

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

von Julia Sophie Gründl

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

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

von Julia Sophie Gründl
aus Mühldorf am Inn

München, 2023

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

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
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: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. Erwin P. Märtlbauer

Tag der Promotion: 11. Februar 2023

*Meiner Familie
& Markus*

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	SMEDI-Syndrom.....	3
1.1.	Klinisches Erscheinungsbild.....	3
1.2.	Ätiologie	3
1.3.	Pathogenese	4
1.3.1.	Allgemeine Pathogenese	4
1.3.2.	Pathogenese im Embryo bzw. Fötus	5
1.4.	Kategorisierung SMEDI-assoziiertes Ferkel	6
1.5.	Altersbestimmung SMEDI-assoziiertes Ferkel	7
2.	Porzines Parvovirus	7
2.1.	Erregereigenschaften	7
2.2.	Epidemiologie.....	8
2.3.	Erregerübertragung.....	8
2.4.	Klinisches Erscheinungsbild.....	10
2.5.	Diagnostik von PPV in Fällen von SMEDI	10
2.5.1.	Pathomorphologische Veränderungen in SMEDI-Ferkeln	11
2.5.2.	Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe	11
2.5.3.	Indirekter Erregernachweis.....	12
2.6.	Prophylaxe.....	13
3.	Porzines Circovirus Typ 2 und 3	13
3.1.	Erregereigenschaften	13
3.2.	Epidemiologie.....	13
3.3.	PCV2.....	14
3.3.1.	Erregerübertragung.....	14
3.3.2.	Klinisches Erscheinungsbild: PCV-2-RD	15
3.3.3.	Diagnostik von PCV2 in Fällen von SMEDI	15
3.3.3.1.	Pathomorphologische Veränderungen in SMEDI-Ferkeln	15
3.3.3.2.	Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe	16
3.3.3.3.	Indirekter Erregernachweis.....	17
3.3.4.	Prophylaxe.....	19
3.4.	PCV3	19

3.4.1.	Erregerübertragung	19
3.4.2.	Klinisches Erscheinungsbild: PCV-3-RD.....	20
3.4.3.	Diagnostik von PCV3 in Fällen von Reproduktionsstörungen	20
3.4.3.1.	Pathomorphologische Veränderungen in Ferkeln	21
3.4.3.2.	Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe	21
3.4.3.3.	Indirekter Erregernachweis	22
3.4.4.	Prophylaxe	22
4.	Koinfektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in Fällen von Reproduktionsstörungen	23
III.	MATERIAL UND METHODEN	25
1.	Arbeitshypothesen	25
2.	Probenmaterial	26
3.	Fragebogen	26
4.	Probenverarbeitung	27
4.1.	Ferkel	27
4.1.1.	Makroskopische Untersuchung der Ferkel	27
4.1.2.	Kategorisierung der Ferkel	28
4.1.3.	Beprobungskonzept Ferkel	29
4.1.4.	Probengewinnung Ferkel.....	31
4.2.	Sauen	31
5.	Labordiagnostische Untersuchungen	31
5.1.	Direkter Erregernachweis.....	31
5.1.1.	PPV und PCV2	32
5.1.1.1.	Extraktion viraler DNA aus fötalen Gewebeproben	32
5.1.1.2.	Quantitative PCR (qPCR).....	32
5.1.2.	PCV3	33
5.1.2.1.	Extraktion viraler DNA aus fötalen Organen	33
5.1.2.2.	Quantitative PCR (qPCR).....	33
5.2.	Indirekter Erregernachweis PPV und PCV2	33
5.2.1.	Serologische Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper	33
5.2.1.1.	Qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen PPV	34
5.2.1.2.	Quantitative Bestimmung von Antikörpern gegen PPV	34
5.2.2.	Serologische Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper	35

6.	Statistische Auswertung.....	36
IV.	ERGEBNISSE	37
1.	Deskriptive Auswertung des Untersuchungsmaterials	37
1.1.	Bestände	37
1.2.	SMEDI-assoziierte Würfe	38
1.3.	Sauen.....	39
1.4.	Ferkel.....	39
1.4.1.	Phänotyp und geschätztes Alter	39
1.4.2.	Scheitel-Steiß-Länge und Gewicht	40
2.	Ergebnisse molekularbiologischer Untersuchungen	42
2.1.	Qualitative Auswertung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Gewebepoolproben.....	42
2.1.1.	Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Poolproben	42
2.1.2.	Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels	43
2.1.3.	Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sauen.....	44
2.1.4.	Nachweis von (Ko-)Infektionen	45
2.2.	Qualitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben.....	46
2.3.	Auswertung der qualitativen molekularbiologischen Ergebnisse	47
2.4.	Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Gewebepoolproben...50	
2.4.1.	Ergebnisse der Untersuchungen auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA aus fötalen Poolproben.....	50
2.4.2.	Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels	52
2.4.3.	Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sau.....	53
2.4.4.	Quantitativer Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Fällen von Koinfektionen.....	54

2.5.	Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben.....	56
2.6.	Auswertung der quantitativen molekularbiologischen Untersuchung	57
3.	Ergebnisse serologischer Untersuchungen.....	58
3.1.	Qualitative Auswertung der serologischen Ergebnisse der Untersuchungen auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper	58
3.2.	Quantitative Auswertung der serologischen Ergebnisse auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper	58
3.2.1.	Ferkel: Ergebnisse der Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper fötaler Proben	58
3.2.2.	Sauen	60
3.2.2.1.	Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper.....	60
3.2.2.2.	Ergebnisse der Untersuchung auf PCV2-IgG-Antikörper	61
V.	DISKUSSION	65
1.	Methodenkritik.....	65
1.1.	Auswahl des Untersuchungsmaterials.....	65
1.2.	Auswertung der molekularbiologischen und serologischen Untersuchungen von Proben lebensschwacher Ferkel.....	66
1.3.	Bewertung der Altersschätzung mittels Scheitel-Steiß-Länge	67
2.	Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen	68
2.1.	Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Fällen von SMEDI	68
2.2.	Nachweis von Koinfektionen in Fällen von SMEDI.....	73
2.3.	Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom klinischen Erscheinungsbild der Ferkel.....	74
2.4.	Nachweis von PPV- und PCV2-DNA in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand	76
2.5.	Nachweis von PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben	78
2.6.	Statistische Beziehungen zum qualitativen und quantitativen Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA.....	79
2.6.1.	Assoziation zwischen Stroheinstreu und PPV-DNA-Nachweis.....	79

2.6.2.	Korrelation zwischen Reproduktionsorientierten Parametern und dem DNA-Nachweis von PPV und PCV2	80
2.6.3.	Korrelation zwischen Parität und dem DNA-Nachweis von PPV und PCV3	81
3.	Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchung...	82
VI.	ZUSAMMENFASSUNG.....	85
VII.	SUMMARY.....	89
VIII.	TABELLENVERZEICHNIS	91
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	95
X.	LITERATURVERZEICHNIS	97
XI.	ANHANG.....	115
XII.	DANKSAGUNG.....	125

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
21G	21 Gauge
A	Autolytisch verändertes Ferkel
Ab	Antikörper
AS	Altsau
Brf	Brusthöhlenflüssigkeitsprobe
Ct	Cycle threshold
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
g	Bei Zentrifugenangaben: Erdbeschleunigung; bei Gewichtsangaben: Gramm
G	Lebendgeborenes Ferkel
Go	Gonaden
Hb	Herzblutprobe
Hm	Herzmuskel
IHC	Immunhistochemie
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
Int	Darm, Intestinum
ISH	In-Situ-Hybridisierung
JS	Jungsau
KI	Konfidenzintervall
L	Lebensschwach geborenes Ferkel
Le	Leber
Ln	Lymphknoten
Lu	Lunge
M	Mumifizierter Fötus
Max	Maximum
Md	Median
Mi	Milz
Min	Minimum
mm	Millimeter
mRNA	Messenger ribonucleic acid

Mw	Mittelwert
Ni	Niere
n.d.	Nicht detektiert/not detected
OD	Optische Dichte
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PCV	Porzines Circovirus
PCV2	Porzines Circovirus Typ 2
PCV3	Porzines Circovirus Typ 3
PCVD	Porcine circovirus diseases
PDNS	Porzines Dermatitis-Nephropathie-Syndrom
PEV	Porzines Enterovirus
PMWS	Postweaning multisystemic wasting syndrome
PPV	Porzines Parvovirus
PRRSV	Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
PTV	Porzines Teschovirus
qPCR	Quantitative PCR
RD	Reproductive disease
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
r_s	Spearman's rho
SMEDI	Stillbirth, mummification, embryonic death, infertility
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
StabW	Standardabweichung
T	Totgeborenes Ferkel
Th	Thymus
To	Tonsille
U/min	Umdrehungen pro Minute
ZNS	Gehirn
μ	Mikro

I. EINLEITUNG

Der Begriff „SMEDI“ steht für *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (Embryonaler Fruchttod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) (DUNNE et al., 1965). SMEDI-assoziierte Würfe zeichnen sich durch die kleine Größe und orgelpfeifenartige Anordnung des Wurfbildes aus. Neben mumifizierten Föten schließt der Wurf totgeborene und gegebenenfalls autolytisch veränderte Ferkel ein, dabei finden sich Ferkel in unterschiedlichen Entwicklungsstadien (BARLOW, 1998; PLONAIT, 2004). Das SMEDI-Syndrom ist als Krankheitsbild ätiologisch nicht einheitlich definiert und kann von vielen verschiedenen Erregern verursacht werden (PLONAIT, 2004). Zu diesen werden auch das Porzine Parvovirus (PPV) (STRECK & TRUYEN, 2020) und das Porzine Circovirus vom Typ 2 (PCV2) (SYDLER et al., 2011) gezählt, die beide in der Hausschweinepopulation weltweit vorkommen (MENGELING et al., 2000; SEGALÉS et al., 2005). Auch PCV3 kann nahezu ubiquitär in der Hausschweinepopulation nachgewiesen werden (FRANZO et al., 2018) und wird immer wieder mit Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht (FACCINI et al., 2017; PALINSKI et al., 2017; ARRUDA et al., 2019). Eine Assoziation mit dem SMEDI-Syndrom konnte bislang jedoch noch nicht gezeigt werden. Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass PCV3 analog zu PCV2 regelmäßig in deutschen Ferkelerzeugerbetrieben zu finden ist (EDDICKS et al., 2022). In Bezug auf Koinfektionen mit PPV und PCV2 bzw. PPV und PCV3 zeigten sich sowohl unter Feld- (MIŁEK et al., 2020) als auch unter experimentellen Bedingungen (OPRIESSNIG et al., 2004) deutlich stärker ausgeprägte PCV2-assoziierte Krankheitsbilder (porcine circovirus diseases, PCVD) bei subadulten Schweinen bzw. höhere PCV3-Viruslasten im Serum von Sauen (MAI et al., 2021). Diese Beobachtungen wurden im Rahmen von SMEDI-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen bisher noch nicht beschrieben.

Neben dem bereits etablierten Einsatz molekularbiologischer Nachweismethoden aus fötalen Gewebeproben zur ätiologischen Diagnose in Fällen von SMEDI (ALTHOUSE et al., 2019), wird auch der Nachweis von spezifischen Antikörpern aus Serum- oder Körperhöhlen-

flüssigkeitsproben von immunkompetent geltenden, totgeborenen Ferkeln als geeignete Methode diskutiert (HANSEN et al., 2010). Unter Feldbedingungen findet der oben genannte Antikörpernachweis jedoch selten Anwendung.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollte überprüft werden, inwieweit PCV3 in Fällen von SMEDI nachgewiesen werden kann, welche Effekte Koinfektionen mit den genannten Erregern auf die Viruslast in Geweben SMEDI-assoziiierter Ferkel haben und ob der Antikörpernachweis in Herzblut oder Brusthöhlenflüssigkeit einen diagnostischen Mehrwert hinsichtlich der Diagnostik in Fällen von SMEDI bietet.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. SMEDI-Syndrom

1.1. Klinisches Erscheinungsbild

Der Begriff **SMEDI** ist ein Akronym für *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (embryonaler Fruchttod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) (DUNNE et al., 1965). Diese Bezeichnung ist als Krankheitsbegriff im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein weit verbreitet (SYDLER et al., 2011). Das klinische Erscheinungsbild ist geprägt von Würfen mit orgelpfeifenartiger Abstufung bezüglich der Größe der Früchte (BARLOW, 1998; PLONAIT, 2004), die neben mumifizierten Föten (*mummification*) in unterschiedlichen Entwicklungsstadien auch totgeborene (*stillbirth*) und gegebenenfalls autolytisch veränderte Ferkel umfassen (NIELSEN et al., 1991; BARLOW, 1998; ALTHOUSE et al., 2019). Infolge einer frühen Infektion mit SMEDI-assoziierten Pathogenen, die in der Embryonalphase der Trächtigkeit stattfindet, kann es zum embryonalen Fruchttod (*embryonic death*) und zur Resorption von Embryonen kommen, was zu verringerten Wurfgrößen führt (ALTHOUSE et al., 2019). Werden alle Embryonen resorbiert, ist ein verzögertes Einsetzen des Zyklus eine mögliche Komplikation (*infertility*) (JOO et al., 1976; MENGELING et al., 2000; ALTHOUSE et al., 2019).

1.2. Ätiologie

Beim SMEDI-Syndrom handelt es sich nicht um ein einheitliches ätiologisch definiertes Krankheitsbild (PLONAIT, 2004). SMEDI kann durch verschiedene Erreger verursacht werden: Dazu gehören virale Erreger wie das Porzine Parvovirus (PPV) (STRECK & TRUYEN, 2020), das Porzine Circovirus Typ 2 (PCV2) (SYDLER et al., 2011), das Porzine Enterovirus (PEV), das Porzine Teschovirus (PTV), das Suid Herpesvirus 1 (SuHV-1), das African Swine Fever Virus (ASFV) oder bakterielle Erreger wie *Leptospira* spp., *Chlamydia* spp. oder *Brucella suis* (BARLOW, 1998; ALTHOUSE et al., 2019).

1.3. Pathogenese

1.3.1. Allgemeine Pathogenese

Im Rahmen einer transplazentaren Übertragung SMEDI-assoziiierter viraler Erreger kommt es zur Schädigung und Entwicklungshemmung des Embryos bzw. Fötus. Jedoch kommt es nicht zur Geburtsauslösung und damit einhergehend zum Abort, da die Plazenta intakt bleibt (PLONAIT, 2004). Die intrauterine virale Infektion breitet sich von einer Frucht ausgehend zu den anderen Wurfgeschwistern aus. Die intrauterine horizontale Ausbreitung führt dazu, dass die Ferkel zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten infiziert werden: So ergeben sich unterschiedliche Folgen aus einer Infektion (PLONAIT, 2004) (siehe Abbildung 1). Die Geschwindigkeit der Ausbreitung wird von der Virulenz des Erregers bestimmt (ALTHOUSE et al., 2019).

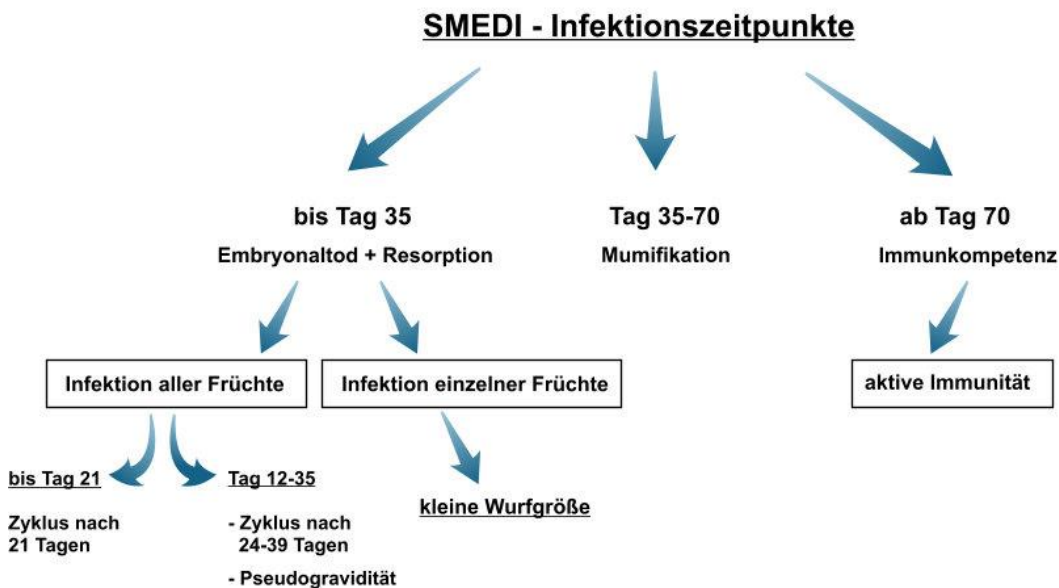


Abbildung 1: Übersicht über die Folgen einer intrauterinen Infektion der Ferkel in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt und Entwicklungsstadium der Ferkel, nach PLONAIT (2004).

Zu Beginn ist der Konzeptus bis zum sechsten bzw. siebten Trächtigkeitstag (ALMEIDA & DIAS, 2022) durch die Zona pellucida geschützt und unempfindlich für Infektionen (MATEUSEN et al., 2004; STRECK & TRUYEN, 2020). Danach schlüpft der Embryo aus der Zona pellucida (ALMEIDA & DIAS, 2022). Wird die Frucht bis zum 35. Trächtigkeitstag infiziert, kommt es zum Embryonal Tod und zur

intrauterinen Resorption des Embryos (PLONAIT, 2004). Bei einer Infektion und Resorption aller Früchte bis zum elften Tag der Trächtigkeit beginnt nach 21 Tagen regulär ein neuer Zyklus der Sau, man spricht von regulärem Umrauschen (CAMENISCH et al., 2004; PLONAIT, 2004).

Findet die Infektion zwischen Tag zwölf und Tag 35 statt, setzt nach 24 bis 39 Tagen verspätet ein neuer Zyklus ein: Dabei handelt es sich um irreguläres Umrauschen (CAMENISCH et al., 2004; PLONAIT, 2004). Zudem kann sich eine Pseudogravidität manifestieren, da an Tag zwölf der Trächtigkeit die Plazentation erfolgt (MENGELING et al., 2000). Werden nicht alle Früchte resorbiert und einzelne Embryonen überleben, zeichnen sich die Würfe durch eine kleine Wurfgröße aus und die überlebenden Ferkel können Missbildungen aufweisen (PLONAIT, 2004).

Werden die Föten zwischen Tag 35 und Tag 65 (PLONAIT, 2004) bzw. Tag 70 (MENGELING et al., 2000) infiziert, kommt es zur Mumifikation, da die Ossifikation des fötalen Skeletts und die Organogenese in diesem Zeitraum stattfinden. Es entsteht das typische Erscheinungsbild von SMEDI-assoziierten Würfen: Die Geburt findet zum errechneten Termin statt, es werden neben klinisch gesunden Ferkeln auch unterschiedlich weit entwickelte mumifizierte, totgeborene, autolytische, lebensschwache oder missgebildete Ferkel geboren (PLONAIT, 2004). Aus dem Tod aller Früchte kann eine verlängerte Trächtigkeitsdauer (bis 130 Tage) resultieren (PLONAIT, 2004).

Ab dem 65. (PLONAIT, 2004) bzw. 70. (MENGELING et al., 2000) Trächtigkeitstag ist ein Ferkel immunkompetent und eine Infektion induziert eine Immunreaktion. Dies hat die Geburt klinisch gesunder Ferkel mit Antikörpern gegen das entsprechende Pathogen zur Folge (BACHMANN et al., 1975; MENGELING et al., 2000; PLONAIT, 2004).

1.3.2. Pathogenese im Embryo bzw. Fötus

Bei Infektion eines Ferkels und damit einhergehendem intrauterinen Fruchttod, tritt eine Kaskade von Veränderungen in Kraft: Neben dem Verlust der Körperkondition kommt es zur Stauung von Blutgefäßen, Ödematisierung und Hämorrhagien mit Anhäufung seroanguinöser Flüssigkeit in den Körperhöhlen des Tieres. Die Haut verfärbt sich

aufgrund von Einblutungen dunkel (MENGELING et al., 2000). Bei Ansammlung seröser Flüssigkeit erscheint der Tierkörper ödematös (CHRISTIANSON, 1992). Anschließend kommt es zur Autolyse des Gewebes: Es findet eine enzymatische Zersetzung des fötalen Materials statt (LEFEBVRE, 2015). Mit zunehmender Dehydratation und Absorption der Flüssigkeiten durch den Uterus kommt es jedoch zur Mumifikation (CHRISTIANSON, 1992; MENGELING et al., 2000). Aufgrund der Austrocknung findet keine weitere Autolyse des Gewebes statt und der Körper des Ferkels schrumpft und wird zu einer trockenen und ledrigen Masse (LEFEBVRE, 2015).

1.4. Kategorisierung SMEDI-assoziiierter Ferkel

Ferkel aus SMEDI-assoziierten Würfen können in mumifizierte, totgeborene oder totgeborene autolytische Tiere eingeteilt werden (CHRISTIANSON, 1992; LEFEBVRE, 2015). Eine Mumie zeichnet sich neben der ledrigen, dehydrierten und dunkelbraun bis schwarz verfärbten Körperoberfläche durch eingesunkene Augen und ein faltenreiches Aussehen aus (CHRISTIANSON, 1992; LEFEBVRE, 2015). Totgeborene Ferkel werden in drei Klassen eingeteilt: Tiere, die kurz vor der Geburt (I), während der Geburt (II) oder nach der Geburt (III) sterben und fälschlicherweise als totgeborene Ferkel angesehen werden. Die Lungenschwimmprobe totgeborener Ferkel ist negativ, da die Lunge postnatal nicht belüftet wird (CHRISTIANSON, 1992). Im Vergleich zu mumifizierten Föten weisen totgeborene Ferkel einen normalen äußeren Entwicklungszustand auf. Totgeborene Ferkel, die kurz vor der Geburt sterben (bis zu drei Tage) weisen eine gelblich-braun gefärbte Haut und ein subkutanes Ödem auf. Die Nabelschnur ist lang und schwarz gefärbt. Ferkel, die während der Geburt versterben, haben eine rosa gefärbte Haut mit hämorrhagischen Bereichen im subkutanen Gewebe, die Nabelschnur weist eine rötliche Färbung auf (CHRISTIANSON, 1992; SERENA et al., 2021b). Totgeborene Ferkel unterscheiden sich von autolytisch veränderten Tieren in ihrem Aussehen: Autolytische Ferkel besitzen ein abnormales ödematöses Aussehen aufgrund der Ansammlung von Flüssigkeit im Körper (CHRISTIANSON, 1992; LEFEBVRE, 2015).

1.5. Altersbestimmung SMEDI-assoziiierter Ferkel

Anhand der Scheitel-Steiß-Länge (SSL) des Ferkels können Rückschlüsse auf das Alter gezogen werden. Die Scheitel-Steiß-Länge ist die Länge des Ferkels, gemessen am Rücken des Tieres vom Scheitel des Kopfes bis zum Schwanzansatz (BAXTER et al., 2008). Nach EVANS & SACK (1973) ist für jede Scheitel-Steiß-Länge ein zu erwartendes Alter für das Ferkel festgelegt (siehe Tabelle 1). Zudem kann mithilfe einer Formel das geschätzte Alter des Ferkels errechnet werden (KIRKWOOD et al., 2012):

$$\text{Alter in Tagen} = \frac{\text{SSL in mm}}{3} + 21$$

Tabelle 1: Korrelation des Alters von Föten mit der Scheitel-Steiß-Länge nach EVANS & SACK (1973).

Alter der Föten in Tagen	Scheitel-Steiß-Länge (mm)
20	12
25	20
30	25
35	30
40	50
45	65
50	85
55	106
60	125
70	160
80	210
90	240
100	270

2. Porzines Parvovirus

2.1. Erregereigenschaften

Das Porzine Parvovirus (PPV) gehört zur Familie der *Parvoviridae*. Zu dieser Familie zählen kleine (lat. parvus = klein), einzelsträngige und unbehüllte DNA-Viren. Der Subfamilie *Parvovirinae* werden unter anderem PPV1 bis PPV7 zugeordnet. Wenn man vom Porzinen Parvovirus spricht, wird in der Regel PPV1 gemeint (TRUYEN & STRECK, 2019). Sequenzanalysen von PPV1 zeigen, dass es antigenetisch uneinheitlich ist und verschiedene Stämme von PPV1 auftreten (ALTHOUSE et al., 2019). Isolate von PPV1 können in zwei Cluster aufgeteilt werden: Das erste

umfasst neben amerikanischen (PPV-NADL-2, PPV-Kresse), britischen und asiatischen Isolaten vier deutsche Isolate (darunter PPV-143a). Das zweite Cluster beinhaltet die deutschen Isolate PPV-21a, PPV-15a und PPV-27a (ZIMMERMANN et al., 2006). PPV1-Isolate unterscheiden sich in ihrer Virulenz (ZEEUW et al., 2007). Niedrig-virulente PPV1-Isolate wie beispielsweise PPV-NADL-2 können im Gegensatz zu hoch-virulenten (PPV-Kresse, PPV-27a) die Plazentabariere nicht passieren (TRUYEN & STRECK, 2019). ZEEUW et al. (2007) zeigen in einem Versuch, dass die fötale Mumifikation in Würfen von Sauen, die mit PPV-27a infiziert wurden, signifikant höher ist als bei Muttertieren, die mit PPV-NADL-2 infiziert wurden. Je nach Virulenz des Erregers ergeben sich so unterschiedliche Folgen aus einer Infektion mit PPV (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: PPV1-Isolate unterschiedlicher Virulenz: Vergleich zwischen PPV-NADL-2 und PPV-Kresse nach TRUYEN & STRECK (2019).

Virus-Isolat	Virämie nach oraler Infektion	Fötaler Tod nach intrauteriner Infektion	Transplazentare Übertragung nach oraler Infektion	Tod immun-kompetenter Ferkel
NADL-2	-	+	-	-
Kresse	+	+	+	+

2.2. Epidemiologie

PPV kann in allen Produktionsstufen vorkommen und ist auf der ganzen Welt endemisch (MENGELING et al., 2000; STRECK & TRUYEN, 2020). Die Prävalenz von PPV ist in den letzten Jahren weltweit konstant (VEREECKE et al., 2022). In einer Untersuchung von STRECK et al. (2013) aus Deutschland wurde in über 50% von Tonsillen- und Herzgewebeproben gesunder Mastschweine PPV nachgewiesen, dies deutet auf Kommensalismus hin (STRECK et al., 2015). PPV wird überwiegend mit SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht (STRECK & TRUYEN, 2020). PPV-induzierte Reproduktionsstörungen werden dabei besonders bei naiven Jungsauern beobachtet (SHARMA & SAIKUMAR, 2010).

2.3. Erregerübertragung

PPV kann sowohl horizontal als auch vertikal übertragen werden. Eine horizontale Übertragung erfolgt über den direkten Kontakt mit Se- und

Exkreten infizierter Tiere. Für das Auftreten SMEDI-assoziiertes Reproduktionsstörungen ist die vertikale Transmission entscheidend (MENGELING et al., 2000).

Eine gängige Hypothese ist, dass eine Virämie des Muttertieres den Ausgangspunkt für eine diaplazentare virale Übertragung darstellt (JOO et al., 1976; MENGELING & CUTLIP, 1976). Die vertikale Transmission von der Sau auf das Ferkel dauert nach einer natürlichen oralen Infektion zwölf bis 18 Tage (JOHNSON et al., 1976). Zunächst findet eine virale Replikation in der Mund- und Nasenhöhle der Sau statt und nach ein bis drei Tagen wird das lymphatische System erreicht und darauf folgt eine zellfreie Virämie (BROWN et al., 1980; PAUL & MENGELING, 1980; KAUR et al., 2016). PPV zirkuliert frei im Blut und entkommt der Immunantwort der Sau. Mit fortschreitender Trächtigkeitsdauer nimmt die Durchblutung des Uterus zu, wodurch die Übertragung des Virus wahrscheinlicher wird (PENSAERT et al., 2004). Der Vorgang der transplazentaren Infektion durch PPV ist nicht gänzlich geklärt (MENGELING et al., 2000). Es gibt drei verschiedene Möglichkeiten, wie PPV die Plazentabarriere überwinden könnte:

- 1) Mithilfe von Körperflüssigkeiten wie Blut oder Lymphe,
- 2) Über fortschreitende Replikation in den Zellschichten der plazentalen Barriere oder
- 3) Mithilfe von Makrophagen als Vehikel (MENGELING et al., 2000).

Die Zirkulation von Blut und Lymphe zwischen Sau und Ferkeln ist gänzlich getrennt, daher ist der Weg über Körperflüssigkeiten auszuschließen (MENGELING et al., 2000). Es erscheint ebenfalls unwahrscheinlich, dass sich das Virus durch Replikation in den Zellschichten der plazentalen Barriere auf die Föten überträgt (MESZAROS et al., 2017). Die Infektion mit PPV führt durch ROS-Akkumulation zur Apoptose der Wirtszelle und schädigt über den intrinsischen apoptotischen Weg die schnellteilenden Zellen der Plazenta (WILHELM et al., 2005; ZHANG et al., 2019a).

