

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

**Leistungsdaten nach PRRSV-Infektionen über Sperma
sowie Querschnittserhebung des PRRSV-
Infektionsstatus nach 12 Monaten bei unterschiedlichen
Bekämpfungsstrategien**

von

Georg-Maximilian Robert Heinrich Walther Ekkehard Dhom
aus Frankfurt am Main

München 2016

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

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

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

Mitbetreuung durch: Dr. Andreas Palzer

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann
Korreferent: Prof. Dr. Armin M. Scholz

Tag der Promotion: 16. Juli 2016

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATURÜBERSICHT	2
1	Historischer Überblick	2
2	Ätiologie	3
2.1	Taxonomie und Morphologie.....	3
2.2	Aufbau der Virusgenoms.....	3
2.3	Genetische Differenzierung von PRRSV.....	4
2.4	Genetische und antigenetische Varianz	5
3	Epidemiologie	6
3.1	Empfängliche Arten.....	7
3.2	Ausscheidung und Übertragung.....	7
3.3	Persistente Infektionen.....	9
4	Pathogenese	9
5	Klinische Anzeichen	11
5.1	Saugferkel.....	12
5.2	Absetz-, Aufzuchtferkel und Mastschweine.....	12
5.3	Zuchtsauen	13
5.4	Eber.....	13
5.5	Sekundärinfektionen.....	14
6	Pathologische Veränderungen	15
7	Immunologie	15
8	Diagnostik	18
8.1	Direkter Erregernachweis.....	18
8.2	Indirekter Erregernachweis	18
9	Bekämpfung	19
9.1	Vakzination.....	19
9.2	Sanierung.....	22
III	MATERIAL UND METHODEN	24
1	Zielsetzung	24

2	Untersuchte Betriebe.....	25
3	Während der PRRS-Ausbruchphase erhobene Leistungsdaten..	26
4	Fragebogen zur Ermittlung der Tiergesundheits-Score-Kategorien	26
5	Durchführung der Blutprobenentnahme.....	28
5.1	Bearbeitung und Asservierung der Blutproben	29
6	Laboruntersuchungen	30
6.1	Direkter PRRSV-Nachweis	30
6.2	Sequenzierung.....	31
6.3	Sequenzvergleiche	32
6.4	Indirekter PRRSV-Nachweis	32
6.5	Statistische Auswertung.....	33
IV	ERGEBNISSE.....	36
1	Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS- Ausbruchphase	36
2	Aufteilung der Betriebe entsprechend des PRRS-Status vor der PRRS-Ausbruchphase.....	38
3	Die PRRS-Ausbruchphase	38
4	Leistungsdaten	39
4.1	Auswertung der Leistungsdaten zwischen den vor der PRRS- Ausbruchphase PRRS-Nichtimpfbetrieben und den PRRS- Impfbetrieben	39
4.2	Leistungskategorien.....	42
4.3	Aufteilung der Betriebe entsprechend des PRRS-Status vor der PRRS-Ausbruchphase und dem PRRS-Impfschema nach der PRRS- Ausbruchphase	45
4.4	Untersuchte Tiere bei der Beprobung ein Jahr nach der Erstinfektion...	45
5	Serologische Untersuchungen ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchphase.....	46
5.1	Anteil seropositiver Serumproben aufgeteilt nach Aufzuchtphasen ...	46

5.2	Seropositive Betriebe in Abhängigkeit vom Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase	46
6	Molekularbiologische Untersuchungen ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchsphase	48
6.1	PCR-positive Serumproben.....	48
6.2	PCR-positive Betriebe in Abhängigkeit vom PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase	49
7	Viruspersistenz des Eberstation-PRRS-Feldisolats.....	52
7.1	Nachweis der PRRS-Isolate in Abhängigkeit vom PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase	52
7.2	Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats im Vergleich zur Tiergesundheit-Score-Kategorie und dem PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase	55
7.3	Vergleich zwischen den mittleren CT-Werten der PRRS-Feldisolate und den mittleren CT-Werten des PRRS-Impfstamms.....	57
V	DISKUSSION	58
1	Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS-Ausbruchsphase	58
2	Erhobene Leistungsdaten	58
2.1	Sauenverluste	59
2.2	Aborte.....	60
2.3	Tot geborene Ferkel	62
2.4	Während Säugephase verwendete Ferkel.....	63
2.5	Während Aufzuchtphase verwendete Ferkel	64
3	Serologische Ergebnisse	65
4	Molekularbiologische Ergebnisse	68
5	Nachweis der PRRS-Feld- und Impfisolate und Einflussfaktoren auf die Persistenz des Eberstation-PRRS-Feldisolats	71
6	Tiergesundheitsscore in Korrelation zum PRRS-Impfschema und des Virusnachweises nach der Ausbruchsphase	74
7	Mittlere CT-Werte der Eberstation-PRRS-Feldisolate und PRRS-Impfstämme	75

VI	ZUSAMMENFASSUNG.....	77
VII	SUMMARY.....	79
VIII	LITERATURVERZEICHNIS.....	81
IX	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	116
X	TABELLENVERZEICHNIS.....	117
XI	DANKSAGUNG	118

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADE	antibody dependent enhancement
bp	Basenpaare
°C	Grad Celsius
CD	Cluster of Differentiation
CD 169	Glykoproteinrezeptor Sialoadhesin
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CMI	Cell-mediated immunity
CT-Wert	cycle threshold
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAV	Equine Arteritis Virus
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EU	europäische Stämme/Isolate
Fam	fluorescein
FAZ	Ferkelaufzuchtställe
GP	Glykoproteine
HS-GAG	Heparansulfat-Glykosaminoglykane
HEX	Hexachlorfluorescein
IgG	Immunglobulin G
IFN- γ	Interferon-gamma
I-A.	letzte Aufzuchtphase
m-A.	mittlere Aufzuchtphase
ml	Milliliter
MLV	modifizierte attenuierte Lebendvakzine
MW	Mittelwert

