9	-	32,9	-	-

* Daten zur Parität fehlen bei 12 Tieren

Eine Übersicht über die Ct-Werte der Auswertung des Genotyps PCV2d in Zusammenhang mit den Paritäten ist in Tabelle 32 dargestellt. Auch hier konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

Tabelle 32: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Paritäten der Muttersauen.

Ct – Werte PCV2 d

<i>Parität*</i>	Anzahl	Median	StabW	Mittelwert	Minimum	Maximum
1.	7	32,66	1,74	32,56	30,09	34,89
2.	7	28,67	3,7	28,75	24,07	33,28
3.	4	29,34	2,5	29,48	26,57	32,67
4.	13	29,3	9,9	25,69	7,86	34,48
5.	2	33,34	0,29	33,54	33,34	33,75
6.	2	33,6	0,96	33,6	32,92	34,28
7.	-	-	-	-	-	-
8.	4	33,28	3,7	32,04	26,85	34,73
9.	1	32,89	-	32,89	-	-

*Daten zur Parität fehlen bei 12 Tieren

2.2.4. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau des Fötus

Des Weiteren wurden die PCV2-Ct-Werte abhängig vom Impfstatus der Sauen in der quantitativen Analyse ausgewertet. In der statistischen Auswertung konnte festgestellt werden, dass die PCV2-Viruslast in Gewebepoolproben signifikant höher war, wenn die Proben von Ferkeln ungeimpfter Sauen untersucht wurden, verglichen zu Proben von Ferkeln, deren Muttersauen als Jungsau geimpft wurden.

Tabelle 33 und Tabelle 34 zeigen die jeweiligen Werte der PCV2-Ct-Werte und PCV2d-Ct-Werte bei den verschiedenen Impfschemata der Bestände. Die Unterteilung der Impfschemata erfolgt in Impfungen nur

bei Jungsauen, bei Jung- und Altsauen, Impfungen nur bei Altsauen und keine Durchführung von Impfungen.

Tabelle 33: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Impfschema der Bestände.

		<i>PCV2 - Impfung</i>			
		Jungsauen	Jungsauen & Altsauen	Altsauen	Keine Impfung
<i>PCV2</i>	Md.	31,71	-	-	27,07
	StabW	2,46	-	-	10,2
	Mittelwert	31,35	-	-	24,44
<i>Ct - Wert</i>					

Tabelle 34: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Impfschema der Bestände.

		<i>PCV2 - Impfung</i>			
		Jungsauen	Jungsauen & Altsauen	Altsauen	Keine Impfung
<i>PCV2 d</i>	Md.	31,8	-	-	26,02
	StabW	2,48	-	-	10,36
	Mittelwert	31,44	-	-	23,70
<i>Ct - Wert</i>					

2.2.5. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsauen - Quarantäne

Außerdem wurde das Vorhandensein einer Jungsauen-Quarantäne auf quantitativer Ebene untersucht. Eine signifikante Assoziation der Viruslast mit dem Vorhandensein einer Jungsauen-Quarantäne in den Beständen konnte nicht nachgewiesen werden. Nachfolgende zeigen Tabelle 35 und Tabelle 36 eine Übersicht über die Ct-Werte von PCV2

und dem Genotyp PCV2d.

Tabelle 35: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Jungsaunen Quarantäne der Bestände.

		<i>Jungsaunen Quarantäne</i>	<i>Keine Jungsaunen Quarantäne</i>
<i>PCV2 Ct - Wert</i>	Md.	31,63	32,92
	StabW	6,66	1,88
	Mittelwert	29,08	32,48

Tabelle 36: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Jungsaunen Quarantäne der Bestände.

		<i>Jungsaunen Quarantäne</i>	<i>Keine Jungsaunen Quarantäne</i>
<i>PCV2 d Ct - Wert</i>	Md.	31,63	33,13
	StabW	6,82	2,17
	Mittelwert	29,03	32,47

2.2.6. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße

Als letzter Parameter wird die Bestandsgröße in der quantitativen Auswertung beurteilt. Es bestand eine signifikante Assoziation zwischen den jeweiligen Ct-Werten in Abhängigkeit von der Bestandsgrößenkategorie. Bestände mit ≤ 300 Sauen wiesen signifikant niedrigere Ct-Werte auf als Bestände mit 300-900 Sauen oder >900 Sauen. Tabelle 37 zeigt die PCV2-Ct-Werte der verschiedenen Bestandsgrößen.

Tabelle 37: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Bestandsgröße.

		<i>Bestandsgröße</i>		
		≤300 Sauen	300 - 900	>900
<i>PCV2</i> <i>Ct - Wert</i>	Md.	25,14	33,1	31,64
	StabW	10,2	2,5	2,18
	Mittelwert	21,5	32,6	30,87

Ein Vergleich der Ct-Werte vom Genotyp PCV2d je nach Bestandsgröße ist in der nachfolgenden Tabelle 38 dargestellt.

Tabelle 38: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Bestandsgröße.

		<i>Bestandsgröße</i>		
		≤300 Sauen	300 - 900	>900
<i>PCV2 d</i> <i>Ct - Wert</i>	Md.	25,14	33,22	31,37
	StabW	10,2	2,23	2,25
	Mittelwert	21,5	32,96	30,75

Die bivariaten Korrelationen nach Spearman ergaben keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Ct-Wert der PCV2-PCR und der Scheitel-Steiß-Länge bzw. dem Gewicht der Föten.

V. DISKUSSION

1. Methodenkritik

Auswahl des Untersuchungsmaterials

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die genannten Arbeitshypothesen zu überprüfen und sowohl das porcine Teschovirus, welches als ubiquitär in der Hausschweinepopulation verbreitet angesehen wird, als auch das porcine Circovirus 2 nachzuweisen und weiter zu genotypisieren. Mittels systemic random sampling wurden 209 Föten aus der Gesamtpopulation von 469 Föten der für die Untersuchung zur Verfügung stehenden Population bzw. Proben ausgewählt. Es wurde angestrebt eine repräsentative Darstellung der Gesamtpopulation innerhalb der Studienpopulation zu erhalten. Anhand der Tabellen in Abschnitt 1. und 1.3. der Ergebnisse wird ersichtlich, dass eine repräsentative Auswahl hinsichtlich der Phänotypen der Föten und Paritäten der Muttertiere gelungen ist und dass die ausgewählte Studienpopulation für die Überprüfung der Arbeitshypothesen geeignet ist.

2. Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung

2.1. Nachweis des porcinen Teschovirus in SMEDI - assoziierten Würfen

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung konnte das porcine Teschovirus in keiner der 209 untersuchten Gewebepoolproben nachgewiesen werden. Die Ergebnisse entsprechen nicht der Arbeitshypothese, die erwarten ließ, dass das porcine Teschovirus in SMEDI nachgewiesen werden kann, da es als weit in der Hausschweinepopulation verbreitet und laut einzelner Literaturnachweise mit SMEDI assoziiert gilt. In der vorliegenden Studie wurden vier Föten pro Wurf untersucht, insgesamt lagen 53 Würfe zur Beprobung vor. Da das porcine Teschovirus ubiquitär vorkommt (Chiu et al. 2012, Malik et

al. 2020) und in vereinzelt Literaturquellen auch mit SMEDI in Verbindung gebracht wird (Handke et al. 2012), wurde erwartet auch in SMEDI assoziierten Fällen virusspezifische RNA nachzuweisen. Die Empfehlungen von Althouse beschreiben ein Konfidenzintervall von 90-95% und vier bis sechs beprobten Föten pro Wurf aus mindestens drei Würfen. Bei einer Infektionsrate von 50% und einer Wurfgröße von 12 Föten wird angenommen mindestens einen infizierten Fetus zu finden (Althouse et al. 2019). Es ist denkbar, dass die ubiquitäre Verbreitung des porzinen Teschovirus in den Altersstufen der Aufzucht und Mast eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Immunisierung der Hausschweinepopulation spielt. Eine mögliche Erklärung dafür, dass PTV-RNA in keiner der Proben nachgewiesen werden konnte, wäre, dass Jungsaugen bereits in der Aufzucht über den Kot und die Umgebung mit PTV infiziert werden und sich so bis zum Zeitpunkt der ersten Belegung bzw. auch bei späteren Belegungen eine ausreichende Immunität aufbaut, so dass die Föten gar nicht mehr der Gefahr einer diaplazentaren Infektion ausgesetzt werden. Vergleicht man die verwendeten Untersuchungsmaterialien, so wurden diese in vorliegender Studie an Handke et al. (2012) angepasst und modifiziert. Bei Handke et al. (2012) wurden in der Regel drei Föten beprobt und ein Organpool mit Herz, Lunge, Leber und Niere verwendet und es wurde PTV-RNA mit einer Prävalenz von 11% nachgewiesen. In der vorliegenden Studie wurden pro Wurf vier Ferkel nach systemic random sampling ausgewählt und ein Gewebepool mit Thymus, Herz, Lunge, Leber und zusätzlich Darm untersucht. Da es sich bei dem porzinen Teschovirus um ein enterisches Virus handelt (Knowles et al. 1979) war die Erweiterung des Gewebepools mit Darmgewebe naheliegend. Darüber hinaus wurde bei der Auswahl der Föten mittels systemic random sampling darauf geachtet, alle vier Phänotypen entsprechend der Gesamtpopulation darzustellen, damit kein Phänotyp überrepräsentiert wird. Wie in Abschnitt 1.1. der Ergebnisse deutlich wird, konnte dies erreicht werden. Ferner wird davon ausgegangen, dass bei einem Nachweis von PTV in den vorliegenden SMEDI-assoziierten Würfen kein spezieller Phänotyp besser für die Untersuchung geeignet gewesen wäre, da alle toten Föten eingesandt wurden und es als nicht logisch erscheint, dass die

Todesursache nur bei einem bestimmten Phänotyp auf eine Infektion mit dem porcinen Teschovirus zurückzuführen ist. Bei Handke et al. (2012) wurde bei der Auswahl der Föten darauf geachtet jeweils eine Mumie und einen nicht-autolytischen Fetus in die Untersuchung miteinzubeziehen, ausschlaggebend für den Einschluss in die Untersuchung waren jedoch Würfe, welche Reproduktionsstörungen mit Aborten, mumifizierten, autolytischen, totgeborenen und lebensschwachgeborenen Ferkeln zeigen (Handke et al. 2012). Folglich wurde bei Handke et al. (2012) kaum auf eine repräsentative Auswahl der Phänotypen aus der Studienpopulation geachtet. Ebenso ist zu beachten, dass bei Handke et al. (2012) nur drei Ferkel pro Wurf für die Beprobung verwendet wurden, in der vorliegenden Studie jedoch sogar vier Ferkel pro Wurf, was die Nachweishäufigkeit zusätzlich positiv beeinflusst hätte. Des Weiteren sollte die Auswahl der PCR-Methode diskutiert werden. In der vorliegenden Studie wurde ein Protokoll nach Zhang et al., 2013 verwendet. Eine mögliche Hypothese, wieso keine PTV-RNA in der PCR detektiert wurde, wäre, dass die Spezifität oder die Sensitivität für den Nachweis von PTV-RNA nicht ausreichend waren. Diese beiden Parameter wurden jedoch anhand positiver Proben aus einem Fallbericht (Stadler et al. 2022) voreingestellt und die verwendeten Primer und Sonden getestet. In der Positivkontrolle konnte in allen drei PCR-Durchgängen ein Ct-Wert von <30 erreicht werden, demzufolge wird davon ausgegangen, dass im Falle von PTV-RNA in den Gewebepoolproben ebenfalls ein Nachweis ähnlich Zhang et al. (2013) (zehn Kopien) gelungen wäre, sofern eine positive Probe vorgelegen hätte.

Eine weitere mögliche Erklärung wäre, dass die Viruslast in den Proben so gering war, dass die RNA nicht nachgewiesen werden konnte. Dies würde jedoch darauf hinweisen, dass die klinische Relevanz einer so geringen Viruslast zumindest als fraglich angesehen werden kann.