Das Virus bleibt nach der Phagozytose durch Makrophagen in den Zellen

oder auf deren Oberfläche infektiös und maternale Makrophagen werden als Vehikel zum Übertritt über die Trophoblastenschicht genutzt (PAUL et al., 1979; MENGELING et al., 2000). KARNIYCHUK et al. (2012) zeigen im Rahmen eines PRRSV-Infektionsversuchs, dass Mikrochimärismus bei Schweinen auftritt. Zum einen wurden weibliche Zellen in männlichen Föten nachgewiesen, wobei ein Ursprung sowohl vom Muttertier als auch von den weiblichen Wurfgeschwistern denkbar ist. Der Ursprung der weiblichen mikrochimärischen Zellen wurde nicht geklärt, die maternale Übertragung ist demnach nicht bewiesen, aber möglich. Zum anderen wurden in weiblichen Tieren männliche mikrochimärische Zellen gefunden: PRRSV könnte also mikrochimärische Zellen der Wurfgeschwister nutzen, um zwischen den Föten im Uterus zu wandern. KARNIYCHUK et al. (2012) stellen die These auf, dass eine Wanderung der fötalen Zellen durch die Anlagerung der benachbarten Enden der Fruchtblasen möglich wird. Diese Beobachtungen wären auch auf andere Erreger übertragbar (KARNIYCHUK et al., 2012).

2.4. Klinisches Erscheinungsbild

Werden adulte Schweine mit PPV infiziert, fällt erst nur eine transiente Lymphopenie fünf bis zehn Tage nach der Infektion in der hämatologischen Untersuchung auf (ZEEUW et al., 2007). Nach der Infektion trächtiger Sauen kommt es zu SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen, wobei die Sauen über die gesamte Trächtigkeitsperiode klinisch gesund erscheinen (MENGELING & PAUL, 1981; ZEEUW et al., 2007).

2.5. Diagnostik von PPV in Fällen von SMEDI

Das klinische Erscheinungsbild von SMEDI ist zwar häufig mit PPV assoziiert (MENGELING et al., 2000), jedoch bedarf es weiterer diagnostischer Maßnahmen zur ätiologischen Abklärung, da auch andere Erreger differentialdiagnostisch in Frage kommen (BARLOW, 1998). Aufgrund der hohen Prävalenz von PPV und der PPV-Impfdichte in Schweineherden, ist auch der Nachweis von Antikörpern bei adulten Tieren nur wenig aussagekräftig (STRECK & TRUYEN, 2020). Im Rahmen der Routinediagnostik sollte ein Genom-Nachweis von PPV erfolgen und

in Kombination mit den klinischen und serologischen Befunden interpretiert werden (ALTHOUSE et al., 2019; TRUYEN & STRECK, 2019).

2.5.1. Pathomorphologische Veränderungen in SMEDI-Ferkeln

Da die Replikation des Virus im teilungsaktiven hämatopoetischen und lymphatischen Gewebe stattfindet, kommt es zur Hämolyse und Schädigung vaskulärer Endothelien (LENGHAUS et al., 1978; NIELSEN et al., 1991; MENGELING et al., 2000). Infizierte Ferkel aus SMEDI-betroffenen Würfen fallen makroskopisch durch Hämorrhagien im subkutanen Gewebe, in der Muskulatur (LENGHAUS et al., 1978) und den Organen sowie durch hämorrhagische Flüssigkeitsansammlungen in den Körperhöhlen auf (NIELSEN et al., 1991).

In der histopathologischen Untersuchung zeigen sich Zellnekrosen in sich entwickelnden Organsystemen (JOO et al., 1977; LENGHAUS et al., 1978) und Mineralisation in Lunge, Leber, Niere, Muskulatur und Herz (LENGHAUS et al., 1978; KAUR et al., 2016). Zudem wurde bei betroffenen Ferkeln eine Myokarditis beschrieben, die mit Infiltrationen mononukleärer Zellen und Hämorrhagien im Myokard einhergeht (BOLT et al., 1997). Neben der Zunahme mononukleärer Zellen in den Organen inokulierter Ferkel, treten auch Akkumulationen im Endometrium und der Lamina propria der Gebärmutter auf (HOGG et al., 1977; KAUR et al., 2016).

2.5.2. Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe

Für die Routinediagnostik ist die quantitative PCR (qPCR) eine sensitive und spezifische Methode, um in fötalen Gewebeproben PPV-Genom direkt nachzuweisen. Gewebeproben von fötalem Herz- und Lungengewebe sind für den Nachweis von PPV aus Ferkeln SMEDI-assoziiertes Würfe unabhängig vom klinischen Erscheinungsbild geeignet (O'CONNOR et al., 2001; WOLF et al., 2008; MIAO et al., 2009). In Tabelle 3 wird eine Übersicht über Möglichkeiten der Gewebeprobenauswahl zum Nachweis von PPV-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR in Gewebeproben von totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln gegeben.

Tabelle 3: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PPV-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Lu=Lunge, Hm=Herzmuskel, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, To=Tonsillen, Int=Darm, Go=Gonaden).

Studie	Fötale Gewebe									
	Lu	Hm	Th	Ni	Mi	Le	Ln	To	Int	Go
WILHELM et al. (2005)	x	x	x	x	x		x		x	x
WOLF et al. (2008)	x	x	x	x	x					
MIAO et al. (2009)	x	x		x	x	x			x	x
SERENA et al. (2019)										
SERENA et al. (2021b)	x	x		x		x		x		

2.5.3. Indirekter Erregernachweis

Die Untersuchung von Serumproben mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ist eine effektive und zuverlässige Methode, um Antikörper gegen PPV nachzuweisen. Dafür stehen Sandwich-ELISA mit Capture-Antikörpern zur Verfügung (WESTENBRINK et al., 1989). Für die serologische Untersuchung von Sauenblutproben mit PPV-assoziierten Würfen sollten zwei Serumblutproben gewonnen werden: Eine zum Zeitpunkt des Aborts und die zweite Probe zwei bis vier Wochen später, um einen eventuellen Antikörperanstieg zu beobachten (TRUYEN & STRECK, 2019). Auch eine vergangene Infektion kann hohe Antikörpertiter verursachen, jedoch ist ein Antikörperanstieg beweisend für eine akute Infektion (MENGELING & CUTLIP, 1975; ZEEUW et al., 2007). Zudem kann Serum von Föten aus SMEDI-betroffenen Würfen untersucht werden, um deren Antikörperstatus zu überprüfen (NIELSEN et al., 1991). Der Nachweis von Antikörpern in totgeborenen Ferkeln oder in präkolostral gewonnenem Serum deutet auf eine intrauterine Infektion hin, da maternale Antikörper die Plazentabariere nicht durchqueren können (MENGELING et al., 2000). Auch in Körperflüssigkeiten wie beispielsweise Brusthöhlenflüssigkeit kann ein Antikörpernachweis durchgeführt werden (JOO et al., 1976; O'CONNOR et al., 2001).

2.6. Prophylaxe

Eine entscheidende Maßnahme zur Infektionsprophylaxe ist die Impfung: Kommerziell erhältliche Präparate basieren auf den Isolaten PPV-IDT (MSV) und PPV-NADL-2 (JÓŹWIK et al., 2009; FOERSTER et al., 2016). Das Vorhandensein neutralisierender Antikörper ist entscheidend für den Verlauf einer PPV-Infektion (MESZAROS et al., 2017). Die Ergebnisse der Untersuchungen von ZEEUW et al. (2007) stellen die Kreuzprotektivität herkömmlicher Impfstoffe in Frage (ZEEUW et al., 2007). Inaktivierte Impfstoffe induzieren eine Antikörperbildung gegenüber homologen Infektionen, aber können eine Virusübertragung und -ausscheidung nach Kontakt mit einem heterologen Stamm (PPV-27a) nicht verhindern (FOERSTER et al., 2016). Trotz hoher Antikörpertiter kann es zu einer Virämie und Virusausscheidung nach Kontakt mit PPV-27a kommen (FOERSTER et al., 2016; OPRIESSNIG et al., 2017). Dennoch bietet die Impfung Schutz für Ferkel vor einer Infektion und reduziert das Auftreten von Reproduktionsstörungen (JÓŹWIK et al., 2009; FOERSTER et al., 2016).

3. Porzines Circovirus Typ 2 und 3

3.1. Erregereigenschaften

Porzine Circoviren werden der Familie *Circoviridae* zugeteilt (ROSARIO et al., 2017). Sie sind einzelsträngige, unbehüllte Viren mit einem zirkulären DNA-Genom (TISCHER et al., 1982). In der Literatur werden folgende Spezies beschrieben: PCV1 (TISCHER et al., 1986), PCV2 (MEEHAN et al., 1998), PCV3 (PALINSKI et al., 2017) und PCV4 (ZHANG et al., 2020).

3.2. Epidemiologie

PCV2 kommt ubiquitär in der Hausschweinepopulation vor und hat einen großen wirtschaftlichen Einfluss auf die Schweineproduktion weltweit (ROSE et al., 2012). Auch in deutschen Ferkelerzeugerbetrieben wird PCV2 regelmäßig detektiert (EDDICKS et al., 2022). Der PCV2-Nachweis in gesunden Tieren zeigt, dass häufig subklinische Infektionen auftreten (ZHOU et al., 2016; EDDICKS et al., 2019). PCV2-assoziierte Reproduktionsstörungen betreffen vor allem Jungsauen (OROPEZA-MOE et al., 2017; EDDICKS et al., 2019).

Auch PCV3 ist weltweit verbreitet (OUYANG et al., 2019) und mit hoher Prävalenz in deutschen Schweinebeständen nachzuweisen (FUX et al., 2018). PCV3 wurde 2016 erstmalig nachgewiesen (PHAN et al., 2016) und gewinnt zunehmend an Bedeutung: Insbesondere PCV3-assoziierte Reproduktionsstörungen werden häufiger diagnostiziert (SAPORITI et al., 2021b).

3.3. PCV2

3.3.1. Erregerübertragung

PCV2 kann horizontal und vertikal übertragen werden. Die horizontale Erregerübertragung erfolgt über respiratorische und digestive Se- und Exkrete (ROSE et al., 2012). Eine vertikale Transmission ist für das Auftreten PCV2-assoziiierter Reproduktionsstörungen von Bedeutung (ROSE et al., 2012) sowie für die Geburt PCV2-positiver Ferkel (RITZMANN et al., 2005; SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013).

In einer Untersuchung von DVORAK et al. (2013) werden präkolostral entnommene Blutproben mittels PCR untersucht. In 63% dieser Proben wird PCV2-DNA detektiert und 5% der Proben sind PCV2-IgG-positiv (DVORAK et al., 2013). Auch SHEN et al. (2010) weisen in 21,4% der präkolostral entnommenen Blutproben PCV2-IgG-Antikörper nach. Diese Ergebnisse stehen im Hinblick auf präkolostral virämische und Antikörperpositive Ferkel im Kontrast zu Ergebnissen zweier Studien aus Europa (EDDICKS et al., 2016; DIESTE-PÉREZ et al., 2018).

Die Virämie der Muttersau in der frühen Trächtigkeit stellt einen möglichen Ausgangspunkt für eine intrauterine Infektion dar (MADSON et al., 2009a; GERBER et al., 2012; EDDICKS et al., 2019) und gilt als Hauptursache für eine diaplazentare Infektion, da der Uterus an sich kein Zielorgan für PCV2 darstellt (MADSON et al., 2009c). Die virale Transmission über die Plazenta kann zellfrei durch freie PCV2-Partikel oder zellvermittelt stattfinden. Mit zunehmender Dauer einer Virämie wird auch die Übertragung vom Muttertier auf die Ferkel wahrscheinlicher (PENSAERT et al., 2004).

3.3.2. Klinisches Erscheinungsbild: PCV-2-RD

Die PCV2 reproductive disease (PCV-2-RD) ist ein Begriff für Reproduktionsstörungen (SEGALÉS, 2012). Die betroffenen Würfe stellen sich typisch SMEDI-assoziiert dar (WEST et al., 1999; PARK et al., 2005; OROPEZA-MOE et al., 2017; SEGALÉS & SIBILA, 2022). Sauen sind häufig subklinisch mit PCV2 infiziert (SHEN et al., 2010; EDDICKS et al., 2019). Vereinzelt kann eine erhöhte Körpertemperatur zum Zeitpunkt der Geburt festgestellt werden (PARK et al., 2005).

3.3.3. Diagnostik von PCV2 in Fällen von SMEDI

Nach SEGALÉS & SIBILA (2022) müssen für die Diagnose der PCV2 reproductive disease folgende drei Punkte erfüllt werden:

- 1) Zunahme der Reproduktionsstörungen in der späten Trächtigkeit oder SMEDI-Symptomatik,
- 2) Auftreten einer fibrösen und/oder nekrotisierenden Myokarditis in den Föten und
- 3) Nachweis mäßiger bis hoher Mengen PCV2-Genoms im fötalen Herzgewebe mittels quantitativer PCR.

In anderen Untersuchungen konnten keine Myokardläsionen nachgewiesen werden (UNTERWEGER et al., 2021), wodurch Zweifel am Wert histologischer Veränderungen für die Diagnose der PCV-2-RD aufkommen. Dennoch sollten Myokardläsionen mit in die Falldefinition aufgenommen werden, um die Krankheit zu bestätigen (SEGALÉS & SIBILA, 2022).

Für eine Diagnosestellung der PCV-2-RD in der frühen Phase der Trächtigkeit sollen zwei Punkte zutreffen:

- 1) Reguläres Umrauschen und
- 2) PCV2-Serokonversion der Sau und/oder Nachweis von PCV2-DNA rund um das Umrauschen (SEGALÉS & SIBILA, 2022).

3.3.3.1. Pathomorphologische Veränderungen in SMEDI-Ferkeln

Die Replikation von PCV2 findet in Kardiomyozyten, Hepatozyten und Monozyten des fötalen Gewebes statt (SANCHEZ et al., 2003). Mit zunehmendem Alter des Fötus nimmt die Replikation ab: Einerseits tritt

die humorale Immunantwort in Kraft, andererseits nimmt die Mitoserate mit zunehmender Trächtigkeitsdauer ab (PENSAERT et al., 2004; NAUWYNCK et al., 2012).

In der histopathologischen Untersuchung betroffener Föten fallen entzündliche Veränderungen am Herzen auf (OROPEZA-MOE et al., 2017). Im Rahmen einer fibrösen und/oder nekrotisierenden Myokarditis (WEST et al., 1999) kommt es im Endokard zur Ansammlung mononukleärer Zellen (OROPEZA-MOE et al., 2017). Makroskopisch fällt eine kardiale Hypertrophie mit multifokal verfärbten Bereichen im Myokard auf (WEST et al., 1999). Durch die Schädigung des Herzmuskels kommt es zum Fruchttod (PENSAERT et al., 2004).

3.3.3.2. Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe

Die am häufigsten verwendete Technik zum Nachweis von PCV2-Genom ist die quantitative PCR (qPCR) (SEGALÉS & SIBILA, 2022). Für die Diagnose der PCV-2-RD sollte eine qPCR aus fötalem Herzgewebe durchgeführt werden. Hohe Viruslasten (10^9 Genomkopien/g Herzgewebe) sind hinweisend auf eine PCV-2-RD (UNTERWEGER et al., 2021; SEGALÉS & SIBILA, 2022). UNTERWEGER et al. (2021) untersuchen Herzgewebe mittels qPCR sowie IHC und stellten fest, dass die höchste Viruslast in autolytischen oder mumifizierten Ferkeln nachzuweisen war. In Tabelle 4 wird eine Übersicht über die Probenauswahl zum Nachweis von PCV2-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR in Gewebeproben von totgeborenen oder mumifizierten Föten gegeben.

Tabelle 4: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PCV2-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, Int=Darm, ZNS=Gehirn).

Studie	Fötale Gewebe								
	Hm	Lu	Th	Ni	Mi	Le	Ln	Int	ZNS
(BRUNBORG et al., 2007)	x	x		x	x	x		x	x
(KIM et al., 2004)	x		x		x	x	x		
(DVORAK et al., 2013)	x	x		x	x	x	x	x	
(OROPEZA-MOE et al., 2017)	x								
(UNTERWEGER et al., 2021)	x								

3.3.3.3. Indirekter Erregernachweis

Antikörper gegen PCV2 können mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) nachgewiesen werden. Dafür stehen Untersuchungen mittels Sandwich-ELISA (ALLAN & ELLIS, 2000) und kompetitiven ELISA (WALKER et al., 2000) zur Verfügung. Die beiden Antikörperklassen IgG und IgM und deren relative Mengen können dabei bestimmt werden. Zur Ergebnisinterpretation wird deren Verhältnis zueinander untersucht (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Ergebnisinterpretation nach INgezim® Circovirus IgG/IgM Gebrauchsanweisung (Ingenasa, Madrid, Spain).

Nachweis IgG (+/-)	Nachweis IgM (+/-)	Verhältnis IgM/IgG (relative Menge)	Ergebnis-Interpretation
-	-		Keine Infektion/ lange vergangener Kontakt
+	+	IgM > IgG	Aktive Infektion
+	+	IgG > IgM	Kürzliche Infektion (1-2 Monate)
+	-		Alte Infektion

Ein Antikörper-Nachweis bei Sauen spielt für die Diagnose der PCV-2-RD nur beim Nachweis von Infektionen in der frühen Trächtigkeit mit

anschließendem Umrauschen eine Rolle (siehe Abschnitt 3.3.3), denn ein Antikörperanstieg rund um das Umrauschen sollte erfolgen (SEGALÉS, 2012).

Eine intrauterine Infektion der Ferkel kann durch den Nachweis PCV2-spezifischer Antikörper im Untersuchungsmaterial von Ferkeln bewiesen werden (MADSON & OPRIESSNIG, 2011). Dazu werden fötale Serum- oder Brusthöhlenflüssigkeitsproben oder präkolostral gewonnene Serumproben von lebendgeborenen Ferkeln untersucht (HANSEN et al., 2010; MADSON & OPRIESSNIG, 2011). Eine Untersuchung von SHEN et al. (2010) zeigt hinsichtlich der Infektionsstatus neugeborener Ferkel unterschiedliche Szenarien auf. Es werden präkolostral gewonnene Blutproben auf PCV2-spezifische-Antikörper und -Genom untersucht (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht über Ergebnisse der Untersuchung von SHEN et al. (2010); Aufzeigen möglicher Infektionsstatus der geborenen Ferkel („+“ = Nachweis; „-“ = kein Nachweis) aufgeteilt nach Gruppen eins bis vier.

	PCV2-Genom	Antikörper gegen PCV2	Kommentar
(1)	-	+	Elimination PCV2; Infektion in Phase der Immunkompetenz
(2)	+	+	Keine Elimination PCV2; Infektion in Phase der Immunkompetenz
(3)	+	-	Infektion in frühem Stadium
(4)	-	-	Keine Infektion

(1) 13,8% der Tiere werden PCV2-Antikörper-positiv und PCV2-DNA-negativ geboren. Diese Ferkel werden nach Tag 70 in der Phase der Immunkompetenz infiziert und das Virus wird dadurch eliminiert (SHEN et al., 2010). Der Nachweis von neutralisierenden Antikörpern gegen PCV2 weist auf eine intrauterine Infektion in der Phase der Immunkompetenz hin (GERBER et al., 2012). **(2)** 7,6% der Ferkel werden PCV2-Antikörper-positiv und PCV2-Genom-positiv geboren. Diese Tiere werden ebenfalls nach Beginn der Immunkompetenz infiziert, eine Elimination des Virus

gelingt jedoch nicht (SHEN et al., 2010). **(3)** 32,3% der untersuchten Tiere zeigen keine PCV2-spezifischen Antikörper, aber PCV2-DNA in den Blutproben auf. Die Föten werden im frühen Stadium der Trächtigkeit infiziert (SHEN et al., 2010). Diesen Tieren kommt möglicherweise als immuntolerante Trägartiere eine wesentliche Rolle bei der Verbreitung von PCV2 in einem Bestand zu (ALLAN et al., 1995). **(4)** 46,3% der Ferkel weisen weder PCV2-Antikörper noch PCV2-Genom auf, das heißt sie werden nicht infiziert (SHEN et al., 2010).

SAHA et al. (2014) stellen die Hypothese auf, dass geringe Mengen von PCV2-Antikörpern in der Lage sind, die Plazenta von Sauen mit hohen PCV2-Antikörpertitern über kleine Läsionen in der Plazentaschranke während der Trächtigkeit zu überqueren. Demnach würde sich der Antikörper-Nachweis aus fötalen Blutproben nicht zum Nachweis einer vertikalen Infektion eignen (SAHA et al., 2014).

3.3.4. Prophylaxe

Die Infektion naiver Jungsauen ist ein Risikofaktor für das Auftreten von PCV2-assoziierten Reproduktionsstörungen: Besonders in Herden mit einem hohen Jungsauen-Anteil zeigt sich die PCV-2-RD (O'CONNOR et al., 2001; OROPEZA-MOE et al., 2017). Neue Genotypen von PCV2, wie beispielsweise PCV2-d, können PCV2-assoziierte Reproduktionsstörungen verursachen (UNTERWEGER et al., 2021; REIF et al., 2022). In dem Fallbericht von OROPEZA-MOE et al. (2017) treten nach der Einführung der PCV2-Impfung keine neuen Fälle von SMEDI-assoziierten Würfen mehr auf. Zudem zeigte PLEGUEZUELOS et al. (2021), dass eine Bestandsimpfung unter anderem die vertikale Transmission von PCV2-DNA auf die Föten reduzieren kann.

3.4. PCV3

3.4.1. Erregerübertragung

Die Transmission von PCV3 ist noch unerforscht und es gibt wenige Berichte darüber (SEGALÉS et al., 2019). Man geht davon aus, dass die Übertragung sowohl vertikal als auch horizontal, wie bei PCV2 stattfinden kann (TURLEWICZ-PODBIELSKA et al., 2022). In einer Untersuchung aus

Deutschland wird eine PRRSV-Infektion als Wegbereiter für PCV3 vermutet: In erdrückten Ferkeln von Sauen, die gegen PRRSV geimpft wurden, werden seltener PCV3-spezifische Genomfragmente nachgewiesen. Eine PRRSV-Impfung könnte ein schützender Faktor vor einer fötalen Infektion mit PCV3 sein (EDDICKS et al., 2022).

In einer Untersuchung von VARGAS-BERMÚDEZ et al. (2021) wird die Möglichkeit einer vertikalen Transmission beleuchtet. Im Rahmen einer Feldstudie werden eine Jungsau und Ferkel ihres Wurfes beprobt. Präkolostral gewonnene Serumproben von lebendgeborenen Ferkeln werden auf PCV3-spezifische Genomfragmente untersucht: Direkt nach der Abferkelung werden die höchsten Virustiter gemessen. Bis zur sechsten Lebenswoche nimmt die Viruslast wieder ab. Diese Beobachtung gibt einen Hinweis auf die intrauterine Übertragung von PCV3-DNA (VARGAS-BERMÚDEZ et al., 2021). Zudem werden Gewebeproben der Plazenta und eines mumifizierten Ferkels des Wurfes gewonnen und auf PCV3-Genom untersucht. Von allen Proben, die zum Zeitpunkt des Abferkelns gewonnen werden, enthalten Plazenta und Gewebeproben der Mumie die höchsten Virustiter. Der Gewebetropismus von PCV3 zum Plazentagewebe könnte laut VARGAS-BERMÚDEZ et al. (2021) Ausgangspunkt für die vertikale Erregerübertragung auf die Föten sein.

3.4.2. Klinisches Erscheinungsbild: PCV-3-RD

Der Begriff PCV-3-reproductive disease (PCV-3-RD) wird von SAPORITI et al. (2021b) als Bezeichnung für PCV3-assoziierte Reproduktionsstörungen vorgeschlagen und soll der PCV-2-RD ähneln (siehe Abschnitt 3.3.2) (PALINSKI et al., 2017). PALINSKI et al. (2017) berichten von einem Schweinebestand in North Carolina, in dem zusätzlich PDNS-ähnliche Symptome bei den Sauen auftraten und die Sauen-Mortalität deutlich zunahm.

3.4.3. Diagnostik von PCV3 in Fällen von Reproduktionsstörungen

Nach SAPORITI et al. (2021b) werden für die Diagnose der PCV-3-RD drei diagnostische Kriterien festgelegt:

- 1) Ausbildung von Reproduktionsstörungen in der späten Trächtigkeit und erhöhte perinatale Mortalität,

- 2) Auftreten einer multisystemischen lymphoplasmazellulären perivaskulären Entzündung in den Föten und
- 3) Nachweis mäßiger bis hoher Mengen PCV3-Genoms in Läsionen fötalen Gewebes mittels quantitativer PCR.

3.4.3.1. Pathomorphologische Veränderungen in Ferkeln

PHAN et al. (2016) gelingt ein Nachweis von PCV3-mRNA in Läsionen kardialer Gewebeproben mittels ISH. Mit diesem Nachweis wird die Replikation von PCV3 in kardialen Zellen aufgezeigt (PHAN et al., 2016). Demnach wird eine Replikation in den Herzmuskelzellen, wie bei PCV2, vermutet (ARRUDA et al., 2019).

In der histopathologischen Untersuchung der Ferkel fällt eine lymphozytäre Myokarditis (ARRUDA et al., 2019) mit einer nicht-eitrigen perivaskulären Entzündung im Subendokard und Myokard auf (SERENA et al., 2021a). Es zeigen sich Bereiche von interstitieller Fibrose, Ödem oder Hämorrhagien im Myokard (SERENA et al., 2021a). In der Tunica adventitia und der Tunica media kardialer Arteriolen sind Lymphozyten und Histozyten nachweisbar (PHAN et al., 2016). Darüber hinaus stellen SAPORITI et al. (2021a) in der histologischen Untersuchung von fötalem Gewebe eine systemische lymphoplasmazelluläre Periarteritis mit diffuser Infiltration von Organen fest und vermuten einen allgemeinen PCV3-Tropismus zu Blutgefäßen. PCV3-Genom wurde mittels ISH vor allem in den glatten Muskelzellen von Arterien verschiedener fötaler Gewebeproben nachgewiesen (SAPORITI et al., 2021a).

3.4.3.2. Direkter Erregernachweis aus fötalem Gewebe

Der Goldstandard zum Nachweis von PCV3-Genom ist die quantitative PCR (qPCR) (SAPORITI et al., 2021b). Nach SAPORITI et al. (2021b) sollte in jedem Fall fötales Herzmuskelgewebe mit in die Untersuchung eingeschlossen werden. In Tabelle 7 wird eine Übersicht gegeben über mögliche Gewebeproben zum Nachweis von PCV3-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR in totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln.

Tabelle 7: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PCV3-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, Int=Darm, ZNS=Gehirn).

Studie	Fötale Gewebe								
	Hm	Lu	Th	Ni	Mi	Le	Ln	Int	ZNS
FACCINI et al. (2017)	x	x	x						x
(DAL SANTO et al., 2020)	x	x	x	x		x			x
(SAPORITI et al., 2021a)	x	x	x		x	x			

3.4.3.3. Indirekter Erregernachweis

Mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) können spezifische PCV3-Serumantikörper nachgewiesen werden (PALINSKI et al., 2017; DENG et al., 2018). Zur Detektion der Antikörper wird ein PCV3-cap-Antigen verwendet (PALINSKI et al., 2017). ZHANG et al. (2019b) entwickeln einen Kapsidprotein-basierten indirekten ELISA, wobei kein kommerzieller ELISA-Test erhältlich ist.

3.4.4. Prophylaxe

Bisher ist die Forschung im Zusammenhang mit der Entwicklung eines PCV3-Impfstoffes in einem frühen Stadium und es steht noch keine Vakzine zur Gesundheitsprophylaxe zur Verfügung (TURLEWICZ-PODBIELSKA et al., 2022). Es wird angenommen, dass aufgrund der geringen Sequenzähnlichkeit von PCV3 mit anderen PCV-Stämmen, herkömmliche PCV2-Impfstoffe keine Kreuzprotektivität gegenüber PCV3 bieten (DENG et al., 2018; EDDICKS et al., 2022).

4. Koinfektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in Fällen von Reproduktionsstörungen

In einigen Untersuchungen (siehe Tabelle 8) werden Koinfektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in Fällen von Reproduktionsstörungen in der Späträchtigkeit diagnostiziert (SAPORITI et al., 2021b).

Tabelle 8: Übersicht über beschriebene Koinfektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in fötalem Gewebe.

Nachgewiesene Pathogene			Reproduktions- störungen	Quellenangabe
PPV	PCV2	PCV3		
x		x	ja	(SERENA et al., 2021a)
x	x	x	ja	(DAL SANTO et al., 2020)
	x	x	ja	(SAPORITI et al., 2021a)
x	x		nein	(SERENA et al., 2021b)

In Fällen von Koinfektionen mit PPV und PCV2 werden sowohl unter Feld- (MIŁEK et al., 2020) als auch unter experimentellen Bedingungen (OPRIESSNIG et al., 2004) deutlich stärker ausgeprägte PCV2-assoziierte Krankheitsbilder (porcine circovirus diseases, PCVD) bei subadulten Schweinen verursacht. In der Untersuchung von MIŁEK et al. (2020) mit Schweinen bis zur 21. Lebenswoche wird festgestellt, dass PPV-DNA signifikant häufiger in PCV2-DNA-positiven Serumproben als in PCV2-DNA-negativen Proben vorkommt. Gleichzeitig war der PCV2-Ct-Wert in PPV-DNA-positiven Serumproben niedriger als in PPV-DNA-negativen Blutproben (MIŁEK et al., 2020). In der Literatur werden verschiedene Erklärungen zur synergistischen Wirkung zwischen PPV und PCV2 geliefert: Im Laufe einer PPV-Infektion kommt es zur Immunproliferation in deren Folge aktivierte Makrophagen die Replikation von PCV2-DNA durch die einhergehende erhöhte Zellteilungsrate unterstützen (KRAKOWKA et al., 2001). Eine weitere Hypothese beschreiben PESCADOR et al. (2007): Die PPV-Replikation in Makrophagen könnte auch in einer Dysfunktion der Immunzellen resultieren und eine daraus folgende Immunsuppression kann die PCV2-Replikation begünstigen. Alternativ kommt auch PCV2 als „Wegbereiter“ infrage: PCV2 initiiert eine Lymphozytendepletion und erhöht so die Anfälligkeit eines Organismus für

bakterielle und virale Erreger (PESCADOR et al., 2007).