NA	nordamerikanische Stämme/Isolate
nAK	nicht neutralisierenden Antikörper
nm	Nanometer
n.n.	nicht nachgewiesen
O ₂	Sauerstoff
ORF	open reading frames
PAM	pulmonale Alveolarmakrophagen
PCR	Polymerase chain reaction
PCV2	Porcines Circovirus Typ 2
p.i.	post infectionem
PIM	intravaskuläre Makrophagen
P/PK	Probe/Positive Kontrolle
PRRS	Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom
PRRSV	Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus
R+D	Reinigung und viruzide Desinfektion
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
SD	Standardabweichung
Sf	Saugferkel
SPF	spezifisch pathogen frei
µl	Mikroliter

I EINLEITUNG

Das Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom (PRRS) ist eine weltweit vorkommende Viruserkrankung, die zu erheblichen wirtschaftlichen Schäden führt (HOLTKAMP et al., 2013). Die Virusausscheidung findet über alle Exkrete und Sekrete, unter anderem auch über das Sperma, statt (YAEGER et al., 1993; CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 2001). Darüber hinaus kann das Virus über Monate lymphatisch persistieren (ALLENDE et al., 2000; FANGMAN und KLEIBOEKER, 2007). In den letzten zwei Jahren wurde das PRRS-Virus (PRRSV) in Europa wiederholt in Besamungsstationen nachgewiesen.

Im Dezember 2012 kam es bei Ferkelerzeugern in Baden-Württemberg und Bayern vermehrt zum Auftreten von Fruchtbarkeitsproblemen. Mit PRRSV-infizierter Samen konnte als Ursache für den PRRS-Ausbruch identifiziert werden. In den betroffenen Betrieben wurden Unterschiede in der Ausprägung der Klinik beobachtet.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, Unterschiede im klinischen Verlauf in den damals betroffenen Betrieben darzustellen. Zudem galt es, den PRRSV-Status der betroffenen Betriebe ein Jahr nach Ausbruch zu erheben, um eine eventuell vorhandene Viruspersistenz nachzuweisen. Zusätzlich wurden herdenspezifische Daten sowie Kontrollmaßnahmen mithilfe eines Fragebogens erfasst, um die betriebsspezifischen Parameter zwischen den Betrieben zu vergleichen.

II LITERATURÜBERSICHT

1 Historischer Überblick

Im Jahre 1987 kommt es in Nordamerika im Bundesstaat Iowa bei schweinehaltenden Betrieben zum vermehrten Auftreten von Reproduktionsstörungen bei Sauen und respiratorischen klinischen Anzeichen von denen vor allem Saug- und Absetzferkel betroffen sind (KEFFABER, 1989; HILL, 1990; LOULA, 1991). Die Genese dieser Epidemie ist zunächst unklar (KEFFABER, 1989). Ausbrüche ähnlicher Art können auch kurze Zeit später in Kanada (DEA et al., 1992) und Japan (SHIMIZU et al., 1994) beobachtet werden.

Aufgrund des klinischen Bildes der Erkrankung etablieren sich zunächst Namen wie Mystery Swine Disease (HILL, 1990), Swine Infertility and Respiratory Syndrome (COLLINS, 1991) und Porcine Epidemic Abortion and Respiratory Syndrome (WENSVOORT et al., 1992).

Die ersten Fälle in Europa werden 1990 in Deutschland unter dem Namen „Seuchenhafter Spätabort der Schweine“ beschrieben (LINDHAUS und LINDHAUS, 1991). In den folgenden Monaten verbreitet sich das Virus in den Schweinebeständen Deutschlands. Innerhalb weniger Monate werden in Deutschland über 3.000 Ausbrüche dokumentiert (OIE, 1992). Das für die Erkrankung verantwortliche Lelystad Virus wird 1991 erstmals in den Niederlanden isoliert (WENSVOORT et al., 1991) und kann noch im selben Jahr durch die Erfüllung der Henle-Koch-Postulate als ätiologisches Agens beschrieben werden (TERPSTRA et al., 1991). In den nächsten vier Jahren kommt es zu Virusnachweisen in ganz Europa (BARON et al., 1992; BØTNER et al., 1994).

Im Jahr 1992 gelingt es, den Genotyp ATCC VR-2332 in Nordamerika zu isolieren (COLLINS et al., 1992). Durch antigenetische Vergleiche zeigen WENSVOORT et al. (1992), dass sowohl die Fälle in Europa als auch die in den USA auf eine Infektion mit dem gleichen Virus zurückzuführen sind. Allerdings weisen die zwei Genotypen (Genotyp 1: Lelystad = EU, Genotyp 2: VR-2332 = NA) eine starke antigenetische Variabilität auf.

1991 vergibt die EU-Kommission für diesen viralen Infekt den einheitlichen Namen Porzines Reproductives und Respiratorisches Syndrom Virus (PRRSV) und ersetzt somit die unterschiedliche Namensgebung in den verschiedenen Ländern.

2 Ätiologie

2.1 Taxonomie und Morphologie

Das zur Ordnung der Nidovirales zählende PRRS-Virus wird der Familie der Arteriviridae zugeordnet (MEULENBERG et al., 1993). Innerhalb dieser Familie gibt es wiederum zwei Spezies, die in der Veterinärmedizin hauptsächlich relevant sind: das Equine Arteritis Virus (EAV) und das PRRSV (MEULENBERG et al., 1993). Wie alle Arteriviren replizieren sich sowohl das EAV, als auch das PRRSV bevorzugt in den Makrophagen der Lunge (WENSVOORT et al., 1991; MEULENBERG et al., 1993; THIEL et al., 2011). Weiterhin kann durch diese beiden viralen Erreger ein Abortgeschehen ausgelöst werden (TERPSTRA et al., 1991; THIEL et al., 2011). Eine Infektion kann sowohl ein akutes Krankheitsbild hervorrufen als auch klinisch inapparent und persistierend verlaufen (HORTER et al., 2002; FANGMAN und KLEIBOEKER, 2007; THIEL et al., 2011).