2.2. Nachweis des porcinen Circovirus 2 in SMEDI - assoziierten Würfen

Das porcine Circovirus 2 gilt ebenfalls als ubiquitär in Beständen verbreitet (Segalés et al. 2005a, Gerber et al. 2012, Dvorak et al. 2013),

dies bezieht sich jedoch hauptsächlich auf Daten aus Aufzucht- und Mast-Gruppen. Daten über die Prävalenz von PCV2 bei Sauen sind jedoch weniger bekannt. In der vorliegenden Untersuchung konnte das porcine Circovirus 2 in 40,7% der Bestände, 37,7% der Würfe und in 21,1% der Ferkel in unterschiedlichen Mengen nachgewiesen werden. Auf Bestandesebene entsprechen die vorliegenden Ergebnisse von 40,7% positiver Bestände in etwa den von Beisl (2020) oder Unterweger et al. (2021). Bei Beisl (2020) handelt es sich um eine randomisierte Querschnittsstudie in deutschen Schweinemastbeständen, in welcher PCV2 in 37,2% der Bestände nachgewiesen werden konnte. Da das porcine Circovirus 2 auch mit Reproduktionsstörungen assoziiert ist (West et al. 1999, Brunborg et al. 2007, Madson et al. 2009b), wäre eine deutlich höhere Nachweisrate als bei Beisl zu erwarten gewesen. Dennoch ist zu beachten, dass in der vorliegenden Studie nur Daten zur Prävalenz von PCV2 in SMEDI-assoziierten Föten der Bestände vorliegen und es weder von den Sauen der Bestände noch etwaigen anderen Altersgruppen wie Aufzucht- oder Masttiere Daten zum Vorkommen von PCV2 gibt und somit nicht verallgemeinert werden können. Daten zum Vorkommen von PCV2 bei Saugferkeln liefert Eddicks et al. (2022). Bei Eddicks et al. (2022) konnte in 64,9% der Würfe und 61,6% der Ferkel PCV2-DNA nachgewiesen werden. In der Studie von Eddicks et al. (2022) wurden jedoch keine Föten aus Beständen mit Reproduktionsstörungen untersucht, sondern neugeborene Ferkel, die innerhalb der ersten Lebenswoche erdrückt wurden. Dies könnte die deutlich höhere Nachweisrate erklären, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich die Föten über Kolostrum oder die kontaminierte Haltungsumwelt postnatal mit PCV2 infiziert haben könnten (Dvorak et al. 2013). Eine weitere Studie zum Vergleich von PCV2-Prävalenzdaten bei Sauen stammt von Eddicks et al. (2023). In dieser Studie konnte bei SMEDI-assoziierten Würfen eine PCV2-Prävalenz von 61,1% der betroffenen Betriebe und bei 50% der entsprechenden Würfe nachgewiesen werden (Eddicks et al. 2023).

Zur Diagnosestellung einer PCV2-RD gilt nach wie vor Segalés (2012) diagnostischer Trias. Das klinische Erscheinungsbild von SMEDI-

Symptomatik oder vermehrt Reproduktionsstörungen in der späten Trächtigkeit sind in diesem Fall vorherrschend. Außerdem gilt der Nachweis von mäßig bis hohen Mengen an PCV2-DNA als beweisend. Die Menge an PCV2-DNA, die nachgewiesen werden kann, gibt Rückschlüsse auf die klinische Relevanz (Opriessnig et al. 2007), da die Viruslast in Blut- oder Gewebepollen positiv mit der Schwere des PCV2-assoziierten Krankheitsverlaufes korreliert (Brunborg et al. 2004, Olvera et al. 2004). In der hier gezeigten Untersuchung lagen die Ct-Werte von PCV2-DNA positiven Ferkeln im Mittel bei 29,47. Ct-Werte unter 20 wurden in Gewebepoolproben von drei Ferkeln festgestellt, die alle aus einem Bestand (Bestand 11) kamen, welcher nicht gegen PCV2 impft. Ct-Werte zwischen 20 und 30 konnten in 13 Gewebepoolproben nachgewiesen werden. Diese 13 Proben stammen von Ferkeln aus Betrieben, die entweder nur die Jungsauen gegen PCV2 impfen oder keine Impfung gegen PCV2 durchführen. Obwohl trotz der Erfüllung der beiden Punkte „Viruslast“ und „klinisches Bild“ der diagnostischen Trias von Segalés (2012) keine ganz sichere Aussage zur klinischen Relevanz des PCV2-DNA-Nachweises zu treffen ist, zeigen Untersuchungen von Unterweger et al. (2021), dass histologische Untersuchungen nicht zwangsläufig Bestandteil der Diagnosestellung sein müssen, wenn hohe Viruslasten in entsprechenden Föten vorliegen. Da in vorliegender Untersuchung keine histologischen Untersuchungen durchgeführt wurden, ist eine vollständige Analyse der Ergebnisse und eine endgültige Diagnose nicht möglich.

2.3. Nachweis von PCV2 - Genotypen a, b und d in SMEDI - assoziierten Würfen

Seit der Erstbeschreibung des porcinen Circovirus von Tischer et al. (1974) gab es einige Um- und Neubenennungen. In Bezug auf die Genotypen des porcinen Circovirus 2 gab es einen ersten Genotypenshift im Jahr 2005. Nachdem anfänglich PCV2a bis 2004 der vorherrschende Genotyp im Zusammenhang mit PCVD war, wurde 2004/2005 vermehrt der Genotyp PCV2b in Fällen von PCVD nachgewiesen (Gagnon et al. 2007, Carman et al. 2008). Analog zum Genotypenshift von PCV2a zu PCV2b ist in den vergangenen Jahren (2012-2014) der Genotyp PCV2d

vermehrt nachgewiesen worden. Dieser stellt den weltweit dominierenden Genotyp bei PCV2 assoziierten Krankheiten dar (Franzo and Segalés 2020). In der vorliegenden Studie soll folgende Arbeitshypothese untersucht werden: Es wird erwartet, dass PCVd, als der in der Hausschweinepopulation dominierender Genotyp, auch in SMEDI-Fällen häufiger nachzuweisen ist, als die anderen als „*major genotypes*“ bezeichneten Genotypen PCV2a und PCV2b. In den untersuchten Proben konnte in 95,24% der positiven Proben der gesamtuntersuchten Proben der Genotyp d nachgewiesen werden, eine Koinfektion mit dem Genotyp a und dem Genotyp d in einer untersuchten Probe eines Fötus (2,4%). Der Genotyp b wurde in keinem der Proben nachgewiesen. Eine vergleichbare Untersuchung zum Vorkommen von PCV2-Genotypen in Fällen von SMEDI gibt es aktuell nicht. Das weltweit dominierende Vorkommen von PCV2d in porcine circovirus diseases ist in der Literatur häufig beschrieben (Guo et al. 2010, Opriessnig et al. 2013, Eddicks et al. 2015, Franzo et al. 2015, Xiao et al. 2015, Xiao et al. 2016, Beisl 2020, Franzo and Segalés 2020, Unterweger et al. 2021). In einer randomisierten Querschnittsstudie in klinisch unauffälligen Beständen konnte der Genotyp d in 55,9% der PCV2-DNA-positiven Proben nachgewiesen werden (Beisl 2020). In Bezug auf Reproduktionsstörungen im Zusammenhang mit dem Genotyp PCVd gibt es bisher jedoch nur eine weitere Studie, welche als erste über das Vorkommen von PCV2d in PCV2-RD berichtet (Unterweger et al. 2021). Hier wurde in 50% (2/4) der genotypisierten Fälle (4 Föten, davon ein autolytischer, ein mumifizierter, ein totgeborener Fötus und ein Spätabort) der Genotyp PCV2d nachgewiesen (in mumifiziertem und autolytischem Fötus), in den anderen beiden Proben untersuchter Föten lag einmal eine Koinfektion mit dem Genotyp a (Totgeborenen) und einmal mit dem Genotyp b (Spätabort) vor. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen die Ergebnisse von Unterweger et al. (2021). Eine mögliche Erklärung für die hohe Nachweisrate von PCV2d bzw. die niedrige Nachweisrate von PCV2a und das Fehlen von PCV2b, könnte ein noch andauernder Genotypenshift in der deutschen Hausschweinepopulation sein. Eine in der Vergangenheit hohe Durchseuchung mit PCV2a oder PCV2b hatte möglicherweise eine stabile

immunologische Situation in den Sauherden geschaffen. Dies zeigt auch die Beobachtung, dass PCV2-RD vor allem in Jungsauen assoziiert war (Opriessnig et al. 2007, Oropeza-Moe et al. 2017) und Altsauen als unempfindlich für dieses Krankheitsbild waren. Darauf deuten auch Daten von Salvador et al. (2018a) hin. In dieser Untersuchung konnten Virämie und Ausscheidung von PCV2 vor allem bei Sauen bis zur zweiten Parität beobachtet werden. Möglicherweise führt der Neueintrag von PCV2d zu teilweise klinisch sichtbaren Erscheinungen, welche nach Durchseuchung wieder abnehmen bzw. verschwinden. Dies würde auch zu den vorliegenden Ergebnissen passen, dass in Beständen mit Jungsauen-Quarantäne signifikant häufiger PCV2 nachgewiesen werden konnte als in Beständen ohne Quarantäne. Der Genotyp d konnte in 92,31% der positiven Proben aus Beständen mit Jungsauen-Quarantäne nachgewiesen werden. Möglicherweise gibt es Unterschiede in der Virulenz der verschiedenen Genotypen (Opriessnig et al. 2008), weshalb sich der Genotyp d mittlerweile auch bei Reproduktionsstörungen, hier insbesondere SMEDI, durchsetzt und dominiert. Möglicherweise sollten Bestände, welche von PCV2 bedingten Reproduktionsstörungen betroffen sind, das Management hinsichtlich Jungsauen-Zukauf und Impfregime anpassen und nicht nur die Jungsauen, sondern auch die Altsauen des Bestandes gegen PCV2 impfen, um einen möglichen Neueintrag von PCV2d zu kontrollieren und die Häufigkeit von Reproduktionsstörungen in Zusammenhang mit PCV2 zu reduzieren.

2.4. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Phänotyp des Fötus

Während eine autolytische bzw. mazerierte Erscheinung von totgeborenen Föten mit bakterieller Besiedlung von Föten assoziiert sein kann (Eddicks et al. 2023), ist die Mumifikation mit einer sterilen oder viralen Infektion assoziiert (Givens and Marley 2008). Im Rahmen der eigenen Untersuchungen konnte keine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und dem phänotypischen Erscheinungsbild der Föten festgestellt werden. Es konnte jedoch ein numerischer Unterschied hinsichtlich der Nachweishäufigkeit von PCV2-

DNA in den jeweiligen Phänotypen gezeigt werden, mit 40,9% aller positiven Proben wurde PCV2-DNA am häufigsten in Mumien nachgewiesen. Des Weiteren konnte auch in der quantitativen Auswertung der real time PCR keine signifikante Assoziation zwischen der Virusmenge der Gewebepoolproben und dem Phänotyp beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse wurden in Studien aus Norwegen (Oropeza-Moe et al. 2017) oder Österreich (Unterweger et al. 2021) gezeigt. Auch in anderen Publikationen konnte PCV2-DNA numerisch am häufigsten in mumifizierten Föten nachgewiesen werden (Dias et al. 2013, Herdt et al. 2019). Eine vorangegangene Studie, welche ebenfalls SMEDI-assoziierte Würfe auf verschiedene Pathogene untersuchte konnte ebenfalls zeigen, dass keine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und dem phänotypischen Erscheinungsbild bestand, aber auch hier waren mumifizierte Föten numerisch am häufigsten PCV2-DNA positiv (Eddicks et al. 2023). Aus anderen Studien ist nicht bekannt inwiefern die Tiere, welche für die Untersuchung ausgewählt wurden, die Gesamtpopulation repräsentieren und ob möglicherweise bestimmte Phänotypen überrepräsentiert sind. In der vorliegenden Studie kann jedoch ausgeschlossen werden, dass ein bestimmter Phänotyp überrepräsentiert dargestellt wird und die Ergebnisse der statistischen Auswertung möglicherweise durch einen sample Bias verfälscht sind. Wie in Abschnitt 1. der Ergebnisse dargestellt, konnten die Föten der Studienpopulation so ausgewählt werden, dass diese repräsentativ für die Gesamtpopulation sind. Aus klinischer Sicht erscheint es plausibel, dass keine signifikante Assoziation besteht, da bei SMEDI-assoziierten Würfen alle totgeborenen Föten in unterschiedlichen Entwicklungsstadien gestorben sind, aber dennoch davon ausgegangen wird, dass sie alle mit demselben Erreger infiziert waren.

2.5. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Parität der Muttersau

Die statistischen Auswertungen der molekularbiologischen Untersuchungsergebnisse zum Nachweis von PCV2-DNA ergaben keine signifikanten Assoziationen mit der Parität der zugehörigen Muttersauen.