MAI et al. (2021) untersuchen Koinfektionen mit PPV und PCV3 in Serumproben von Sauen und zeigen, dass die PCV3-Viruslast bei gleichzeitiger Infektion mit PPV signifikant höher ist als bei PCV3-Monoinfektionen. Bei gleichzeitigem Vorkommen von PCV2 und PCV3 wird in den Untersuchungen von EDDICKS et al. (2022) keine synergistische Wirkung der beiden Viren vermutet. Es werden erdrückte Saugferkel auf PCV2- und PCV3-DNA untersucht, wobei bei Koinfektionen keine höheren Viruslasten der Erreger detektiert werden.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Arbeitshypothesen

Basierend auf der Annahme, dass PCVDs bei Vorliegen einer PPV-Koinfektion schwerer verlaufen, sollte folgende Arbeitshypothese überprüft werden:

1. Die messbare Größe „Viruslast in fötalem Gewebe“ ist unter Feldbedingungen in Fällen von SMEDI bei Vorliegen einer Koinfektion von PPV und PCV2 höher als bei einer Monoinfektion des jeweiligen Erregers.

PCV3 wird zwar mit Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht, Assoziationen mit dem SMEDI-Syndrom sind bislang jedoch nicht beschrieben. Daher soll diese Arbeitshypothese evaluiert werden:

2. PCV3 kann in hoher Viruslast in fötalem Gewebe in Fällen von SMEDI nachgewiesen und analog zu PCV2 mit diesem Syndrom assoziiert werden.

Ein Antikörpernachweis aus fötalen Serum- oder Körperflüssigkeitsproben ist nach aktuellem Wissensstand beweisend für eine intrauterine Infektion. Im Rahmen des Projekts soll nachfolgende Arbeitshypothese untersucht werden:

3. Der Antikörpernachweis aus Herzblut oder Brusthöhlenflüssigkeit von Ferkeln SMEDI-assoziierter Würfe stellt einen diagnostischen Mehrwert beim Nachweis einer diaplazentaren Infektion von PPV und PCV2 dar.

Die Aufarbeitung der zu diagnostischen Zwecken von SMEDI-Fällen eingesandten Proben wurde bei der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät der LMU München angezeigt und genehmigt: Aktenzeichen 287-06-10-2021.

2. Probenmaterial

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 40 SMEDI-assoziierte Würfe aus dem Zeitraum von Juli 2021 bis Februar 2022 ausgewertet, die zur diagnostischen Aufarbeitung an die Klinik für Schweine geschickt wurden. Die eingesandten Würfe stammten aus 18 Ferkelerzeugerbetrieben aus fünf Bundesländern (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Anzahl (n) untersuchter Ferkel, Würfe und Bestände pro Bundesland.

Bundesland	Ferkel (n)	Würfe (n)	Bestände (n)
Bayern	170	19	9
Niedersachsen	109	11	4
Nordrhein-Westfalen	46	5	3
Thüringen	3	1	1
Baden-Württemberg	30	4	1
gesamt	358	40	18

Zusätzlich lagen 40 Blutproben vor, die zur Ausschlussdiagnostik von *Leptospira* spp. (diese Proben werden in einer separaten Dissertation dargestellt) bzw. allgemein SMEDI-assoziierten Pathogenen eingesandt wurden. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden die Ergebnisse der serologischen Untersuchung auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper ausgewertet.

3. Fragebogen

Im Rahmen der Untersuchungen wurden auf freiwilliger Basis bestandsspezifische Daten erhoben. Dazu wurde ein Fragebogen entworfen (siehe Anhang 1), der entweder direkt von den Betriebsleiterinnen und Betriebsleitern oder von den betreuenden Tierärztinnen und Tierärzten beantwortet wurde. Es wurden allgemeine Informationen (z. B. zugehöriges Bundesland) sowie Angaben zum Betrieb (z. B. Bestandsgröße) abgefragt. Darüber hinaus wurde das Impfschema bei den Jungsauen und Altsauen im Betrieb erfasst. Zudem wurden Angaben zum Probenmaterial (Parität der Sau, Anzahl lebendgeborener Ferkel, Datum der Besamung, Datum des Aborts usw.) erhoben.

4. Probenverarbeitung

4.1. Ferkel

In die Untersuchungen wurden nur Würfe eingeschlossen, deren Erscheinungsbild mit SMEDI vereinbar war. Des Weiteren wurden die Einsender gebeten, möglichst alle mumifizierten und totgeborenen Ferkel eines Wurfes zur Diagnostik einzusenden. Die Würfe wurden gekühlt versandt bzw. abgeholt und in der Klinik für Schweine der LMU München bis zur Untersuchung der Tiere im Institut für Tierpathologie der LMU München bei -20°C tiefgekühlt.

4.1.1. Makroskopische Untersuchung der Ferkel

Es wurden von allen 358 zugestellten Ferkeln im Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München das Gewicht und die Scheitel-Steiß-Länge (siehe Abschnitt II.1.5) erfasst, nachdem die Tiere unter kontrollierten Bedingungen in einer Kühlzelle (bei ca. 6°C) aufgetaut wurden. Die Bestimmung des Gewichts erfolgte mittels Neigungswaage (Bizerba ASE C109, August Sauter KG, Ebingen/Württ). Danach wurden die Tiere der Größe nach aufsteigend geordnet und nummeriert. Dem Tier mit der kleinsten Scheitel-Steiß-Länge wurde die Nummer eins zugeordnet. Alle Tiere des Wurfes wurden auf diese Weise sortiert und die Würfe wurden fotografisch dokumentiert, wie in Abbildung 2 beispielhaft dargestellt. Jedes Tier erhielt eine individuelle Nummer, die sich aus der Bestandsnummer, der Wurfnummer innerhalb des Bestands (eins bis fünf) und der individuellen Nummer innerhalb des Wurfes (abhängig von der Scheitel-Steiß-Länge) zusammensetzte.



Abbildung 2: Fotodokumentation der SMEDI-Würfe, Bild: Klinik für Schweine, LMU München.

4.1.2. Kategorisierung der Ferkel

Alle Ferkel wurden nach deren phänotypischem Erscheinungsbild (gemäß Abschnitt II.1.4) kategorisiert. In der Gruppe „totgeborene Ferkel“ wurde zwischen totgeborenen autolytischen (= „autolytisch“) und totgeborenen „frischen“ Ferkeln (= totgeboren) unterschieden (siehe Abbildung 3).



Abbildung 3: Beispielfotos zur Darstellung der Kategorisierung der Föten nach deren phänotypischem Erscheinungsbild; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.

Ferner wurde nach Eröffnung des Brustkorbs mit einem Stück fötaler Lunge eine Lungenschwimmprobe durchgeführt. So sollte festgestellt werden, ob die Ferkel tatsächlich totgeboren wurden. Dazu wurde das Lungenstück in ein Behältnis mit Wasser gelegt. Wenn die Lunge postnatal belüftet wurde, schwimmt das Lungenstück auf der Wasseroberfläche. Alle Ferkel, von denen die Lungenprobe positiv war, wurden nachträglich als lebensschwache Ferkel betitelt.

4.1.3. Beprobungskonzept Ferkel

Insgesamt wurden 158 Ferkel im Sinne einer stratifizierten blockweisen Randomisierung (KREIENBROCK et al., 2012) für die Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-spezifische Genomfragmente ausgewählt. Die zur Untersuchung eingeschickten Ferkel wurden dafür grundlegend in drei Gruppen aufgeteilt: Mumifizierte, autolytische und togeborene Ferkel. Die Stratifizierung diente dazu, aus jedem Wurf möglichst alle vorhandenen Kategorien in der jeweiligen Stichprobe abzubilden.

Alle untersuchten SMEDI-Würfe wurden der Reihe nach fortlaufend nummeriert und jedem Wurf wurde ein Ferkel zugeordnet, welches das erste von vier Ferkeln war, das in die Untersuchung eingeschlossen wurde. Dabei wurde regelmäßig fortlaufend zwischen den Ferkeln eins bis vier gewechselt (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Konzept zur Auswahl der Ferkel - Angabe des ersten eingeschlossenen Ferkels.

Wurfnummer fortlaufend (1-40)	Erstes eingeschlossenes Ferkel
1	Nr. 1
2	Nr. 2
3	Nr. 3
4	Nr. 4
5	Nr. 1
...	...

Es wurden maximal vier Tiere pro Wurf beprobt. Demnach ergab sich, je nach Gesamtanzahl der Ferkel im Wurf, ein Schema in welchen Abständen die Ferkel beprobt werden sollten (siehe Tabelle 11). Je nach Ausgangspunkt wurde jedes „x-te“ Ferkel untersucht. Wenn ein Wurf nur drei oder vier Ferkel enthielt, aber aufgrund der typischen SMEDI-Merkmale in die Untersuchung aufgenommen wurde, wurden von allen Tieren des Wurfs Proben gewonnen.

Tabelle 11: Konzept zur Auswahl der Ferkel – Angaben der Abstände zwischen den Ferkeln: „Beprobung jedes x-te Ferkel“.

Wurfgröße (Anzahl Ferkel)	Beprobung jedes „x-te“ Ferkel x=
5	vom Startpunkt ausgehend jedes Ferkel
6 bis 9	2
10 bis 13	3
14 bis 17	4
18 bis 20	5

Zum Verständnis wird im Folgenden ein Beispiel aufgeführt: In Abbildung 4 stellen die blauen Kreise Ferkel SMEDI-assoziiierter Würfe dar, die nach der Scheitel-Steiß-Länge fortlaufend durchnummeriert wurden. Die Pfeile sollen die Auswahl der Ferkel und die roten Zahlen von eins bis vier die Reihenfolge der Auswahl darstellen. Vom SMEDI-Wurf Nummer zwei mit sechs Ferkeln, wird nach Tabelle 11 jedes zweite Tier in die Untersuchung eingeschlossen. Das erste eingeschlossene Ferkel ist nach Tabelle 10 Ferkel Nummer zwei. Da Ferkel Nummer zwei nach dem Beprobungskonzept doppelt ausgewählt würde, wird das nächstgrößere Tier beprobt, also Ferkel Nummer drei.

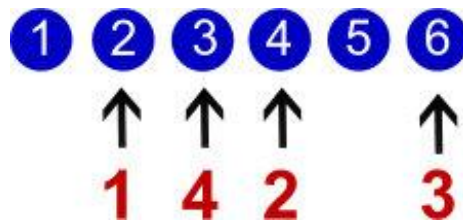


Abbildung 4: Beispiel - Auswahl der Ferkel für die molekularbiologische Untersuchung.

Von den 158 Ferkeln, die zur molekularbiologischen Untersuchung ausgewählt wurden, wurden 104 Tiere weiter für die serologische Untersuchung selektiert: Die Ferkel sollten eine Scheitel-Steiß-Länge von mindestens 160mm aufweisen, damit einhergehend sollte das zu erwartende Alter bei ca. 70 Tagen liegen. Ab diesem Alter kann frühestens mit dem Auftreten von Antikörpern gerechnet werden (gemäß Abschnitt II.1.5.).

4.1.4. Probengewinnung Ferkel

Die Probengewinnung der fötalen Gewebeproben erfolgte in den Räumlichkeiten des Instituts für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München. Von den 158 ausgewählten Ferkeln SMEDI-assoziiierter Würfe wurden jeweils vier verschiedene Organgewebeproben gewonnen (Herz, Lunge, Milz und Thymus). Zwischen der Entnahme der einzelnen Gewebeproben wurde das Sektionsbesteck zur Sterilisation zuerst in 95%-igen Alkohol getaucht und danach abgeflammt. Zudem wurde Herzblut und Brusthöhlenflüssigkeit mit Einwegspritzen und -Kanülen (21G) zur Überprüfung des Antikörperstatus gewonnen.

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

4.2. Sauen

Es lag von allen Sauen eine Serumblutprobe vor. Die Serummonovetten wurden im Zentrallabor für Großtiere der LMU München bei 20°C und 3000U/min bei 1300g für zehn Minuten zentrifugiert (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Das Serum der Sauen wurde in Reaktionsgefäße mit einem Fassungsvermögen von je 1,5ml (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt und bei -20°C bis zur serologischen Untersuchung gelagert.

5. Labordiagnostische Untersuchungen

5.1. Direkter Erregernachweis

Zunächst wurde pro Einzeltier eine Poolprobe aus den vier fötalen Gewebeproben (Herz, Lunge, Thymus und Milz) erstellt. Diese Probe wurde auf PPV- und PCV2- spezifische Genomfragmente am Lehrstuhl für Virologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München untersucht. Die Untersuchung auf PCV3-DNA wurde in einem Labor von MSD Animal Health (R&D Service Lab PP063 (Portiersloge), Boxmeer, Niederlande) durchgeführt. Die Proben wurden tiefgekühlt innerhalb von 24 Stunden an das Labor zugestellt. Im Falle eines positiven Befundes der Poolprobe

wurde der Pool aufgelöst und es schloss sich eine Untersuchung der Einzelorgane an.

5.1.1. PPV und PCV2

5.1.1.1. Extraktion viraler DNA aus fötalen Gewebeproben

Die DNA-Extraktion wurde mithilfe des kommerziell erhältlichen QIAamp® DNA Mini Kits (Quiagen GmbH, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben durchgeführt. Die Isolierung der viralen DNA aller Proben erfolgte manuell aus 200µl lysiertem Organpool.

5.1.1.2. Quantitative PCR (qPCR)

Für den Nachweis von PPV-DNA wurde eine von CHEN et al. (2009) publizierte TaqMan-PCR angewandt. Für den Nachweis der PCV2-spezifischen Genomfragmente wurde die von EDDICKS et al. (2016) beschriebene qPCR genutzt.

Für die Amplifikation der extrahierten DNA wurde der Luna Universal Probe qPCR Mastermix (New England Biolabs) verwendet. Das Gesamtvolumen jeder PCR-Reaktion betrug 20µl (16µl Mastermix inklusive Primer und Sonde, 4µl DNA-Template). Die Durchführung der qPCRs erfolgte mittels des AriaMx Real-Time-PCR-Systems (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) und wurde nach folgendem Temperaturprotokoll durchgeführt:

Tabelle 12: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PPV- und PCV2-spezifischen Genomfragmenten.

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

Jeder PCR-Lauf enthielt sowohl Positiv- als auch Negativkontrollen. Die Daten der qPCR wurden mit der AriaMx-Software (Version 1.7) ausgewertet. Alle Proben, die einen Ct-Wert ≤ 35 aufwiesen, wurden als positiv bewertet.

5.1.2. PCV3

5.1.2.1. Extraktion viraler DNA aus fötalen Organen

Die Isolierung viraler DNA erfolgte automatisiert mittels MagNA Pure 96-Roboter (Roche Diagnostics GmbH) aus 200 µl lysierten Gewebeproben.

5.1.2.2. Quantitative PCR (qPCR)

Für die Amplifikation der extrahierten PCV3-DNA wurde das EXOone® PCV3 oneMix PCR Kit (EXOPOL® SL, Saragossa, Spanien) verwendet. Je Reaktion wurden 5µl der extrahierten Nukleinsäuren mit 15µl OneMix in die Vertiefung des PCR-Kits gegeben, zentrifugiert und anschließend in einem Thermocycler-Gerät untersucht. Es wurde folgendes Temperaturprofil angewandt:

Tabelle 13: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PCV3-spezifischen Genomfragmenten.

	Aktivität	Zeit	Temperatur
1x	Polymeraseaktivierung	5 min	95°C
42x	a) Denaturierung	15 sec	95°C
	b) Annealing/Extension und Messung	1 min	60°C

Zur Validierung des Tests wurde eine Positiv- und Negativkontrolle in die Untersuchung eingeschlossen. Alle Proben, die einen PCV3-Ct-Wert ≤ 37 aufzeigen, wurden als positiv deklariert.

5.2. Indirekter Erregernachweis PPV und PCV2

Für die Untersuchung auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper wurden von den Sauen Serum- und von den Ferkeln Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben im Zentrallabor für Großtiere der Tierärztlichen Fakultät der LMU München untersucht.

5.2.1. Serologische Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper

Die Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben der Ferkel wurden zuerst qualitativ untersucht. Konnten spezifische Antikörper nachgewiesen werden, wurde eine quantitative Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper angeschlossen. Aus den Serumproben der Muttersauen wurde

eine quantitative Bestimmung PPV-spezifischer Antikörper durchgeführt. Die serologische Untersuchung erfolgte mittels indirektem ELISA mit INgezim® PPV ELISA-Kit (Ingenasa, Madrid, Spain) nach Herstellerangaben. Die einzelnen Pipettierschritte wurden manuell durchgeführt. Für die photometrische Messung der optischen Dichte (OD) wurde ein Mikroplatten-Lesegerät (CLARIOstar®, BMG LABTECH GmbH, 77799 Ortenberg, Deutschland) benutzt.

5.2.1.1. Qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen PPV

Für die qualitative Antikörperbestimmung wurde jede Probe mit der vorgesehenen Probenverdünnungslösung 1:100 verdünnt. Neben den Proben der Ferkel wurden auch eine Positiv- und Negativkontrolle jeweils im Doppelansatz auf die ELISA-Platte pipettiert. Die Platte wurde mittels Adhäsivfolie verschlossen und für 60 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wurde jede Vertiefung dreimal gewaschen. Nach Zufügen des Peroxidasekonjugats wurde die Platte erneut für 60 Minuten bei Raumtemperatur (25°C) inkubiert. Anschließend wurde jede Vertiefung viermal gewaschen. Nach Zugabe des Substrats und Inkubation bei 25°C wurde die Farbreaktion nach zehn Minuten mittels Stopplösung abgebrochen. Anschließend wurde die Farbintensität bei 416nm Wellenlänge gemessen. Zur Validierung des Tests mussten folgende Vorgaben erfüllt sein: Die Positivkontrollen sollten einen $OD_{\text{POSITIV}} > 1,5$ und die Negativkontrollen einen $OD_{\text{NEGATIV}} < 0,3$ erreichen. Der Grenzwert für die Testinterpretation lag bei $OD = 0,3$. Proben mit OD-Werten größer gleich 0,3 wurden als positiv und Proben mit OD-Werten kleiner 0,3 als negativ deklariert.

5.2.1.2. Quantitative Bestimmung von Antikörpern gegen PPV

Die Testdurchführung war nahezu identisch zur qualitativen Antikörperbestimmung (siehe Abschnitt 5.2.1.1), die einzigen Unterschiede waren hier die Verdünnungsstufe von 1:200 und der Doppelansatz einer jeden Probe. Für die Ergebnisinterpretation wurde automatisch ein durchschnittlicher OD-Wert aus den beiden Ansätzen von jeder Probe errechnet. Mit diesem Durchschnittswert wurde das S/P-Verhältnis berechnet:

$$X = \frac{S}{P} = \frac{\text{Durchschnittlicher OD-Wert aus dem Doppelansatz einer Probe}}{\text{Durchschnittlicher OD-Wert aus dem Doppelansatz der Positivkontrollen}}$$

Die Titerbestimmung wiederum erfolgt mit folgender Formel:

$$y = 95,88e^{4,1x}.$$

x aus der Formel ist das S/P-Verhältnis von jeder Probe bei einer Verdünnungsstufe von 1:200 und e ist die natürliche Logarithmus-Basis ($e = 2,71828$).

5.2.2. Serologische Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper

Die Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper erfolgte qualitativ: Die Proben wurden auf das Vorkommen der beiden Antikörperklassen IgG und IgM untersucht. Die serologische Untersuchung erfolgte mittels eines Capture-ELISAs mit dem INgezim® Circovirus IgG/IgM ELISA-Kit (Ingenasa, Madrid, Spain) nach Herstellerangaben. Pipettierschritte wurden manuell durchgeführt, das Mikroplatten-Lesegerät CLARIOstar® wurde zur photometrischen Messung der optischen Dichte (OD) verwendet.

Für die qualitative Antikörperbestimmung wurde jede Probe mit der Probenverdünnungslösung des Kits auf eine Verdünnungsstufe von 1:100 verdünnt. Die Proben wurden im Doppelansatz auf die beiden Platten pipettiert: Eine Platte zur Detektion von PCV2-IgG-Antikörpern, eine zweite Platte zum Nachweis von PCV2-IgM-Antikörpern. Neben den Proben wurden die Positiv- und Negativkontrolle ebenfalls im Doppelansatz den Platten zugegeben. Die Platten wurden mittels adhäsiver Klebefolie verschlossen und im Anschluss im Wasserbad bei 37°C für 60 Minuten inkubiert. Danach wurden die Vertiefungen viermal gewaschen. Nach Zugabe des Antigens wurden die Platten für 30 Minuten bei 37°C inkubiert und danach wieder viermal gewaschen – diese Arbeitsschritte wurden nach Zufügen des Konjugats genauso wiederholt. Fünf Minuten (bei Raumtemperatur) nach Zugabe des Substrats wurde die Farbreaktion mittels Stopplösung abgebrochen. Anschließend wurde nach wiederum fünf Minuten die Farbintensität bei 450nm Wellenlänge gemessen. Zur Validierung des Tests mussten folgende Voraussetzungen erfüllt sein: Der OD-Wert der IgG- und IgM-Positivkontrollen sollte größer 0,7 sein und der

OD-Wert der Negativkontrollen kleiner 0,3. Die Interpretation der Testergebnisse erfolgte nach Gebrauchsanweisung des INgezim® Circovirus IgG/IgM.

6. Statistische Auswertung

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%.

Dichotome Variablen wurden mittels Chi²-Test auf mögliche Zusammenhänge getestet (siehe Anhang 7). Dabei dienten die Ergebnisse der qualitativen PCR- und die ELISA-Ergebnisse (positiv/negativ) als abhängige Variable. Alle unabhängigen nominalen Variablen werden in Anhang 2 dargestellt. Falls mehrere unabhängige Variablen mit einer abhängigen Variable assoziiert waren, wurde eine binärlogistische Regressionsberechnung durchgeführt.

Zur Auswertung der quantitativen Ergebnisse wurden die metrischen Daten zuerst auf Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test untersucht (siehe Anhang 4). Für den Vergleich von quantitativen Daten wurden je nach Normalverteilung Mittelwerte (Mw) bzw. Mediane (Md) gebildet, sowie jeweils die Minimalwerte (Min), Maximalwerte (Max) und die Standardabweichung (StabW) berechnet.

Da die Daten der Untersuchung überwiegend nicht normalverteilt waren, wurden nicht-parametrische Tests zur Untersuchung der quantitativen Ergebnisse durchgeführt. Die Einflussfaktoren auf den quantitativen Nachweis von PPV-, PCV2- oder PCV3-DNA bzw. PPV- und PCV2-Antikörpern wurde mittels Mann-Whitney-U-Test (beim Vergleich von zwei Gruppen) bzw. Kruskal-Wallis-Test (beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen, siehe Anhang 3) untersucht.

Mögliche Korrelationen zwischen metrischen Variablen wurden mittels Korrelationsberechnung nach Spearmans rho (siehe Anhang 8) untersucht.

IV. ERGEBNISSE

1. Deskriptive Auswertung des Untersuchungsmaterials

Insgesamt wurden 158 Ferkel aus 40 SMEDI-assoziierten Würfeln in die Untersuchung eingeschlossen. Die Würfel stammten aus 18 verschiedenen Beständen aus Deutschland.

1.1. Bestände

Die deskriptive Darstellung der Bestände basiert auf den Daten, die im Fragebogen (siehe Anhang 1) erhoben wurden. Tabelle 14 zeigt eine Übersicht über die Bestände, aus denen SMEDI-assoziierte Würfel untersucht wurden. Dabei werden die Bestände nach zwei verschiedenen Parametern betrachtet und eingeteilt: „Bestandsgröße“ und „Durchführung von PPV- und PCV2-Impfungen bei Jung- und Altsauen“. Nach ROHLMANN et al. (2021) liegt die durchschnittliche Anzahl der Sauen pro Ferkelerzeugerbetrieb in Deutschland bei 256 Sauen. Im Rahmen der Auswertung wurden die Bestände nach Größen mit kleiner gleich oder mehr als 300 Sauen aufgeteilt.

Tabelle 14: Einteilung der Bestände (n=18) nach Größe und nach Durchführung von PPV- und PCV2- Impfungen bei Jung- und Altsauen; Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.

Parameter		Einteilung	(n)	(%)
Bestandsgröße		≤ 300	6	33%
		> 300	12	67%
Impfungen	PPV	Jungsauen ¹	18	100%
		Altsauen ²	16	89%
	PCV2	Jungsauen ¹	12 ⁽³⁾	67%
		Altsauen ²	2	11%

¹ Jungsau = primipar; ² Altsau = multipar;

³ zehn Bestände (10/18) impfen nur Jungsauen; zwei Bestände (2/18) impfen sowohl Jungsauen als auch Altsauen.

1.2. SMEDI-assoziierte Würfe

Die Größe der SMEDI-assoziierten Würfe lag im Mittel bei 17 Ferkeln pro Wurf (min: 7; max: 27; StabW: 4,86) und wird in Abbildung 5 dargestellt. Die Anzahl an mumifizierten, autolytischen, totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln wird ergänzt durch die Anzahl lebendgeborener Ferkel pro Wurf. Die Information über die Anzahl der lebendgeborenen Ferkel wurde aus dem Fragebogen entnommen.

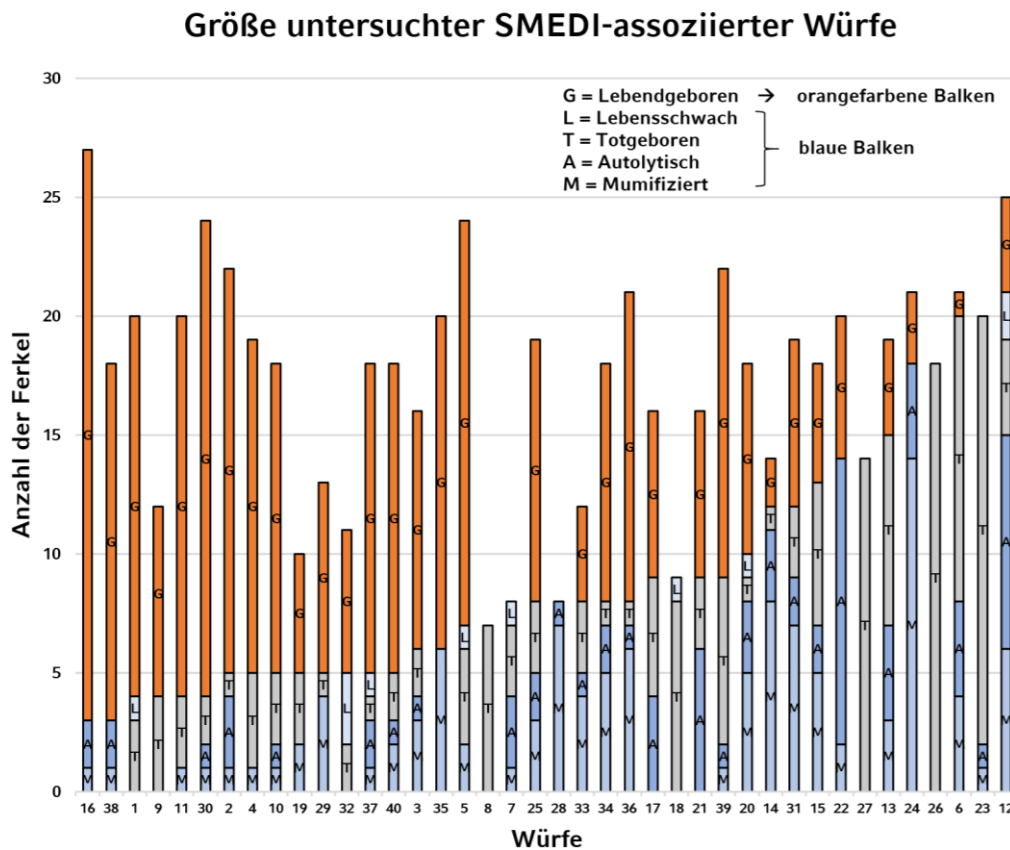


Abbildung 5: Darstellung der Wurfgröße - Ordnung der Würfe nach aufsteigender Anzahl SMEDI-assoziiierter Ferkel (= mumifizierte (M), autolytische (A), totgeborene (T) und lebensschwache (L) Föten); Ergänzung durch lebendgeborene (G) Ferkel pro Wurf.

Die Würfe umfassten im Mittel drei mumifizierte (min: 0; max: 14; StabW: 2,978), zwei autolytische (min: 0; max: 12; StabW: 2,511) und vier totgeborene Ferkel (min: 0; max: 18; StabW: 4,515). Lebensschwache Ferkel lagen zwischen keinem und drei Tieren pro Wurf (StabW: 0,640).

1.3. Sauen

Die Parität der Sauen mit SMEDI-assoziierten Würfen wurde mittels Fragebogen erhoben. Die Paritäten der Sauen lagen zwischen dem ersten und neunten Wurf, im Mittel bei vier Würfen (StabW: 2,213). Die Sauen wurden anhand der Parität kategorisiert. In der vorliegenden Untersuchung wurde zwischen primiparen und multiparen Sauen unterschieden. Als junge Altsauen wurden Tiere vom zweiten bis einschließlich vierten Wurf und als alte Altsauen wurden Muttertiere mit fünf oder mehr Würfen definiert (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Gruppierung der Zuchtsauen nach Parität und Zuordnung der beprobten Ferkel (n=158) zur Paritätsgruppe der Muttersauen; Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.