PRRSV ist ein kleines, behülltes Einzelstrang-RNA-Virus mit positiver Polarität (ZIMMERMAN et al., 2012). Das Virion hat einen Durchmesser von 50-70nm und eine glatte behüllte Oberfläche (BENFIELD et al., 1992; SPILMAN et al., 2009).

Das infektiöse 15,1 kb lange RNA-Genom bildet zusammen mit dem basischen Nukleoprotein das Viruskapsid (ZIMMERMAN et al., 2012), welches von einer lipidhaltigen Membranhülle umschlossen wird. In diese sind die Glykoproteine 2-5 (GP2-5) sowie das envelope Protein und das Matrixprotein als Strukturproteine eingelagert (THIEL et al., 2011).

2.2 Aufbau der Virusgenoms

Das Virusgenom enthält bis zu zehn offene Leserahmen (open reading frames, ORF) (MEULENBERG et al., 1995; MEULENBERG et al., 1997; WU et al., 2001; JOHNSON et al., 2011). Etwa 80 % des Genoms werden von den ORFs 1a und 1b eingenommen, welche wiederum für die 13

Nichtstrukturproteine kodieren. Die Kodierung der acht Strukturproteine werden von den ORFs 2-7 übernommen (MEULENBERG et al., 1995; MEULENBERG, 2000; WU et al., 2001; JOHNSON et al., 2011).

2.3 Genetische Differenzierung von PRRSV

Die Charakterisierung und Quantifizierung der genetischen Diversität von PRRSV stellt einen wichtigen Punkt in der epidemiologischen Forschung dar (FORSBERG et al., 2002) und besitzt gerade bei dem genetisch erheblich heterogenen PRRS-Virus eine hohe Relevanz für die Entwicklung von neuen Vakzinen und diagnostischen Testmethoden (MENG, 2000).

Hierzu werden definierte Genomabschnitte von Aminosäuren und Nukleotiden mittels RT-PCR amplifiziert und im Anschluss sequenziert (OLEKSIEWICZ et al., 1998). Für den Nachweis mittels RT-PCR werden die am besten konservierten Gene des PRRSV verwendet, dazu zählen die Genom-Fragmente ORF6 und ORF7 (OLEKSIEWICZ et al., 1998; GROSSE BEILAGE et al., 2013). Geht es hingegen darum die Sequenzidentität verschiedener Isolate zu vergleichen, wird üblicherweise aufgrund seiner hohen Variabilität das ORF5 für eine Sequenzanalyse herangezogen, da sich vor allem in diesem Abschnitt Unterschiede in den Sequenzen erkennen lassen (GOLDBERG et al., 2000). Einen weiteren Vorteil bieten die bestehenden umfangreichen Gendatenbanken die für einen Vergleich der ORF5 Sequenzen herangezogen werden können (ZIMMERMAN et al., 2012).

Wenn die Sequenzen verschiedener PRRSV-Isolate zu 98% übereinstimmen werden sie meist als identisch definiert (COLLINS et al., 1998; GROSSE BEILAGE et al., 2013). Sowohl in experimentellen als auch in Feldstudien kann eine Mutationsrate von 0,5 – 1 % pro Jahr ermittelt werden (CHANG et al., 2002; MURTAUGH, 2012). Die in den Studienergebnissen ermittelte Mutationsrate sollte jedoch nur als Anhaltspunkt dienen, da die Rate der Mutation maßgeblich von der Höhe der Virusreplikation beeinflusst wird (MURTAUGH, 2012). Diese ist wiederum hauptsächlich von nicht viralen (immunologischen) Faktoren, wie dem Immunitätsstatus abhängig (MURTAUGH, 2012). Der PRRSV-

Immunitätsstatus auf Herdenebene hat einen großen Einfluss auf die Virusvermehrung und Übertragung (MURTAUGH, 2012). Eine geringere Viruslast aufgrund eines hohen Immunitätsstatus führt zu einer reduzierten Übertragungsrate und somit auch zu einer verringerten Mutationsrate (MURTAUGH, 2012). Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Bestimmung des Verwandtschaftsgrades alleinig über die Interpretation der Sequenzidentität ohne die Miteinbeziehung von Umweltfaktoren zu falschen Interpretationsergebnissen führt (MURTAUGH, 2012).

Genau wie bei nordamerikanischen (NA)-Genotyp Isolaten lässt sich auch bei europäischen (EU)-Genotyp Isolaten eine Gruppenbildung (Clustering) feststellen, diese kann jedoch geographisch verzerrt sein (FORSEBERG et al., 2002). Innerhalb des EU-Genotyps werden drei Hauptgruppen unterschieden (FORSEBERG et al., 2002). Es wird zwischen Lelystadt-like, italienischen und dänischen Clustern unterschieden (FORSEBERG et al., 2002). Am höchsten genetisch divergent ist das italienische Cluster (FORSEBERG et al., 2002).

Der EU-Genotyp wird durch STADEJEK et al. (2008) mithilfe phylogenetischer Analysen des ORF7 in drei Subtypen unterteilt: den Paneuropäischen Subtyp 1 und die Osteuropäischen Subtypen 2 und 3. Feldisolate aus Weißrussland lassen zudem auf einen potentiellen vierten Subtyp schließen (STADEJEK et al., 2013).

2.4 Genetische und antigenetische Varianz

Wie alle RNA-Viren zeigen auch PRRS-Viren eine im Vergleich zu DNA-Viren hohe Mutationsrate (TRUYEN, 2011). Das für die Genomreplikation zuständige Enzym, die RNA-abhängige RNA-Polymerase, besitzt im Gegensatz zur zellulären DNA-Polymerase der DNA-Viren keine „Proofreading“ (Korrektur)-Funktion. Dies erklärt die hohe genetische Variabilität, die allen RNA-Viren zu eigen ist (TRUYEN, 2011). Dieses parallele Vorkommen von sich ähnelnden, aber dennoch unterscheidbaren Nachkommenviren wird als Quasispezies beschrieben (GOLDBERG et al., 2003; TRUYEN, 2011). CHANG et al. (2002) zeigen, dass es zur Koexistenz dieser Virusvarianten (Quasispezies) innerhalb eines

infizierten Tieres kommt. Als Folge dieser Mutationen ist es möglich, dass diese Varianten nicht mehr vom Immunsystem erkannt werden. Es findet eine antigene Selektion statt, die zur Bildung von „Escape-Mutanten“ führt (TRUYEN, 2011). Inwiefern die Bildung dieser Quasispezies bei PRRSV eine Rolle spielt, ist jedoch noch unklar (ZIMMERMAN et al., 2012).