Von Reproduktionsstörungen durch PCV2 sind vorwiegend Jungsauen und dadurch auch neue Herden oder seronegativen Beständen, welche vorwiegend mit Jungsauen gebildet werden, betroffen, was in mehreren Studien gezeigt wurde (Pensaert et al. 2004, Opriessnig et al. 2007, Oropeza-Moe et al. 2017, Eddicks et al. 2019), die Rate der Altsaueninfektion hingegen ist in der Regel niedrig (Salvador et al. 2018b). In der vorliegenden Studie waren Jungsauenwürfe eher unterrepräsentiert. Der Anteil von Jungsauen an den positiven Würfen lag bei 15%, die restlichen 85% waren Altsauen, davon waren mit 35,29% (6/17) am häufigsten Sauen vierter Parität betroffen. Eine Publikation, welche mögliche Erklärungen für die vorliegenden Ergebnisse unterstützt, stammt von Segalés and Sibila (2022). Hier wird eine Verschiebung der Infektionsdynamik durch die Impfung von Jungsauen diskutiert. Es wird angenommen, dass sich bei Implementierung einer Jungsauenimpfung über die Zeit, aufgrund fehlender Auseinandersetzung des Immunsystems der Sauen mit PCV2, eine Subpopulation PCV2-naiver Sauen generiert. Insgesamt würde dies das Risiko von intrauterinen Infektionen bei ungeimpften Altsauen und einer möglichen PCV2 subclinical disease erhöhen (Segalés and Sibila 2022). Die Auswertungen der vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass mit 66,7% die meisten Betriebe ihre Jungsauen impfen, außerdem konnte deutlich gemacht werden, dass es eine Verschiebung der Infektionsdynamik von den Jungsauen auf Sauen höherer Paritäten gibt. Dies zeigt sich auch in einer Studie von Gründl, in der ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem PCV2-Nachweis und der Parität erkennbar war (Eddicks et al. 2023). Im Gegensatz dazu unterstützen Ergebnisse eine Studie aus dem Jahr 2018 die Annahme, dass vorwiegend Jungsauen mit PCV2 assoziiert sind (Eddicks et al. 2019). Hier wurde ein Bestand, welche noch keine Impfung gegen PCV2 implementiert hat, untersucht und es konnte gezeigt werden, dass Jungsauen signifikant höhere Nachweishäufigkeiten von PCV2-DNA haben als Altsauen (Eddicks et al. 2019). Diese Ergebnisse würden die These unterstützen, dass sich mit der Impfung der Jungsauen die Infektionsdynamik verschiebt. Da in diesem Studienbetrieb keine Impfung durchgeführt wurde, beschränkt sich die Eintragungshäufigkeit

hauptsächlich auf die Jungsauen (Eddicks et al. 2019). Auch bei Pittman (2008) und Oropeza-Moe et al. (2017) sind vor Allem Jungsauen von PCV2-bedingten Reproduktionsstörungen betroffen (Pittman 2008, Oropeza-Moe et al. 2017). Hier war jedoch unklar, ob die klinischen Erscheinungen mit Einführung von nicht-immunen Jungsauen in die Herde zusammenhängt oder möglicherweise ein neuer PCV2-Stamm ursächlich war. Eine Impfung war anfänglich nicht im Bestand implementiert, wurde jedoch auf Grund von Management-Maßnahmen eingeführt. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstützen somit die Theorie der Verschiebung der Infektionsdynamik und des Infektionszeitpunktes in der Herde im Zusammenhang mit einer Impfung der Jungsauen. Eine mögliche Anpassung des Managements bei PCV2-bedingten Reproduktionsstörungen im Bestand wäre somit die Impfung auf alle Sauen auszuweiten, um nicht nur die Jungsauen vor einer klinischen Erkrankung zu schützen, sondern auch die Immunität der Altsauen weiter aufrechtzuerhalten.

2.6. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Muttersau

Bei PCV2-bedingten klinischen Erkrankungen wie Reproduktionsstörungen in Beständen hat sich vor Allem die Impfung der Jungsauen etabliert (Madson and Opriessnig 2011, Segalés 2015). Eine Impfung gegen PCV2 ist ein bewährtes Mittel gegen klinische Erkrankungen durch PCV2 (Martelli et al. 2011) und führt neben einer Verkürzung der virämischen Phase und der Herabsenkung der Viruslast im Blut (Kixmüller et al. 2008) auch zu einer Reduktion der Virusausscheidung über Se- und Exkrete (Gerber et al. 2011). In vorliegender Studie war der Anteil von Beständen, die nur ihre Jungsauen impfen bei 48,1%, weniger etabliert ist die Impfung des kompletten Bestandes bzw. sowohl der Jungsauen als auch der Sauen (18,5%). Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse ergab keine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und dem Impfregime des Bestandes, jedoch konnte eine signifikante Assoziation mit dem Ct-Wert ermittelt werden. Von

Beständen, welche nur die Jungsauen impfen, waren 31,1% der Föten PCV2-DNA positiv, aus Beständen, welche keine Impfung durchführen, waren 19,4% der Föten positiv. Der Mittelwert der Ct-Werte von Jungsauen-Impfbeständen lag bei 31,35, der von Beständen ohne Impfung bei 24,44. Die Ergebnisse zeigen deutlich, inwieweit eine Impfung der Muttersauen aller Paritäten der Herde einen Schutz gegen PCV2-bedingte Reproduktionsstörungen bietet, hier konnte in keiner Probe dieser Bestände PCV2-DNA nachgewiesen werden. Dies konnte auch in anderen Studien gezeigt werden (Oropeza-Moe et al. 2017, Eddicks et al. 2022, Eddicks et al. 2023). Eine diaplazentare Infektion von Föten kann jedoch durch eine Impfung nicht gänzlich verhindert werden und kann auch ohne klinische Anzeichen auftreten (Madson et al. 2009a, Gerber et al. 2012). Da in der vorliegenden Untersuchung ausschließlich Würfe mit bereits vorhandenen klinischen Anzeichen in Form von SMEDI zur Beprobung eingesandt wurden, kann kein Vergleich in Form einer Negativkontrolle zu klinisch unauffälligen Würfen gemacht werden. Die deutlich niedrigeren Ct-Werte bei Proben von ungeimpften Muttersauen lassen sich dadurch erklären, dass eine Impfung, wie bereits erwähnt, zur Senkung der Viruslast im Blut führt (Kixmüller et al. 2008). Bestände, welche nicht impfen, weil sie in der Regel kein PCV2-Problem haben, weisen daher im Seuchenfall deutlich niedrigere Ct-Werte auf. Dennoch kann eine Infektion trotz Impfung nicht vollständig verhindert werden (Gerber et al. 2012), allerdings weisen PCV2-positive Proben aus Beständen mit Jungsauenimpfung höhere Ct-Werte auf. 85% der Muttersauen von den 20 positiven Würfen waren Altsauen, davon stammten 70% aus Beständen, welche nur die Jungsauen impfen. Die restlichen Altsauen stammen aus Beständen, welche keine Impfung durchführen. Wie oben bereits erwähnt könnte sich der Nachweis von PCV2-DNA trotz Impfung der Jungsauen in den Beständen dadurch erklären lassen, dass sich bei einer Impfung, welche sich auf die Jungsauen beschränkt, die Infektionsdynamik auf die Altsauen verschiebt (Segalés and Sibila 2022), was auch zu den vorliegenden Ergebnissen passen würde. Demnach ließe sich vermuten, dass es bei den betroffenen Altsauen zu einer Reinfektion auf Grund eines niedrigen Immunitätsniveau durch fehlender Auseinandersetzung mit PCV2

(Segalés and Sibila 2022) kommt. Dass die Impfung dennoch sinnvoll ist und der Schutzfaktor plausibel erscheint, zeigen die vorliegenden Ergebnisse dennoch deutlich. Wie bereits erwähnt gab es keine PCV2-DNA-Nachweise aus Beständen, die alle Muttersauen inklusive der Jungsauen impfen und die Impfung nicht nur auf die Jungsauen beschränken. Die positiven Proben von ungeimpften Altsauen lassen auf ein bisher nicht berücksichtigtes Problem mit PCV2 schließen, weshalb bisher auch keine Impfung im Bestand implementiert ist. Die Einführung einer Impfung gegen PCV2 wäre in diesen Beständen allerdings zu empfehlen.

2.7. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Jungsauen - Quarantäne

Die Durchführung einer Jungsauen-Quarantäne bei Zukauf von bestandsfremden Jungsauen hat sich als Managementfaktor für die Biosicherheit des Bestandes etabliert (Bernaerdt et al. 2021, Ryt-Hansen et al. 2022). In der statistischen Auswertung der vorliegenden Ergebnisse konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und dem Vorhandensein einer Jungsauen-Quarantäne gezeigt werden. In den untersuchten Proben wurde in 28,5% der Bestände, welche eine Jungsauen-Quarantäne durchführen, PCV2-DNA nachgewiesen, wohingegen nur 6,9% der Bestände ohne Jungsauen-Quarantäne PCV2-DNA-positiv waren. Eine mögliche Erklärung könnte der Aspekt Zukauf von Jungsauen sein. In der vorliegenden Untersuchung wird angenommen, dass die Bestände, welche Jungsauen-Quarantäne durchführen, neue bestandsfremde Jungsauen zukaufen und nicht ausschließlich Eigenremontierung betreiben. In der Literatur geht man davon aus, dass vorwiegend neugebildete Herden und seronegative Bestände von Reproduktionsstörungen durch PCV2 betroffen und Jungsauen als Haupteintragsquelle für PCV2 gelten und auch einen möglichen Neueintrag von PCV2d in endemische Herden verursachen (Pensaert et al. 2004, Opriessnig et al. 2007, Oropeza-Moe et al. 2017, Eddicks et al. 2019). Werden immer wieder neue Jungsauen in eine stabile Herde eingebracht, würden diese Faktoren eine Rolle spielen. Die

Annahme, dass Jungsauen von Bedeutung sind, bestätigt sich auch bei anderen Studien. Bei Shibata et al. (2003) wurden Blut, Kot und Nasentupfer von Schweinen verschiedener Altersgruppen untersucht und eine Prävalenz ermittelt. Tiere im Alter von drei bis sechs Monaten zeigten im Vergleich zu älteren Sauen eine deutlich höhere PCV2-DNA Nachweisrate in allen drei Untersuchungsmaterialien (Shibata et al. 2003). Eine weitere Studie, welche die hier gezeigten Ergebnisse unterstützt, wurde von Eddicks et al. (2019) publiziert. Hier gab es signifikant höhere PCV2-DNA Nachweise in Speichel und Kot von Jungsauen in der Quarantäne des Bestandes, als in anderen Gruppen (Eddicks et al. 2019). Dies zeigt, dass PCV2-DNA besonders über Speichel und Kot von Jungsauen in der Quarantäne ausgeschieden und verstärkt in die Stammherde eingetragen wird. Durch subklinisch infizierte Jungsauen kann es durchaus zum vermehrten Viruseintrag in gesunde Herden kommen (Rincón Monroy et al. 2015). Eine Übertragung und nachfolgende Infektion von PCV2 über nasale oder fäkale Sekrete ist nach Patterson et al. (2011) möglich. Berücksichtigt man dazu außerdem den Aspekt der Verschiebung der Infektionsdynamik bei ausschließlicher Impfung der Jungsauen eines Bestandes (Segalés and Sibila 2022), wie oben bereits erwähnt, würde dies die Tatsache der signifikant häufigeren PCV2-DNA-Nachweise aus Beständen mit Jungsauen-Quarantäne ebenfalls erklären. Bei den Altsauen kommt es durch den Neueintrag von bestandsfremden Jungsauen zu einer Reinfektion und zu klinischen Erscheinungen. Aufgrund der hier gezeigten Ergebnisse, dass aus Beständen, welche nicht nur die Jungsauen, sondern auch die Altsauen impfen, kein PCV2-DNA-Nachweis erfolgen konnte, empfiehlt sich als mögliche Verbesserung des Managements die Anpassung des Impfregimes.