	Paritätsgruppe	Sauen		Beprobte Ferkel	
		(n)	(%)	(n)	(%)
Primipare Sauen	1. Wurf	5	12,5	20	12,7
	2.-4. Wurf	22	55,0	87	55,0
Multipare Sauen	≥ 5. Wurf	13	32,5	51	32,3
	gesamt	40	100	158	100

Von 36 Sauen konnte mittels Fragebogen das Besamungs- und Abferkeldatum erfasst werden. Anhand dieser Daten wurde die Trächtigkeitsdauer errechnet. Im Mittel lag die Trächtigkeitsdauer bei 113 Tagen (min: 81; max: 119; StabW: 8,18).

1.4. Ferkel

1.4.1. Phänotyp und geschätztes Alter

Wie in den Abschnitten II.1.4 und III.4.1.2 erläutert, wurden alle Ferkel der SMEDI-assoziierten Würfe je nach Phänotyp und Ergebnis der Lungenschwimmprobe als mumifiziert, autolytisch, totgeboren oder lebensschwach geboren kategorisiert. In Tabelle 16 werden die absoluten und relativen Häufigkeiten dieser Kategorien dargestellt. Zudem wird hier das geschätzte Alter nach EVANS & SACK (1973) sowie KIRKWOOD et al. (2012) (siehe Abschnitt II.1.5) angegeben. Hierbei wird das Alter der Tiere in drei Phasen aufgeteilt: Die Embryonalphase (Tag 0-35), die fötale Phase (Tag 36-69) und die Phase der Immunkompetenz (Tag 70-115).

Tabelle 16: Unterteilung der untersuchten Ferkel (n=158) nach Phänotyp und geschätztem Alter der Ferkel unter Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeit.

		(n)	(%)	
Phänotyp der Ferkel		Mumifiziert	48	30,4
		Autolytisch	33	20,9
		Totgeboren	66	41,8
		Lebensschwach	11	7,0
Geschätztes Alter der Ferkel	nach EVANS & SACK (1973)	Embryonalphase ¹	0	0
		Fötale Phase ²	6	3,8
		Phase Immunkompetenz ³	152	96,2
	nach KIRKWOOD et al. (2012)	Embryonalphase ¹	0	0
		Fötale Phase ²	7	4,4
		Phase Immunkompetenz ³	151	95,6

¹Tage 0-35; ²Tage 36-69; ³Tage 70-115.

1.4.2. Scheitel-Steiß-Länge und Gewicht

Die Scheitel-Steiß-Länge der 158 beprobten Ferkel lag im Mittel bei 234mm (min: 63mm; max: 348mm; StabW: 55,077). Das mittlere Gewicht der untersuchten Ferkel betrug 592g (min: 10g; max: 1860g; StabW: 413,55).

Die mittlere Scheitel-Steiß-Länge von mumifizierten Ferkeln lag bei 173mm (StabW: 36,465), von autolytischen Ferkeln bei 258mm (StabW: 27,698). Im Mittel wurde bei totgeborenen Ferkeln eine Scheitel-Steiß-Länge von 260mm (StabW: 42,707) und bei lebensschwachen Ferkeln von 273mm (StabW: 38,684) gemessen. In Abbildung 6 wird das Gewicht und die Scheitel-Steiß-Länge der Einzeltiere je nach phänotypischer Kategorie (mumifizierte, autolytische, totgeborene oder lebensschwache Ferkel) graphisch dargestellt.

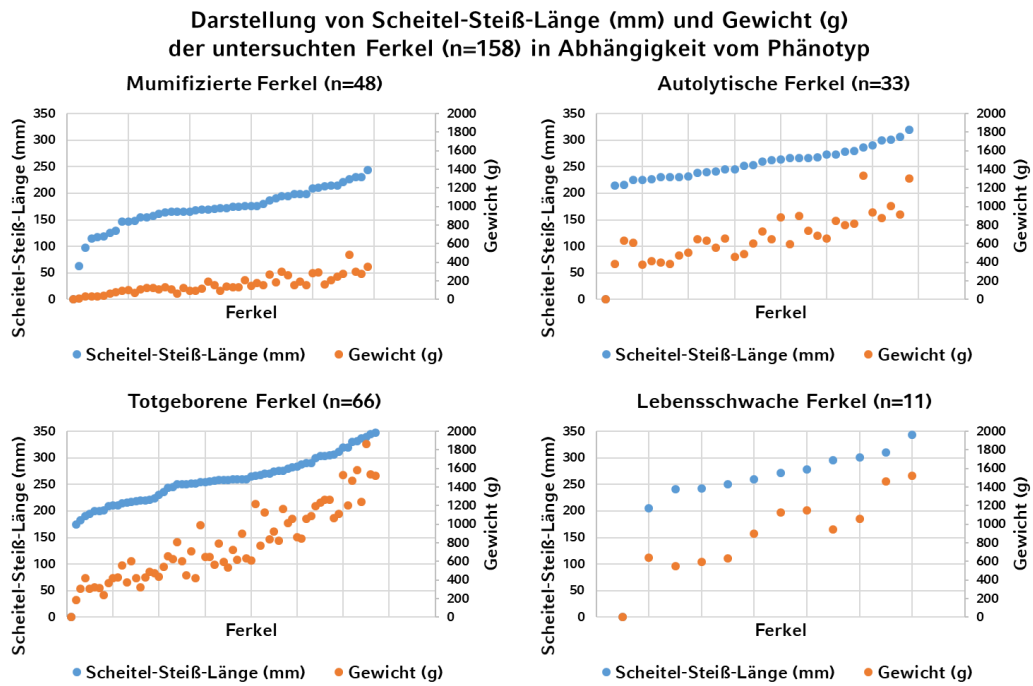


Abbildung 6: Darstellung der Scheitel-Steiß-Länge (mm) und des Gewichts (g) der untersuchten Ferkel (n=158) in Abhängigkeit vom phänotypischen Erscheinungsbild der Tiere.

2. Ergebnisse molekularbiologischer Untersuchungen

2.1. Qualitative Auswertung der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Gewebepoolproben

Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen zum Vorkommen viraler DNA in fötalen Poolproben werden in zwei Kategorien dargestellt: 1) Die lebensschwachen Ferkel (11/158) wurden in die Auswertung eingeschlossen. 2) Die lebensschwachen Ferkel werden als PPV-, PCV2- und PCV3-DNA-negativ gewertet.

2.1.1. Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Poolproben

Es wurden Poolproben (Herz-, Lungen-, Thymus- und Milzgewebe) von 158 Ferkeln aus SMEDI-assoziierten Würfen auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA untersucht. Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung sind in Tabelle 17 auf Bestands-, Wurf- und Einzeltierebene zusammengefasst. Die qualitative Auswertung zum Vorkommen von (Ko-)Infektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 werden nachfolgend in Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 17: Vorkommen PPV-, PCV2- und PCV3- spezifischer Genomfragmente auf Bestands- (n=18), Wurf- (n=40) und Einzeltierebene (n=158) in fötalen Gewebeproben.

	PPV	PCV2	PCV3
Bestand	50,0% (9/18)	61,1% (11/18)	27,8% (5/18)
(n=18)	38%* (7/18*)		22,2%* (4/18*)
Wurf	27,5% (11/40)	50% (20/40)	17,5% (7/40)
(n=40)	22,5%* (9/40*)	47,5%* (19/40*)	15,0%* (6/40*)
Ferkel	14,6% (23/158)	28,5% (45/158)	11,4% (18/158)
(n=158)	13,3%* (21/158*)	27,8%* (44/158*)	10,8%* (17/158*)

*lebensschwache Ferkel: Wertung als DNA-negativ.

2.1.2. Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels

In Tabelle 18 werden die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels dargestellt.

Tabelle 18: Vorkommen PPV-, PCV2- und PCV3-spezifischer Genomfragmente in fötalen Poolproben je nach Phänotyp des Ferkels; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$).

	Phänotyp des Ferkels			
	Mumifiziert (48/158)	Autolytisch (33/158)	Totgeboren (66/158)	Lebens- schwach (11/158)
PPV-DNA-positiv (n=23)	47,8% ^a (11/23)	21,7% ^b (5/23)	21,7% ^b (5/23)	8,7% (2/23)
PCV2-DNA-positiv (n=45)	40,0% ^a (18/45)	24,4% ^b (11/45)	33,3% ^b (15/45)	2,2% (1/45)
PCV3-DNA-positiv (n=18)	22,2% ^a (4/18)	5,6% (1/18)	66,7% ^b (12/18)	5,6% (1/18)

Die Organgewebeproben von mumifizierten Ferkeln waren signifikant häufiger PPV-DNA-positiv als die von autolytischen ($p=0,016$) und totgeborenen ($p=0,016$) Ferkeln. Zudem waren die Gewebeproben von mumifizierten Ferkeln signifikant häufiger PCV2-DNA-positiv als die von autolytischen ($p=0,002$) oder totgeborenen ($p < 0,001$) Ferkeln. PCV3-spezifische Genomfragmente konnten dagegen signifikant häufiger in Poolproben totgeborener Ferkel als in Gewebeproben mumifizierter Föten nachgewiesen werden ($p=0,005$). Es ergaben sich keine weiteren Unterschiede in den Nachweisraten der Pathogene in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels (siehe Anhang 5).

2.1.3. Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sauen

In Tabelle 19 werden die relativen und absoluten Häufigkeiten zum Nachweis von PPV- und PCV2-DNA in fötalen Poolproben in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sauen dargestellt. Dabei wird der PPV-DNA-Nachweis in Abhängigkeit einer PPV-Impfung und der PCV2-DNA-Nachweis in Abhängigkeit einer PCV2-Impfung bei Jung- und Altsauen dargestellt.

Tabelle 19: PPV- und PCV2-DNA-Nachweis in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand.

PPV-Impfung	PPV-DNA- positive Ferkel % (n)	PCV2- Impfung	PCV2-DNA- positive Ferkel % (n)
Nur Jungsauen	37,5% (KI: 0,0-75,0%) (3/8)	Nur Jungsauen	39,8% (KI: 28,9-51,7%) (33/83)
Jungsauen & Altsauen	13,3% (KI: 8,1-19,0%) (20/150)	Jungsauen & Altsauen	0% (0/20)
Keine Impfung	-	Keine Impfung	21,8% (KI: 11,8-34,5%) (12/55)

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in den Nachweishäufigkeiten je nach Impfschema im Bestand (siehe Anhang 6). Die Ergebnisse der bivariaten statistischen Auswertung mittels binärlogistischer Regressionsberechnung zur Assoziation zwischen dem PPV- und PCV2-DNA-Nachweis und den entsprechenden Impfungen finden sich im Abschnitt IV.2.3.

2.1.4. Nachweis von (Ko-)Infektionen

Im Rahmen der molekularbiologischen Untersuchung der Poolproben wurden einerseits Monoinfektionen mit PPV, PCV2 oder PCV3 und andererseits Koinfektionen mit PPV und PCV2 sowie mit PCV2 und PCV3 detektiert. Koinfektionen mit PPV und PCV3 wurden nicht erfasst. Es konnte in 94,4% (17/18) der Bestände, 77,5% (31/40) der Würfe und in 48,1% (76/158) der fötalen Poolproben virale DNA nachgewiesen werden. Das Vorkommen von (Ko-)Infektionen in DNA-positiven Beständen, Würfen und Ferkeln wird in Tabelle 20 zusammengefasst.

Tabelle 20: Vorkommen von (Ko-)Infektionen auf Bestands-, Wurf- und Einzeltierebene in DNA-positiven Beständen, Würfen und Gewebepoolproben; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$).

	Koinfektion		Monoinfektion		
	PPV & PCV2	PCV2 & PCV3	PPV	PCV2	PCV3
Bestand	35,3% (6/17)	11,8% (2/17)	17,6% (3/17)	17,6% (3/17)	17,6% (3/17)
	35,7%* (5/14*)	14,3%* (2/14*)	14,3%* (2/14*)	21,4% (3/14*)	14,3%* (2/14*)
Wurf	19,4% (6/31)	3,2% (1/31)	16,1% (5/31)	41,9% (13/31)	19,4% (6/31)
	17,9%* (5/28*)	3,6%* (1/28*)	14,3%* (4/28*)	46,4%* (13/28*)	17,9%* (5/28*)
Ferkel	11,8% (9/76)	1,3% (1/76)	18,4% (14/76) ^b	46,1% (35/76) ^a	22,4% (17/76) ^b
	11,0%* (8/73*)	1,4%* (1/73*)	17,8%* (13/73*)	47,9%* (35/73*)	21,9%* (16/73*)

**lebensschwache Ferkel: Wertung als DNA-negativ.*

2.2. Qualitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben

Die Gewebeproben aller PCV3-DNA-positiven Ferkel (18/158) wurden in einem weiteren Untersuchungsgang separat analysiert (siehe Tabelle 21).

Tabelle 21: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeit PCV3-DNA-positiver Einzelgewebeproben je nach Material.

Material	PCV3-DNA-positive Proben	
	Anzahl (n)	Anteil (%)
Milz	14/18	77,8
Lunge	10/18	55,6
Herz	9/18	50,0
Thymus	7/18	38,9

In Tabelle 22 wird gezeigt, in welchen Einzelgewebeproben von PCV3-DNA-positiven Gewebepoolproben ein PCV3-DNA-Nachweis gelang. Von vier PCV3-DNA-positiven Poolproben wurden in der Untersuchung der Einzelorgane keine PCV3-spezifischen Genomfragmente detektiert.

Tabelle 22: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-Genom von Einzelgewebeproben (Herzmuskel-, Lungen-, Thymus- und Milzgewebeproben) PCV3-DNA-positiver Poolproben.

Herzmuskel	Lunge	Thymus	Milz
x	x	x	x
x	x	x	x
x	x	x	x
x	x	x	x
x	n.d.*	n.d.*	x
n.d.*	n.d.*	x	x
x	x	n.d.*	x
x	x	n.d.*	x
n.d.*	x	n.d.*	x
n.d.*	n.d.*	n.d.*	x
n.d.*	n.d.*	n.d.*	x
n.d.*	x	n.d.*	x
x	x	x	x
x	x	x	x

*n.d.= nicht detektiert.

2.3. Auswertung der qualitativen molekularbiologischen Ergebnisse

Im Rahmen der statistischen Untersuchung wurden dichotome Variablen zunächst auf Assoziationen überprüft. Die nominalen Variablen „PPV-, PCV2- und PCV3-DNA-Nachweis aus fötalen Poolproben“ wurden zu den im Anhang 7 dargestellten, unabhängigen Variablen auf Abhängigkeit getestet. Signifikant assoziierte Faktoren ($p \leq 0,1$) wurden anschließend in eine binärlogistische Regression einbezogen.

Die univariate Untersuchung ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PPV-spezifischen Genomfragmenten aus fötalen Poolproben und dem Einzeltierstatus „Mumifikation des Fötus“ und den Faktoren „PPV-Impfung Altsauen“, „Parität der Sau Jungsau/Altsau“ und „Stroheinstreu im Bestand“. Diese Einflussfaktoren wurden in eine binärlogistische Regressionsberechnung einbezogen. Hier konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem PPV-DNA-Nachweis aus Ferkeln und den Faktoren „PPV-Impfung von Altsauen im Bestand“ ($p=0,011$), „Etablierung einer Stroheinstreu bei den Sauen“ ($p=0,002$) und „Parität der Sau Jungsau/Altsau“ ($p < 0,001$) ermittelt werden. In der vorliegenden Untersuchung lag die Chance für die Ferkel aus dem Bestand mit Stroheinstreu 39-mal höher, PPV-spezifische Genomfragmente in fötalen Poolproben nachzuweisen. Die PPV-Impfung der Altsauen hatte eine protektive Wirkung, genauso wie die Parität der Sau. Die signifikanten Ergebnisse werden in Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 23: Ergebnisse des Chi²-Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PPV-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).

Unabhängige Variable	Abhängige Variable	Chi ² -Test	Binärlogistische Regression	OR	Konfidenzintervall	
					Oberes	Unteres
Stroheinstreu im Bestand		0,001	0,002	39,000	3,67	414,10
PPV-Impfung AS	PPV-DNA-positives Ferkel	0,059	0,011	0,128	0,03	0,63
Parität JS/AS		0,001	<0,001	0,115	0,04	0,36
Mumifizierter Fötus		0,049	-	-	-	-

In Tabelle 24 werden die absoluten und relativen Häufigkeiten von PPV-DNA-positiven Ferkeln in Abhängigkeit der Faktoren „Stroheinstreu im Bestand“, „PPV-Impfung Altsauen“ und „Parität der Sau Jungsau/Altsau“ dargestellt.

Tabelle 24: Relative (%) und absolute (n) Häufigkeiten von PPV-DNA-positiven Ferkeln in Abhängigkeit von der Etablierung einer Stroheinstreu im Bestand, der PPV-Impfung bei Altsauen und der Parität der Sau.

Stroheinstreu	PPV-DNA- positive Ferkel % (n)	PPV- Impfung AS	PPV-DNA- positive Ferkel % (n)	Parität	PPV-DNA- positive Ferkel % (n)
ja	75% (3/4)	ja	13,3% (KI: 8,1-18,7%) (20/150)	Jung- sau	40% (KI: 20,0-61,1%) (8/20)
nein	13% (KI: 7,8-18,4%) (20/154)	nein	37,5% (KI: 0,0-75,0%) (3/8)	Alt- sau	10,9% (KI: 6,1-16,3%) (15/138)

In der statistischen Auswertung ergaben sich vier signifikante Einflussfaktoren auf den Faktor „PCV2-DNA-Nachweis aus fötalen

Poolproben“. Danach wurde untersucht, ob eine Mumifikation des Fötus, die Durchführung einer PCV2-Impfung bei Jungsauen oder die Etablierung einer Impfung bei Jung- und Altsauen den Nachweis von PCV2-spezifischen Genomfragmenten in Ferkeln beeinflussen. Keiner der Faktoren zeigte in der binärlogistischen Regressionsberechnung einen Einfluss auf den PCV2-DNA-Nachweis aus fötalen Poolproben (siehe Tabelle 25).

Tabelle 25: Ergebnisse des Chi²-Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PCV2-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).

Unabhängige Variable	Abhängige Variable	Chi ² -Test	Binär-logistische Regression	p-Wert			Konfidenzintervall	
				OR	Oberes	Unteres		
Mumifizierter Fötus		0,097	-	-	-	-	-	
PCV2-Impfung: nur Jungsauen	PCV2-DNA-positives Ferkel	0,001	-	-	-	-	-	
PCV2-Impfung Jung-&Altsauen		0,003	-	-	-	-	-	

Die statistische Untersuchung ergab eine signifikante Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV3-DNA in fötalen Poolproben und den Faktoren „Parität der Sau Jungsau/Altsau“ und dem Einzeltierstatus „Autolytische Veränderung des Ferkels“. Mit diesen Einflussgrößen wurde anschließend eine binärlogistische Regressionsberechnung durchgeführt. Von zwei Variablen, die in das Modell aufgenommen wurden, war kein Faktor signifikant mit dem PCV3-DNA-Nachweis aus fötalen Gewebeproben assoziiert (siehe Tabelle 26).

Tabelle 26: Ergebnisse des Chi²-Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PCV3-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).

Unabhängige Variable	Abhängige Variable	p-Wert		Konfidenzintervall	
		Chi ² -Test	Binärlogistische Regression	OR	Oberes Unteres
Parität JS/AS	PCV3-DNA-positives Ferkel	0,04	-	-	-
Autolytisch verändertes Ferkel		0,08	-	-	-

2.4. Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in fötalen Gewebepoolproben

2.4.1. Ergebnisse der Untersuchungen auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA aus fötalen Poolproben

In 34,8% (8/23) der PPV-DNA-positiven Poolproben wurden PPV-Ct-Werte ≤ 20 detektiert, in 13,0% (3/23) PPV-Ct-Werte zwischen 20 und 30 und in 52,2% (12/23) wurden PPV-Ct-Werte über 30 gemessen. Der PPV-Ct-Wert lag im Median bei 30,4 (min: 8,4; max: 34,8; StabW: 10,002).

In PCV2-DNA-positiven Gewebeproben wurden in 6,7% (3/45) PCV2-Ct-Werte ≤ 20 , in 28,8% (13/45) PCV2-Ct-Werte > 20 und ≤ 30 und in 64,4% (29/45) wurden PCV2-Ct-Werte > 30 nachgewiesen. Der Ct-Wert von PCV2-DNA-positiven Poolproben lag im Median bei 31,7 (min: 7,9; max: 34,9; StabW: 6,297).

In PCV3-DNA-positiven Poolproben wurden in 22,2% (4/18) PCV3-Ct-Werte ≤ 20 , in 22,2% (4/18) PCV3-Ct-Werte > 20 und ≤ 30 und in 55,6% (10/18) PCV3-Ct-Werte über 30 detektiert. Der PCV3-Ct-Wert lag im Median bei 31,0 (min: 14,1; max: 36,2; StabW: 7,459). Die PCV3-Ct-Werte werden in Absatz IV.2.5 dargestellt.

Die gemessenen PPV-, PCV2- und PCV3-Ct-Werte aus DNA-positiven Poolproben werden in Abbildung 7 dargestellt.

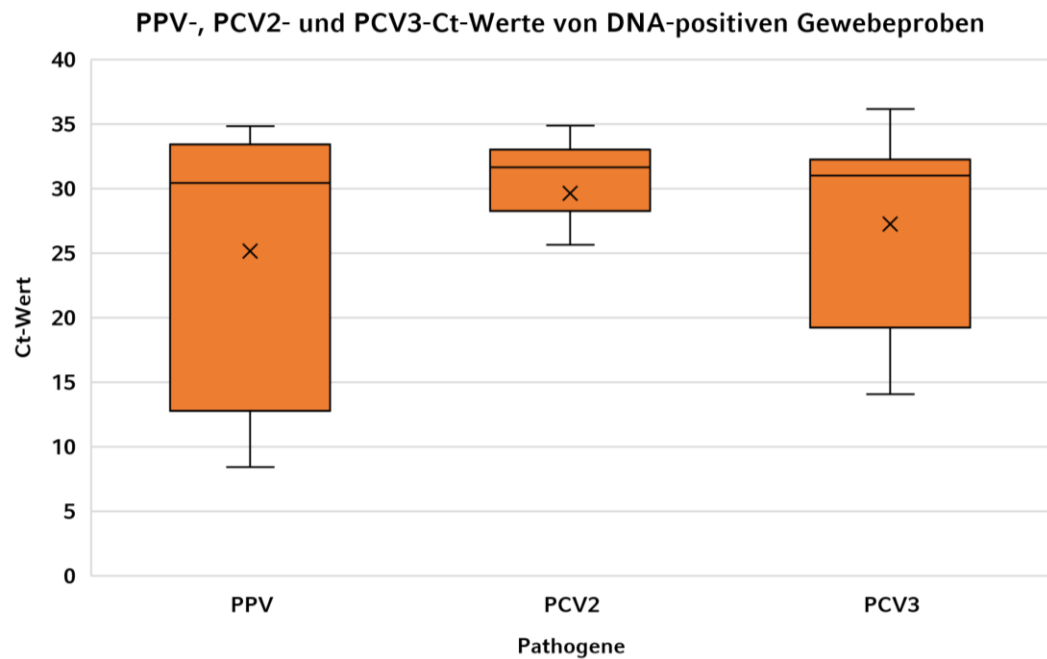


Abbildung 7: Box-Plots der PPV-, PCV2- und PCV3-Ct-Werte; Auswertung von Gewebepoolproben mit DNA-Nachweis des jeweiligen Pathogens.

2.4.2. Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Phänotyp des Ferkels

Die PPV-Ct-Werte unterschieden sich signifikant zwischen den vier Phänotypen: Der PPV-Ct-Wert war in Gewebepoolproben mumifizierter Ferkel signifikant niedriger als in Poolproben von autolytisch veränderten, totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln ($p=0,024$). Die PCV2-Ct-Werte ($p=0,411$) und PCV3-Ct-Werte ($p=0,376$) unterschieden sich zwar numerisch zwischen den vier Phänotypen, der Unterschied war jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Ct-Werte im Median (Md) inklusive Standardabweichung (StabW) je nach Phänotyp des Ferkels; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p<0,05$).

		Phänotyp			
		Mumifiziert	Autolytisch	Totgeboren	Lebensschwach
PPV-Ct-Wert	Md.	12,8 ^a	34,0 ^b	30,4 ^b	31,9 ^b
	StabW.	9,747	1,046	2,713	3,585
PCV2-Ct-Wert	Md.	32,2	31,7	28,7	32,5
	StabW.	6,035	29,421	6,204	-
PCV3-Ct-Wert	Md.	31,8	14,1	30,1	31,2
	StabW.	8,005	-	7,103	-

2.4.3. Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sau

In Tabelle 28 werden die PPV- und PCV2-Ct-Werte in Abhängigkeit vom Impfstatus der Sauen abgebildet. Dabei werden die PPV- und PCV2-Ct-Werte je nach Durchführung der entsprechenden Impfung bei Jung- und Altsauen ausgewertet.

Tabelle 28: Ct-Werte im Median (Md) inklusive Standardabweichung (StabW) in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$).

		PPV-/PCV2-Impfung		
		Jungsau	Jungsau & Altsau	Keine Impfung
PPV-Ct- Wert	Md.	33,3	29,3	-
	StabW.	2,821	10,260	-
PCV2-Ct- Wert	Md.	31,7 ^a	n.d.*	27,8 ^b
	StabW.	2,532	n.d.*	10,242

*n.d.= nicht detektiert.

Die PCV2-Viruslast in Poolproben war signifikant höher, wenn Proben von Ferkeln untersucht wurden, die von ungeimpften Sauen stammten, verglichen zu den Poolproben von Ferkeln, deren Muttersauen als Jungsau eine Impfung erhielten ($p=0,044$).

Die PPV-Viruslast in den fötalen Gewebepoolproben unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen „PPV-Impfung Jungsauen“ und „PPV-Impfung Jung- und Altsauen“ ($p=0,171$).

2.4.4. Quantitativer Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Fällen von Koinfektionen

In Tabelle 29 wird die relative Häufigkeit des Vorkommens der verschiedenen (Ko-)Infektionen und der mediane Ct-Wert je nach Erreger(-Kombination) dargestellt.

Tabelle 29: Vorkommen von (Ko-)Infektionen (%) und Angabe des medianen Ct-Wertes (Md) inklusive Minimum (Min), Maximum (Max) und Standardabweichung (StabW); unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$).

	Koinfektion				Monoinfektion		
	PPV & PCV2		PCV2 & PCV3		PPV	PCV2	PCV3
Anteil %	5,7% (KI: 2,5-9,5%)		0,6% (KI: 0,0-1,9%)		8,9% (KI: 5,1-13,3%)	22,2% (KI: 15,8-28,5%)	10,8% (KI: 6,3-15,8%)
Md (Ct)	14,6	32,7 ^b	30,1	32,4	31,1	31,1 ^a	30,8
Min/Max	11,0/ 34,8	29,3/ 34,9	-	-	8,4/ 34,1	7,9/ 34,7	14,1/ 36,2
StabW	11,234	1,775	-	-	8,945	6,877	7,573

In der vorliegenden Untersuchung unterschieden sich die PCV2-Ct-Werte bei einer Monoinfektion signifikant von denen einer Koinfektion mit PPV ($p=0,029$). Die PCV2-Viruslast im fötalen Gewebe bei einer Monoinfektion war höher als bei einer Koinfektion mit PPV (siehe Abbildung 8). Die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den medianen PPV-Ct-Werten bei einer PPV-Monoinfektion verglichen zu den PPV-Ct-Werten bei einer Koinfektion mit PCV2 ($p=0,829$).

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden die PCV2-Ct-Werte bei einer Monoinfektion mit denen bei einer Koinfektion mit PCV3 verglichen. Der PCV2-Ct-Wert war bei einer Monoinfektion niedriger als bei einer Koinfektion, die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant ($p=0,889$). Auch die PCV3-Viruslast war bei einer Monoinfektion höher, verglichen mit der viralen Last bei einer Koinfektion mit PCV2 ($p=0,444$).

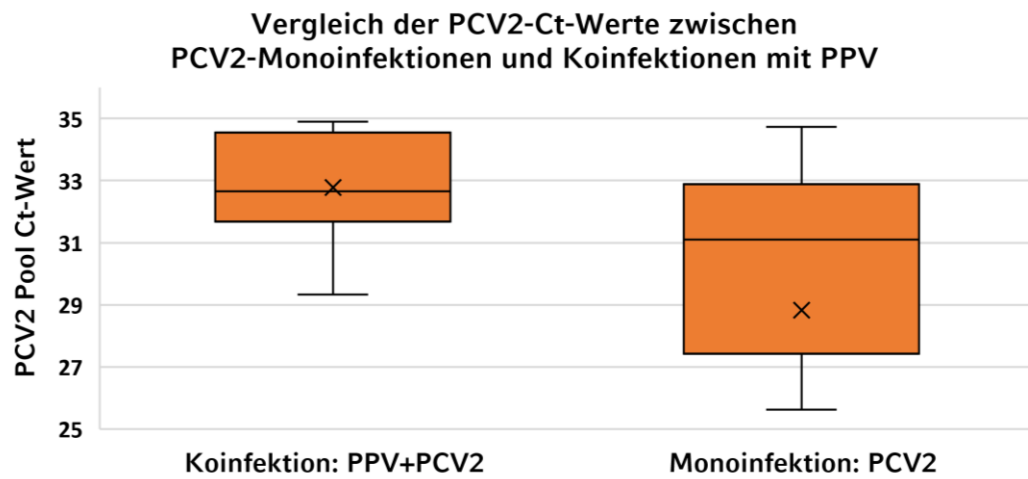


Abbildung 8: Box-Plots der PCV2-Ct-Werte von PCV2-DNA-positiven Poolproben; Auswertung der PCV2-Ct-Werte bei PCV2-Monoinfektionen und Koinfektionen mit PPV zum Vergleich der PCV2-Viruslasten.