Aufgrund dieser genetischen Unterschiede lassen sich die verschiedenen Isolate in einen europäischen Genotyp 1 (EU) und einen nordamerikanischen Genotyp 2 (NA) einteilen (ZIMMERMAN et al., 2012). Die größte Varianz besteht zwischen den Isolaten aus Europa und Nordamerika. ALLENDE et al. (1999) weisen in einem Vergleich der kompletten Genomsequenz zwischen einem nordamerikanischen Isolat und dem europäischen Lelystadvirus lediglich eine Übereinstimmung der Nukleotididentität von 63,4 % nach. Die Diversität unter den Isolaten des EU-Genotyps ist sehr viel höher als bei denen des NA-Genotyps (STADEJEK et al., 2006).

3 Epidemiologie

Die PRRSV-Erkrankung ist mittlerweile in den meisten schweineproduzierenden Ländern endemisch verbreitet. In Europa sind lediglich Schweden (CARLSSON et al., 2009), Norwegen (GRØNTVEDT et al., 2015), die Schweiz (CORBELLINI et al., 2006) und Finnland (VEIJALAINEN und TAPIOVAARA, 2000) PRRSV frei.

In PRRSV-positiven, schweinedichten Regionen sind üblicherweise 60-80 % der Herden seropositiv (ZIMMERMAN et al., 2012). Diese Seroprävalenz ist jedoch von ihrer Aussagekraft als kritisch zu bewerten, da durch den Einsatz von modifizierten attenuierten Lebendvakzinen (MLV) Impfantikörper induziert werden, die sich durch herkömmliche serologische Untersuchungsmethoden nicht von den gebildeten Antikörpern einer Feldvirusinfektion unterscheiden lassen (ZIMMERMAN et al., 2012). BØTNER et al. (1997) berichten, dass Impfvirus von PRRS-vakzinierten Herden auf PRRS-freie Herden übertragen werden kann. Dies ist ein weiterer Grund für eine vorbehaltliche Interpretation der Seroprävalenz.

3.1 Empfängliche Arten

Neben Hausschweinen können sich auch Wildschweine mit PRRSV infizieren (THIEL et al., 2011). ZIMMERMAN et al. (1997) beschreiben bei Stockenten sowohl die PRRSV-Replikation als auch die fäkale Ausscheidung nicht jedoch den klinisch apparenten Verlauf. Darauf folgende Studien können diese Untersuchungsergebnisse jedoch nicht bestätigen (TRINCADO et al., 2004b; ZIMMERMAN et al., 2012). WILLS et al. (2000b) zeigen, dass sich die üblicherweise in Stallnähe aufhaltenden Tiere wie Hunde, Katzen, Ratten, Mäuse und Vögel weder als biologische noch als mechanische Vektoren eignen.

Stechmücken (*Aedes vexans*) und Hausfliegen (*Musca domestica*) können unter experimentellen Bedingungen das PRRS-Virus von infizierten auf naive Tiere übertragen (OTAKE et al., 2002d; OTAKE et al., 2003b). Jedoch fungieren diese Insekten lediglich als mechanische und nicht als biologische Vektoren (OTAKE et al., 2003a; SCHURRER et al., 2005).

3.2 Ausscheidung und Übertragung

Bei Schweinen kann eine Infektion mit PRRSV intrauterin (CHRISTIANSON et al., 1993), vaginal (YAEGER et al., 1993; GRADIL et al., 1996), intranasal (MAGAR et al., 1995), intramuskulär (YOON et al., 1999) und oral (MAGAR et al., 1995) erfolgen.

Wieviel Virusmenge für eine Infektion notwendig ist, variiert je nach Art der Exposition (ZIMMERMAN et al., 2012) und der Virulenz der unterschiedlichen PRRS-Isolate (CUTLER et al., 2011). YOON et al. (1999) zeigen, dass Schweine höchstempfindlich auf eine intramuskuläre Infektion mit PRRSV reagieren. Die Gefahr der parenteralen Übertragung bergen etwa zotechnische Maßnahmen (ZIMMERMAN et al., 2012) und aggressives beziehungsweise kannibalistisches Verhalten (BIERK et al., 2001; ZIMMERMAN et al., 2012). PRRSV-infiziertes Sperma kommt als weitere direkte Infektionsquelle in Betracht (YAEGER et al., 1993). CHRISTOPHER-HENNINGS et al. (1995) zeigen, dass das PRRS-Virus bis zu 92 Tage nach Exposition im Sperma nachzuweisen ist. In wie weit die fäkale Ausscheidung ein weiteres Risiko der direkten

Erregerverbreitung darstellt, wird zur Zeit noch kontrovers diskutiert. Sie reichen von massiver Ausscheidung (YOON et al., 1993), über vereinzelte Ausscheidung (ROSSOW et al., 1994), bis hin zu keinem Virusnachweis in den untersuchten Kotproben (WILLS et al., 1997a). Losgelöst von der Frage des direkten Nachweises von PRRSV im Kot, zeigen PIRTLE und BERAN (1996), dass es zur schnellen Virusinaktivierung in der Gülle kommt. WAGSTROM et al. (2001) belegen, dass es auch zur Ausscheidung von Feldvirus über die Muttermilch kommt. Dies ist insofern nicht überraschend, da sich PRRSV vorwiegend in Makrophagen repliziert und diese eine der Hauptfraktion in der Milch von Sauen darstellen (LE JAN, 1996; WAGSTROM et al., 2001).