2.8. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben in Abhängigkeit von der Bestandsgröße

Die Bestandsgröße wird in der Literatur als wichtiger Faktor für den Einfluss auf das Infektionsgeschehen in Beständen diskutiert (Bäckström 1973, Lindqvist 1974, Willeberg et al. 1994, Gardner et al. 2002,

Mortensen et al. 2002). Auch in der vorliegenden Untersuchung konnte in der statistischen Auswertung der Ergebnisse sowohl eine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und der Bestandsgröße gezeigt werden als auch zwischen der Viruslast und den verschiedenen Bestandsgrößen. Je größer die Bestände waren, desto häufiger konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden (Bestand ≤ 300 Sauen: 12% PCV2-DNA-positiv; Bestand: 300-900 Sauen: 17,3% PCV2-DNA-positiv; Bestand >900 Sauen: 37,3% PCV2-DNA-positiv). Die Ct-Werte sind im Mittel bei kleineren Beständen jedoch niedriger (Bestand ≤ 300 Sauen: Ct-Mittelwert 21,5; Bestand: 300-900 Sauen: Ct-Mittelwert 32,6; Bestand >900 Sauen: Ct-Mittelwert 30,87). Die möglichen Gründe für einen Zusammenhang von Infektionen mit verschiedenen Bestandsgrößen werden bis dato selten diskutiert. Es gibt jedoch einige Punkte, die anhand der vorliegenden Ergebnisse betrachtet werden können. Um die Auswirkungen des Zukaufs von Jungsauen auf die Herde zu bestimmen, haben Marchevsky et al. (1989) gezeigt, dass das Risiko (P), mindestens eine infizierte Jungsau im Zukauf zu haben, wie folgt ist: $P = 1 - (1-p)^n$, wobei n die Anzahl der zugekauften Jungsauen und p die Prävalenz des Infektionserregers in der Ausgangspopulation ist. Diese Gleichung wurde auch von anderen Autoren benutzt und weiter modifiziert (Thorburn et al. 1991). Auch in den vorliegenden Ergebnissen zeigt sich, dass kleinere Bestände (≤ 300 Sauen) weniger häufig Sauen zukaufen als größere Bestände (>900 Sauen). In den Beständen mit maximal 300 Sauen haben nur etwa die Hälfte (45,9%) Jungsauen zugekauft, wohingegen in Beständen mit mehr als 900 Sauen knapp 82% bestandsfremde Jungsauen zugekauft werden. Eine höhere Rate an Jungsauen Zukäufen in größeren Beständen wäre demnach also auch eine mögliche Begründung für den häufigeren Nachweis von PCV2-DNA in größeren Beständen. Des Weiteren wurde die aerogene Ausbreitung von Infektionserregern als Risiko in größeren Beständen festgestellt (Henningsen et al. 1988). Zur Nähe der untersuchten Bestände zu möglichen anderen Beständen gibt es jedoch in vorliegender Studie keine Informationen. Zur Erregerübertragung innerhalb der Herde gibt es verschiedene Annahmen: Faktoren sind die Infektiosität des infizierten Tieres, die Quantität und Qualität des übertragenen Erregers, sowie die

Anfälligkeit der nicht-infizierten Tiere (Koopman and Longini Jr 1994, Stegeman et al. 1999). Auch für diesen Zusammenhang wurde eine Gleichung implementiert, welche aus Gründen der Einfachheit nicht in die vorliegende Diskussion mitaufgenommen wird. Es zeigt sich aber, dass das Auftreten einer Infektion von der Zahl der empfänglichen Schweine und der Kontaktrate abhängt, welche in der Regel in größeren Beständen höher ist, wie die Ergebnisse widerspiegeln. Ein wichtiger Faktor, der dieses Risiko jedoch minimiert, ist die Impfung. In Schweinebeständen stehen Managementfaktoren oft in Zusammenhang mit der Herdengröße, zum Beispiel All-In-, All-Out-Produktionssysteme, Automatisierung oder der Einsatz von Leiharbeitern (Pointon et al. 1985). Managementmaßnahmen wie Impfungen unterscheiden sich meistens ebenfalls zwischen den verschiedenen Bestandsgrößen (Svensmark et al. 1989, Siegel et al. 1993). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass in Beständen ≤ 300 Sauen zur Hälfte (53,5%) keine Impfungen durchgeführt werden und in Beständen > 900 Sauen in 78,8% die Jungsauen und in 2,4% die Jung- und Altsauen geimpft werden. Dies würde erklären, wieso die Ct-Werte in Beständen ≤ 300 Sauen signifikant niedriger sind als in Beständen > 900 Sauen, da eine Impfung die Viruslast senkt (Kixmüller et al. 2008) und die Virusausscheidung reduziert (Gerber et al. 2011). Zu anderen Managementfaktoren wie Produktionssysteme oder Arbeitsweisen der in die Untersuchung eingeschlossenen Bestände liegen keine weiteren Informationen vor.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

“Nachweis von porzinem Teschovirus und Genotypen des porzinen Circovirus 2 aus diagnostischen Einsendungen in Fällen von stillbirth, mummification, embryonic death und infertility (SMEDI) syndrome”

Der Begriff “SMEDI“-Syndrom steht für *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (Embryonaler Tod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) *syndrome*. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollte überprüft werden, ob das porzine Teschovirus, welches in der Hausschweinepopulation als weit verbreitet und laut einzelner Literaturnachweise mit SMEDI assoziiert gilt, in den hier untersuchten Fällen von SMEDI nachgewiesen werden kann. Zudem sollte untersucht werden, ob PCV2d als der, in der Hausschweinepopulation dominierende Genotyp, auch in SMEDI-Fällen häufiger nachzuweisen ist, als die anderen als „*major genotypes*“ bezeichneten Genotypen PCV2a und PCV2b. Dazu wurden Gewebepoolproben von insgesamt 209 Föten, die mittels systemic random sampling aus einer Gesamtheit von 471 Föten ausgewählt wurden, in die Studie eingeschlossen. Die Föten stammten aus insgesamt 53 Würfe von 27 Bestände. Die Gewebepoolproben setzten sich aus Thymus-, Herzmuskel-, Lungen-, Leber- und Darmgewebe zusammen und wurden mittels PCR auf PTV-RNA und PCV2-DNA sowie PCV2-Genotypen untersucht. Vier Gewebepoolproben konnten in der Genotypisierung keinem eindeutigen Genotyp zugeordnet werden. Bei diesen Proben konnte mittels zusätzlicher Sequenzierung des PCV2-Genoms ein Genotyp festgestellt werden.

In der vorliegenden Studie konnte in keiner der 209 fötalen Gewebepoolproben RNA des porzinen Teschovirus nachgewiesen werden. PCV2-DNA konnte in 40,7% (11/27) der Bestände, 37,7% (20/53) der Würfe und 21,1% (44/209) Ferkel detektiert werden. Die Untersuchung der PCV2-positiven Proben auf PCV2-Genotypen ergab folgende Ergebnisse: PCV2d konnte in 90,9% (10/11) der positiven Bestände, 85% (17/20) der positiven Würfe und 90,9% (40/44) der

positiven Ferkel nachgewiesen werden. Eine Koinfektion mit den Genotypen PCV2a und PCV2d wurde in einer Probe (9,1% (1/11) der positiven Bestände, 5% (1/20) der positiven Würfe und 2,3% (1/44) der positiven Ferkel) gezeigt. Der Genotyp PCV2b wurde in keiner der untersuchten Proben nachgewiesen. Des Weiteren wurden die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der fötalen Gewebepoolproben nach verschiedenen Parametern ausgewertet. Hinsichtlich des Phänotyps der Föten, Parität und Impfstatus der Muttersauen der Föten gab es keine signifikanten Assoziationen mit dem Nachweis von PCV2-DNA. Bei Untersuchung der Parameter Jungsau-Quarantäne und Bestandsgrößen im Vergleich konnte jedoch signifikant häufiger PCV2-DNA in Proben aus Beständen mit Jungsau-Quarantäne und, beim Vergleich von Bestandsgröße ≤ 300 Sauen mit Bestandsgröße > 900 Sauen, in Beständen mit > 900 Sauen nachgewiesen werden. In Bezug auf die Viruslast in den fötalen Gewebepoolproben gab es signifikant niedrigere Ct-Werte bei Proben ungeimpfter Sauen als bei geimpften Sauen und signifikant niedrigere Ct-Werte bei Proben aus Beständen mit ≤ 300 Sauen als bei Beständen mit 300-900 Sauen oder > 900 Sauen.

In der vorliegenden Untersuchung konnte das porcine Teschovirus in keinem der untersuchten SMEDI-assoziierten Föten nachgewiesen werden. Es ist denkbar, dass die ubiquitäre Verbreitung des porcinen Teschovirus in den Altersstufen der Aufzucht und Mast eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Immunisierung der Hausschweinepopulation spielt. Eine mögliche Erklärung wäre, dass Jungsau bereits in der Aufzucht über den Kot und die Umgebung mit PTV infiziert werden und sich bis zum Zeitpunkt der ersten Belegung bzw. auch bei späteren Belegungen eine ausreichende Immunität aufbaut, so dass die Feten nicht mehr der Gefahr einer diaplazentaren Infektion ausgesetzt werden. Des Weiteren könnte es sein, dass die Viruslast in den Proben so gering war, dass die RNA nicht nachgewiesen werden konnte. Dies würde jedoch darauf hinweisen, dass die klinische Relevanz einer so geringen Viruslast zumindest als fraglich angesehen werden kann.

Es bestätigte sich jedoch, dass PCV2d als der, in der Hausschweinepopulation dominierende Genotyp, auch in SMEDI-Fällen häufiger nachzuweisen ist, als die anderen als „*major genotypes*“ bezeichneten Genotypen PCV2a und PCV2b. Möglicherweise ist der noch andauernde Genotypenshift von PCV2d in deutschen Hausschweinepopulationen die Ursache für die hohe Nachweisrate von PCV2d bzw. die niedrige Nachweisrate von PCV2a und das Fehlen von PCV2b. Eine in der Vergangenheit hohe Durchseuchung mit PCV2a oder PCV2b hatte möglicherweise eine stabile immunologische Situation in den Sauenherden geschaffen. Möglicherweise gibt es auch Unterschiede in der Virulenz der verschiedenen Genotypen, weshalb sich der Genotyp d mittlerweile auch bei Reproduktionsstörungen, hier insbesondere SMEDI, durchsetzt und dominiert.

VII. SUMMARY

"Detection of porcine teschovirus and porcine circovirus 2 genotypes from diagnostic submissions in cases of stillbirth, mummification, embryonic death and infertility (SMEDI) syndrome"

The term "SMEDI"-syndrome stands for stillbirth, mummification, embryonic death and infertility syndrome. The aim of the present study was to investigate whether porcine teschovirus, which is considered to be widespread in the domestic pig population and associated with SMEDI according to individual literature reports, can be detected in the cases of SMEDI investigated here. In addition, it should be investigated whether PCV2d, as the dominant genotype in the domestic pig population, is also detected more frequently in SMEDI cases than the other genotypes PCV2a and PCV2b, which are referred to as "major genotypes". Tissue pool samples from a total of 209 foetuses, which were selected by systemic random sampling from a total of 471 foetuses, were included in the study. The foetuses came from a total of 53 litters from 27 herds. The tissue pool samples consisted of thymus, heart muscle, lung, liver and intestinal tissue and were analysed for PTV RNA and PCV2 DNA as well as PCV2 genotypes using PCR. Four tissue pool samples could not be assigned a clear genotype in the genotyping. A genotype could be determined for these samples by additional sequencing of the PCV2 genome.

In the present study, RNA of porcine teschovirus could not be detected in any of the 209 foetal tissue pool samples. PCV2 DNA was detected in 40.7% (11/27) of the herds, 37.7% (20/53) of the litters and 21.1% (44/209) of the piglets. The analysis of the PCV2 positive samples for PCV2 genotypes yielded the following results: PCV2d could be detected in 90.9% (10/11) of the positive herds, 85% (17/20) of the positive litters and 90.9% (40/44) of the positive piglets. Co-infection with the PCV2a and PCV2d genotypes was detected in one sample (9.1% (1/11) of the positive herds, 5% (1/20) of the positive litters and 2.3% (1/44) of the positive piglets). The PCV2b genotype was not detected in any of the

samples analysed. Furthermore, the results of the molecular biological examination of the foetal tissue pool samples were evaluated according to various parameters. With regard to the phenotype of the foetuses, parity and vaccination status of the dams of the foetuses, there were no significant associations with the detection of PCV2 DNA. However, when analysing the parameters gilts - quarantine and herd size in comparison, PCV2 DNA was detected significantly more frequently in samples from herds with gilts - quarantine and, when comparing herd size ≤ 300 sows with herd size > 900 sows, in herds with > 900 sows. In terms of viral load in the foetal tissue pool samples, there were significantly lower Ct values in samples from unvaccinated sows than in vaccinated sows and significantly lower Ct values in samples from herds with ≤ 300 sows than in herds with 300 - 900 sows or > 900 sows.