2.5. Quantitative Auswertung der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben

In Tabelle 30 werden die Ergebnisse der Einzelorganuntersuchung aller PCV3-DNA-positiven Ferkel dargestellt. Von den Proben 2.3.7., 3.1.7., 6.1.6. und 10.1.3. waren trotz positiven Ergebnisses im Screening der Poolproben alle Einzelorgane PCV3-DNA-negativ.

Nach der statistischen Analyse unterschieden sich die PCV3-Ct-Werte aus der molekularbiologischen Untersuchung der Einzelorgane zwischen den Gewebeproben von Herzmuskel, Lunge, Milz und Thymus nicht signifikant ($p=0,436$).

Tabelle 30: PCV3-Ct-Werte der Einzelorgane (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Mi=Milz) inklusive Median (Md), Minimum (Min), Maximum (Max) und Standardabweichung (StabW).

Probennummer	Hm (Ct)	Lu (Ct)	Th (Ct)	Mi (Ct)	Pool (Ct)
2.1.2.	19,0	15,9	20,8	15,8	15,1
2.1.3.	18,8	20,9	23,9	20,1	16,8
2.1.5.	15,4	21,2	22,6	21,7	14,1
2.1.6.	18,0	15,5	22,4	15,4	15,4
2.2.1.	34,5	n.d.*	n.d.*	34,3	34,2
2.2.2.	n.d.*	n.d.*	29,1	31,8	29,2
2.2.4.	31,7	26,2	n.d.*	29,9	29,4
2.2.5.	23,5	29,1	n.d.*	33,0	31,3
2.3.7.	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	31,3
3.1.2.	n.d.*	31,1	n.d.*	35,6	31,2
3.1.7.	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	34,3
3.1.12.	n.d.*	n.d.*	n.d.*	30,0	32,2
3.1.17.	n.d.*	n.d.*	n.d.*	29,2	36,2
6.1.6. ¹	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	31,2
9.1.3.	n.d.*	30,0	n.d.*	31,9	30,8
9.1.4.	30,4	24,9	23,5	28,5	25,4
9.1.5.	24,4	20,5	30,0	19,6	20,0
10.1.3.	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	32,4
Md	23,5	23,0	23,5	29,5	31,0
Min/Max/ StabW	15,4/34,5/ 6,84	15,5/31,1/ 5,59	20,8/30,0/ 3,50	15,4/35,6/ 6,93	14,1/36,2/ 7,46

¹Ferkel 6.1.6. = lebensschwach;

* n.d. = nicht detektiert.

2.6. Auswertung der quantitativen molekularbiologischen Untersuchung

Die weitere statistische Analyse umfasste Untersuchungen zur Korrelation (siehe Anhang 8). In Tabelle 31 werden signifikante Ergebnisse der Korrelationsberechnung zwischen den quantitativen Ergebnissen der Untersuchung mittels PCR auf PPV-, PCV2- und PCV3-Genom und verschiedenen metrischen Variablen dargestellt.

Tabelle 31: Signifikante Ergebnisse der Untersuchung mittels bivariater Korrelationsberechnung (Spearman's rho, r_s).

Unabhängige Variable	Abhängige Variable	p-Wert	r_s
PPV-Ct-Wert Poolprobe	Anteil mumifizierter Ferkel/Wurf	0,033	-0,170
	Scheitel-Steiß-Länge Ferkel	<0,001	0,293
	Parität der Sau	0,048	0,158
PCV2-Ct-Wert Poolprobe	Anteil lebendgeborener Ferkel/Wurf	0,002	0,243
PCV3-Ct-Wert Poolprobe	Parität der Sau	<0,001	0,325

3. Ergebnisse serologischer Untersuchungen

3.1. Qualitative Auswertung der serologischen Ergebnisse der Untersuchungen auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper

Es wurden 93 fötale Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper untersucht, die Ergebnisse werden in Tabelle 32 dargestellt. Lebensschwach geborene Ferkel (11/104) wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Tabelle 32: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten zum Vorkommen von PPV- und PCV2- Antikörper-positiven Ferkeln auf Bestands- (n=18), Wurf- (n=40) und Einzeltierebene (n=93).

	PPV	PCV2-IgG	PCV2-IgM
Bestand (n=18)	0/18 (0%)	1/18 (5,6%)	2/18 (11,1%)
Wurf (n=40)	0/40 (0%)	2/40 (5,0%)	3/40 (7,5%)
Ferkel (n=93)	0/93 (0%)	2/93 (2,2%)	3/93 (3,2%)

Die Serumblutproben der 40 Sauen wurden zudem auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper untersucht. In den Serumblutproben aller Sauen (40/40; 100%) wurden PPV-spezifische Antikörper nachgewiesen. Zudem waren 25 Sauen (62,5%) PCV2-IgG-Antikörper-positiv, während alle Sauen PCV2-IgM-Antikörper-negativ waren.

3.2. Quantitative Auswertung der serologischen Ergebnisse auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper

3.2.1. Ferkel: Ergebnisse der Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper fötaler Proben

In Tabelle 33 werden die quantitativen Ergebnisse (OD-Werte) der Untersuchung auf PCV2-spezifische Antikörper von PCV2-Antikörper-positiven Ferkeln (n=3) dargestellt. Zudem werden die PCV2-Ct-Werte der PCV2-Antikörper-positiven Ferkel und deren Wurfgeschwister aufgeführt. In der statistischen Untersuchung unterschieden sich die PCV2-Ct-Werte nicht signifikant zwischen den Ferkeln mit PCV2-spezifischen Antikörpern und deren Wurfgeschwistern ($p_{26}=0,655$; $p_{27}=0,157$; $p_{31}=0,317$).

Tabelle 33: PCV2-Antikörper-positive Ferkel und deren Wurfgeschwister mit Darstellung der OD- und PCV2-Ct-Werte der Ferkel.

Wurfnummer	Probennummer	PCV2-Ab-Nachweis OD-Wert (Material)		PCV2-DNA- Nachweis
		IgG	IgM	Ct
26	11.2.2.	n.d.*	n.d.*	25,9
	11.2.7.	0,745 (Brf ¹)	1,667 (Hb ²)	27,6
	11.2.12.	n.d.*	n.d.*	30,9
	11.2.17.	n.d.*	n.d.*	26,0
27	11.3.1.	n.d.*	n.d.*	n.d.*
	11.3.3.	n.d.*	n.d.*	39,6
	11.3.7.	0,732 (Hb ²)	1,625 (Brf ¹)	37,0
	11.3.11.	n.d.*	n.d.*	n.d.*
31	14.1.3.	n.d.*	n.d.*	n.d.*
	14.1.6.	n.d.*	n.d.*	29,3
	14.1.9.	n.d.*	n.d.*	38,6
	14.1.12.	n.d.*	0,797 (Hb ²)	38,4

*n.d. = nicht detektiert; ¹Brf = Brusthöhlenflüssigkeit; ²Hb = Herzblut.

Die Scheitel-Steiß-Länge der drei PCV2-Antikörper-positiven Tiere lag im Mittel bei 250mm (StabW: 69,289). Bei Ferkel 11.2.7. wurde eine Scheitel-Steiß-Länge von 209mm, bei Ferkel 11.3.7. eine Scheitel-Steiß-Länge von 211mm und bei Ferkel 14.1.12. eine Scheitel-Steiß-Länge von 330mm gemessen.

3.2.2. Sauen

3.2.2.1. Ergebnisse der Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper

Im Mittel lag der PPV-Antikörpertiter der Sauen bei 4315 (min: 262; max: 8099; StabW: 1935,72). In Abbildung 9 werden die PPV-Antikörpertiter der Sauen in Abhängigkeit von der Parität der Sau und dem PPV-DNA-Nachweis aus den Würfen der Sauen dargestellt.

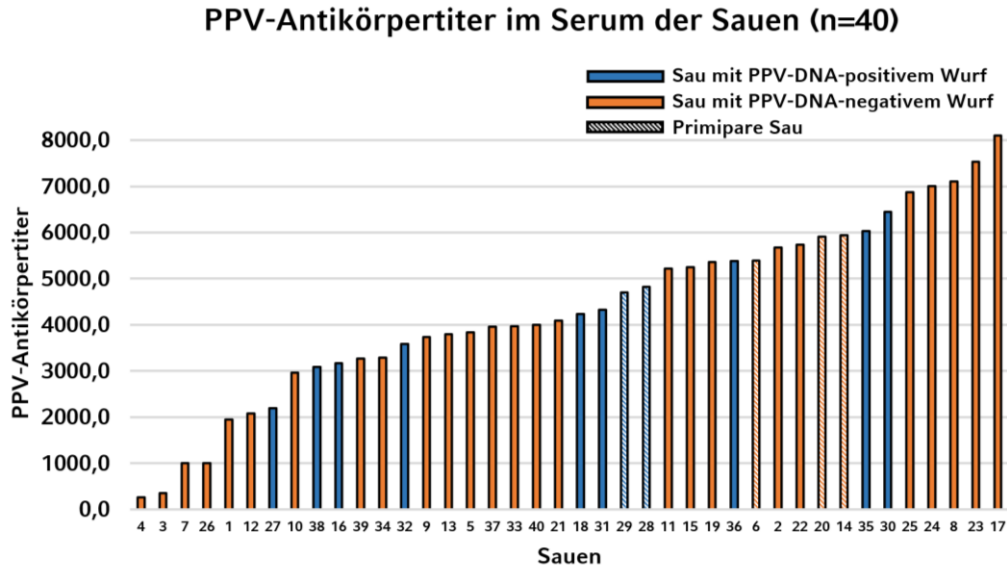


Abbildung 9: PPV-Antikörpertiter im Serum der Sauen (n=40); Darstellung in Abhängigkeit von der Parität der Sau und dem PPV-DNA-Nachweis aus deren Würfen.

Innerhalb der Gruppen, die in Abbildung 9 dargestellt werden, bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der PPV-Antikörpertiter (siehe Tabelle 34).

Tabelle 34: Mediane (Md) PPV-Antikörpertiter in Abhängigkeit von der Parität der Sau und dem PPV-DNA-Nachweis in deren Würfen; Darstellung der Ergebnisse des Gruppenvergleichs.

Gruppe	PPV-Antikörpertiter		Gruppenvergleich (p-Wert)
	Md	StabW	
Jungsau	5388	584,238	0,115
Altsau	3973	2019,248	
Jungsau	pos. ¹	4760	0,083
	neg. ²	5912	
Altsau	pos. ¹	4238	0,850
	neg. ²	3965	

¹pos.: Sauen mit PPV-DNA-positiven Würfen;

²neg.: Sauen mit PPV-DNA-negativen Würfen.

Innerhalb der Gruppe der Altsauen liegt kein signifikanter Unterschied zwischen den PPV-Antikörpertitern von Sauen der Gruppen „nur Jungsaunen PPV-Impfung“ (2/35) (Md: 3955; StabW: 523,144) und „sowohl Jung- als auch Altsauen PPV-Impfung“ (33/35) (Md: 3973; StabW: 2078,621) vor ($p=0,943$).

Werden die PPV-Antikörpertiter innerhalb der Gruppe „Altsauen“ in Abhängigkeit von einer PPV-Impfung (Jungsau/Altsau) und positivem PPV-DNA-Nachweis auf fötalen Gewebeproben betrachtet, ergeben sich folgende Gruppen:

- 1) „Impfung Jungsaunen & PPV-DNA-Nachweis“ (2/35),
- 2) „Impfung Jung- und Altsau & PPV-DNA-Nachweis“ (7/35) &
- 3) „Impfung Jung- und Altsau & kein PPV-DNA-Nachweis“ (26/35).

Die PPV-Antikörpertiter unterschieden sich nach der statistischen Auswertung nicht signifikant zwischen den Gruppen ($p=0,969$): 1) Md: 3955; StabW: 523,144; 2) Md: 4238; StabW: 1630,336; 3) Md: 3965; StabW: 2209,187.

3.2.2.2. Ergebnisse der Untersuchung auf PCV2-IgG-Antikörper

Entsprechend der vorliegenden Ergebnisse bestand ein signifikanter Unterschied im Antikörpergehalt ($\triangle OD$ -Wert) zwischen primiparen und multiparen Sauen ($p=0,026$): Primipare Sauen wiesen höhere Antikörperspiegel (OD-Wert Md: 1,158; StabW: 0,573) als multipare Sauen (OD-Wert Md: 0,533; StabW: 0,406) auf.

Der PCV2-Antikörpergehalt im Serum der Sauen unterschied sich innerhalb der Gruppe Jungsaunen je nach PCV2-DNA-Nachweis im Wurf nicht signifikant ($p=0,564$). Im Median wiesen Jungsaunen mit PCV2-DNA-positiven Würfen einen OD-Wert von 1,158 (StabW: 0,564) und mit PCV2-DNA-negativen Würfen einen OD-Wert von 1,244 (StabW: 0,818) auf.

Innerhalb der Gruppe der Altsauen war der Antikörpergehalt signifikant höher ($p=0,038$), wenn im Wurf der untersuchten Sau PCV2-DNA-positive Ferkel enthalten waren (siehe Abbildung 10). Im Median lag der OD-Wert aus der serologischen Untersuchung einer Sau mit PCV2-DNA-positiven Würfen bei 0,764 (StabW: 0,432) und mit PCV2-DNA-negativen Würfen bei

0,455 (StabW: 0,337).

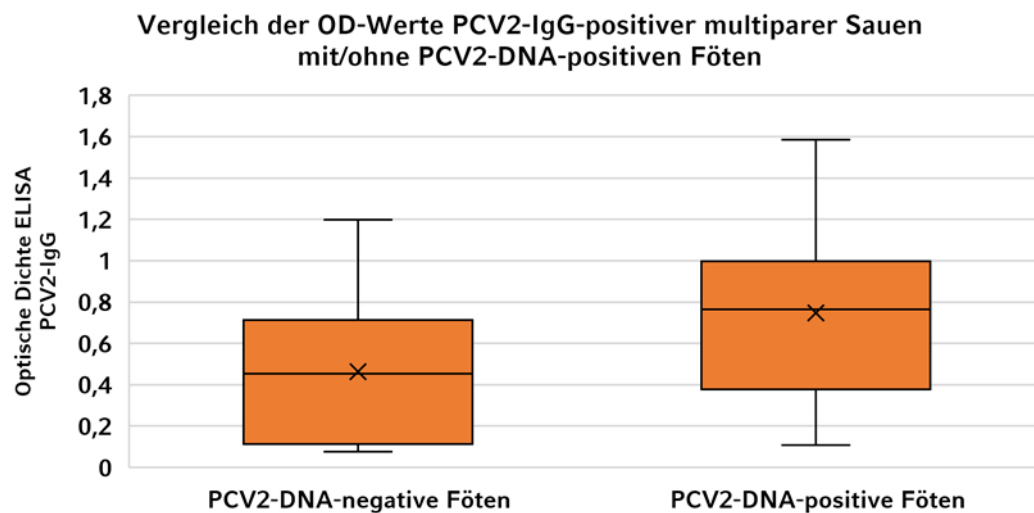


Abbildung 10: Darstellung der optischen Dichte der Untersuchung auf PCV2-IgG-Antikörper mittels ELISA; Vergleich von Sauen mit PCV2-DNA-positiven- und negativen Würfen.

Innerhalb der Gruppe „multipare Sauen“ lag ein numerischer Unterschied im PCV2-IgG-Gehalt je nach Impfstatus der Sau vor ($p=0,142$): Die Antikörpermenge im Serum der Sauen war am höchsten bei Sauen, die sowohl eine Jung- als auch Altsauen-Impfung gegen PCV2 erhielten (OD-Wert Md: 0,853; StabW: 0,291). Darauf folgten Sauen, die nur als Jungsau (OD-Wert Md: 0,748; StabW: 0,394) und Sauen, die nicht gegen PCV2 geimpft wurden (OD-Wert Md: 0,409; StabW: 0,436).

Darüber hinaus wurde innerhalb der Gruppe „Altsauen“ untersucht, wie sich der Antikörpergehalt im Serum der Sauen bei Impfung und gleichzeitiger Infektion verhält. Dabei wurde hinsichtlich der PCV2-Impfung wieder zwischen der Jung- und Altsauenimpfung unterschieden. Es wurden fünf verschiedene Gruppen gebildet und die Variablen „PCV2-Impfung Jungsau ja/nein“, „PCV2-Impfung Altsauen ja/nein“ und „PCV2-DNA-Nachweis in der fötalen Poolprobe ja/nein“ miteinander kombiniert. Zwischen diesen Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Antikörpergehalts im Serum der Sauen ($p=0,024$). In der vorliegenden Untersuchung fand sich der höchste Antikörpergehalt in Sauen (4/35), die sowohl eine Jung- als auch Altsauen-Impfung erhielten und in deren Würfen kein PCV2-DNA-Nachweis möglich war (OD-Wert Md: 0,853; StabW: 0,292). Darauf folgten Sauen (12/35), die eine Jungsau-Impfung erhielten und in deren Ferkel PCV2-DNA detektiert

wurde (OD-Wert Md: 0,769; StabW: 0,404). Am niedrigsten war der Antikörperspiegel im Serum von Sauen (5/35), die nur eine Jungsauen-Impfung erhielten und deren Würfe PCV2-DNA-negativ waren (OD-Wert Md: 0,283; StabW: 0,313).

V. DISKUSSION

1. Methodenkritik

1.1. Auswahl des Untersuchungsmaterials

Aus dem ausgewählten Untersuchungsmaterial konnten das Porzine Parvovirus, das Porzine Circovirus Typ 2, das Porzine Circovirus Typ 3 und verschiedene Kombinationen der drei Pathogene nachgewiesen werden. Die Nachweishäufigkeiten der Pathogene auf Einzeltierebene entsprechen anderen Untersuchungen zum Vorkommen von PPV- (SERENA et al., 2019; SERENA et al., 2021b), PCV2- (GERBER et al., 2012) und PCV3-DNA (EDDICKS et al., 2022) in mumifizierten, totgeborenen oder erdrückten Ferkeln. Das Vorfinden ähnlicher Häufigkeiten zeigt auf, dass sich das Probenmaterial der vorliegenden Untersuchung zum Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA eignete. Die Beprobung mittels stratifizierter Randomisierung ergab eine genaue Abbildung der Gesamtpopulation, die zur Untersuchung zur Verfügung stand. Es konnte sichergestellt werden, dass einzelne phänotypische Kategorien nicht über- bzw. unterrepräsentiert waren und der Anteil beprobter Ferkel hinsichtlich des Vorkommens der einzelnen Phänotypen der Gesamtpopulation entsprach.

Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass die ausgewählten Materialien die Überprüfung und Beurteilung der Arbeitshypothesen ermöglichten. Dennoch bleibt zu beachten, dass aufgrund der limitierten Gesamtheit der Studienpopulation keine allgemein repräsentativen Ergebnisse erzielt werden konnten. Dennoch lieferten die gewonnenen Ergebnisse relevante Erkenntnisse zum Vorkommen von (Ko-)Infektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in Fällen von SMEDI und zur Aufklärung der zuvor formulierten Arbeitshypothesen. Im Rahmen der diagnostischen Aufarbeitung wurden ausschließlich Infektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 berücksichtigt. SMEDI-assoziierte Reproduktionsstörungen können aber durch viele weitere Erreger verursacht werden. Koinfektionen mit anderen Erregern als PPV, PCV2 und PCV3 wurden möglicherweise übersehen. Folglich könnten mögliche

Einflüsse auf die qualitativen und quantitativen Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung durch andere Erreger übersehen worden sein. EDDICKS et al. (2022) zeigten beispielsweise, dass PRRSV ein möglicher begünstigender Kofaktor bei einer PCV3-Infektion der Ferkel innerhalb der ersten Lebenswoche sein könnte. Das Ziel der eigenen Arbeit bestand jedoch in erster Linie in der Analyse von Koinfektionen mit PCV2 und PPV, sowie der Beantwortung der grundlegenden Frage, ob PCV3 im Rahmen von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen vorkommt. Demnach interessierte in Bezug auf diese Untersuchungen primär der Nachweis von PPV, PCV2 und PCV3 sowie das Vorkommen und die Effekte von Koinfektionen mit diesen Pathogenen.

1.2. Auswertung der molekularbiologischen und serologischen Untersuchungen von Proben lebensschwacher Ferkel

Elf Ferkel hatten bei Durchführung der Lungenschwimmprobe einen positiven Befund und wurden retrospektiv als lebensschwach klassifiziert. Es kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass sich lebensschwach geborene Tiere postnatal mit PPV, PCV2 oder PCV3 infiziert haben. In diesem Zusammenhang zeigten DVORAK et al. (2013) in ihren Untersuchungen, dass eine PCV2-Infektion bei Saugferkeln postnatal über den Geburtsweg der Sau (z. B. uterine Körperflüssigkeit) oder durch Kolostrum erfolgen kann. PCV3-DNA wird ebenfalls über das Kolostrum der Sau ausgeschieden und könnte so eine postnatale PCV3-Infektion bewirken (KEDKOVID et al., 2018). PPV-Genom wird über alle Se- und Exkrete ausgeschieden und eine horizontale Übertragung zwischen Ferkel und Sau kann über den oronasalen Weg erfolgen (MENGELING et al., 2000). In der vorliegenden Untersuchung waren drei als lebensschwach kategorisierte Tiere DNA-positiv: Ferkel 6.1.6. war PCV3-DNA-positiv, Ferkel 8.2.2. war PPV- und PCV2-DNA-positiv und Ferkel 15.1.1. war PPV-DNA-positiv. Der DNA-Nachweis in den Poolproben dieser Tiere ist wahrscheinlich auf eine intrauterine Infektion zurückzuführen, da ein Nachweis von PPV-DNA erst nach frühestens zwölf Tagen (JOHNSON et al., 1976) und eine Detektion von PCV2-Genom nach sieben Tagen (SERENA et al., 2021b) bei einer vertikalen Transmission möglich wäre.

PCV3-spezifische Genomfragmente wurden in der Studie von EDDICKS et al. (2022) in hohen Viruslasten ab dem vierten Lebenstag gemessen. Es erschien daher vertretbar, diese Tiere im Rahmen einer Untersuchung von Ferkeln aus SMEDI-assoziierten Würfen mit einzuschließen, da nach aktuellem Wissensstand eine so schnelle postnatale Infektion innerhalb von wenigen Stunden als eher unwahrscheinlich angesehen werden kann.

In der serologischen Untersuchung wurden lebensschwach geborene Ferkel ausgeschlossen, denn eine Antikörperübertragung über das Kolostrum der Sau konnte nicht sicher ausgeschlossen werden. In der vorliegenden Untersuchung fiel bei Ferkel 10.1.10. auf, dass das Tier PPV-Antikörper-positiv und sowohl PCV2-IgG als auch PCV2-IgM-positiv war. Gleichzeitig wurde bei diesem Tier dokumentiert, dass sich Milch im Magen befand: Der Antikörpernachweis ist möglicherweise auf die Milchaufnahme kurz nach der Geburt zurückzuführen. Des Weiteren war nur ein Fötus (3.2.5.) PCV2-IgG-positiv, wobei auch hier eine Milchaufnahme denkbar wäre.

1.3. Bewertung der Altersschätzung mittels Scheitel-Steiß-Länge

Mithilfe der gemessenen Scheitel-Steiß-Länge der Ferkel konnte eine Altersschätzung nach EVANS & SACK (1973) sowie KIRKWOOD et al. (2012) durchgeführt werden (nach Abschnitt II.1.5). Diese Altersschätzung ergab, dass es bei sieben Ferkeln in der fötalen Phase zum intrauterinen Fruchttod kam. Die fötale Phase erstreckt sich von Tag 35 bis 70 der Trächtigkeit und bei einer viralen Infektion in dieser Phase kommt es zur Mumifikation der betroffenen Föten (PLONAIT, 2004). Tatsächlich waren aber nicht nur sieben, sondern 48 Föten mumifiziert. 42 Ferkel wurden also anhand deren Scheitel-Steiß-Länge mittels Formel älter geschätzt, als dies nach phänotypischem Erscheinungsbild (Mumifikation) als sinnvoll erscheint. Basierend auf der Annahme, dass eine negative Korrelation zwischen Wurfgröße und Scheitel-Steiß-Länge vorliegt (NAM & SUKON, 2021) und das Geburtsgewicht der Einzeltiere durch Fütterung der Sau positiv beeinflusst werden kann (DE VOS et al., 2014), könnte folgende Hypothese aufgestellt werden: Aufgrund der verringerten Wurfgröße, die ein typisches Merkmal SMEDI-assoziiertes Würfe ist, könnten die Föten aufgrund der stetig verbesserten Fütterung der Sauen größer entwickelt

sein als bisher angenommen. Demnach sollten die aktuellen Vorschläge zur Altersschätzung mittels Scheitel-Steiß-Länge hinterfragt werden und es scheint so als würden sie einer Überarbeitung bedürfen.

2. Diskussion der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

2.1. Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Fällen von SMEDI

Sowohl PPV-DNA als auch PCV2-DNA wurden in mumifizierten, totgeborenen oder erdrückten Saugferkeln in Organgewebeproben der Ferkel in einigen vorangegangenen Untersuchungen nachgewiesen. Jedoch wurde bisher keine vergleichbare Untersuchung durchgeführt, die ausschließlich SMEDI-assoziierte Würfe untersuchte und für deren Durchführung tatsächlich alle mumifizierten und totgeborenen Ferkel zur Beprobung zur Verfügung standen. Darüber hinaus wurde erstmals ein PCV3-DNA-Nachweis gezielt aus Gewebepoolproben von Ferkeln SMEDI-assoziiierter Würfe durchgeführt, um eine mögliche Assoziation zwischen PCV3 und SMEDI zu überprüfen.

PPV-spezifische Genomfragmente wurden in bereits durchgeführten Studien in totgeborenen und mumifizierten Ferkeln nachgewiesen, jedoch wurde auf Wurfebene eine geringere Nachweishäufigkeit erzielt (SHARMA & SAIKUMAR, 2010; DIAS et al., 2013). Grund hierfür ist die Auswahl der Würfe in diesen Studien: Es wurde eine weitaus höhere Anzahl an Würfen beprobt, die keine SMEDI-Assoziation aufwiesen. In der eigenen Untersuchung wurden hingegen gezielt SMEDI-assoziierte Würfe auf das Vorkommen von PPV-DNA ausgewertet. Dieser Aspekt erklärt die deutlich höhere Nachweisrate, denn PPV ist mit dem SMEDI-Syndrom assoziiert (STRECK & TRUYEN, 2020). Auf Einzeltierebene hingegen deckten sich die Ergebnisse mit denen von anderen Untersuchungen (DIAS et al., 2013; SERENA et al., 2019; SERENA et al., 2021b). VEREECKE et al. (2022) fassten in deren Publikation ähnliche Häufigkeiten zum Vorkommen von PPV in Fällen von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen zusammen: In Belgien liegt der Anteil von PPV-DNA-positiven Nachweisen im Jahr 2019 bei 9,2% und in Dänemark wächst der Anteil auf

durchschnittlich 17,4% in den Jahren 2015 bis 2021 an. Seit Jahrzehnten wird PPV mit SMEDI assoziiert (DUNNE et al., 1965) und bis heute bleibt die Prävalenz von PPV konstant (VEREECKE et al., 2022). In einigen Studien wurde in diesem Zusammenhang die Protektivität von aktuell verfügbaren Impfstoffen hinterfragt (ZEEUW et al., 2007; FOERSTER et al., 2016): Das stetig verändernde antigene Profil von PPV muss laufend untersucht werden und die Impfstoffe sollten dahingehend aktualisiert werden. Die Bedeutung von PPV sollte demnach in der Praxis bei auftretenden SMEDI-Fällen in Beständen trotz etablierter PPV-Impfung niemals unterschätzt werden. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde in allen Beständen eine PPV-Impfung bei Jungsauen durchgeführt.

Im Mittel wurde in PPV-DNA-positiven Ferkeln ein PPV-Ct-Wert von 27,2 gemessen, wobei 34,8% (8/23) eine hohe Viruslast aufwiesen und in den Proben ein PPV-Ct-Wert ≤ 20 gemessen wurde. Insgesamt elf fötale Poolproben wiesen Ct-Werte unter 30 auf. MAI et al. (2021) ordneten in deren Untersuchungen PPV-Ct-Werte von adulten Tieren < 25 als niedrig ein. Nach den vorliegenden Ergebnissen können die Poolproben mit Ct-Werten unter 20 in jedem Fall als Proben mit ätiologisch relevanten Viruslasten bewertet werden.