PRRSV kann über eine Vielzahl von Wegen indirekt auf empfängliche Tiere übertragen werden (CHO und DEE, 2006). OTAKE et al. (2002b) können etwa kontaminierte Stiefel, Overalls und ungewaschene Hände als potentielle Übertragungsquelle identifizieren. Mit dem Blut PRRSV-infizierter Tiere verunreinigte Nadeln werden von OTAKE et al. (2002c) als weitere mechanische Übertragungswege beschrieben. Auch Transportfahrzeuge bergen das Risiko der indirekten Erregerverschleppung (DEE et al., 2004).

Die Übertragung über Aerosole wird aktuell kontrovers diskutiert (CHO und DEE, 2006). BROCKMEIER und LAGER (2002), KRISTENSEN et al. (2004) und OTAKE et al. (2010) weisen eine Übertragung über die Luft nach, wohingegen WILLS et al. (1997a), OTAKE et al. (2002a), TRINCADO et al. (2004a) und FANO et al. (2005) diesen Nachweis nicht erbringen können.

Eine vertikale Infektion der Föten findet hauptsächlich in der Spätphase der Trächtigkeit statt (72.-93. Tag der Trächtigkeit) (TERPSTRA et al., 1991; CHRISTIANSON et al., 1992; MENGELING et al., 1994; KRANKER et al., 1998; MENGELING et al., 1998). Die Inzidenz einer Infektion der Embryos im frühen Stadium der Trächtigkeit ist gering (PRIETO et al., 1996a). Infektionen der Föten im mittleren Stadium der Trächtigkeit kommen höchstens vereinzelt vor (CHRISTIANSON et al., 1993). Das Fehlen des Glykoproteinrezeptors Sialoadhesin (CD 169) in den Embryonen, während der frühen Phase der Trächtigkeit, liefert eine

mögliche Erklärung für das Phänomen der späten Empfänglichkeit der Föten (MATEUSEN et al., 2007). KARNIYCHUK und NAUWYNCK (2013) zeigen, dass es im Laufe der Trächtigkeit zu einem Anstieg an Sialoadhesin positiven Zellen in der Plazenta kommt und liefern somit einen weiteren Erklärungsansatz für die späte PRRSV-Empfänglichkeit der Föten.

3.3 Persistente Infektionen

PRRSV führt bei Schweinen zu chronisch persistierenden Infektionen (ZIMMERMAN et al., 2012). Dies nimmt großen Einfluss auf den epidemiologischen Verlauf einer PRRSV-Infektion (ZIMMERMAN et al., 2012). Infektiöses Virus wird vom 100. bis zum 165. Tag post infectionem (p.i.) im lymphatischen Gewebe nachgewiesen (WILLS et al., 1997b; ALLENDE et al., 2000; BENFIELD et al., 2000; HORTER et al., 2002; FANGMAN und KLEIBOEKER, 2007). Persistente Infektionen entwickeln sich in jedem Alter (ZIMMERMAN et al., 2012). ROWLAND et al. (1999) und BENFIELD et al. (2000) belegen, dass intrauterin infizierte Schweine eine persistierende Infektion entwickeln können, genauso wie Jungtiere (FAIRBANKS et al., 2002) und adulte Schweine (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 1995; BIERK et al., 2001). Allerdings zeigen im Jugendstadium infizierte Tiere eine im Vergleich zu adult infizierten Tieren verlängerte Phase der Persistenz (MENGELING et al., 1994; BIERK et al., 2001). Der Mechanismus mit dem sich PRRSV der aktiven Immunantwort entzieht konnte noch nicht eindeutig identifiziert werden (ZIMMERMAN et al., 2012). CHANG et al. (2002); CHANG et al. (2009) weisen jedoch in persistent infizierten Schweinen eine relativ geringe Mutationsrate nach, so dass genetische Veränderungen vermutlich nicht den Hauptmechanismus der Immunevasion darstellen.

4 Pathogenese

Nach oronasaler Infektion findet die primäre Virusreplikation in einer Untergruppe von differenzierten Makrophagen der Lunge statt (THIEL et al., 2011; ZIMMERMAN et al., 2012). Bei diesen handelt es sich hauptsächlich um pulmonale Alveolarmakrophagen (PAM) und pulmonale

intravaskuläre Makrophagen (PIM) (WENSVOORT et al., 1991; THANAWONGNUWECH et al., 1997a; BADAOUY et al., 2014).

Durch den Rezeptor Heparansulfat-Glykosaminoglykane (HS-GAG) findet der initiale Viruskontakt statt. Dieser befindet sich auf der Oberfläche der permissiven Makrophagen (DELPUTTE et al., 2002). Des Weiteren erhöht HS-GAG die Interaktion von PRRSV mit dem Glykoproteinrezeptor CD169 (DELPUTTE et al., 2005). CD169 ermöglicht sowohl die Bindung von PRRSV an die Makrophagenoberfläche, als auch dessen Internalisierung (VANDERHEIJDEN et al., 2003; DELPUTTE et al., 2005). Dieser Virus-Rezeptor-Komplex gelangt über eine Clathrin-vermittelte Endozytose ins Zytoplasma der Makrophagen (NAUWYNCK et al., 1999; VANDERHEIJDEN et al., 2003).

In der weiteren Virusreplikation spielt das Transmembranprotein CD163 eine essentielle Rolle, die präzise Funktion ist aber noch nicht vollständig geklärt (VAN GORP et al., 2008, 2009). Man vermutet, dass CD163 an der Interaktion mit den PRRSV-Glykoproteinen GP2 und GP4 mitbeteiligt ist, dies führt zur Freisetzung der viralen RNA aus dem frühen Endosom in das Zytoplasma der Makrophagen (VAN GORP et al., 2008; DAS et al., 2010). Im Zytoplasma findet darauffolgend die Virusreplikation statt (NAUWYNCK et al., 2012).

Zu Infektionsbeginn wird die Apoptose in den infizierten Makrophagen noch unterdrückt, gegen Ende der Infektion tritt dann der programmierte Zelltod ein (LABARQUE et al., 2003a; COSTERS et al., 2008; KARNIYCHUK et al., 2011). Durch den sogenannten Bystander-Effekt werden dann auch nicht infizierte Nachbarzellen zu apoptotischen Prozessen angeregt (SIRINARUMITR et al., 1998; KARNIYCHUK et al., 2011).