In the present study, porcine teschovirus could not be detected in any of the SMEDI-associated foetuses examined. It is conceivable that the ubiquitous spread of porcine teschovirus in the rearing and fattening stages plays a role in the immunisation of the domestic pig population that should not be underestimated. One possible explanation would be that gilts are already infected with PTV during rearing via the faeces and the environment and that sufficient immunity builds up by the time of the first mating or even during later mating, so that the foetuses are no longer exposed to the risk of diaplacental infection. Furthermore, it could be that the viral load in the samples was so low that the RNA could not be detected. However, this would indicate that the clinical relevance of such a low viral load can at least be considered questionable.

However, it was confirmed that PCV2d, as the dominant genotype in the domestic pig population, is also detected more frequently in SMEDI cases than the other genotypes PCV2a and PCV2b, which are referred to as "major genotypes". It is possible that the ongoing genotype shift of PCV2d in German domestic pig populations is the reason for the high detection rate of PCV2d or the low detection rate of PCV2a and the absence of PCV2b. A high level of PCV2a or PCV2b infestation in the past may have created a stable immunological situation in the sow herds. It is also possible that there are differences in the virulence of the various

genotypes, which is why genotype d now also prevails and dominates in reproductive disorders, particularly SMEDI.

VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Korrelation von Scheitel – Steiß – Länge und Alter der Föten nach Evans & Sack (1973) modifiziert.</i>	<i>7</i>
<i>Tabelle 2: Anzahl (n) eingesandter Föten, Würfe und Bestände pro Bundesland (2021 – 2023).</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 3: Konzept zur Auswahl des Fötus – Angabe des ersten eingeschlossenen Fötus.</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 4: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PCV2.</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 5: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis PCV2-spezifischer Genomfragmente.</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 6: Temperaturprotokoll der RT - qPCR zum Nachweis von PTV.</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 7: Einteilung der untersuchten Föten (n = 209) in Relation zu Föten gesamt (n = 476) nach Phänotyp und geschätztem Alter in absolute und relative Häufigkeiten.</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 8: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Bestände und Föten nach Bundesland.</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeiten der Bestände (n = 27) unterteilt in die Bestandsgröße und Durchführung von PCV2 - Impfung bei Jung- und Altsauen.</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 10: Einteilung der Bestände (n = 27) und Sauen (n = 53) nach den verschiedenen Reproduktionsparametern der Betriebe und der Bestandsgrößen in absolute und relative Häufigkeiten.</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 11: Einteilung der Sauen nach Parität in absolute und relative Häufigkeiten.</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 12: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Föten (n = 209) und der gesamten Föten (n = 476) aufgeteilt auf die jeweilige Parität der Muttersau.</i>	<i>43</i>
<i>Tabelle 13: Absolute und relative Häufigkeiten der untersuchten Föten (n = 209) und der einzelnen Phänotypen unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.</i>	<i>44</i>
<i>Tabelle 14: Vorkommen von PCV2 und PTV in den untersuchten Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten.</i>	<i>46</i>

<i>Tabelle 15: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabelle 16: Anteile von PCV2 - Genotypen an den positiven Proben auf Bestands-, Wurf- und Fötenebene in absoluten und relativen Häufigkeiten</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 17: Vorkommen von PCV2 in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die vier verschiedenen Phänotypen.</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 18: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die vier verschiedenen Phänotypen.</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 19: Vorkommen von PCV2 - DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die verschiedenen Paritäten.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabelle 20: Vorkommen von PCV2-Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf die verschiedenen Paritäten.....</i>	<i>51</i>
<i>Tabelle 21: Vorkommen von PCV2-DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 22: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten unterteilt in die vier Gruppen je nach Impfschema des Bestandes.</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 23: Vorkommen von PCV2 - DNA in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf das Vorhandensein einer Jungsauen - Quarantäne in den Beständen.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 24: Vorkommen von PCV2 - Genotypen in den untersuchten Gewebepoolproben in absoluten und relativen Häufigkeiten aufgeteilt auf das Vorhandensein einer Jungsauen - Quarantäne in den Beständen.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 25: Anteil der PCV2-DNA-Nachweise an den verschiedenen Gruppen der Bestandsgrößen.</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 26: Anteil der PCV2 - Genotypen an den verschiedenen Gruppen der Bestandsgrößen.</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 27: Statistische Auswertung unabhängiger Variablen in Bezug auf</i>	

<i>den Nachweis von PCV2 - DNA.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 28: Statistische Auswertung von abhängigen Variablen auf Föten-, Wurf- und Bestandsebene in Bezug auf den Nachweis von PCV2 - DNA.</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 29: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Phänotyp des Fötus.</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 30: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Phänotyp des Fötus.</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 31: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Paritäten der Muttersauen.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabelle 32: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Paritäten der Muttersauen.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 33: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Impfschema der Bestände.</i>	<i>62</i>
<i>Tabelle 34: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Impfschema der Bestände.</i>	<i>62</i>
<i>Tabelle 35: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Jungsaunen Quarantäne der Bestände.</i>	<i>63</i>
<i>Tabelle 36: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Jungsaunen Quarantäne der Bestände.</i>	<i>63</i>
<i>Tabelle 37: Ct - Werte von PCV2 im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Bestandsgröße.</i>	<i>64</i>
<i>Tabelle 38: Ct - Werte von PCV2d im Median (Md) mit Standardabweichung (StabW) und Mittelwert nach Bestandsgröße.</i>	<i>64</i>
<i>Tabelle 39: Ferkel eingeschlossen.....</i>	<i>123</i>

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Beispielhafte Fotodokumentation von SMEDI-Würfen. Bild: Klinik für Schweine, LMU.....</i>	<i>4</i>
<i>Abbildung 2: Übersicht über die Folgen einer intrauterinen Infektion der Ferkel in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt und Entwicklungsstadium der Föten, nach (Plonait and Bickhardt 2004).....</i>	<i>5</i>
<i>Abbildung 3: Entwicklung von PCV und den Genotypen-Shifts von PCV2 über die vergangenen Jahre; Bild: Matthias Eddicks, Klinik für Schweine</i>	<i>9</i>
<i>Abbildung 4: Fotodokumentation der SMEDI-Würfe; Bild: Klinik für Schweine, LMU München. Beschriftung von oben nach unten: Nummer Bestand.Wurf.Ferkelnummer, Gewicht (g), Größe (cm).....</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 5: Kategorisierung der verschiedenen Phänotypen.....</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 6: Beispiel – Auswahl der Föten für die molekularbiologische Untersuchung. Bild: (Gründl 2023).....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 7: Anzahl der Würfe (n = 53) und die jeweilige Trächtigkeitsdauer (d).</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 8: Darstellung der Wurfgröße mit Anzahl der Föten.....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 9: Anteil der vier Phänotypen an der Gesamtpopulation sowie an der Studienpopulation.</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 10: Darstellung des Gewichts (g) und des geschätzten Alters der untersuchten Föten (n = 209) nach Evans&Sack (1973) modifiziert, unterteilt in die vier Phänotypen.</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 11: Darstellungen des Gewichts (g) und des geschätzten Alters der untersuchten Föten (n = 209) nach Evans&Sack (1973) modifiziert, abhängig vom phänotypischen Erscheinungsbild.</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 12: Verteilung der Phänotypen je nach Impfschema des Bestandes.</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 13: Vorkommen von PCV2-DNA in den vier verschiedenen Phänotypen.....</i>	<i>49</i>
<i>Abbildung 14: Boxplot mit PCV2 - Ct - Werten von DNA - positiven Proben je nach Phänotyp des Fötus.</i>	<i>58</i>
<i>Abbildung 15: Boxplot mit PCV2d - Ct - Werten von DNA - positiven Proben je nach Phänotyp des Ferkels.....</i>	<i>59</i>

X. LITERATURVERZEICHNIS

Allan G and Ellis J (2000). Porcine circoviruses: a review. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 12(1): 3-14.

Althouse G, Kauffold J and Rossow S (2019). Diseases of the Reproductive System. *Diseases of swine*. J. Zimmerman, L. Karriker, A. Ramirez, K. Schwartz and G. Stevenson. New Jersey, USA, John Wiley & Sons. eleventh edn. : 373-392.

Bäckström L (1973). Environment and animal health in piglet production. A field study of incidences and correlations. Denmark, Stockholm.

Balash M, Segales J, Rosell C, Domingo M, Mankertz A, Urniza A and Plana-Duran J (1999). Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of comparative pathology* 121(2): 139-148.

Barlow A (1998). A guide to the investigation of porcine abortion/stillbirth. *In Practice* 20(10): 559-564.

Baró J, Segalés J and Martínez J (2015). Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: an independent condition or part of the systemic disease? *Veterinary microbiology* 176(1-2): 83-87.

Bassami M, Berryman D, Wilcox G and Raidal S (1998). Psittacine beak and feather disease virus nucleotide sequence analysis and its relationship to porcine circovirus, plant circoviruses, and chicken anaemia virus. *Virology* 249(2): 453-459.

Baxter E, Jarvis S, D'eath R, Ross D, Robson S, Farish M, Nevison I, Lawrence A and Edwards S (2008). Investigating the behavioural and physiological indicators of neonatal survival in pigs. *Theriogenology* 69(6): 773-783.

Beisl M (2020). Randomisierte Querschnittsuntersuchung über die Prävalenz des porcinen Circovirus Typ 2 und zugehöriger Genotypen in deutschen Schweinemastbeständen mittels Oral Fluids, Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Bernaerdt E, Dewulf J, Verhulst R, Bonckaert C and Maes D (2021). Purchasing policy, quarantine and acclimation practices of breeding gilts in Belgian pig farms. *Porcine Health Management* 7(1): 1-11.

Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GP and Hamel AL (2001). Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 13(3): 185-194.

Boros A, Nemes C, Pankovics P, Kapusinszky B, Delwart E and Reuter G (2012). Porcine teschovirus in wild boars in Hungary. *Archives of virology* 157(8): 1573-1578.

Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F and Schönheit J (2007). Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 19(4): 368-375.

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

Calsamiglia M, Olvera A, Segalés J and Domingo M (2004). Quantification of PCV2 in different routes of excretion: possible transmission routes and correlation with presence of PMWS characteristic lesions. *Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress, Hamburg.2004*

Camenisch U, Lu Z, Vaughan L, Pospischil A, Sydler T, Corboz L, Wittenbrink M and Zimmermann D (2004). Diagnostic investigation into the role of Chlamydiae in cases of increased rates of return to oestrus in pigs. *The Veterinary Record* 155(19): 593-596.

Cano-Gomez C, Fernandez-Pinero J, Garcia-Casado MA, Zell R and Jimenez-Clavero MA (2017). Characterization of PTV-12, a newly described porcine teschovirus serotype: in vivo infection and cross-protection studies. *The Journal of general virology* 98(7): 1636-1645.

Cao L, Sun W, Lu H, Tian M, Xie C, Zhao G, Han J, Wang W, Zheng M and Du R (2018). Genetic variation analysis of PCV1 strains isolated from Guangxi Province of China in 2015. *BMC Veterinary Research* 14(1): 1-11.

Carman S, Cai HY, DeLay J, Youssef SA, McEwen BJ, Gagnon CA, Tremblay D, Hazlett M, Lulis P and Fairles J (2008). The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated disease 2004-2006. *Canadian Journal of Veterinary Research* 72(3): 259.

Chiu S-C, Hu S-C, Chang C-C, Chang C-Y, Huang C-C, Pang VF and Wang F-I (2012). The role of porcine teschovirus in causing diseases in endemically infected pigs. *Veterinary microbiology* 161(1): 88-95.

Chiu S-C, Yang C-L, Chen Y-M, Hu S-C, Chiu K-C, Lin Y-C, Chang C-Y and Wang F-I (2014). Multiple models of porcine teschovirus pathogenesis in endemically infected pigs. *Veterinary microbiology* 168(1): 69-77.

Christianson WT (1992). Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 8(3): 623-639.

Davies B, Wang X, Dvorak CM, Marthaler D and Murtaugh MP (2016). Diagnostic phylogenetics reveals a new Porcine circovirus 2 cluster. *Virus research* 217: 32-37.

Derbyshire J and Arkell S (1971). The activity of some chemical disinfectants against Talfan virus and porcine adenovirus type 2. *The British veterinary journal* 127(3): 137-142.

Dias A, Gerber PF, Araujo A, Auler P, Gallinari G and Lobato Z (2013). Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Research in Veterinary Science* 94(2): 341-345.