Diese Ergebnisse zum Vorkommen von PCV2-DNA in fötalen Gewebeproben decken sich sowohl auf Bestandsebene (UNTERWEGER et al., 2021; EDDICKS et al., 2022) als auch auf Wurfebene (EDDICKS et al., 2022) mit vorangegangenen Untersuchungen. EDDICKS et al. (2022) zeigten in ihrer Studie eine hohe Prävalenz von PCV2 in Ferkelerzeugerbetrieben auf und stellten den ubiquitären Charakter von PCV2 dar, wie bereits andere Studien zuvor (GERBER et al., 2012; DVORAK et al., 2013). DIAS et al. (2013) wiesen einen geringeren Anteil an PCV2-DNA-positiven Würfen nach. Hier wurden jedoch zufällig ausgewählte Würfe beprobt, wohingegen in der eigenen Untersuchung gezielt SMEDI-assoziierte Würfe untersucht wurden, wie oben bereits beschrieben. Auch PCV2 ist mit dem SMEDI-Syndrom assoziiert (SYDLER et al., 2011) und höhere Nachweisraten überraschen demzufolge nicht. Auf Einzeltierebene waren in der vorliegenden Untersuchung 28,5% (45/158) der untersuchten Ferkel PCV2-DNA-positiv. Diese Nachweisrate deckt sich

mit den Ergebnissen von GERBER et al. (2012), die Saugferkel am ersten Lebenstag beprobten und positive Befunde auf eine intrauterine Infektion zurückführten. Studien aus Dänemark (HANSEN et al., 2010) und Deutschland (EDDICKS et al., 2022) berichteten von höheren Nachweisraten. In der Studie aus Dänemark wurden jedoch mumifizierte und totgeborene Ferkel überwiegend von Jungsauen stammend untersucht. Die Prävalenz von PCV2 kann in Beständen mit hohem Jungsauenanteil erhöht sein (OROPEZA-MOE et al., 2017). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass PCV2 ubiquitär in Ferkelerzeugerbetrieben vorkommt (EDDICKS et al., 2022) und regelmäßig in SMEDI-assoziierten Würfen nachgewiesen wird: In der vorliegenden Untersuchung war jeder zweite SMEDI-Wurf PCV2-DNA-positiv.

Nach SEGALÉS (2012) liegt der Grenzwert zur Diagnosestellung einer PCV-2-RD bei $\geq 10^7$ Genomkopien/ 500ng extrahierter DNA aus fötalen Herzmuskelgewebeproben. SYDLER et al. (2011) wiesen in SMEDI-assoziierten Würfen 10^{11} Viruskopien/mg Gewebe nach und führten die Fruchtbarkeitsstörungen in den untersuchten Fällen auf eine PCV2-Infektion zurück. Die nachgewiesene Menge an PCV2-DNA erlaubt Rückschlüsse auf die klinische Relevanz des Befundes (OPRIESSNIG et al., 2007), denn die Schwere des PCV2-assoziierten Krankheitsverlaufs korreliert positiv mit der Viruslast in Blut- oder Gewebeproben (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004). Im Mittel wurden in der vorliegenden Untersuchung in den PCV2-DNA-positiven Ferkeln Ct-Werte von 28,8 gemessen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von EDDICKS et al. (2022) und unterstreicht den ubiquitären Charakter von PCV2. In den Gewebepoolproben von drei Ferkeln wurden niedrige Ct-Werte unter 20 gemessen. Alle Ferkel stammten aus einem Bestand (elf), in dem weder Jung- noch Altsauen gegen PCV2 geimpft wurden. Weitere Gewebepoolproben von dreizehn Ferkeln wiesen PCV2-Ct-Werte zwischen 20 und 30 auf, wobei man hier ebenfalls von relevanten PCV2-Viruslasten sprechen kann. Eine Interpretation der Ergebnisse und die Darstellung einer möglichen Assoziation zwischen SMEDI und PCV2 ist jedoch schwierig, da nach SEGALÉS & SIBILA (2022) drei Punkte zur

Diagnosestellung erfüllt sein müssen. Neben dem Nachweis einer moderaten bis hohen Viruslast im fötalen Gewebe und dem klinischen Auftreten von Fruchtbarkeitsstörungen bei den Sauen, sollten entzündliche Veränderungen im Myokard in der histologischen Untersuchung erfasst werden. Aufgrund fehlender histologischer Untersuchungen ist eine abschließende Interpretation der Ergebnisse nicht möglich.

Bezüglich der Nachweisrate von PCV3-DNA aus fötalen Poolproben werden in einer Studie aus Polen ähnliche Ergebnisse erzielt (WOŹNIAK et al., 2020), wohingegen in einer kürzlich durchgeführten Studie aus Deutschland über 50% der Bestände PCV3-DNA-positiv waren und eine hohe Prävalenz von PCV3 auf Bestandesebene vermutet wurde (EDDICKS et al., 2022). Auf Einzeltierebene decken sich die Ergebnisse von EDDICKS et al. (2022) mit einer Nachweisrate von 13,4% (18/134) mit denen der eigenen Untersuchung mit einer Häufigkeit PCV3-DNA-positiver Ferkel von 11,4% (18/158). DAL SANTO et al. (2020) wiesen in 97% (270/276) untersuchter mumifizierter Föten PCV3-DNA nach. Jedoch muss an dieser Stelle betont werden, dass in 93,1% der PCV3-DNA-positiven Gewebeproben mindestens ein weiterer Erreger nachgewiesen wurde: PPV, PCV2 oder *Leptospira* spp. Demnach ist nicht sicher festzustellen, ob PCV3 verursachendes Agens der Reproduktionsstörungen war. KIM et al. (2018) detektierten zwar in 42,9% der Föten PCV3 als einzigen Erreger, jedoch wird hier die Viruslast nicht genauer bestimmt und daher ist die Interpretation des positiven Befundes schwierig.

In der eigenen Arbeit wurden die quantitativen Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung erfasst und dargestellt: Die PCV3-Ct-Werte lagen bei Monoinfektionen zwischen 14,1 und 36,2, wobei im Mittel ein PCV3-Ct-Wert von 27,0 gemessen wurde. Damit lag der mittlere PCV3-Ct-Wert niedriger als die mittlere virale Last bei Saugferkeln in der Studie von EDDICKS et al. (2022). ARRUDA et al. (2019) wiesen in deren Untersuchungen mittlere PCV3-Ct-Werte von 19,3 nach und benannten anhand dieser Viruslasten PCV3 als mögliches verursachendes Agens von Reproduktionsstörungen. In den Untersuchungen von MORA-DÍAZ et al. (2020) wurden in fötalen Gewebeproben von Sauen mit vermuteten PCV3-

assoziierten Reproduktionsstörungen Ct-Werte zwischen 7,5 und 19,3 gemessen. SAPORITI et al. (2021a) erfassten niedrige PCV3-Ct-Werte zwischen 16,9 und 26,5 aus Gewebeproben von abortierten Ferkeln und eine Assoziation zwischen dem Nachweis von PCV3 und den auftretenden Reproduktionsstörungen wurde diskutiert. Nach eigenen Ergebnissen wurde in fünf der PCV3-DNA-positiven Proben eine hohe virale Last nachgewiesen, wobei bei diesen Tieren ein PCV3-Ct-Wert von $\leq 20,4$ gemessen wurde. Davon stammten vier Ferkel aus einem einzigen Wurf (2.1.) und die Gewebepoolproben wiesen PCV3-Ct-Werte zwischen 14,1 und 16,8 auf. In diesem Fall könnte von einer Assoziation zwischen PCV3 und dem SMEDI-Syndrom ausgegangen werden und es ist wahrscheinlich, dass im vorliegenden Fall PCV3 verursachendes Agens von SMEDI war. Das klinische Erscheinungsbild der PCV-3-RD ähnelt der klinischen Manifestation von PCV2-assoziierten Reproduktionsstörungen (PALINSKI et al., 2017). Diese Ähnlichkeit würde sich in der Abbildung 11 dargestellten SMEDI-Wurf widerspiegeln.



Abbildung 11: SMEDI-assoziiertes Wurf (2.1) mit PCV3-DNA-Nachweis; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.

Jedoch muss betont werden, dass in 72,2% (13/18) der PCV3-DNA-positiven Poolproben hohe PCV3-Ct-Werte (25,4 bis 36,2) gemessen wurden und eine Assoziation zum SMEDI-Syndrom nicht sicher herzustellen war. Möglicherweise waren in diesen Fällen weitere Erreger ursächlich für das Auftreten des SMEDI-Syndroms, die im Rahmen der

Untersuchungen nicht detektiert wurden. Die Frage, ob PCV3 mit SMEDI assoziiert ist, konnte mithilfe der vorliegenden Ergebnisse nicht abschließend beantwortet werden und es werden weitere Untersuchungen zur Beantwortung der Frage benötigt.

2.2. Nachweis von Koinfektionen in Fällen von SMEDI

In der vorliegenden Untersuchung wurde in 11,8% (9/76) der DNA-positiven Gewebepoolproben eine Koinfektion von PPV und PCV2 detektiert und 25% (9/36) der PCV2-DNA-positiven Proben waren gleichzeitig PPV-DNA-positiv. In vorangegangenen Untersuchungen wurden häufig höhere Nachweisraten von Koinfektionen mit PPV und PCV2 in totgeborenen und mumifizierten Ferkeln beschrieben (PESCADOR et al., 2007; HERDT et al., 2019; SERENA et al., 2021b). In den eigenen Untersuchungen lag lediglich in einem Fötus (1,3%; 1/76) eine Koinfektion von PCV2 und PCV3 vor. In einer spanischen Studie wurden ähnliche Ergebnisse erzielt (SAPORITI et al., 2021a), während eine kürzlich durchgeführte Studie aus Deutschland höhere Nachweisraten in Saugferkeln erzielte (EDDICKS et al., 2022). Nach den vorliegenden Ergebnissen lag keine gleichzeitige Infektion von PPV und PCV3 vor. Auch SAPORITI et al. (2021a) konnten in fötalem Untersuchungsmaterial von Sauen mit Reproduktionsstörungen keine Koinfektionen mit PPV und PCV3 detektieren. DAL SANTO et al. (2020) beschrieben zwar, dass in 93,1% der PCV3-DNA-positiven Proben mindestens ein weiterer Erreger, darunter PPV, nachgewiesen wurde, definierten aber entsprechende Nachweisraten von Koinfektionen nicht genauer.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob bei einer Koinfektion von PPV und PCV2 die Viruslast im fötalen Gewebe höher ist - verglichen zur viralen Last bei einer Monoinfektion des jeweiligen Erregers. OPRIESSNIG et al. (2004) zeigten, dass eine Koinfektion mit PPV das klinische mit PCV2 assoziierte Bild von PMWS in subadulten Tieren verstärkt. Zudem wurden bei gleichzeitigem Vorkommen der beiden Pathogene höhere PCV2-Viruslasten in untersuchtem Gewebe detektiert. Weitere Publikationen unterstützen die These, dass PPV die Replikation von PCV2 unterstützen könnte (MIŁEK et al., 2020). In der vorliegenden Arbeit sollte die Frage beantwortet werden, ob sich diese Hypothese auch

auf den fötalen Organismus übertragen lässt: Nach den vorliegenden Ergebnissen fiel jedoch auf, dass die PCV2-Viruslast bei PCV2-Monoinfektionen signifikant höher war als bei einer Koinfektion mit PPV. Im fötalen Gewebe konnte also keine erhöhte PCV2-Viruslast festgestellt werden, wenn gleichzeitig PPV in der Probe detektiert wurde. Grund hierfür könnte das Probenmaterial sein: Während OPRIESSNIG et al. (2004) oder MIŁEK et al. (2020) Probenmaterial von subadulten Schweinen untersuchten, wurde in der vorliegenden Untersuchung fötales Probenmaterial zum PCV2- und PPV-DNA-Nachweis verwendet. Ein wichtiger Unterschied könnte die „Ressourcenknappheit“ im fötalen Organismus sein. Allgemein formuliert findet die Replikation von PPV (MENGELING et al., 2000) und PCV2 (NAUWYNCK et al., 2012) intrauterin in schnellteilenden Zellen statt: Sowohl PPV (LENGHAUS et al., 1978; BOLT et al., 1997) als auch PCV2 (SANCHEZ et al., 2003) scheinen beispielsweise in fötalen Herzmuskelzellen zu replizieren. Es könnte eine Konkurrenzsituation zwischen PPV und PCV2 entstehen, da die Zellressourcen zur Replikation begrenzt sind. Möglicherweise kann im fötalen Gewebe nicht von Synergismus zwischen PPV und PCV2 ausgegangen werden und die Erkenntnisse von OPRIESSNIG et al. (2004), die durch die Untersuchung von subadulten Tieren gewonnen wurden, könnten demnach nicht auf den fötalen Organismus übertragen werden.

2.3. Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA in Abhängigkeit vom klinischen Erscheinungsbild der Ferkel

Bei der Auswertung der qualitativen und quantitativen Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom klinischen Erscheinungsbild der Ferkel zeichnete sich für jedes Pathogen ein Phänotyp ab, der sich zum Genom-Nachweis am besten zu eignen scheint. Aktuell gibt es nur wenige Studien, die Informationen zur Auswertung der molekularbiologischen Ergebnisse nach phänotypischem Erscheinungsbild der Ferkel in Fällen von SMEDI liefern.

Sowohl PCV2- als auch PPV-DNA wurden nach den vorliegenden Ergebnissen jeweils am häufigsten in mumifizierten Föten nachgewiesen. In vorangegangenen Studien gelang bereits der PPV-DNA-Nachweis aus mumifizierten Föten und totgeborenen Ferkeln (ZEEUW et al., 2007;

HERDT et al., 2019; SERENA et al., 2019). SERENA et al. (2021b) detektierten PPV-spezifische Genomfragmente häufiger in totgeborenen Ferkeln (9/11) als in mumifizierten Föten (2/11), jedoch wurden hier keine SMEDI-assoziierten Würfe untersucht, sondern Ferkel von subklinisch mit PPV infizierten Sauen. Auch PCV2-spezifische Genomfragmente wurden aus mumifizierten Föten in vorangegangenen Studien nachgewiesen (DIAS et al., 2013; HERDT et al., 2019; SERENA et al., 2021b). UNTERWEGER et al. (2021) detektierten in mumifizierten und autolytisch veränderten Ferkeln häufiger PCV2-spezifische Genomfragmente als in totgeborenen Tieren und benannten mumifizierte und autolytische Ferkel als optimales Untersuchungsmaterial zum PCV2-Genomnachweis. SYDLER et al. (2011) stellten in deren Publikation vier Fälle von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen dar. In einem Fallbeispiel war im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchung nur Untersuchungsmaterial von mumifizierten Föten PCV2-DNA-positiv. Bei einer ätiologisch relevanten PPV- oder PCV2-Infektion bis zum 70. Trächtigkeitstag kommt es entweder zum embryonalen Fruchttod oder die Föten mumifizieren. Der intrauterine Fruchttod ereignet sich aufgrund der zunehmenden Replikation der Pathogene im Fötus und den damit einhergehenden Organschäden (PLONAIT, 2004). Demnach erscheint es plausibel, dass sich mumifizierte Tiere sowohl zum PPV- als auch zum PCV2-DNA-Nachweis optimal eignen. In der vorliegenden Untersuchung wurden zudem in mumifizierten Föten signifikant höhere PPV-Viruslasten als in den anderen drei Kategorien nachgewiesen.

PCV3-spezifische Genomfragmente wurden nach den vorliegenden Ergebnissen signifikant häufiger in totgeborenen Ferkeln als in mumifizierten, autolytischen oder lebensschwachen Tieren nachgewiesen. In einigen Studien wurde PCV3-DNA häufiger in mumifizierten als in totgeborenen Ferkeln detektiert (SAPORITI et al., 2020; SAPORITI et al., 2021a). RUIZ et al. (2022) wiesen dagegen PCV3-Genom analog zu den eigenen Ergebnissen am häufigsten in totgeborenen Ferkeln nach, die im letzten Drittel der Trächtigkeit verstarben. Die fetale Replikation von PCV3 findet in kardialen Zellen statt (PHAN et al., 2016) und verläuft demnach analog zur PCV2-Replikation (ARRUDA et al., 2019). Es könnte also sein,

dass PCV2 die Replikation von PCV3 blockiert. Diese Vermutung wird durch die Untersuchungen von RUIZ et al. (2022) untermauert: Hier war der Anteil von PCV3-DNA-positiven Föten aus dem letzten Drittel der Trächtigkeit signifikant höher als der Anteil von PCV3-DNA-positiven Föten aus dem zweiten Drittel der Trächtigkeit. Prinzipiell wäre auch eine „Replikations-Blockade“ von PCV2 durch PCV3 denkbar, anhand der vorliegenden Ergebnisse würde sich die Blockade jedoch umgekehrt darstellen.

Zusammenfassend sollten für den Nachweis von PPV- oder PCV2-DNA nach den vorliegenden Ergebnissen mumifizierte Föten für die Untersuchung gesammelt werden, während sich ältere Ferkel besser zum Nachweis von PCV3-spezifischen Genomfragmenten zu eignen scheinen.

2.4. Nachweis von PPV- und PCV2-DNA in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand

Neben den Daten zur Überprüfung der Arbeitshypothesen wurden auch verschiedene bestandsspezifische Informationen mittels Fragebogen gewonnen und ausgewertet. Dabei wurde festgestellt, dass in den Gruppen „PPV-Impfung Jung- und Altsauen“ nach deskriptiver Auswertung weniger PPV-DNA-positive Ferkel detektiert wurden als in der Gruppe „PPV-Impfung Jungsauen“.

Sowohl die Impfung gegen PPV (MENGELING et al., 1979; ZEEUW et al., 2007) als auch gegen PCV2 (MADSON et al., 2009a; PLEGUEZUELOS et al., 2021) können vor einer Virämie der Muttersau und damit einhergehender fötaler Infektion schützen. DIAS et al. (2013) wiesen in deren Studie bei ungeimpften Jungsauen (PPV und PCV2) einen hohen Anteil an virämischen Sauen mit PPV- und PCV2-DNA-positiven Würfen nach. Jedoch kann durch eine Impfung weder eine Virusübertragung von PPV (FOERSTER et al., 2016) noch von PCV2 (MADSON et al., 2009a; GERBER et al., 2012) auf die Föten gänzlich verhindert werden. Eine Impfung von Jung- und Altsauen scheint nach den vorliegenden Ergebnissen effektiver vor einer transplazentaren Übertragung von PPV oder PCV2 zu schützen als eine alleinige Impfung der Jungsauen.

In der vorliegenden Untersuchung fiel in der multivariaten Analyse auf,

dass sich eine PPV-Impfung der Altsauen schützend auf den PPV-DNA-Nachweis aus fötalen Poolproben auswirkte. In allen Beständen wurden Jungsauen gegen PPV geimpft, eine zusätzliche PPV-Impfung der Altsauen reduzierte jedoch die Chance PPV-DNA in fötalen Poolproben nachzuweisen. Zudem lag eine Assoziation zwischen den Faktoren „PCV2-Impfung Jungsauen“ sowie „PCV2-Impfung Jung- und Altsauen“ und dem PCV2-DNA-Nachweis aus fötalen Gewebeproben vor. Darüber hinaus wurde in Seren von Altsauen, die sowohl eine Jung- als auch Altsauen-Impfung gegen PCV2 erhalten hatten, der höchste Antikörpergehalt (\triangleq OD-Wert) gemessen. Mittels OD-Wert kann die relative Menge von PCV2-spezifischen Antikörpern beschrieben werden (Gebrauchsanweisung INgezim® Circovirus IgG/IgM, Ingenasa, Madrid, Spain) und es können Rückschlüsse auf den Antikörpergehalt im Serum gezogen werden. Auch in vorangegangenen Studien wurde vom OD-Wert ausgehend das Antikörpervniveau in Serumproben von Ferkeln abgeleitet (OPRIESSNIG et al., 2008).

Des Weiteren sorgt eine Impfung für eine Reduktion der Virusausscheidung über Se- und Exkrete und die horizontale Virusübertragung wird verringert: Dies gilt sowohl für PCV2 (GERBER et al., 2011) als auch für PPV (FOERSTER et al., 2016). Dementsprechend würden Sauen aus Beständen mit einer PPV- oder PCV2-Impfung sowohl bei den Jung- als auch den Altsauen in einer Umgebung gehalten werden, die geringer mit PCV2 oder PPV kontaminiert ist. Der PCV2- und PPV-Infektionsdruck wäre demnach für Muttertiere in Sauenimpfbeständen geringer. Nach den vorliegenden Ergebnissen waren jedoch in der Gruppe „PCV2-Impfung Jungsauen“ mehr Ferkel PCV2-DNA-positiv als in der Gruppe „keine PCV2-Impfung“. Grund hierfür könnte sein, dass in den Beständen, in denen nicht gegen PCV2 geimpft wurde, PCV2-assozierte Reproduktionsstörungen kein auffallendes Problem darstellen und eine Etablierung der Impfung nicht gerechtfertigt erscheint. Demnach wäre in dieser Gruppe die Prävalenz von PCV2-DNA-positiven Ferkel grundlegend niedriger als in der Gruppe „PCV2-Impfung Jungsauen“. Der PCV2-Ct-Wert war in der Gruppe „keine PCV2-Impfung“ jedoch signifikant niedriger als in der Gruppe „Jungsauen-Impfung“.

Abschließend soll betont werden, dass sich zum Schutz vor SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen eine PPV- oder PCV2-Impfung sowohl bei den Jung- als auch bei den Altsauen lohnt. SMEDI-assoziierte Würfe können dennoch auftreten, aber die Häufigkeit scheint reduziert zu sein.

2.5. Nachweis von PCV3-DNA in fötalen Einzelgewebeproben

Im Rahmen der Untersuchung sollte überprüft werden, ob sich ein fötales Organ besonders zum Nachweis von PCV3-DNA eignet. Am häufigsten wurde zwar in Milzgewebe PCV3-DNA detektiert, jedoch unterschieden sich die PCV3-Ct-Werte zwischen den Gewebeproben kaum. Dieses Ergebnis deckt sich mit Untersuchungen von RUIZ et al. (2022): Hier wurden Gewebeproben von Gehirn, Herz, Lunge und Milz auf PCV3-Genom untersucht. Dabei wurden keine Unterschiede in den PCV3-Ct-Werten je nach Organmaterial detektiert. Die Autoren schließen daraus eine weite Verbreitung von PCV3-DNA im fötalen Gewebe, besonders in gut vaskularisierten Geweben. SAPORITI et al. (2021a) vermuteten ebenfalls eine diffuse Verbreitung von PCV3-DNA im fötalen Organismus und stellten einen Tropismus zu Blutgefäßen dar. Zusammenfassend konnte für den PCV3-DNA-Nachweis kein optimales fötales Organ identifiziert werden. Jedoch sollten gut vaskularisierte Organe in den Pool eingeschlossen werden, da ein PCV3-DNA-Nachweis besonders aus der glatten Muskulatur arterieller Gefäße gelingen soll (SAPORITI et al., 2021a). Nach den eigenen Ergebnissen sollte besonders die Milz als hämatopoetische und gut durchblutete Einheit des fötalen Organismus nicht vergessen werden, da aus der Milz nach eigenen Ergebnissen am häufigsten ein PCV3-DNA-Nachweis gelang.

2.6. Statistische Beziehungen zum qualitativen und quantitativen Nachweis von PPV-, PCV2- und PCV3-DNA

2.6.1. Assoziation zwischen Stroheinstreu und PPV-DNA-Nachweis

Nach den vorliegenden Ergebnissen war die Chance, PPV-spezifische Genomfragmente aus fötalen Poolproben nachzuweisen, 39-mal höher, wenn die Ferkel von Sauen aus einem Bestand mit Stroheinstreu stammten. Die an der Untersuchung teilnehmenden Betriebe waren konventionell geführte Ferkelerzeugerbetriebe und nur ein Bestand (Bestand 13) etablierte Stroheinstreu bei den Sauen. In den letzten Jahrzehnten wurde die Aufstallung von Sauen auf Stroh zunehmend von der Haltung auf Spaltenböden verdrängt. Mit einem Anteil von 93% repräsentieren Voll- und Teilspaltenböden den Großteil der Stallplätze in Deutschland. Die Haltung auf planbefestigten Boden mit Einstreu sank von 8% im Jahr 2010 auf 4% im Jahr 2021 (ROHLMANN et al., 2021). Aufgrund zunehmender Anforderungen im Bereich Tierschutz könnte in den nächsten Jahren der Anteil an Beständen mit Stroheinstreu jedoch wieder steigen.

PPV kann sowohl horizontal als auch vertikal übertragen werden. Eine horizontale Übertragung erfolgt über den direkten Kontakt mit Se- und Exkreten infizierter Tiere (MENGELING et al., 2000). Bei einer Sauenhaltung auf Betonspaltenboden fallen Exkrete in den Güllekanal ab, während sich Kot und Urin im Stroh ansammeln können. Über Wühlvorgänge durch kontaminierte Stroheinstreu kann eine horizontale Übertragung von PPV zwischen Sauen erfolgen und bei trächtigen Tieren können SMEDI-assoziierte Reproduktionsstörungen hervorgerufen werden. Da die untersuchte Anzahl von Ferkeln in diesem Betrieb und allgemein die Anzahl der Betriebe mit Stroheinstreu limitiert war, kann jedoch keine allgemeingültige Aussage zur Assoziation zwischen Stroheinstreu im Bestand und PPV-DNA-Nachweis in Föten betroffener Sauen getroffen werden und es bedarf weiteren Untersuchungen.

2.6.2. Korrelation zwischen Reproduktionsorientierten Parametern und dem DNA-Nachweis von PPV und PCV2

Der PPV-Ct-Wert korrelierte schwach negativ mit dem Anteil mumifizierter Ferkel pro Wurf. Diese Feststellung verdeutlicht die Bedeutung von PPV als verursachendes Agens von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen und unterstreicht das typische Erscheinungsbild von SMEDI-assoziierten Würfen mit einem hohen Anteil mumifizierter Ferkel. In Abbildung 12 wird ein PPV-DNA-positiver Wurf mit PPV-Ct-Werten zwischen 8,4 und 12,6 und einem Anteil von 87,5% (7/8) mumifizierter Föten dargestellt.



Abbildung 12: PPV-DNA-positiver Wurf; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.

Zudem korrelierte der PCV2-Ct-Wert schwach positiv mit dem Anteil lebendgeborener Ferkel pro Wurf. Auch hier wurde die Bedeutung von PCV2 im Rahmen von SMEDI unterstrichen. Auch REIF et al. (2022) untersuchten in einer kürzlich durchgeführten Studie den Einfluss einer PCV2-Impfung auf die Reproduktionsleistung im Bestand. Dabei zeigte sich bei Auftreten einer PCV-2-RD ein Anstieg mumifizierter Ferkel bei gleichbleibender Wurfgröße. Der Anteil lebendgeborener Ferkel pro Wurf nahm folglich beim Nachweis einer hohen PCV2-Viruslast ab. Nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung wurde die Bedeutung von PPV und PCV2 als SMEDI-assoziierte Pathogene also bestätigt.

2.6.3. Korrelation zwischen Parität und dem DNA-Nachweis von PPV und PCV3

Sowohl der PPV- als auch der PCV3-Ct-Wert korrelierten positiv mit der Parität der Sau. In älteren Sauen wurden demnach geringere PPV- bzw. PCV3-Viruslasten detektiert als in jüngeren Sauen. Zudem stellte sich in der multivariaten statistischen Betrachtung die Parität der Sau als schützender Faktor auf den PPV-DNA-Nachweis aus fötalen Poolproben heraus. In vorangegangenen Studien wurden ähnliche Ergebnisse erzielt: WOLF et al. (2008) zeigten in deren Untersuchungen, dass ein PPV-DNA-Nachweis mit einem Anteil von 92,3% häufiger in fötalen Gewebeproben von Jungsauen gelang als in fötalen Proben von Altsauen mit einer Nachweishäufigkeit von 65,4%. Als Jungsauen galten hier Sauen vom ersten bis dritten Wurf, Altsauen waren Sauen ab der vierten Parität. In der Studie von WOLF et al. (2008) wurden Jung- und Altsauen anders definiert als in der eigenen Untersuchung. Folglich können die Ergebnisse der beiden Untersuchungen nicht ohne Weiteres verglichen werden. Die Studie von WOLF et al. (2008) zeigte dennoch, dass Ferkel von jüngeren Sauen häufiger PPV-DNA-positiv waren als von älteren Sauen. SHARMA & SAIKUMAR (2010) untersuchten fötale Gewebeproben von ungeimpften Jungsauen der ersten Parität und stellten Jungsauen als empfängliche Gruppe für PPV-Infektionen heraus. In den Untersuchungen von SAPORITI et al. (2020) wurde gezeigt, dass eine PCV3-Virämie überwiegend primipare Sauen betrifft. In 33,3% (19/57) der Serumproben primiparer Sauen wurde PCV3-DNA nachgewiesen. In den Proben multiparer Sauen wurden keine PCV3-spezifischen Genomfragmente detektiert. Der Anteil PCV3-DNA-positiver Gewebeproben lag in der Studie von SAPORITI et al. (2020) bei Ferkeln von Jungsauen mit 80,2% (73/91) signifikant höher als bei Ferkeln von Altsauen mit 7,9% (13/164). Zudem war in der Studie von SAPORITI et al. (2020) die PCV3-Viruslast in den PCV3-DNA-positiven Poolproben von Ferkeln primiparer Sauen signifikant höher als die virale Last in Proben von Ferkeln multiparer Sauen. SAPORITI et al. (2020) vermuteten, dass multipare Sauen bereits eine Immunität gegenüber einer PCV3-Infektion entwickelt haben und deren Würfe vor einer transplazentaren Übertragung geschützt sind. Im Gegensatz dazu könnten primipare Sauen naiv gegenüber PCV3 sein und die fehlende Immunität

könnte die Viruszirkulation und eine transplazentare Übertragung begünstigen (SAPORITI et al., 2020). Zusammenfassend lässt sich festhalten: Bei Vorkommen von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen in einem Bestand sollten zum Nachweis von PPV- und PCV3-DNA nach den vorliegenden Ergebnissen SMEDI-Würfe von Jungsaugen untersucht werden, da hier die höchsten Viruslasten erwartet werden.