Neuere Studien untermauern einerseits die herausragende Bedeutung des CD163 Rezeptors, widersprechen aber andererseits der Rolle des CD169 Rezeptors (LEE et al., 2010; ZHANG und YOO, 2015). So zeigen ZHANG und YOO (2015) sowie LEE et al. (2010), dass alleinig CD163 dazu in der Lage ist, nicht permissive Zellen für eine PRRSV-Infektion empfänglich zu machen, wohingegen der Rezeptor CD169 für eine PRRSV-Infektion nicht notwendig ist (ZHANG und YOO, 2015). PRATHER et al. (2013) zeigen in einem Infektionsversuch mit Knock-Out-Schweinen,

die nicht in der Lage sind CD169 zu exprimieren, dass es bei diesen Tieren trotz des Fehlens des CD169 Rezeptors zu einer PRRSV-Infektion kommt. Nach dieser initialen Virusreplikation in den permissiven Makrophagen, kommt es zur rapiden Virusausbreitung in den Lungen und dem lymphatischen Gewebe (ZIMMERMAN et al., 2012).

Neben den Lungen und dem lymphatischen Gewebe stellt die Plazenta einen weiteren Ort dar, in dem es aufgrund des hohen Gehalts an permissiven Makrophagen, zur Virusreplikation kommt (DUAN et al., 1997; NAUWYNCK et al., 2012).

Unregelmäßig wird PRRSV hingegen in den Endothelzellen der Gefäße (ROSSOW et al., 1995), in den Mikrogliazellen des zentralen Nervensystems (THANAWONGNUWECH et al., 1997a), in den interstitiellen Makrophagen von Hoden und Nebenhoden sowie in Spermatozyten und Spermatiden nachgewiesen (SUR et al., 1997).

5 Klinische Anzeichen

Sowohl in Europa (WENSVOORT et al., 1991) als auch in den Vereinigten Staaten von Amerika (KEFFABER, 1989) sowie im asiatischen Raum (THANAWONGNUWECH et al., 2003) verläuft eine Infektion mit PRRSV klinisch ähnlich. Zwischen den verschiedenen PRRSV-Isolaten sind große Unterschiede in der Pathogenität erkennbar (HALBUR et al., 1996). Eine alleinige Infektion mit einem niedrig virulenten Virusstamm verläuft meist subklinisch (HALBUR et al., 1996). Wenn sich Tiere mit einem hochvirulenten Stamm infizieren, kommt es in allen Altersstufen zu schwerwiegenden Krankheitsverläufen, die mit einer hohen Letalitätsrate einhergehen (TIAN et al., 2007).

Tritt PRRSV in einem immunologisch naiven Bestand auf, kann die Infektion epidemische Ausmaße erreichen (ZIMMERMAN et al., 2012). Sobald sich in einer Region die epidemische Verlaufsform etabliert hat, wird PRRSV in nahezu allen Fällen endemisch (ZIMMERMAN et al., 2012). Durch die genetische sowie antigenetische Vielfalt unter den Isolaten, kann es in bereits endemisch infizierten Herden oder Regionen zu epidemisch verlaufenden PRRSV-Infektionen kommen (LI et al., 2007; TIAN et al., 2007; ZIMMERMAN et al., 2012).

Weiterhin wird die klinische Ausprägung einer PRRSV-Infektion, von bakteriellen und viralen Ko- und/oder Sekundärinfektionen beeinflusst (ZIMMERMAN et al., 2012). Auch das Alter der betroffenen Tiere hat einen Einfluss auf die Ausprägung der klinischen Anzeichen (VAN DER LINDEN et al., 2003; ZIMMERMAN et al., 2012). So verläuft eine Infektion (abgesehen von den reproduktiven Störungen) bei Zuchtsauen in der Regel eher subklinisch, wohingegen bei Jungtieren schwerwiegendere Verläufe zu beobachten sind (THIEL et al., 2011; GROSSE BEILAGE et al., 2013).

5.1 Saugferkel

Kommt es bei den Saugferkeln bereits intrauterin oder neonatal zu einer PRRSV-Infektion, sind die daraus resultierenden klinischen Anzeichen am schwerwiegendsten (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Diese Tiere sind im Allgemeinen lebensschwach und anfälliger für bakterielle und virale Ko- und/oder Sekundärinfektionen (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Daraus folgend ist auch die Sterblichkeit bei diesen Tieren deutlich erhöht (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Weitere Krankheitszeichen reichen von Fieber, periokulären Ödemen, Dyspnoe, Hyperpnoe über Spreizen der Hintergliedmaßen, Apathie, Kachexie, Chemosis, Konjunktivitis bis hin zur Diarrhoe (ROSSOW et al., 1994; ZIMMERMAN et al., 2012). Ebenso können zentralnervöse Anzeichen mit Tremor und Ruderbewegungen in Seitenlage beobachtet werden (KEFFABER, 1989; LOULA, 1991).

5.2 Absetz-, Aufzuchtferkel und Mastschweine

In endemisch infizierten Betrieben kommt es unter Feldbedingungen zwischen der vierten und 16. Lebenswoche am häufigsten zu Infektionen mit darauffolgender Entwicklung eines klinischen Bildes (THIEL et al., 2011). Davor sind die Saugferkel in der Regel durch die protektive Funktion der kolostralen Antikörper geschützt (THIEL et al., 2011).

Bei Absetz- und Aufzuchtferkeln sowie Mastschweinen tritt eine PRRSV-Infektion hauptsächlich als respiratorische Verlaufsform zutage (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Wenn diese unkompliziert verläuft, können klinische Anzeichen wie Niesen, Konjunktivitis sowie Pneumonien beobachtet werden (THIEL et al., 2011). Durch bakterielle und virale Ko-

und/oder Sekundärinfektionen kann sich der Krankheitsverlauf verkomplizieren (THIEL et al., 2011; GROSSE BEILAGE et al., 2013).