Drolet R, Sylvie D, Thomson JR and Done SH (1999). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. *Journal of Swine Health and Production* 7(6): 283-285.

Dunne H, Gobble J, Hokanson J, Kradel D and Bubash G (1965). Porcine reproductive failure associated with a newly identified " SMEDI" group of picorna viruses. *American journal of veterinary research* 26(115): 1284-1297.

Dupont K, Nielsen E, Baekbo P and Larsen L (2008). Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Veterinary microbiology* 128(1-2): 56-64.

Dvorak CM, Lilla MP, Baker SR and Murtaugh MP (2013). Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Veterinary microbiology* 166(3-4): 365-374.

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

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

Eddicks M and Fux R (2017). Porzine Circoviren - ein Update. *Der praktische Tierarzt* 98: 357-368.

Eddicks M, Fux R, Szikora F, Eddicks L, Majzoub-Altweck M, Hermanns W, Sutter G, Palzer A, Banholzer E and Ritzmann M (2015). Detection of a new cluster of porcine circovirus type 2b strains in domestic pigs in Germany. *Veterinary microbiology* 176(3-4): 337-343.

Eddicks M, Gründl J, Seifert A, Eddicks L, Reese S, Tabeling R, Swam H, Strutzberg-Minder K, Ritzmann M and Fux R (2023). Examination on the Occurrence of Coinfections in Diagnostic Transmittals in Cases of Stillbirth, Mummification, Embryonic Death, and Infertility (SMEDI) Syndrome in Germany. *Microorganisms* 11(7): 1675.

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

Eddicks M, Maurer R, Deffner P, Eddicks L, Sipos W, Reese S, Cvjetković V, Krejci R, Opriessnig T and Ritzmann M (2022). Cross-Sectional Study on the Prevalence of PCV Types 2 and 3 DNA in Suckling Piglets Compared to Grow-Finish Pigs in Downstream Production. *Pathogens* 11(6): 671.

Ellis J, Krakowka S, Lairmore M, Haines D, Bratanich A, Clark E, Allan G, Konoby C, Hassard L and Meehan B (1999). Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 11(1): 3-14.

Evans H and Sack W (1973). Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Zentralblatt für Veterinärmedizin C* 2(1): 11-45.

Fenaux M, Opriessnig T, Halbur P and Meng X (2003). Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV2) and nonpathogenic PCV1 in weanling pigs. *Journal of virology* 77(20): 11232-11243.

Feng H, Blanco G, Segalés J and Sibila M (2014). Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Veterinary microbiology* 172(1-2): 92-99.

Forman A, Pass D and Connaughton I (1982). The characterisation and pathogenicity of porcine enteroviruses isolated in Victoria. *Australian veterinary journal* 58(4): 136-142.

Franzo G, Cortey M, Olvera A, Novosel D, De Castro AMMG, Biagini P, Segalés J and Drigo M (2015). Revisiting the taxonomical classification of Porcine Circovirus type 2 (PCV2): still a real challenge. *Virology Journal* 12(1): 1-8.

Franzo G and Segalés J (2018). Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS one* 13(12): e0208585.

Franzo G and Segalés J (2020). Porcine circovirus 2 genotypes, immunity and vaccines: Multiple genotypes but one single serotype. *Pathogens* 9(12): 1049.

Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne M-H, Houde A and Elahi SM (2007). The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 48(8): 811.

Gardner IA, Willeberg P and Mousing J (2002). Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Animal Health Research Reviews* 3(1): 43-55.

Geng S-c, Li X-l and Fang W-h (2020). Porcine circovirus 3 capsid protein induces autophagy in HEK293T cells by inhibiting phosphorylation of the mammalian target of rapamycin. *Journal of Zhejiang University. Science. B* 21(7): 560.

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

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AM and Lobato ZI (2012). Fetal infections and antibody profiles in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Canadian Journal of Veterinary Research* 76(1): 38-44.

Givens MD and Marley M (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology* 70(3): 270-285.

Gründl J (2023). Nachweis von (Ko-) Infektionen mit dem Porzinen Parvovirus, Porzinen Circovirus Typ 2 und Porzinen Circovirus Typ 3 in Fällen von stillbirth, mummification, embryonic death und infertility (SMEDI) syndrome, Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Guo LJ, Lu YH, Wei YW, Huang LP and Liu CM (2010). Porcine circovirus type 2 (PCV2): genetic variation and newly emerging genotypes in China. *Virology Journal* 7(1): 1-12.

Ha Y, Lee Y, Ahn K-K, Kim B and Chae C (2008). Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Veterinary pathology* 45(6): 842-848.

Hamel AL, Lin LL and Nayar GP (1998). Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Journal of virology* 72(6): 5262-5267.

Handke M, Engels M, Prohaska S, Keller C, Brugnera E, Sydler T and Sidler X (2012). Infektionsbedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben am Ende der Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS)-Epizootie. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 154(10): 437-444.

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

Harms PA, Halbur PG and Sorden SD (2002). Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Swine Health and Production* 10(1): 27-30.

Helie P, Drolet R, Germain M-C and Bourgault A (1995). Systemic necrotizing vasculitis and glomerulonephritis in grower pigs in southwestern Quebec. *The Canadian Veterinary Journal* 36(3): 150.

Henningsen D, Mousing J and Aalund O (1988). Porcine coronavirus in Denmark. An epidemiological study based on questionnaire data from screening districts. *Dansk Veterinærtidsskrift* 71(22): 1168-1177.

Herdt G, Maciel AE, Martins M, Tonin AA, Vanazzi DL, Martins D, Baldasso ND, Girardini LK, Machado SA and Bennemann PE (2019). High prevalence of porcine circovirus 2, porcine parvovirus, and pathogenic leptospires in mummified swine fetuses in Southern Brazil. *Ciência rural : publicação de Universidade Federal de Santa Maria*. 49: e20180965.

Horak S, Killoran K and Leedom Larson K (2016). Porcine teschovirus. Swine Health Information Center and Center for Food Security and Public Health, Ames, IA.

Huang J, Gentry R and Zarkower A (1980). Experimental infection of pregnant sows with porcine enteroviruses. *American journal of veterinary research* 41(4): 469-473.

Johnson CS, Joo HS, Direksin K, Yoon K-J and Choi YK (2002). Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 14(6): 507-512.

Kaku Y, Sarai A and Murakami Y (2001). Genetic reclassification of porcine enteroviruses. *The Journal of general virology* 82(2): 417-424.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C and Chae C (2004a). Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 68(3): 218.

Kim J, Jung K and Chae C (2004b). Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *The Veterinary Record* 155(16): 489-492.

Kiupel M, Stevenson GW, Galbreath EJ, North A, HogenEsch H and Mittal SK (2005). Porcine circovirus type 2 (PCV2) causes apoptosis in experimentally inoculated BALB/c mice. *BMC Veterinary Research* 1: 1-8.

Kixmüller M, Ritzmann M, Eddicks M, Saalmüller A, Elbers K and Fachinger V (2008). Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 26(27-28): 3443-3451.

Knowles N (2015). Teschovirus encephalomyelitis (previously enterovirus encephalomyelitis or Teschen/Talfan disease). *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*: 1146-1152.

Knowles N, Buckley L and Pereira H (1979). Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes. *Archives of virology* 62: 201-208.

Knowles N, Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K and G S (2006). Porcine enteric picornaviruses. *Diseases of swine*. New Jersey, USA, John Wiley & Sons. eleventh ed: 337-345.

Koopman JS and Longini Jr IM (1994). The ecological effects of individual exposures and nonlinear disease dynamics in populations. *American Journal of Public Health* 84(5): 836-842.

Krakowka S, Ellis J, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F and Allan G (2000). Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Veterinary pathology* 37(3): 254-263.

Lefebvre RC (2015). Fetal mummification in the major domestic species: current perspectives on causes and management. *Veterinary Medicine: Research and Reports*: 233-244.

Li J, Shi J, Wu X, Cong X, Xu S, Yuan X, Wu J, Sun W, Du Y and Peng Z (2013). Differentiation of PCV1 and PCV2 by a multiplex real-time PCR assay. *The Veterinary Record* 173(14): 346.

Liang W, Wu X, Ding Z, Zhong S, Qian X, Ye P, Liu H, Chen Z, Zhang J and Cao H (2023). Identification of a novel porcine Teschovirus 2 strain as causative agent of encephalomyelitis in suckling piglets with high mortality in China. *BMC Veterinary Research* 19(1): 1-12.

Lindqvist J-O (1974). Animal health and environment in the production of fattening pigs. A study of disease incidence in relation to certain environmental factors, daily weight gain and carcass classification. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51: 1-78.

Link EK, Eddicks M, Nan L, Ritzmann M, Sutter G and Fux R (2021). Discriminating the eight genotypes of the porcine circovirus type 2 with TaqMan-based real-time PCR. *Virology Journal* 18(1): 1-12.

Liu J, Wei C, Dai A, Lin Z, Fan K, Fan J, Liu J, Luo M and Yang X (2018). Detection of PCV2e strains in Southeast China. *PeerJ* 6(4476): e4476.

Lv Q, Guo K, Zhang G and Zhang Y (2016). The ORF4 protein of porcine circovirus type 2 antagonizes apoptosis by stabilizing the concentration of ferritin heavy chain through physical interaction. *The Journal of general virology* 97(7): 1636-1646.

Ma H, Zhang M, Wu M, Ghonaim AH, Fan S and He Q (2021). Isolation and genetic characteristics of a neurotropic teschovirus variant belonging to genotype 1 in northeast China. *Archives of virology* 166: 1355-1370.

Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Marvan H, Albina E, Truong C, Hutet E, Cariolet R and Arnaud C (1999). La Maladie de l'Amaigrissement du Porcelet (MAP) en France. 1. Aspects descriptifs, impact en élevage. Journées de la Recherche Porcine en France 31: 347-354.

Madec F, Rose N, Grasland B, Cariolet R and Jestin A (2008). Post-weaning multisystemic wasting syndrome and other PCV2-related problems in pigs: a 12-year experience. *Transboundary and Emerging Diseases* 55(7): 273-283.

Madson D and Opriessnig T (2011). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. *Animal Health Research Reviews* 12(1): 47-65.

Madson D, Patterson A, Ramamoorthy S, Pal N, Meng X and Opriessnig T (2009a). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of the dam on PCV2 replication in utero. *Clinical and vaccine immunology : CVI*. 16(6): 830-834.

Madson D, Patterson A, Ramamoorthy S, Pal N, Meng X and Opriessnig T (2009b). Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary pathology* 46(4): 707-716.

Malik YS, Bhat S, Vlasova AN, Wang F-I, Touil N, Ghosh S, Dhama K, Yadav MP and Singh RK (2020). *Teschovirus. Emerging and Transboundary Animal Viruses*. Y. S. Malik, R. K. Singh and M. P. Yadav. Singapore, Springer Singapore: 123-136.

Marchevsky N, Held J and Garcia-Carrill C (1989). Probability of introducing diseases because of false negative test results. *American journal of epidemiology* 130(3): 611-614.

Martelli P, Ferrari L, Morganti M, De Angelis E, Bonilauri P, Guazzetti S, Caleffi A and Borghetti P (2011). One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Veterinary microbiology* 149(3-4): 339-351.

Mateusen B, Maes D, Van Soom A, Lefebvre D and Nauwynck H (2007). Effect of a porcine circovirus type 2 infection on embryos during early pregnancy. *Theriogenology* 68(6): 896-901.

McIntosh KA, Tumber A, Harding JC, Krakowka S, Ellis JA and Hill JE (2009). Development and validation of a SYBR green real-time PCR for the quantification of porcine circovirus type 2 in serum, buffy coat, feces, and multiple tissues. *Veterinary microbiology* 133(1-2): 23-33.

Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM and Allan GM (1998). Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *The Journal of general virology* 79(9): 2171-2179.

Miotto R, Pissetti C, Bordin LC and Zanella JRC (2023). Genotype Detection of Circovirus Type 2 (PCV2) in Swine Clinical Samples from Brazil. Preprint
https://www.researchgate.net/publication/373480521_Genotype_Detection_of_Circovirus_Type_2_PCV2_in_Swine_Clinical_Samples_from_Brazil.

Mortensen S, Stryhn H, Søgaard R, Boklund A, Stärk KD, Christensen J and Willeberg P (2002). Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Preventive veterinary medicine* 53(1-2): 83-101.

Mu Y, Jia C, Zheng X, Zhu H, Zhang X, Xu H, Liu B, Zhao Q and Zhou E-M (2021). A nanobody-horseradish peroxidase fusion protein-based competitive ELISA for rapid detection of antibodies against porcine circovirus type 2. *Journal of Nanobiotechnology* 19(1): 1-13.