3. Diskussion der Ergebnisse der serologischen Untersuchung

Im Rahmen der serologischen Untersuchung wurde Herzblut und Brusthöhlenflüssigkeit auf das Vorkommen von PPV- und PCV2-spezifischen Antikörpern untersucht. Von allen PPV-DNA-positiven Ferkeln wurden zwölf Tiere in die serologische Untersuchung eingeschlossen. Die Scheitel-Steiß-Längen dieser zwölf Ferkel lagen zwischen 201mm und 266mm. Nach MENGELING et al. (2000) kann bei Ferkeln ab dem 70. Trächtigkeitstag und einer Scheitel-Steiß-Länge von ≤ 16 cm bei einer intrauterinen PPV-Infektion mit einer Immunantwort des Ferkels gerechnet werden und die Ferkel sollten PPV-Antikörper-positiv geboren werden. Nach den eigenen Ergebnissen wurden in den untersuchten Proben jedoch keine PPV-spezifischen Antikörper detektiert. Zudem wurden insgesamt 24 fötale Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben von PCV2-DNA-positiven Ferkeln untersucht, alle Tiere wiesen Scheitel-Steiß-Längen über 16cm auf. Ab dem 70. Trächtigkeitstag kann auch bei einer intrauterinen PCV2-Infektion von einer Immunantwort des Ferkels ausgegangen werden (NAUWYNCK et al., 2012). Tatsächlich war aber von den PCV2-DNA-positiven Ferkeln nur ein Tier (11.2.7.) PCV2-Antikörper-positiv. Insgesamt wurden in drei fötalen Proben PCV2-spezifische Antikörper detektiert. Die PCV2-Antikörper-positiven Ferkel stammten aus drei verschiedenen Würfen (11.2.; 11.3. und 14.1.). In allen drei Würfen gelang der PCV2-DNA-Nachweis. Die PCV2-Ct-Werte lagen im Wurf 11.2. im ätiologisch relevanten Bereich zwischen 25,9 und 31,0. In den Würfen 11.3. und 14.1. lagen die PCV2-Ct-Werte zwischen 29,3 und 39,6. Um die Bedeutung von

PCV2 als mögliche Ursache für das SMEDI-Syndrom zu bewerten, lieferte die serologische Untersuchung der fötalen Proben in der vorliegenden Untersuchung keinen diagnostischen Mehrwert. Sinnvoller wäre in diesem Fall neben der bereits überprüften Klinik und dem Genom-Nachweis, eine histologische Untersuchung von fötalen Gewebeproben, besonders vom Myokard, durchzuführen (SEGALÉS & SIBILA, 2022).

Sowohl fötales Serum (NIELSEN et al., 1991) als auch fötale Brusthöhlenflüssigkeit (WOLF et al., 2008) wurden in vorangegangenen Studien zur Untersuchung auf PPV-spezifische Antikörper verwendet. Auch zur Detektion von PCV2-Antikörpern wurde Serum (MADSON et al., 2009b) und Brusthöhlenflüssigkeit (SANCHEZ et al., 2001) schon gebraucht. HANSEN et al. (2010) wiesen in fötalen Serumproben von vierzehn PCV2-IHC-positiven Ferkeln nur in zwei Tieren erhöhte PCV2-IgG-Werte nach. Als Gründe für diese geringe Nachweisrate werden folgende Faktoren diskutiert: 1) Die Ferkel könnten vor einer Serokonversion intrauterin verstorben sein oder 2) Die Ferkel wurden vor der immunkompetenten Phase mit PCV2 infiziert. Diese Gründe könnten wahrscheinlich auch auf einen ausbleibenden PPV-Antikörper-Nachweis übertragen werden. HANSEN et al. (2010) bewerteten nach deren Untersuchung den Antikörpernachweis zur Detektion einer intrauterinen Infektion als unzuverlässig. Zusammenfassend kann anhand der vorliegenden Ergebnisse festgestellt werden, dass der Antikörper-Nachweis aus fötalen Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben einerseits als Methode zum Nachweis von SMEDI-assoziierten Reproduktionsstörungen keine ausreichende Zuverlässigkeit bietet. Andererseits lieferte die serologische Untersuchung von fötalen Proben als zusätzliche Untersuchung zum DNA-Nachweis keinen informativen Mehrwert. Zum Nachweis von SMEDI-assoziierten Pathogenen in der Praxis sollte eine serologische Untersuchung von fötalen Proben überdacht werden und aus ökonomischen Gründen sollten die finanziellen Mittel in andere Untersuchungsmethoden wie beispielsweise histologische Analysen investiert werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

„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“

Das SMEDI-Syndrom ist mit *stillbirth* (Totgeburt), *mummification* (Mumifikation), *embryonic death* (Embryonaler Fruchttod) und *infertility* (Unfruchtbarkeit) assoziiert und wird von verschiedenen Erregern verursacht. Im Rahmen der Untersuchung sollte, analog zu Untersuchungsergebnissen von älteren Schweinen, überprüft werden, ob die Viruslast im fötalen Gewebe bei gleichzeitigem Vorkommen von PCV2 und PPV höher ist als bei einer Monoinfektion der entsprechenden Erreger. Zudem sollte untersucht werden, inwieweit (qualitativ und quantitativ) PCV3 in Fällen von SMEDI nachzuweisen ist. PCV3 wird zwar mit Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht, eine Beschreibung im Zusammenhang mit SMEDI erfolgte bisher jedoch nicht. Zuletzt sollte evaluiert werden, ob der Nachweis von PPV- oder PCV2-spezifischen Antikörpern aus Herzblut bzw. Brusthöhlenflüssigkeit SMEDI-assoziierter Ferkel einen diagnostischen Mehrwert in Fällen von SMEDI darstellt. Dazu wurde diagnostisches Material (358 Ferkel, 40 Würfe) aus 18 deutschen Ferkelerzeugerbetrieben ausgewertet. Die Würfe wurden zur diagnostischen Aufarbeitung an die Klinik für Schweine der LMU München eingesandt. Zusätzlich lagen 40 Blutproben zur Ausschlussdiagnostik von weiteren SMEDI-assozierten Pathogenen vor. Von allen Tieren wurden die Scheitel-Steiß-Länge und das Gewicht erfasst. Anschließend wurden die Ferkel der Größe nach sortiert und 158 Ferkel zur molekularbiologischen Untersuchung mittels stratifizierter Randomisierung ausgewählt. Im Rahmen der Probenentnahme wurde eine Lungenschwimmprobe durchgeführt, um zwischen totgeborenen und lebensschwach geborenen Ferkeln zu unterscheiden. Fötale Gewebepoolproben aus Herzmuskel-, Lungen-, Thymus- und Milzgewebe wurden auf PPV-, PCV2- und PCV3-DNA mittels qPCR untersucht. Anhand der Scheitel-Steiß-Länge wurden 93 totgeborene Ferkel für die serologische Untersuchung auf PPV- und PCV2-spezifische Antikörper selektiert. Dazu wurden fötale Herzblut- und

Brusthöhlenflüssigkeitsproben mittels ELISA untersucht. Neben fötalen Proben wurden auch Serumproben der zugehörigen Sauen serologisch untersucht.

In der vorliegenden Arbeit waren 50% (9/18) der Bestände, 27,5% (11/40) der Würfe und 14,6% (23/158) der Ferkel PPV-DNA-positiv. In 61,1% (11/18) der Bestände, 50% (20/40) der Würfe und 28,5% (45/158) der Ferkel wurden PCV2-spezifische Genomfragmente detektiert. Zudem wurde in 27,8% (5/18) der Bestände und 17,5% (7/40) der Würfe sowie 11,4% (18/158) der Ferkel PCV3-Genom nachgewiesen. Auf Einzeltierebene wurde in DNA-positiven Gewebepoolproben (n=76) in 11,8% (9/76) eine Koinfektion von PPV und PCV2 und in 1,3% (1/76) eine gleichzeitige Infektion von PCV2 und PCV3 detektiert. Der PCV2-Ct-Wert in fötalen Gewebepoolproben war bei Monoinfektionen signifikant niedriger als bei einer Koinfektion mit PPV. Zudem wurden die molekularbiologischen Ergebnisse nach Phänotyp ausgewertet: Sowohl PPV- als auch PCV2-spezifische Genomfragmente kamen jeweils in mumifizierten Föten signifikant häufiger vor, während der PCV3-DNA-Nachweis am häufigsten in Gewebeproben von totgeborenen Ferkeln gelang. Die PPV-Viruslast war in mumifizierten Föten signifikant höher als in den anderen phänotypischen Kategorien. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass sowohl der PPV- als auch PCV2-DNA-Nachweis mit dem Impfschema im Bestand zusammenhängen: PPV- und PCV2-spezifische Genomfragmente wurden häufiger nachgewiesen, wenn ausschließlich Jungsaunen im Bestand geimpft wurden verglichen zu Beständen, die Jung- und Altsauen gegen PPV bzw. PCV2 impften. Von allen PCV3-DNA-positiven Poolproben wurden die Einzelorgane weiterführend untersucht: PCV3-spezifische Genomfragmente wurden numerisch am häufigsten im Milzgewebe detektiert, die PCV3-Viruslast unterschied sich aber zwischen den Geweben nicht. In der serologischen Untersuchung waren drei fötale Proben PCV2-Antikörper-positiv. In keiner Probe der Ferkel wurden PPV-spezifische Antikörper detektiert. Alle Serumproben der Sauen waren PPV-Antikörper-positiv und 62,5% (25/40) der Proben waren PCV2-IgG-positiv.

In der vorliegenden Untersuchung wurde gezeigt, dass die messbare Größe „Viruslast in fötalem Gewebe“ unter Feldbedingungen in Fällen von

SMEDI bei Vorliegen einer Koinfektion von PPV und PCV2 nicht höher ist als bei einer PCV2-Monoinfektion. Eine mögliche gegenseitige Verstärkung konnte also nicht gezeigt werden. PCV3 wurde in einem SMEDI-Wurf mit hoher Viruslast in fötalem Untersuchungsmaterial nachgewiesen. Dies könnte als ein möglicher Hinweis auf eine Assoziation zwischen PCV3 und SMEDI gedeutet werden. Die serologische Untersuchung von Herzblut- und Brusthöhlenflüssigkeitsproben stellte in der vorliegenden Untersuchung keinen diagnostischen Mehrwert bei der Aufarbeitung des SMEDI-Syndroms dar und erwies sich nach den vorliegenden Ergebnissen als unzuverlässig zur Diagnose von intrauterinen Infektionen mit PPV oder PCV2.

VII. SUMMARY

„Detection of porcine parvovirus, porcine circovirus type 2 and porcine circovirus type 3 in case of stillbirth, mummification, embryonic death and infertility (SMEDI) syndrome“

The SMEDI syndrome is associated with stillbirth, mummification, embryonic death and infertility and can be caused by various pathogens. The examination was designed to evaluate the viral load in fetal tissues in cases of coinfection with PPV and PCV2 in comparison to mono-infection of the respective pathogens. In addition, the role of PCV3 in case of SMEDI should be investigated. Although PCV3 is associated with reproductive failure, it has not been described in the context of SMEDI so far. Recently the reliability and diagnostic advantage of antibody detection against PPV or PCV2 from heart blood or thoracic cavity fluid of SMEDI-associated piglets was proven in this study.

For this purpose diagnostic material (40 SMEDI-associated litters) from 18 German breeding farms was analyzed. The litters were sent to Clinic for Swine (LMU Munich) for diagnostic examination. In addition 40 blood samples were available, that were submitted for diagnostic exclusion of other SMEDI associated pathogens. A total of 358 fetuses were collected and crown-rump-length and weight of each fetus was measured. They were sorted by size within the litter and 158 piglets were selected for viral detection using stratified randomization. As a part of sampling it was checked whether the lungs of piglets float in water to distinguish between stillborn and weak born piglets. All chosen piglets were categorized into mummified, autolyzed, stillborn and weak born piglets according to their phenotypic appearance. Pooled samples consisting of fetal heart, lung, thymus and spleen were analyzed for PPV-, PCV2- and PCV3-DNA by qPCR. 93 stillborn piglets with a crown-rump-length ≥ 16 cm were further selected for PPV- and PCV2-antibody-detection. Therefore fetal heart blood and thoracic fluid were analyzed by serological testing. In addition, serum samples from associated sows were examined.

According to the results, 50% (9/18) of farms, 27.5% (11/40) of litters and

14.6% (23/158) of piglets were PPV positive. PCV2 was detected in 61.1% (11/18) of farms, 50% (20/40) of litters and 28.5% (45/158) of piglets. In addition, PCV3 was found in 27.8% (5/18) of farms, 17.5% (7/40) of litters and 11.4% (18/158) of piglets. Coinfections of PPV and PCV2 were detected in 11.8% (9/76) and simultaneous infection of PCV2 and PCV3 in 1.3% of DNA-positive samples (n=76). The viral load of PCV2 was significantly higher in case of mono-infections of PCV2 than in coinfections with PPV. In addition, molecular results were evaluated by phenotype: PPV and PCV2 were each detected most frequently in mummified fetuses whereas PCV3 was frequently detected in older piglets. The viral load of PPV was significantly higher in mummified fetuses than in other categories. Furthermore, PPV and PCV2 detection seemed to be related with vaccination status in the herd: PPV and PCV2 were detected more frequently when only gilts were vaccinated in the farm compared to farms where primiparous and multiparous sows were vaccinated. Of all PCV3 positive pool samples, the individual organs were further examined: PCV3 was most frequently detected in tissue of spleen but the viral load of PCV3 did not differ between tissues. In serological testing three piglets were positive for antibodies against PCV2 and no fetal sample was positive for PPV antibodies. In all serum samples of sows PPV specific antibodies were detected and 62.5% (25/40) of serum samples were positive for PCV2 antibodies.

According to the present results, it was shown that the viral load of PCV2 under field conditions in case of SMEDI was not higher in the presence of coinfection with PPV compared to PCV2 mono-infection. A possible mutual enhancement could not be shown. PCV3 could be detected in a SMEDI litter in high viral load in fetal samples and an association between PCV3 and SMEDI could be present in this case. Lastly the serological testing of fetal blood and thoracic cavity fluid samples did not show diagnostic advantage in the examination of SMEDI syndrome cases and it proved unreliable for the diagnosis of intrauterine infections with PPV or PCV2.

VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Korrelation des Alters von Föten mit der Scheitel-Steiß-Länge nach EVANS & SACK (1973).</i>	7
<i>Tabelle 2: PPV1-Isolate unterschiedlicher Virulenz: Vergleich zwischen PPV-NADL-2 und PPV-Kresse nach TRUYEN & STRECK (2019).</i>	8
<i>Tabelle 3: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PPV-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Lu=Lunge, Hm=Herzmuskel, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, To=Tonsillen, Int=Darm, Go=Gonaden).</i> ...	12
<i>Tabelle 4: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PCV2-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, Int=Darm, ZNS=Gehirn).</i>	17
<i>Tabelle 5: Ergebnisinterpretation nach INgezim® Circovirus IgG/IgM Gebrauchsanweisung (Ingenasa, Madrid, Spain).</i>	17
<i>Tabelle 6: Übersicht über Ergebnisse der Untersuchung von SHEN et al. (2010); Aufzeigen möglicher Infektionsstatus der geborenen Ferkel („+“ = Nachweis; „-“ = kein Nachweis) aufgeteilt nach Gruppen eins bis vier.</i> .	18
<i>Tabelle 7: Beispiele für Gewebeproben totgeborener oder mumifizierter Ferkel zum Nachweis von PCV3-spezifischen Genomfragmenten mittels PCR (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Ni=Niere, Mi=Milz, Le=Leber, Ln=Lymphknoten, Int=Darm, ZNS=Gehirn).</i>	22
<i>Tabelle 8: Übersicht über beschriebene Koinfektionen mit PPV, PCV2 und PCV3 in fötalem Gewebe.</i>	23
<i>Tabelle 9: Anzahl (n) untersuchter Ferkel, Würfe und Bestände pro Bundesland.</i>	26
<i>Tabelle 10: Konzept zur Auswahl der Ferkel - Angabe des ersten eingeschlossenen Ferkels.</i>	29
<i>Tabelle 11: Konzept zur Auswahl der Ferkel – Angaben der Abstände zwischen den Ferkeln: „Beprobung jedes x-te Ferkel“.</i>	30
<i>Tabelle 12: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PPV- und PCV2-spezifischen Genomfragmenten.</i>	32
<i>Tabelle 13: Temperaturprotokoll der qPCR zum Nachweis von PCV3-</i>	

spezifischen Genomfragmenten.....	33
Tabelle 14: Einteilung der Bestände (n=18) nach Größe und nach Durchführung von PPV- und PCV2- Impfungen bei Jung- und Altsauen; Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.....	37
Tabelle 15: Gruppierung der Zuchtsauen nach Parität und Zuordnung der beprobten Ferkel (n=158) zur Paritätsgruppe der Muttersauen; Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.	39
Tabelle 16: Unterteilung der untersuchten Ferkel (n=158) nach Phänotyp und geschätztem Alter der Ferkel unter Angabe der absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeit.	40
Tabelle 17: Vorkommen PPV-, PCV2- und PCV3- spezifischer Genomfragmente auf Bestands- (n=18), Wurf- (n=40) und Einzeltierebene (n=158) in fötalen Gewebeproben.....	42
Tabelle 18: Vorkommen PPV-, PCV2- und PCV3-spezifischer Genomfragmente in fötalen Poolproben je nach Phänotyp des Ferkels; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05).....	43
Tabelle 19: PPV- und PCV2-DNA-Nachweis in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand.....	44
Tabelle 20: Vorkommen von (Ko-)Infektionen auf Bestands-, Wurf- und Einzeltierebene in DNA-positiven Beständen, Würfen und Gewebepoolproben; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05).	45
Tabelle 21: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeit PCV3-DNA-positiver Einzelgewebeproben je nach Material.....	46
Tabelle 22: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung auf PCV3-Genom von Einzelgewebeproben (Herzmuskel-, Lungen-, Thymus- und Milzgewebeproben) PCV3-DNA-positiver Poolproben.	46
Tabelle 23: Ergebnisse des Chi ² -Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PPV-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).	48
Tabelle 24: Relative (%) und absolute (n) Häufigkeiten von PPV-DNA-positiven Ferkeln in Abhängigkeit von der Etablierung einer Stroheinstreu im Bestand, der PPV-Impfung bei Altsauen und der Parität der Sau.....	48

<i>Tabelle 25: Ergebnisse des Chi²-Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PCV2-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).....</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 26: Ergebnisse des Chi²-Tests und der binärlogistischen Regression von dichotomen Variablen für den PCV3-DNA-Nachweis in Ferkeln (nur signifikante Ergebnisse dargestellt).....</i>	<i>50</i>
<i>Tabelle 27: Ct-Werte im Median (Md) inklusive Standardabweichung (StabW) je nach Phänotyp des Ferkels; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05).</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 28: Ct-Werte im Median (Md) inklusive Standardabweichung (StabW) in Abhängigkeit vom Impfschema im Bestand; unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05).</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 29: Vorkommen von (Ko-)Infektionen (%) und Angabe des medianen Ct-Wertes (Md) inklusive Minimum (Min), Maximum (Max) und Standardabweichung (StabW); unterschiedliche Buchstaben (a und b) kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05).</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 30: PCV3-Ct-Werte der Einzelorgane (Hm=Herzmuskel, Lu=Lunge, Th=Thymus, Mi=Milz) inklusive Median (Md), Minimum (Min), Maximum (Max) und Standardabweichung (StabW).....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 31: Signifikante Ergebnisse der Untersuchung mittels bivariater Korrelationsberechnung (Spearmans rho, r_s).</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 32: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten zum Vorkommen von PPV- und PCV2- Antikörper-positiven Ferkeln auf Bestands- (n=18), Wurf- (n=40) und Einzeltierebene (n=93).</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 33: PCV2-Antikörper-positive Ferkel und deren Wurfgeschwister mit Darstellung der OD- und PCV2-Ct-Werte der Ferkel.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 34: Mediane (Md) PPV-Antikörpertiter in Abhängigkeit von der Parität der Sau und dem PPV-DNA-Nachweis in deren Würfen; Darstellung der Ergebnisse des Gruppenvergleichs.</i>	<i>60</i>

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Übersicht über die Folgen einer intrauterinen Infektion der Ferkel in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt und Entwicklungsstadium der Ferkel, nach PLONAIT (2004).</i>	4
<i>Abbildung 2: Fotodokumentation der SMEDI-Würfe, Bild: Klinik für Schweine, LMU München.</i>	28
<i>Abbildung 3: Beispielfotos zur Darstellung der Kategorisierung der Föten nach deren phänotypischem Erscheinungsbild; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.</i>	28
<i>Abbildung 4: Beispiel - Auswahl der Ferkel für die molekularbiologische Untersuchung.</i>	30
<i>Abbildung 5: Darstellung der Wurfgröße - Ordnung der Würfe nach aufsteigender Anzahl SMEDI-assoziiertes Ferkel (= mumifizierte (M), autolytische (A), totgeborene (T) und lebensschwache (L) Föten); Ergänzung durch lebendgeborene (G) Ferkel pro Wurf.</i>	38
<i>Abbildung 6: Darstellung der Scheitel-Steiß-Länge (mm) und des Gewichts (g) der untersuchten Ferkel (n=158) in Abhängigkeit vom phänotypischen Erscheinungsbild der Tiere.</i>	41
<i>Abbildung 7: Box-Plots der PPV-, PCV2- und PCV3-Ct-Werte; Auswertung von Gewebepoolproben mit DNA-Nachweis des jeweiligen Pathogens.</i> ..	51
<i>Abbildung 8: Box-Plots der PCV2-Ct-Werte von PCV2-DNA-positiven Poolproben; Auswertung der PCV2-Ct-Werte bei PCV2-Monoinfektionen und Koinfektionen mit PPV zum Vergleich der PCV2-Viruslasten.</i>	55
<i>Abbildung 9: PPV-Antikörpertiter im Serum der Sauen (n=40); Darstellung in Abhängigkeit von der Parität der Sau und dem PPV-DNA-Nachweis aus deren Würfen.</i>	60
<i>Abbildung 10: Darstellung der optischen Dichte der Untersuchung auf PCV2-IgG-Antikörper mittels ELISA; Vergleich von Sauen mit PCV2-DNA-positiven- und negativen Würfen.</i>	62
<i>Abbildung 11: SMEDI-assoziiertes Wurf (2.1) mit PCV3-DNA-Nachweis; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.</i>	72
<i>Abbildung 12: PPV-DNA-positiver Wurf; Bild: Klinik für Schweine, LMU München.</i>	80

X. LITERATURVERZEICHNIS

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

Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000; 12: 3-14.

Almeida F, Dias A. Pregnancy in pigs: the journey of an early life. *Domestic Animal Endocrinology* 2022; 78: 106656.

Althouse GC, Kauffold J, Rossow S. Diseases of the Reproductive System. In: *Diseases of Swine*, eleventh edn. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, eds.: John Wiley & Sons 2019: 373-392.

Arruda B, Piñeyro P, Derscheid R, Hause BM, Byers E, Dion K, Long D, Sievers C, Tangen J, Williams T. PCV3-associated disease in the United States swine herd. *Emerging Microbes & Infections* 2019; 8: 684-698.

Bachmann PA, Sheffy BE, Vauhan JT. Experimental in utero infection of fetal pigs with a porcine parvovirus. *Infection and Immunity* 1975; 12: 455-460.

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

Baxter EM, Jarvis S, D'Eath RB, Ross DW, Robson SK, Farish M, Nevison IM, Lawrence AB, Edwards SA. Investigating the behavioural and physiological indicators of neonatal survival in pigs. *Theriogenology* 2008; 69: 773-783.

Bolt DM, Häni H, Müller E, Waldvogel AS. Non-suppurative myocarditis in

piglets associated with porcine parvovirus infection. *Journal of Comparative Pathology* 1997; 117: 107-118.

Brown TTJ, Paul PS, Mengeling WL. Response of conventionally raised weanling pigs to experimental infection with a virulent strain of porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research* 1980; 41: 1221-1224.

Brunborg I, Jonassen C, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schönheit J. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007; 19: 368-375.

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

Camenisch U, Lu Z, Vaughan L, Pospischil A, Sydler T, Corboz L, Wittenbrink MM, Zimmermann DR. Diagnostic investigation into the role of Chlamydiae in cases of increased rates of return to oestrus in pigs. *Veterinary Record* 2004; 155: 593-596.

Chen HY, Li XK, Cui BA, Wei ZY, Li XS, Wang YB, Zhao L, Wang ZY. A TaqMan-based real-time polymerase chain reaction for the detection of porcine parvovirus. *Journal of Virological Methods* 2009; 156: 84-88.

Christianson WT. Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1992; 8: 623-639.

Dal Santo AC, Cezario KC, Bennemann PE, Machado SA, Martins M. Full-genome sequences of porcine circovirus 3 (PCV3) and high prevalence in mummified fetuses from commercial farms in Brazil. *Microbial*

Pathogenesis 2020; 141: 104027.

De Vos M, Che L, Huygelen V, Willemen S, Michiels J, Van Cruchten S, Van Ginneken C. Nutritional interventions to prevent and rear low-birthweight piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2014; 98: 609-619.

Deng J, Li X, Zheng D, Wang Y, Chen L, Song H, Wang T, Huang Y, Pang W, Tian K. Establishment and application of an indirect ELISA for porcine circovirus 3. *Archives of Virology* 2018; 163: 479-482.

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

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

Dunne HW, Gobble JL, Hokanson JF, Kradel DC, Bubash GR. Porcine reproductive failure associated with a newly identified "SMEDI" group of picorna viruses. *American Journal of Veterinary Research* 1965; 26: 1284-1297.

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

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

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

Eddicks M, Maurer R, Deffner P, Eddicks L, Sipos W, Reese S, Cvjetković V, Krejci R, Opriessnig T, Ritzmann M. 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* 2022; 11: 671.

Evans HE, Sack WO. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe C: Anatomie, Histologie, Embryologie* 1973; 2: 11-45.

Faccini S, Barbieri I, Gilioli A, Sala G, Gibelli L, Moreno A, Sacchi C, Rosignoli C, Franzini G, Nigrelli A. Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy. *Transboundary and Emerging Diseases* 2017; 64: 1661-1664.

Foerster T, Streck AF, Speck S, Selbitz HJ, Lindner T, Truyen U. An inactivated whole-virus porcine parvovirus vaccine protects pigs against disease but does not prevent virus shedding even after homologous virus challenge. *Journal of General Virology* 2016; 97: 1408-1413.

Franzo G, Legnardi M, Hjulsgager C, Klaumann F, Larsen L, Segales J, Drigo M. Full-genome sequencing of porcine circovirus 3 field strains from Denmark, Italy and Spain demonstrates a high within-Europe genetic heterogeneity. *Transboundary and Emerging Diseases* 2018; 65: 602-606.

Fux R, Söckler C, Link EK, Renken C, Krejci R, Sutter G, Ritzmann M, Eddicks M. Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains. *Virology Journal* 2018; 15: 25.

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

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

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

Herdt G, Maciel AE, Martins M, Tonin AA, Vanazzi DL, Martins D, Baldasso ND, Girardini LK, Machado SA, Bennemann PE. High prevalence of porcine circovirus 2, porcine parvovirus, and pathogenic leptospire in mummified swine fetuses in Southern Brazil. *Ciência Rural* 2019; 49: e20180965.

Hogg G, Lenghaus C, Forman A. Experimental porcine parvovirus infection of foetal pigs resulting in abortion, histological lesions and antibody formation. *Journal of Comparative Pathology* 1977; 87: 539-549.

Johnson RH, Donaldson-Wood CR, Joo HS, Allender U. Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal* 1976; 52: 80-84.

Joo HS, Donaldson-Wood CR, Johnson RH. Observations on the pathogenesis of porcine parvovirus infection. *Archives of Virology* 1976; 51: 123-129.

Joo HS, Donaldson-Wood CR, Johnson RH, Campbell RSF. Pathogenesis of porcine parvovirus infection: pathology and immunofluorescence in the

foetus. *Journal of Comparative Pathology* 1977; 87: 383-391.

Jóźwik A, Manteufel J, Selbitz HJ, Truyen U. Vaccination against porcine parvovirus protects against disease, but does not prevent infection and virus shedding after challenge infection with a heterologous virus strain. *Journal of General Virology* 2009; 90: 2437-2441.

Karniychuk U, Van Breedam W, Van Roy N, Rogel-Gaillard C, Nauwynck HJ. Demonstration of microchimerism in pregnant sows and effects of congenital PRRSV infection. *Veterinary Research* 2012; 43: 19.

Kaur A, Mahajan V, Leishangthem GD, Singh ND, Bhat P, Banga HS, Folia G. Epidemiological and immunopathological studies on Porcine parvovirus infection in Punjab. *Veterinary World* 2016; 9: 827-831.

Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, Sirisereewan C, Sangpratum N, Kedsangsakonwut S, Tummaruk P, Teankum K, Assavacheep P, Jittimane S. Porcine circovirus type 3 (PCV3) shedding in sow colostrum. *Veterinary Microbiology* 2018; 220: 12-17.

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

Kim SH, Park JY, Jung JY, Kim HY, Park YR, Lee KK, Lyoo YS, Yeo SG, Park CK. Detection and genetic characterization of porcine circovirus 3 from aborted fetuses and pigs with respiratory disease in Korea. *Journal of Veterinary Science* 2018; 19: 721-724.

Kirkwood RN, Althouse GC, Yaeger MJ, Carr J, Almond GW. Diseases of the Reproductive System. In: *Diseases of Swine*, tenth edn. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, eds.: John Wiley & Sons 2012: 329-347.

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

Kreienbrock L, Pigeot I, Ahrens W. Planung epidemiologischer Studien. In: *Epidemiologische Methoden*, fünfte edn. Lorenz RJ, Vollmar J, eds.: Springer 2012: 121-201.

Lefebvre RC. Fetal mummification in the major domestic species: current perspectives on causes and management. *Veterinary Medicine: Research and Reports* 2015; 6: 233-244.