5.3 Zuchtsauen

Sauen können auf eine PRRSV-Infektion mit Fieber (TERPSTRA et al., 1991; COLLINS et al., 1992; HOPPER et al., 1992; CHRISTIANSON et al., 1993), Zyanosen an den Ohren und der Vulva (TERPSTRA et al., 1991; ROSSOW, 1998), Anorexie (TERPSTRA et al., 1991; HOPPER et al., 1992; CHRISTIANSON et al., 1993) und Apathie (TERPSTRA et al., 1991; CHRISTIANSON et al., 1993) reagieren. Oft jedoch ist das Allgemeinbefinden von Zuchtsauen nicht oder kaum beeinträchtigt (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Erst Reproduktionsstörungen können bei diesen Tieren einen Hinweis auf eine PRRSV-Infektion geben (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Typisch für eine Infektion mit PRRSV im letzten Drittel der Trächtigkeit ist das vermehrte Auftreten von Spätaborten (THIEL et al., 2011). Es kommt zu einer Zunahme von mumifizierten, totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln (DONE und PATON, 1995). Die Anzahl an Sauen bei denen es zu keiner Nidation kommt steigt, so dass die Abferkelrate sinkt (DONE und PATON, 1995; ZIMMERMAN et al., 2012). Auch für eine erhöhte Umrauschquote kann PRRSV verantwortlich sein (HOPPER et al., 1992). Erfolgt eine Infektion mit PRRSV vor dem 90. Trächtigkeitstag kommt es dagegen meist nicht zu Reproduktionsstörungen (THIEL et al., 2011).

5.4 Eber

Eine PRRSV-Infektion kann sich bei Ebern anhand von Anorexie, Somnolenz, Fieber und einem Verlust der Libido äußern (YAEGER et al., 1993). Zudem kann die Samenqualität negativ beeinflusst werden (PRIETO et al., 1996b). Die Infektion führt dann in Folge zu einer verminderten Spermienmotilität sowie zu einem vermehrten Auftreten morphologisch veränderter Spermien (PRIETO et al., 1996b). So ist etwa die Rate an Spermien mit akrosomalen Defekten erhöht (PRIETO et al., 1996b). Häufiger jedoch verläuft die Infektion klinisch unauffällig, was die Gefahr der unerkannten Erregerverbreitung im Bestand deutlich erhöht (SCHULZE et al., 2013).

5.5 Sekundärinfektionen

Durch eine Infektion mit PRRSV werden die betroffenen Tiere für eine Vielzahl von bakteriellen und viralen Ko- und/oder Sekundärinfektionen empfänglicher (ZIMMERMAN et al., 2012). Zahlreiche Studien belegen, dass es durch eine PRRSV-Infektion zu einer Suppression der infizierten PIMs und PAMs kommt (THANAWONGNUWECH et al., 1997b; THANAWONGNUWECH et al., 1998a; THANAWONGNUWECH et al., 1998b; THANAWONGNUWECH et al., 2000). In Folge führt dies bei den PIMs und PAMs zur einer verringerten bakteriziden Funktion (THANAWONGNUWECH et al., 1997b).

PRRSV-infizierte Schweine zeigen eine erhöhte Anfälligkeit für die Entwicklung einer durch *Streptococcus suis* bedingten Septikämie (FENG et al., 2001). Dies trifft ebenso auf die Entwicklung einer durch *Bordetella bronchiseptica* ausgelösten Bronchopneumonie zu (BROCKMEIER et al., 2000). Durch Koinfektionen mit *Mycoplasma hyopneumoniae* (THACKER et al., 1999), porzinen Influenzaviren (VAN REETH et al., 1996, 2001), Morbus Aujeszky (SHIBATA et al., 2003) und dem porzinem respiratorischen Corona-Virus (VAN REETH et al., 1996), können die durch PRRSV verursachten pathologischen Effekte potenziert werden. WILLS et al. (2000a) belegen in einem Infektionsversuch mit *Salmonella choleraesuis* und PRRSV den synergistischen Effekt hinsichtlich der Entwicklung eines klinischen Bildes. Eine Infektion mit PRRSV und dem porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2) führt zu einem zu einer signifikanten Steigerung der Replikation von PCV2 (ALLAN et al., 2000) und zum anderen zu einem schwereren Verlauf der durch PRRSV/PCV2-induzierten interstitiellen Pneumonie (HARMS et al., 2001). PALZER et al. (2015) zeigen, dass eine Infektion mit PRRSV ein gehäuftes Auftreten der Glässerschen Krankheit und der Mykoplasmenpolyserositis begünstigt. PRRSV gilt zudem als wichtiges mitwirkendes Agens für den Porcine Respiratory Disease Complex (HARMS et al., 2001; THIEL et al., 2011).

6 Pathologische Veränderungen

Makroskopische Veränderungen lassen sich regelmäßig in den Lungen und in den Lymphknoten erkennen (HALBUR et al., 1995; ROSSOW, 1998). Das Lungenparenchym ist dabei hellbraun multifokal verdichtet und die lokalen Lymphknoten sind deutlich vergrößert (HALBUR et al., 1995; ROSSOW, 1998). Histopathologische Veränderungen sind durch eine interstitielle Pneumonie mit Proliferation der Typ II Pneumozyten und einer Ansammlung von Zelldebris und nekrotischen Makrophagen in den Alveolarsepten und innerhalb der Alveolen gekennzeichnet (HALBUR et al., 1995; BEYER et al., 2000; ZIMMERMAN et al., 2012). Zur lymphoiden Hyperplasie mit fokalen Nekroseherden kommt es weiterhin in Lymphknoten, Tonsillen und Milz (HALBUR et al., 1995). Auch im Uterus von Zuchtsauen und in den Hoden von Ebern können mikroskopische Läsionen nachgewiesen werden (ZIMMERMAN et al., 2012). In der Plazenta entstehen histopathologische Läsionen, diese reichen von der lokalen Trennung zwischen Uterusepithel und dem Trophoblast, bis zur vollständigen Plazentadegeneration an den Orten der Virusreplikation (KARNIYCHUK und NAUWYNCK, 2013). Diese histopathologischen Veränderungen führen in Folge zu einem unzureichenden Gasaustausch (O_2/CO_2) zwischen dem fötalen und dem maternalen Kreislauf (KARNIYCHUK und NAUWYNCK, 2013).