Nielsen J, Hansen AL, Bille-Hansen V and Lohse L (2004). PCV2-associated disease following intrauterine infection. 18th International Pig Veterinary Society Congress, Hamburg

O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G and Ellis JA (2001). Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *The Canadian Veterinary Journal* 42(7): 551.

Olvera A, Cortey M and Segales J (2007). Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: phylogeny and clonality. *Virology* 357(2): 175-185.

Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J and Domingo M (2004). Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *Journal of virological methods* 117(1): 75-80.

Opriessnig T, Meng X-J and Halbur PG (2007). Porcine circovirus type 2-associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 19(6): 591-615.

Opriessnig T, Ramamoorthy S, Madson D, Patterson A, Pal N, Carman S, Meng X and Halbur P (2008). Differences in virulence among porcine circovirus type 2 isolates are unrelated to cluster type 2a or 2b and prior infection provides heterologous protection. *The Journal of general virology* 89(10): 2482-2491.

Opriessnig T, Xiao C-T, Gerber PF and Halbur PG (2013). Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the US concurrently infected with PPV2. *Veterinary microbiology* 163(1-2): 177-183.

Oropeza-Moe M, Oropeza Delgado AJ and Framstad T (2017). Porcine circovirus type 2 associated reproductive failure in a specific pathogen free (SPF) piglet producing herd in Norway: a case report. *Porcine Health Management* 3: 1-6.

Palinski R, Piñeyro P, Shang P, Yuan F, Guo R, Fang Y, Byers E and Hause BM (2017). A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. *Journal of virology* 91(1): 10.1128/jvi.01879-01816.

Palmquist JM, Munir S, Taku A, Kapur V and Goyal SM (2002). Detection of porcine teschovirus and enterovirus type II by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 14(6): 476-480.

Park J-S, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim J-K, Kim S-H and Chae C (2005). Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *Journal of comparative pathology* 132(2-3): 139-144.

Park KH and Chae C (2021). The prevalence of porcine circovirus type 2e (PCV2e) in Korean slaughter pig lymph nodes when compared with other PCV2 genotypes. *Transboundary and Emerging Diseases* 68(6): 3043-3047.

Park KH, Oh T, Cho H, Yang S and Chae C (2020). The first isolation of porcine circovirus type 2e from a Korean pig. *Archives of virology* 165: 2927-2930.

Patterson A, Ramamoorthy S, Madson D, Meng X, Halbur P and Opriessnig T (2011). Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Veterinary microbiology* 149(1-2): 91-98.

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

Phan TG, Giannitti F, Rossow S, Marthaler D, Knutson TP, Li L, Deng X, Resende T, Vannucci F and Delwart E (2016). Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. *Virology Journal* 13(1): 1-8.

Phillips R, Foley C and Lukert P (1972). Isolation and characterization of viruses from semen and the reproductive tract of male swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 161(11): 1306-1316.

Pittman JS (2008). Reproductive failure associated with porcine circovirus type 2 in gilts. *Journal of Swine Health and Production* 16(3): 144-148.

Pleguezuelos P, Patricia;, Sibila M, Cuadrado R, López-Jiménez R, Pérez D, Huerta E, Llorens AM, Núñez JI, Segalés J and López-Soria S (2021). Exploratory field study on the effects of porcine circovirus 2 (PCV-2) sow vaccination at different physiological stages mimicking blanket vaccination. *Porcine Health Management* 7: 1-12.

Plonait H and Bickhardt K (2004). Fortpflanzungsphysiologie und Gynäkologie der Sau. *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. K.-H. Waldmann and M. Wendt. Stuttgart, Parey Verlag. 4. Auflage: 450 - 466.

Pointon A, Heap P and McCloud P (1985). Enzootic pneumonia of pigs in South Australia—factors relating to incidence of disease. *Australian veterinary journal* 62(3): 98-101.

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

Rincón Monroy MA, Mogollón Galvis JD and Ramírez-Nieto GC (2015). Dynamics of porcine circovirus type 2 infection and neutralizing antibodies in subclinically infected gilts, and the effect on their litters. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 28(3): 218-228.

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

Rose N, Blanchard P, Cariolet R, Grasland B, Amenna N, Oger A, Durand B, Balasch M, Jestin A and Madec F (2007). Vaccination of porcine circovirus type 2 (PCV2)-infected sows against porcine Parvovirus (PPV) and Erysipelas: effect on post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and on PCV2 genome load in the offspring. *Journal of comparative pathology* 136(2-3): 133-144.

Rose N, Opriessnig T, Grasland B and Jestin A (2012). Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus research* 164(1-2): 78-89.

Ryt-Hansen P, Nielsen HG, Sørensen SS, Larsen I, Kristensen CS and 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): 19.

Saha D, Sacristán RDP, Van Renne N, Huang L, Decaluwe R, Michiels A, Rodriguez AL, Rodríguez MJ, Durán MG and Declerk I (2014). Anti-porcine circovirus type 2 (PCV2) antibody placental barrier leakage from sow to fetus: impact on the diagnosis of intra-uterine PCV2 infection. *Virologica Sinica* 29(2): 136-138.

Salvador, Oliver-Ferrando, Segalés J, López-Soria S, Callén A, Merdy O, Joisel F and Sibila M (2018a). Exploratory field study on the effect of Porcine circovirus 2 (PCV2) sow vaccination on serological, virological and reproductive parameters in a PCV2 subclinically infected sow herd. *BMC Veterinary Research* 14(1): 1-10.

Salvador, Oliver-Ferrando, Segalés J, Sibila M and Díaz I (2018b). Comparison of cytokine profiles in peripheral blood mononuclear cells between piglets born from Porcine circovirus 2 vaccinated and non-vaccinated sows. *Veterinary microbiology* 214: 148-153.

Sanchez Jr RE, Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM and Pensaert MB (2001). Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different stages of gestation. *Veterinary microbiology* 83(2): 169-176.

Segalés J (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus research* 164(1-2): 10-19.

Segalés J (2015). Best practice and future challenges for vaccination against porcine circovirus type 2. *Expert review of vaccines* 14(3): 473-487.

Segalés J, Allan GM and Domingo M (2005a). Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 6(2): 119-142.

Segalés J, Calsamiglia M, Olvera A, Sibila M, Badiella L and Domingo M (2005b). Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary microbiology* 111(3-4): 223-229.

Segalés J and Cortey M (2010). Changes in age at diagnosis of PMWS in pigs in Spain, 1998 to 2008. *The Veterinary Record* 167(24): 940.

Segalés J, Olvera A, Grau-Roma L, Charreyre C, Nauwynck H, Larsen L, Dupont K, McCullough K, Ellis J and Krakowka S (2008). PCV-2 genotype definition and nomenclature. *The Veterinary Record* 162(26): 867.

Segalés J, Piella J, Marco E, Mateu-de-Antonio E, Espuna E and Domingo M (1998). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *The Veterinary Record* 142(18): 483-486.

Segalés J and Sibila M (2022). Revisiting porcine circovirus disease diagnostic criteria in the current porcine circovirus 2 epidemiological context. *Veterinary Sciences* 9(3): 110.

Shen H, Wang C, Madson DM and Opriessnig T (2010). High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Preventive veterinary medicine* 97(3-4): 228-236.

Shibata I, Okuda Y, Kitajima K and Asai T (2006). Shedding of porcine circovirus into colostrum of sows. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health* 53(6): 278-280.

Shibata I, Okuda Y, Yazawa S, Ono M, Sasaki T, Itagaki M, Nakajima N, Okabe Y and Hidejima I (2003). PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases. *The Journal of veterinary medical science* 65(3): 405-408.

Siegel AM, Weigel RM and Taft AC (1993). Factors associated with time under quarantine for swine herds in the voluntary phase of the Illinois pseudorabies eradication program. *Preventive veterinary medicine* 16(4): 295-310.

Smith W, Thomson J and Done S (1993). Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. *The Veterinary Record* 132(2): 47.

Stadler J, Junker S, Grundl J, Frohlich S, Beisl M, Zols S, Ritzmann M, Eddicks M, Palzer A, Sehl J, Hoper D, Unterweger C, Ladinig A and Mayer C (2022). Hind limb paralysis in fattening pigs due to a new strain of porcine Teschovirus A11. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere* 50(01): 59-67.

Stegeman A, Elbers AR, Smak J and de Jong MC (1999). Quantification of the transmission of classical swine fever virus between herds during the 1997–1998 epidemic in The Netherlands. *Preventive veterinary medicine* 42(3-4): 219-234.

Streck AF and Truyen U (2020). Porcine Parvovirus. *Current issues in molecular biology* 37: 33-46.

Sun W, Du Q, Han Z, Bi J, Lan T, Wang W and Zheng M (2021). Detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 (PCV4) in Guangxi, China. *Gene* 773.

Sundberg P (2016). Seneca Valley Virus Update. Swine Health Information Center and Center for Food Security and Public Health, Ames, IA.

Svensmark B, Jorsal SE, Nielsen K and Willeberg P (1989). Epidemiological Studies of Piglet Diarrhoea in Intensively Managed Danish Sow Herds: I. Pre-weaning diarrhoea. *Acta Veterinaria Scandinavica* 30: 43-53.

Sydler T, Brugnera E, Weilenmann R, Zimmermann D, Engels M and Sidler X (2011). Erste diagnostizierte PCV-2-bedingte „SMEDI-Fälle“ in der Schweiz. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*. 39(04): 231-236.

Thorburn MA, McDermott JJ and Martin SW (1991). Probability of introducing diseases because of false negative test results *American journal of epidemiology* 133(3): 321.

Tischer I, Gelderblom H, Vettermann W and Koch M (1982). A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 295(5844): 64-66.

Tischer I, Rasch R and Tochtermann G (1974). Characterization of papovavirus and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralblatt für Bakteriologie* 226(2): 153-167.

Togashi K, Mawatari T, Mitobe S and Moriya S (2011). Reproductive losses associated with porcine circovirus type 2 in a Japanese herd of seronegative sows. *Journal of veterinary medical science* 73(7): 941-944.

Trefny L (1930). Massenerkrankung von Schweinen in Tesinsk. *Zverolek Obz* 23: 235-236.

Trible BR and Rowland RR (2012). Genetic variation of porcine circovirus type 2 (PCV2) and its relevance to vaccination, pathogenesis and diagnosis. *Virus research* 164(1-2): 68-77.

Unterweger C, Brunthaler R, Auer A, Fux R, Weissenbacher-Lang C and Ladinig A (2021). Reconsideration of the diagnostic criteria required for PCV2 reproductive disease. *The Veterinary Journal* 272: 105660.

Unterweger C, Kreuzmann H, Buenger M, Klingler E, Auer A, Rümenapf T, Truyen U and Ladinig A (2023). Litters of Various-Sized Mummies (LVSM) and Stillborns after Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Type 1 Infection-A Case Report. *Veterinary Sciences* 10(8): 494.

Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA, McNair I, McNeilly F, Meehan BM, Cottrell TS, Ellis JA and Allan GM (2000). Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 12(5): 400-405.

Wang Y, Noll L, Lu N, Porter E, Stoy C, Zheng W, Liu X, Peddireddi L, Niederwerder M and Bai J (2020). Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016–2018. *Transboundary and Emerging Diseases* 67(3): 1284-1294.

West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S and McNeilly F (1999). Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 11(6): 530-532.

Willeberg P, Gardner I, Mortensen S and Mousing J (1994). Models of herd size effects in swine diseases. *Kenya veterinarian* 18: 189-191.

Xiao C-T, Halbur PG and Opriessnig T (2015). Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *The Journal of general virology* 96(7): 1830-1841.

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

Xu Q, Zhang Y, Sun W, Chen H, Zhu D, Lu C, Yin Y, Rai KR, Chen J-L and Chen Y (2022). Epidemiology and genetic diversity of PCV2 reveals that PCV2e is an emerging genotype in Southern China: a preliminary study. *Viruses* 14(4): 724.

Yamada M, Miyazaki A, Yamamoto Y, Nakamura K, Ito M, Tsunemitsu H and Narita M (2014). Experimental teschovirus encephalomyelitis in gnotobiotic pigs. *Journal of comparative pathology* 150(2-3): 276-286.

Yang T, Li R, Yao Q, Zhou X, Liao H, Ge M and Yu X (2018). Prevalence of porcine teschovirus genotypes in Hunan, China: identification of novel viral species and genotypes. *The Journal of general virology* 99(9): 1261-1267.