Lenghaus C, Forman A, Hale C. Experimental infection of 35, 50 and 60 day old pig foetuses with porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal* 1978; 54: 418-422.

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

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

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Effect of natural or vaccine-induced porcine circovirus type 2 (PCV2) immunity on fetal infection after artificial insemination with PCV2 spiked semen. *Theriogenology* 2009c; 72: 747-754.

Madson DM, Opriessnig T. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and

vaccination. *Animal Health Research Reviews* 2011; 12: 47-65.

Mai J, Wang D, Zou Y, Zhang S, Meng C, Wang A, Wang N. High Co-infection Status of Novel Porcine Parvovirus 7 with Porcine Circovirus 3 in Sows That Experienced Reproductive Failure. *Frontiers in Veterinary Science* 2021; 8: 695553.

Mateusen B, Sanchez RE, Van Soom A, Meerts P, Maes DGD, Nauwynck HJ. Susceptibility of pig embryos to porcine circovirus type 2 infection. *Theriogenology* 2004; 61: 91-101.

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

Mengeling WL, Cutlip RC. Pathogenesis of in utero infection: experimental infection of five-week-old porcine fetuses with porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research* 1975; 36: 1173-1177.

Mengeling WL, Cutlip RC. Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. *American Journal of Veterinary Research* 1976; 37: 1393-1400.

Mengeling WL, Brown TT, Paul PS, Gutekunst DE. Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. *American Journal of Veterinary Research* 1979; 40: 204-207.

Mengeling WL, Paul PS. Reproductive performance of gilts exposed to porcine parvovirus at 56 or 70 days of gestation. *American Journal of Veterinary Research* 1981; 42: 2074-2076.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 2000; 60: 199-210.

Meszaros I, Olasz F, Csagola A, Tijssen P, Zadori Z. Biology of Porcine Parvovirus (Ungulate parvovirus 1). *Viruses* 2017; 9: 393.

Miao L, Zhang C, Chen C, Cui S. Real-time PCR to detect and analyze virulent PPV loads in artificially challenged sows and their fetuses. *Veterinary Microbiology* 2009; 138: 145-149.

Miłek D, Woźniak A, Podgórska K, Stadejek T. Do porcine parvoviruses 1 through 7 (PPV1-PPV7) have an impact on porcine circovirus type 2 (PCV2) viremia in pigs? *Veterinary Microbiology* 2020; 242: 108613.

Mora-Díaz J, Piñeyro P, Shen H, Schwartz K, Vannucci F, Li G, Arruda B, Giménez-Lirola L. Isolation of PCV3 from perinatal and reproductive cases of PCV3-associated disease and in vivo characterization of PCV3 replication in CD/CD growing pigs. *Viruses* 2020; 12: 219.

Nam NH, Sukon P. Risk factors associated with dystocia in swine. *Veterinary World* 2021; 14: 1835.

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

Nielsen J, Rønsholt L, Sørensen KJ. Experimental in utero infection of pig foetuses with porcine parvovirus (PPV). *Veterinary Microbiology* 1991; 28: 1-11.

O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby

C, Allan G, Ellis JA. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *The Canadian Veterinary Journal* 2001; 42: 551-553.

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

Opriessnig T, Fenaux M, Yu S, Evans RB, Cavanaugh D, Gallup JM, Pallares FJ, Thacker EL, Lager KM, Meng XJ. Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfecting with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus. *Veterinary Microbiology* 2004; 98: 209-220.

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

Opriessnig T, Patterson AR, Elsener J, Meng XJ, Halbur PG. Influence of maternal antibodies on efficacy of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination to protect pigs from experimental infection with PCV2. *Clinical and Vaccine Immunology* 2008; 15: 397-401.

Opriessnig T, Gerber PF, Matzinger SR, Meng XJ, Halbur PG. Markedly different immune responses and virus kinetics in littermates infected with porcine circovirus type 2 or porcine parvovirus type 1. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2017; 191: 51-59.

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

2017; 3: 25.

Ouyang T, Niu G, Liu X, Zhang X, Zhang Y, Ren L. Recent progress on porcine circovirus type 3. *Infection, Genetics and Evolution* 2019; 73: 227-233.

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

Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim J-K, Kim SH, Chae C. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *Journal of Comparative Pathology* 2005; 132: 139-144.

Paul PS, Mengeling WL, Brown TT. Replication of porcine parvovirus in peripheral blood lymphocytes, monocytes, and peritoneal macrophages. *Infection and Immunity* 1979; 25: 1003-1007.

Paul PS, Mengeling WL. Evaluation of a modified live-virus vaccine for the prevention of porcine parvovirus-induced reproductive disease in swine. *American Journal of Veterinary Research* 1980; 41: 2007-2011.

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

Pescador CA, Bandarra PM, Castro LA, Antoniassi NAB, Ravazzolo AP, Sonne L, Cruz CEF, Driemeier D. Co-infection by porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2007; 27: 425-429.

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

Pleguezuelos P, Sibila M, Cuadrado R, López-Jiménez R, Pérez D, Huerta E, Llorens AM, Núñez JI, Segalés J, López-Soria S. Exploratory field study on the effects of porcine circovirus 2 (PCV-2) sow vaccination at different physiological stages mimicking blanket vaccination. *Porcine Health Management* 2021; 7: 35.

Plonait H. Fortpflanzungsphysiologie und Gynäkologie der Sau In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, vierte edn. Waldmann KH, Wendt M, eds.: Parey Verlag 2004: 399-470.

Reif J, Renzhammer R, Brunthaler R, Weissenbacher-Lang C, Auer A, Kreutzmann H, Fux R, Ladinig A, Unterweger C. Reproductive failure in an Austrian piglet-producing farm due to porcine circovirus genotype 2d. *Acta Veterinaria Hungarica* 2022; 70.2: 149-155.

Ritzmann M, Wilhelm S, Zimmermann P, Etschmann B, Bogner KH, Selbitz HJ, Heinritzi K, Truyen U. Prävalenz sowie Assoziation von porzinem Circovirus Typ 2 (PCV2), porzinem Parvovirus (PPV) und porzinem reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in abortierten Feten, mumifizierten Feten, totgeborenen und lebensschwach geborenen Ferkeln *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 2005; 112: 348-351.

Rohlmann C, Verhaagh M, Efken J. Steckbriefe zur Tierhaltung in Deutschland: Ferkelerzeugung und Schweinemast. Braunschweig: Thünen-Institut für Betriebswirtschaft 2021: 7-14.

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

2017; 162: 1447-1463.

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

Ruiz A, Saporiti V, Huerta E, Balasch M, Segalés J, Sibila M. Exploratory Study of the Frequency of Detection and Tissue Distribution of Porcine Circovirus 3 (PCV-3) in Pig Fetuses at Different Gestational Ages. *Pathogens* 2022; 11: 118.

Saha D, Sacristán RDP, Van Renne N, Huang L, Decaluwe R, Michiels A, Rodriguez AL, Rodríguez MJ, Durán MG, Declerk I. 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* 2014; 29: 136-138.

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

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

Saporiti V, Martorell S, Cruz TF, Klaumann F, Correa-Fiz F, Balasch M, Sibila M, Segalés J. Frequency of detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus 3 (PCV-3) in healthy primiparous and multiparous sows and their mummified fetuses and stillborn. *Pathogens* 2020; 9: 533.

Saporiti V, Valls L, Maldonado J, Perez M, Correa-Fiz F, Segalés J, Sibila M. Porcine circovirus 3 detection in aborted fetuses and stillborn piglets from swine reproductive failure cases. *Viruses* 2021a; 13: 264.

Saporiti V, Franzo G, Sibila M, Segalés J. Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. *Transboundary and Emerging Diseases* 2021b; 68: 2936-2948.

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

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

Segalés J, Allan GM, Domingo M. Circoviruses In: *Diseases of Swine* eleventh edn. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, eds.: John Wileys & Sons 2019: 473-487.

Segalés J, Sibila M. Revisiting Porcine Circovirus Disease Diagnostic Criteria in the Current Porcine Circovirus 2 Epidemiological Context. *Veterinary Sciences* 2022; 9: 110.

Serena MS, Cappuccio JA, Metz GE, Aspitia CG, Dibárbora M, Calderón MG, Echeverría MG. Detection and molecular characterization of porcine parvovirus in fetal tissues from sows without reproductive failure in Argentina. *Heliyon* 2019; 5: e02874.

Serena MS, Cappuccio JA, Barrales H, Metz GE, Aspitia CG, Lozada I, Perfumo CJ, Quiroga MA, Piñeyro P, Echeverría MG. First detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 (PCV3) in Argentina and its association with reproductive failure. *Transboundary and Emerging Diseases* 2021a; 68: 1761-1766.

Serena MS, Dibarbora M, Olivera V, Metz GE, Aspitia CG, Pereda A, Echeverría MG, Cappuccio J. Evidence of porcine circovirus type 2 and co-infection with ungulate protoparvovirus 1 (porcine parvovirus) in mummies and stillborn piglets in subclinically infected farm. *Infection*,

Genetics and Evolution 2021b; 89: 104735.

Sharma R, Saikumar G. Porcine parvovirus-and porcine circovirus 2-associated reproductive failure and neonatal mortality in crossbred Indian pigs. *Tropical Animal Health and Production* 2010; 42: 515-522.

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

Streck AF, Homeier T, Foerster T, Fischer S, Truyen U. Analysis of porcine parvoviruses in tonsils and hearts from healthy pigs reveals high prevalence and genetic diversity in Germany. *Archives of Virology* 2013; 158: 1173-1180.

Streck AF, Canal CW, Truyen U. Molecular epidemiology and evolution of porcine parvoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 2015; 36: 300-306.

Streck AF, Truyen U. Porcine Parvovirus. *Current Issues in Molecular Biology* 2020; 37: 33-46.

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

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

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

Truyen U, Streck AF. Parvoviruses In: Diseases of Swine, eleventh edn. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, eds.: John Wileys & Sons 2019: 611-621.

Turlewicz-Podbielska H, Augustyniak A, Pomorska-Mól M. Novel porcine circoviruses in view of lessons learned from porcine circovirus type 2-epidemiology and threat to pigs and other species. *Viruses* 2022; 14: 261.

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

Vargas-Bermúdez DS, Vargas-Pinto MA, Mogollón JD, Jaime J. Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3). *BioMed Central Veterinary Research* 2021; 17: 150.

Vereecke N, Kvisgaard LK, Baele G, Boone C, Kunze M, Larsen LE, Theuns S, Nauwynck H. Molecular Epidemiology of Porcine Parvovirus Type 1 (PPV1) and the Reactivity of Vaccine-Induced Antisera Against Historical and Current PPV1 Strains. *Virus Evolution* 2022; 8: 1-12.

Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA, McNair I, McNeilly F, Meehan BM, Cottrell TS, Ellis JA, Allan GM. Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000; 12: 400-405.

West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1999; 11: 530-532.

Westenbrink F, Veldhuis MA, Brinkhof JMA. An enzyme-linked

immunosorbent assay for detection of antibodies to porcine parvovirus. *Journal of Virological Methods* 1989; 23: 169-178.

Wilhelm S, Zeeuw E JL, Selbitz HJ, Truyen U. Tissue Distribution of Two Field Isolates and Two Vaccine Strains of Porcine Parvovirus in Foetal Organs after Experimental Infection of Pregnant Sows as Determined by Real-time PCR. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 2005; 52: 323-326.

Wolf VH, Menossi M, Mourao GB, Gatti MS. Molecular basis for porcine parvovirus detection in dead fetuses. *Genetics and Molecular Research* 2008; 7: 509-517.

Woźniak A, Miłek D, Stajej T. Wide range of the prevalence and viral loads of porcine circovirus type 3 (PCV3) in different clinical materials from 21 Polish pig farms. *Pathogens* 2020; 9: 411.

Zeeuw E JL, Leinecker N, Herwig V, Selbitz HJ, Truyen U. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *Journal of General Virology* 2007; 88: 420-427.

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

Zhang J, Fan J, Li Y, Liang S, Huo S, Wang X, Zuo Y, Cui D, Li W, Zhong Z, Zhong F. Porcine Parvovirus Infection Causes Pig Placenta Tissue Damage Involving Nonstructural Protein 1 (NS1)-Induced Intrinsic ROS/Mitochondria-Mediated Apoptosis. *Viruses* 2019a; 11: 389.

Zhang S, Wang D, Jiang Y, Li Z, Zou Y, Li M, Yu H, Huang K, Yang Y, Wang N. Development and application of a baculovirus-expressed capsid

protein-based indirect ELISA for detection of porcine circovirus 3 IgG antibodies. *BioMed Central Veterinary Research* 2019b; 15: 79.

Zhou W, Ullman K, Chowdry V, Reining M, Benyeda Z, Baule C, Juremalm M, Wallgren P, Schwarz L, Zhou E. Molecular investigations on the prevalence and viral load of enteric viruses in pigs from five European countries. *Veterinary Microbiology* 2016; 182: 75-81.

Zimmermann P, Ritzmann M, Selbitz HJ, Heinritzi K, Truyen U. VP1 sequences of German porcine parvovirus isolates define two genetic lineages. *Journal of General Virology* 2006; 87: 295-301.

XI. ANHANG

Anhang 1: Fragebogen, Datenerhebung auf freiwilliger Basis.

Fragebogen

1. Allgemeine Informationen:

Betrieb (Name, Anschrift): _____

Betreuende Tierarztpraxis (Name, Anschrift): _____

2. Angaben zum Betrieb:

Anzahl der Sauen: _____

Betriebsform: offen/geschlossen

	Sauen ja	Sauen nein	Ferkel ja	Ferkel nein
Auslauf				
Stroheinstreu				

Impfungen der Sauen:

Erreger	Impfung (ja/nein)	Impfzeitpunkt
PCV2		
PPV		
Leptospiren		
PRRSV		
Rotlauf		
Influenza		
Sonstige?		

Impfungen der Ferkel + Impfzeitpunkt

Jungsauen-Eingliederung: Impfungen der Jungsauen + Impfzeitpunkt:

Vorherige Behandlungen der SMEDI-Problematik? Wann? Was?

Jungsauen-Quarantäne: ja/nein

Schadnagerbekämpfung? ja/nein

3. Angaben zum Probenmaterial:

Sauennummer/Ohrmarkennummer?	
Parität der Sau:	
Geburtsdatum/Abortdatum:	
Datum Probengewinnung:	
Anzahl lebend geborener Ferkel:	
Anzahl tot geborener Ferkel:	
Anzahl mumifizierter Ferkel:	

4. Kennzahlen der Zucht:

Remontierungsrate/Jahr (%):	
Umrauschquote (%):	
Abortrate (%):	
Durchgänge pro Sau/Jahr:	

Anhang 2: Übersicht über nominale Variablen.

Nominale Variable	Beschreibung
Mumie ja/nein	Mumifikation des Fötus
Autolytisch ja/nein	Autolytisch veränderter Fötus
Lungenschwimmprobe ja/nein	Lebensschwach geborenes Ferkel
PPV Pool pos./neg.	PPV-DNA-Nachweis aus fötaler Poolprobe
PCV2 Pool pos./neg.	PCV2-DNA-Nachweis aus fötaler Poolprobe
PCV3 Pool pos./neg.	PCV3-DNA-Nachweis aus fötaler Poolprobe
Parität der Sau JS/AS	Jungsau: primipar; Altsau: multipar
PCV3 Hm/Lu/Mi/Th pos./neg.	PCV3-DNA-Nachweis aus Einzelorgan (Herzmuskel, Lunge, Milz, Thymus)
PPV AK Se Sau	PPV-Antikörperrnachweis aus Serumblutprobe der Sau
PCV2 IgG/IgM Hb Ferkel pos./neg.	PCV2-IgG/IgM-Nachweis aus fötaler Herzblutprobe
PCV2 IgG/IgM Brf Ferkel pos./neg.	PCV2-IgG/IgM-Nachweis aus fötaler Brusthöhlenflüssigkeitsprobe
Stroheinstreu ja/nein	Stroheinstreu bei den Sauen
Betriebsgröße (300)	Betriebsgröße über/unter Durchschnitt von 300 Sauen

Anhang 3: Übersicht über ordinale Variablen.

Ordinale Variable	Beschreibung
Geschlecht	Männlich/weiblich/Free-Martin
(Ko-)Infektion Ferkel	0) Kein Erreger
(Ko-)Infektion Wurf	1) PPV+PCV2
	2) PCV2+PCV3
	3) PCV3+PPV
(Ko-)Infektion Bestand	4) PPV
	5) PCV2
	6) PCV3

Anhang 4: Übersicht über metrische Variablen mit Ergebnis der Testung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test).

Metrische Variable	p-Wert
Wurfgröße (Ferkel gesamt)	0,165
Anzahl Mumien/Wurf	0,200
Anteil Mumien/Wurf	<0,001
Anzahl Totgeborene/Wurf	<0,001
Anteil Totgeborene/Wurf	<0,001
Anzahl Lebensschwache/Wurf	<0,001
Anteil Lebensschwache/Wurf	<0,001
Anzahl Lebendgeborene/Wurf	0,200
Anteil Lebendgeborene/Wurf	0,025
Scheitel-Steiß-Länge (mm)	0,200
Gewicht (g)	0,118
Parität der Sau	0,013
Trächtigkeitsdauer errechnet	<0,001
PPV-Ct-Wert Pool	<0,001
PCV2-Ct-Wert Pool	0,002
PCV3-Ct-Wert Pool	0,001
PCV3-Ct-Wert Herzmuskel	0,000
PCV3-Ct-Wert Lunge	0,009
PCV3-Ct-Wert Thymus	<0,001
PCV3-Ct-Wert Milz	0,200
PPV Titer Serum Sau	<0,001
Ferkel Optische Dichte (OD) PCV2-IgG-Antikörper Herzblut	<0,001
Ferkel Optische Dichte (OD) PCV2-IgG-Antikörper Brusthöhlenflüssigkeit	<0,001
Ferkel Optische Dichte (OD) PCV2-IgM-Antikörper Herzblut	<0,001
Ferkel Optische Dichte (OD) PCV2-IgM-Antikörper Brusthöhlenflüssigkeit	<0,001
Sau Optische Dichte (OD) PCV2-IgG-Antikörper Serum	0,016

Anhang 5: Übersicht über Chi²-Test (siehe Abschnitt IV.2.1.2).

Kreuztabelle, Chi²-Test			
Erreger	Vergleich Nachweishäufigkeiten		p-Wert
PPV	Mumifiziert	Autolytisch	0,016
		Totgeboren	0,016
		Lebensschwach	0,156
PCV2	Mumifiziert	Autolytisch	0,002
		Totgeboren	<0,001
		Lebensschwach	0,409
PCV3	Totgeboren	Mumifiziert	0,005
		Autolytisch	0,333
		Lebensschwach	0,333

Anhang 6: Übersicht über Chi²-Test (siehe Abschnitt IV.2.1.3).

Kreuztabelle, Chi²-Test			
Impfung	Vergleich Nachweishäufigkeiten		p-Wert
PPV	nur JS	JS&AS	0,506
PCV2	JS	JS&AS	-
	JS	keine Impfung	0,064

Anhang 7: Übersicht über die Ergebnisse des Chi²-Tests; Analyse von Assoziationen zwischen dem DNA- und Antikörper-Nachweis mit verschiedenen nominalen Variablen (siehe Abschnitt IV.2.3).

Abhängige Variable (nominal)	Unabhängige Variable (nominal)	Chi ² -Test p-Wert	Zugeordnete Ferkel % (n)
PPV Pool 1/0 (n=23)	Mumie	0,049	47,8% (11)
	Autolytisch	0,978	21,7% (5)
	Lungenschwimmprobe	0,125	8,7% (2)
	PCV2 Pool	0,221	39,1% (9)
	PCV3 Pool	0,063	0% (0)
	PPV Impfung AS	0,059	87% (20)
	PCV2 Impfung AS	0,048	0% (0)
	PCV2 Impfung JS	0,155	78,3% (18)
	Stroheinstreu	0,001	13% (3)
	Parität JS/AS	0,001	65,2% (15)
PPV Pool 1/0 (n=10)	PCV2 AK Hb IgG	0,231	10% (1)
	PCV2 AK Brf IgG	0,606	0% (0)
	PCV2 AK Hb IgM	0,606	0% (0)
	PCV2 AK Brf IgM	0,005	0% (0)
	PCV2 AK Sau IgG	0,331	0% (0)
PCV2 Pool 1/0 (n=45)	Mumie	0,097	40% (18)
	Autolytisch	0,572	24,4% (11)
	Lungenschwimmprobe	0,14	2,2% (1)
	PPV Pool	0,221	20% (9)
	PCV3 Pool	0,022	2,2% (1)
	PPV Impfung AS	0,304	97,8% (44)
	PCV2 Impfung AS	0,003	100% (45)
	PCV2 Impfung JS	0,175	73,3% (33)
	Stroheinstreu	0,201	0% (0)
Parität JS/AS	0,489	15,6% (7)	
PCV2 Pool 1/0 (n=23)	PCV2 AK Hb IgG	0,564	0% (0)
	PCV2 AK Brf IgG	0,079	4,3% (1)
	PCV2 AK Hb IgM	0,402	0% (0)
	PCV2 AK Brf IgM	0,564	0% (0)
	PCV2 AK Sau IgG	0,581	0% (0)
PCV3 Pool 1/0 (n=18)	Mumie	0,424	22,2% (4)
	Autolytisch	0,08	5,6% (1)
	Lungenschwimmprobe	0,803	5,6% (1)
	PPV Pool	0,063	0% (0)
	PCV2 Pool	0,022	5,6% (1)
	PPV Impfung AS	0,298	0% (0)
	PCV2 Impfung AS	0,195	22,2% (4)
	PCV2 Impfung JS	0,151	50% (9)
	Stroheinstreu	0,468	0% (0)
Parität JS/AS	0,04	27,8% (5)	
	PCV2 AK Hb IgG	0,699	0% (0)

PCV3 Pool 1/0 (n=12)	PCV2 AK Brf IgG	0,699	0% (0)
	PCV2 AK Hb IgM	0,582	0% (0)
	PCV2 AK Brf IgM	0,699	0% (0)
	PCV2 AK Sau IgG	0,421	0% (0)
PCV2 AK Sau IgG (n=100)	Mumie	0,018	37% (37)
	Autolytisch	0,542	20% (20)
	PPV Pool	0,794	14% (14)
	PCV2 Pool	0,017	35% (35)
	PCV3 Pool	0,404	13% (13)
	PCV2 AK Hb IgG	0,372	2% (1)
	PCV2 AK Brf IgG	0,258	0% (0)
	PCV2 AK Hb IgM	0,107	0% (0)
	PCV2 AK Brf IgM	0,372	2% (1)
	PPV Impfung AS	< 0,001	100% (100)
	PCV2 Impfung AS	< 0,001	20% (20)
	PCV2 Impfung JS	0,018	72% (72)
	Stroheinstreu	0,008	100% (100)
	Parität JS/AS	< 0,001	80% (80)
PCV2-AK Ferkel IgG/IgM (n=3)	Autolytisch	0,236	0% (0)
	PPV Pool	0,199	33% (1)
	PCV2 Pool	0,726	33% (1)
	PCV3 Pool	0,498	0% (0)
	PPV Impfung AS	0,003	67% (2)
	PCV2 Impfung AS	0,564	0% (0)
	PCV2 Impfung JS	0,447	33% (1)
	Stroheinstreu	0,748	0% (0)
	Parität JS/AS	0,644	0% (0)
	PCV2 AK Sau IgG	0,423	60% (3)

Anhang 8: Übersicht über die Ergebnisse der bivariaten Korrelationsberechnung nach Spearman Rho (siehe Abschnitt IV.2.6).

Abhängige Variable (metrisch)	Unabhängige Variable (metrisch)	p-Wert	r_s
PPV-Ct-Wert	Wurfgröße	0,631	0,039
	Anteil mumifizierte Ferkel/Wurf	0,033	-0,170
	Anteil autolytische Ferkel/Wurf	0,095	0,133
	Anteil totgeborene Ferkel/Wurf	0,000	0,276
	Anteil lebensschwache Ferkel/Wurf	0,315	0,080
	Anteil lebendgeborene Ferkel/Wurf	0,879	-0,012
	Scheitel-Steiß-Länge	0,000	0,293
	PCV2-Ct-Wert	0,582	0,044
	PPV-Titer Sau	0,808	-0,020
	Parität Sau	0,048	0,158
PCV2-Ct-Wert	Wurfgröße	0,774	0,023
	Anteil mumifizierte Ferkel/Wurf	0,667	0,035
	Anteil autolytische Ferkel/Wurf	0,081	-0,139
	Anteil totgeborene Ferkel/Wurf	0,599	-0,042
	Anteil lebensschwache Ferkel/Wurf	0,030	0,173
	Anteil lebendgeborene Ferkel/Wurf	0,002	0,243
	Scheitel-Steiß-Länge	0,773	0,023

	PPV-Ct-Wert	0,582	0,044
	PCV3-Ct-Wert	0,103	-0,130
	OD-Wert ELISA PCV2-IgG- Antikörper Sau	0,000	-0,337
	Parität Sau	0,497	0,054
	Wurfgröße	0,723	-0,028
	Anteil mumifizierte Ferkel/Wurf	0,136	-0,119
	Anteil autolytische Ferkel/Wurf	0,403	0,067
	Anteil totgeborene Ferkel/Wurf	0,140	-0,118
PCV3-Ct-Wert	Anteil lebensschwache Ferkel/Wurf	0,558	0,047
	Anteil lebendgeborene Ferkel/Wurf	0,430	-0,063
	Scheitel-Steiß-Länge	0,377	0,071
	PCV2-Ct-Wert	0,103	-0,130
	Parität Sau	0,000	0,325
	Wurfgröße	0,263	0,090
	Anteil mumifizierte Ferkel/Wurf	0,005	0,222
	Anteil autolytische Ferkel/Wurf	0,020	0,184
PPV-Titer Sau	Anteil totgeborene Ferkel/Wurf	0,021	-0,184
	Anteil lebensschwache Ferkel/Wurf	0,000	-0,291

	Anteil lebendgeborene Ferkel/Wurf	0,028	-0,175
	Scheitel-Steiß-Länge	0,999	0,000
	PPV-Ct-Wert	0,808	-0,020
	Parität Sau	0,005	-0,225
	Wurfgröße	0,236	-0,120
	Anteil mumifizierte Ferkel/Wurf	0,191	0,132
	Anteil autolytische Ferkel/Wurf	0,096	0,167
	Anteil totgeborene Ferkel/Wurf	0,455	-0,076
OD-Wert PCV2-IgG Sau	Anteil lebensschwache Ferkel/Wurf	0,943	-0,007
	Anteil lebendgeborene Ferkel/Wurf	0,169	-0,139
	Scheitel-Steiß-Länge	0,508	0,067
	PCV2-Ct-Wert	0,000	-0,368
	Parität Sau	0,003	-0,298

XII. DANKSAGUNG

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

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Matthias Eddicks für die Überlassung dieses spannenden Themas. Vielen Dank für die großartige wissenschaftliche Betreuung, die lehrreiche Zeit und den Einblick in das wissenschaftliche Arbeiten. Ich bedanke mich recht herzlich für deine umfängliche und inspirierende Unterstützung im Rahmen der Durchführung der Untersuchungen, der Auswertung der Ergebnisse und der Anfertigung dieser Arbeit.

Zudem möchte ich mich bei Herrn Dr. Robert Fux und dem gesamten Team des Lehrstuhls für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München bedanken. Vielen Dank für die Bereitstellung eurer Einrichtung, um die Untersuchung der Proben durchzuführen und die Unterstützung in praktischen und theoretischen Fragestellungen.

Auch an Sandra Kirsch des Zentrallabors für Großtiere der LMU München möchte ich meinen Dank richten. Vielen Dank für die Hilfe bei der Planung und Durchführung der serologischen Untersuchungen und danke, dass du dir die Zeit dafür genommen hast.

Großen Dank auch an die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, besonders an Hanny Swam, aus dem Labor von MSD Animal Health in Boxmeer für die Untersuchung meiner Proben und die Beantwortung fachlicher Fragen rund um den PCV3-DNA-Nachweis.

Außerdem möchte ich mich beim gesamten Team der Klinik für Schweine und ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die Hilfestellung bei Fragestellungen und das angenehme Arbeitsklima bedanken. Mein besonderer Dank gilt Annika Seifert, die das SMEDI-Projekt mit mir zusammen durchgeführt hat. Danke, liebe Annika, für die gemeinsame Zeit

und tolle Zusammenarbeit. Ich freue mich, dass ich dich kennenlernen und den Weg bis zur Abgabe der Arbeit mit dir gehen durfte.

Ich danke auch Frau Dr. Hannah Lenzko für die Unterstützung in den Monaten vor der Abgabe. Vielen Dank für die Freistellung von den Diensten, wann immer es notwendig war.

Zum Schluss möchte ich mich noch bei meiner Familie, besonders bei meinen Eltern, für die liebevolle Unterstützung in dieser turbulenten Zeit bedanken! Vielen Dank, dass ihr mir diesen Weg ermöglicht habt und mir immer den Rücken freigehalten habt. Bei meiner Schwester Bettina möchte ich mich ebenfalls für die unermüdliche Unterstützung bedanken. Danke, dass du mir den Rücken gestärkt hast und mir in verschiedensten Belangen weitergeholfen hast. Ich möchte mich auch bei Stefan für die Hilfestellung bei technischen und mathematischen Fragestellungen bedanken. Mein besonderer Dank gilt selbstverständlich dir, lieber Markus. Danke, dass du mich immer wieder aufgebaut hast, immer für mich da warst und mir stets verständnisvoll begegnet bist. Das ist nicht selbstverständlich und dafür möchte ich dir Danke sagen.

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