Yang T, Lu Y, Zhang L and Li X (2020a). Identification of novel genotypes belonging to the species *Teschovirus A* from indigenous pigs in western Jiangxi, China. *Archives of virology* 165(4): 993-1001.

Yang T, Lu Y, Zhang L, Li X and Chang Y (2020b). Novel species of *Teschovirus B* comprises at least three distinct evolutionary genotypes. *Transboundary and Emerging Diseases* 67(2): 1015-1018.

Yoon K-J, Jepsen RJ, Pogranichniy RM, Sorden S, Stammer R and Evans LE (2004). A novel approach to intrauterine viral inoculation of swine using PCV type 2 as a model. *Theriogenology* 61(6): 1025-1037.

Young MG, Cunningham GL and Sanford SE (2011). Circovirus vaccination in pigs with subclinical porcine circovirus type 2 infection complicated by ileitis. *Journal of Swine Health and Production* 19(3): 175-180.

Zell R, Dauber M, Krumbholz A, Henke A, Birch-Hirschfeld E, Stelzner A, Prager D and Wurm R (2001). Porcine teschoviruses comprise at least eleven distinct serotypes: molecular and evolutionary aspects. *Journal of virology* 75(4): 1620-1631.

Zell R, Delwart E, Gorbalenya A, Hovi T, King A, Knowles N, Lindberg AM, Pallansch M, Palmenberg A and Reuter G (2017). ICTV virus taxonomy profile: Picornaviridae. *The Journal of general virology* 98(10): 2421.

Zell R, Krumbholz A, Henke A, Birch-Hirschfeld E, Stelzner A, Doherty M, Hoey E, Dauber M, Prager D and Wurm R (2000). Detection of porcine enteroviruses by nRT-PCR: differentiation of CPE groups I-III with specific primer sets. *Journal of virological methods* 88(2): 205-218.

Zhang C, Wang Z, Hu F, Liu Y, Qiu Z, Zhou S, Cui S and Wang M (2013). The survey of porcine teschoviruses in field samples in China with a universal rapid probe real-time RT-PCR assay. *Tropical animal health and production* 45: 1057-1061.

Zhang HH, Hu WQ, Li JY, Liu TN, Zhou JY, Opriessnig T and Xiao CT (2020). Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. *Transboundary and Emerging Diseases* 67(3): 1057-1061.

XI. ANHANG

Anhang 1: Fragebogen

Datenschutzerklärung: Alle Angaben sind freiwillig! Epidemiologische Daten und Befunde werden zur Auswertung in wissenschaftlichem Interesse (Dissertation, Publikation) verwendet. Die Bestandsnamen werden anonym codiert übermittelt und es ist gewährleistet, dass die erhobenen Befunde durch die betreuenden Hoftierärzte an die Landwirte übermittelt werden können.

1. Allgemeine Informationen:

Betrieb (Anonym! Bspw.:_Bestand1_Sau1): _____

Betreuende Tierarztpraxis (Name, Anschrift): _____

2. Angaben zum Betrieb:

Anzahl der Sauen: _____

Betriebsform: Ferkelerzeuger mit Aufzucht mit Mast

	Sauen ja	Sauen nein	Jungsauen ja	Jungsauen nein
Auslauf				
Stroheinstreu				
Jungsauen-Quarantäne				

Impfungen der Sauen/Jungsauen

Erreger	Impfung (ja/nein)	
	Sauen (ja,nein) Bestandsweise (B) oder Terminorientiert (T)	Jungsauen (ja,nein) Quarantäne (Q) oder im Bestand (B)
PCV2		
PPV		
Leptospiren		
PRRSV		
Rotlauf		
Influenza		
Sonstige?		

3. Angaben zum Probenmaterial:

Parität der Sau:	
Belegdatum:	
Geburtsdatum/Abortdatum:	
Datum Probengewinnung:	
Anzahl lebend geborener Ferkel:	
Anzahl tot geborener Ferkel:	Wird von uns ermittelt
Anzahl mumifizierter Ferkel:	Wird von uns ermittelt

4. Kennzahlen der Zucht:

Remontierungsrate/Jahr (%):	
Umrauschquote (%):	
Abortrate (%):	

Anhang 2: Unabhängige und Abhängige Variablen

Unabhängige Variablen		Abhängige Variable
Phänotypen	Mumie	PCV2 pos/neg
	Autolytisch	
	Totgeboren	
	Lebensschwach	
Bestandsgröße	≤300	
	300-900	
	>900	
Jungsauen - Quarantäne	Vorhanden Nicht vorhanden	
Parität	Jungsau / Altsau	
Geschlecht,	m/w/f	
Impfregime	Jungsauen	
	Jungsauen und Altsauen	
	Altsauen	
	Keine Impfung	
Abhängige Variable		
Föten	SSL	PCV2 pos/neg
	Gewicht	
Würfe	Wurfgröße	

	Lebendgeboren	
	Lebensschwach	
	Trächtigkeitsdauer	
Bestand	Umrauschquote	
	Remontierungsrate/Jahr	
	Durchgänge/Sau/Jahr	

Anhang 3: Studienpopulation

Tabelle 39: Ferkel eingeschlossen

Bestand	Wurf	Ferkel	Probennummer
1	1	1	1.1.1.
		2	1.1.2.
		3	1.1.3.
		4	1.1.4.
	2	5	1.2.2.
		6	1.2.3.
		7	1.2.4.
		8	1.2.5.
2	1	9	2.1.2.
		10	2.1.3.
		11	2.1.5.
		12	2.1.6.

	2	13	2.2.1.
		14	2.2.2.
		15	2.2.4.
		16	2.2.5.
	3	17	2.3.1.
		18	2.3.3.
		19	2.3.5.
		20	2.3.7.
3	1	21	3.1.2.
		22	3.1.7.
		23	3.1.12.
		24	3.1.17.
	2	25	3.2.1.
		26	3.2.3.
		27	3.2.5.
		28	3.2.7.
4	1	29	4.1.1.
		30	4.1.3.
		31	4.1.4.
		32	4.1.6.
	2	33	4.2.1.

		34	4.2.2.
		35	4.2.3.
		36	4.2.4.
	3	37	4.3.2.
		38	4.3.3.
		39	4.3.4.
		40	4.3.5.
5	1	41	5.1.1.
		42	5.1.2.
		43	5.1.3.
		44	5.1.4.
6	1	45	6.1.1.
		46	6.1.6.
		47	6.1.11.
		48	6.1.16.
	2	49	6.2.2.
		50	6.2.6.
		51	6.2.10.
		52	6.2.14.
	3	53	6.3.3.
		54	6.3.6.

		55	6.3.9.
		56	6.3.12.
	4	57	6.4.4.
		58	6.4.7.
		59	6.4.10.
		60	6.4.13.
7	1	61	7.1.1.
		62	7.1.2.
		63	7.1.3.
8	1	64	8.1.1.
		65	8.1.3.
		66	8.1.5.
		67	8.1.7.
	2	68	8.2.2.
		69	8.2.4.
		70	8.2.6.
		71	8.2.8.
9	1	72	9.1.1.
		73	9.1.3.
		74	9.1.4.
		75	9.1.5.

10	1	76	10.1.3.
		77	10.1.4.
		78	10.1.7.
		79	10.1.10.
	2	80	10.2.1.
		81	10.2.3.
		82	10.2.5.
		83	10.2.7.
	3	84	10.3.2.
		85	10.3.6.
		86	10.3.10.
		87	10.3.14.
	4	88	10.4.3.
		89	10.4.8.
		90	10.4.13.
		91	10.4.18.
	5	92	10.5.1.
		93	10.5.4.
		94	10.5.9.
		95	10.5.14.
11	1	96	11.1.1.

		97	11.1.3.
		98	11.1.5.
		99	11.1.7.
	2	100	11.2.2.
		101	11.2.7.
		102	11.2.12.
		103	11.2.17.
	3	104	11.3.1.
		105	11.3.3.
		106	11.3.7.
		107	11.3.11.
12	1	108	12.1.2.
		109	12.1.4.
		110	12.1.6.
		111	12.1.8.
	2	112	12.2.1.
		113	12.2.2.
		114	12.2.3.
		115	12.2.4.
13	1	116	13.1.1.
		117	13.1.2.

		118	13.1.3.
		119	13.1.4.
14	1	120	14.1.3.
		121	14.1.6.
		122	14.1.9.
		123	14.1.12.
15	1	124	15.1.1.
		125	15.1.2.
		126	15.1.4.
		127	15.1.5.
16	1	128	16.1.1.
		129	16.1.3.
		130	16.1.5.
		131	16.1.7.
	2	132	16.2.2.
		133	16.2.4.
		134	16.2.6.
		135	16.2.8.
	3	136	16.3.1.
		137	16.3.3.
		138	16.3.4.

		139	16.3.5.
	4	140	16.4.2.
		141	16.4.4.
		142	16.4.6.
		143	16.4.8.
17	1	144	17.1.1.
		145	17.1.2.
		146	17.1.3.
		147	17.1.4.
	2	148	17.2.1.
		149	17.2.2.
		150	17.2.3.
18	1	151	18.1.3.
		152	18.1.5.
		153	18.1.7.
		154	18.1.9.
	2	155	18.2.1.
		156	18.2.2.
		157	18.2.3.
		158	18.2.4.
19	1	159	19.1.1.

		160	19.1.3.
		161	19.1.5.
		162	19.1.7.
	2	163	19.2.2.
		164	19.2.4.
		165	19.2.6.
		166	19.2.8.
	3	167	19.3.1.
		168	19.3.3.
		169	19.3.5.
		170	19.3.7.
20	1	171	20.1.1.
		172	20.1.3.
		173	20.1.4.
		174	20.1.6.
21	1	175	21.1.1.
		176	21.1.4.
		177	21.1.7.
		178	21.1.10
22	1	179	22.1.1.
		180	22.1.2.

		181	22.1.5.
		182	22.1.8.
24	1	183	24.1.1.
		184	24.1.2.
		185	24.1.3.
		186	24.1.4.
25	1	187	25.1.1.
		188	25.1.4.
		189	25.1.6.
		190	25.1.8.
26	1	191	26.1.1.
		192	26.1.2.
		193	26.1.3.
		194	26.1.5.
	2	195	26.2.1.
		196	26.2.2.
		197	26.2.5.
		198	26.2.8.
	3	199	26.3.3.
		200	26.3.8.
		201	26.3.13.

		202	26.3.18
27	1	203	27.1.1.
		204	27.1.2.
		205	27.1.3.
28	1	206	28.1.1.
		207	28.1.3.
		208	28.1.5.
		209	28.1.7.

XII. DANKSAGUNG

Zuallererst gilt mein Dank Herrn Dr. Matthias Eddicks für die wissenschaftliche Betreuung, Denkanstöße und Hilfe bei allen Fragestellungen. Vielen Dank für die lehrreiche Zeit und den Einblick in das wissenschaftliche Arbeiten.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann, der mir die Möglichkeit gegeben hat meine Dissertation an der Klinik für Schweine anzufertigen. Vielen Dank für die schöne und aufregende Zeit an der Klinik.

Zudem möchte ich mich bei Herrn Dr. Robert Fux und Eleni Tzikoula vom Lehrstuhl für Virologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München bedanken. Vielen Dank für die Unterstützung bei der Ausführung und Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung und Hilfe bei allen Fragen und Problemen.

Ein großes Dankeschön gilt dem gesamten Team der Klinik für Schweine und ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für Rat und Tat zu allen Fragen und Problemen und das angenehme Arbeitsklima. Besonders möchte ich mich bei Franziska Mählmeyer, die das SMEDI – Projekt mit mir zusammen weitergeführt hat und Sophie Asanger bedanken. Danke für euren unermüdlichen Beistand bei allen Höhen und Tiefen, die wir die letzten 1 ½ Jahre erlebt haben. Ich bin froh, dass wir diese prägende Zeit zusammen erlebt haben.

Zu guter Letzt möchte ich mich ganz besonders bei meiner Familie bedanken, die mich seit Anfang an auf diesem Weg begleitet und immer an mich geglaubt hat. Danke für eure unermüdliche Unterstützung schon während des Studiums und auch während der Zeit der Doktorarbeit. Vielen Dank, dass ihr mir diesen Weg ermöglicht und mich immer gestärkt und bestätigt habt. Auch dir, lieber Tobi, gilt mein Dank, für dein Verständnis und deine Geduld, das ist nicht selbstverständlich, danke.

Ihr alle seid wunderbar und ich bin stolz, so eine Familie zu haben.
DANKE!