LADINIG et al. (2015) sehen im Gegensatz zu KARNIYCHUK und NAUWYNCK (2013) nicht die Schädigungen der Plazenta als Hauptursache für den intrauterinen Fruchttod an, sondern kommen zur dem Ergebnis, dass die Virusreplikation im fötalen lymphatischen Gewebe (hauptsächlich im Thymus) die Hauptverantwortung am embryonalen Fruchttod trägt. LADINIG et al. (2014) zeigen, dass die PRRS-Viruslast im Endometrium positiv mit der PRRS-Viruslast im fetalen Thymus und fetalen Serum assoziiert ist.

7 Immunologie

Die Immunantwort auf eine PRRSV-Infektion ist gekennzeichnet durch ein verspätetes Auftreten von neutralisierenden Antikörpern (nAK) (LOPEZ und OSORIO, 2004), eine kurze Phase der zellvermittelten Immunantwort

(XIAO et al., 2004; MATEU und DIAZ, 2008) und eine verzögerte Ausbildung des virusspezifischen Zytokins Interferon-gamma (IFN- γ) (MEIER et al., 2003). Die Bildung von nAK ist Teil der humoralen Immunantwort. Die ersten nicht neutralisierenden Antikörper sind sieben Tage post infectionem (p.i.) nachweisbar (NELSON et al., 1994). MEIER et al. (2000), MEIER et al. (2003), YOON et al. (1994) sowie LOPEZ und OSORIO (2004) weisen neutralisierende Antikörper erst ab etwa vier Wochen p.i. nach. NELSON et al. (1994) erbringen den Nachweis von nAK bis zum 262. Tag p.i.. Die Rolle dieser nAK hinsichtlich der Kontrolle einer PRRSV-Infektion wird kontrovers diskutiert (ZIMMERMAN et al., 2012). YOON et al. (1996) und OSORIO et al. (2002) zeigen, dass durch eine passive Immunisierung mit nAK eine Virämie verhindert werden kann. Weiterhin wird durch eine Übertragung von nAK auf tragende Sauen eine sterile Immunität erreicht, welche wiederum die PRRSV-bedingten Reproduktionsstörungen vollständig unterbindet (OSORIO et al., 2002). Wenn es zum Verlust der maternalen Antikörper kommt, tritt PRRSV bei Absetzferkeln klinisch in Erscheinung (CHUNG et al., 1997). Die Titerhöhe der nAK bei den Muttersauen bestimmt wiederum in welcher Menge maternale Antikörper von den Muttersauen gebildet werden (CHUNG et al., 1997).

Die Wirksamkeit von attenuierten PRRSV-Lebendvakzinen wurde in zahlreichen Studien bewiesen (FOSS et al., 2002; MENGELING et al., 2003a; CHARERNTANTANAKUL et al., 2006). Der Schutz dieser Vakzine wird hauptsächlich über die Bildung von nAK vermittelt (ZINKERNAGEL et al., 2001). Dem widersprechend zeigen BILODEAU et al. (1994), dass spezifische Antikörper sowie Virus über mehrere Wochen koexistieren können. Verschiedene Studien zeigen zudem, dass oftmals die PRRS-Virämiephase schon vor dem Auftreten von nAK beendet ist (NELSON et al., 1994; MATEU und DIAZ, 2008). Ein durch nAK vermittelter Schutz gegen eine PRRSV-Infektion ist also nicht zwangsläufig gegeben (NELSON et al., 1994). Ein Erklärungsansatz für die Ineffizienz dieser nAK ist die Bildung von Escape-Mutanten (ROWLAND et al., 1999), diese entziehen sich durch antigene Selektion der Immunantwort (TRUYEN, 2011). Diese Theorie kann allerdings weder experimentell noch in

Feldstudien bewiesen werden (ROWLAND et al., 1999; STORGAARD et al., 1999; CHANG et al., 2002). Auch das Phänomen der infektionsverstärkenden Antikörper (ADE = antibody dependent enhancement) steht im Verdacht, die PRRSV-Infektion der Alveolarmakrophagen zu steigern und somit auch die Dauer der Virämie zu erhöhen (YOON et al., 1996; YOON et al., 1997; TIRADO und YOON, 2003). SHIBATA et al. (1998) zeigen, dass die PRRSV-Virämiephase bei Ferkeln mit maternalen Antikörpern im Vergleich zu spezifisch pathogen freien (SPF)-Ferkeln ohne maternale Antikörper verlängert ist. Diese verlängerte Dauer der Virämie unterstützt die Hypothese, dass eine PRRSV-Infektion von ADE beeinflusst wird (SHIBATA et al., 1998). MURTAUGH und GENZOW (2011) sehen die Relevanz, die ADE bei einer PRRSV-Infektion spielt, als fragwürdig an da es keine gesicherten Berichte darüber gibt, dass es durch eine Impfung mit modifizierten attenuierten Lebendvakzinen (MLV) zu schwerer verlaufenden PRRS Ausbrüchen gekommen ist.

Die zellulär vermittelte Immunantwort (CMI = Cell-mediated immunity) ist wie die humorale Immunantwort ebenfalls Teil der adaptiven Immunantwort und spielt eine große Rolle bei der PRRSV-Infektion (MATEU und DIAZ, 2008). Das von den T-Helferzellen sezernierte Zytokin IFN- γ ist hierbei von zentraler Bedeutung (LOPEZ FUERTES et al., 1999; DIAZ et al., 2006). IFN- γ hat neben seiner immunmodulatorischen auch eine antivirale Wirkung (ALBER et al., 2011). MEIER et al. (2003) zeigen, dass sich PRRSV-spezifische IFN- γ -produzierende Zellen erst in der dritten Woche post vaxinationem detektieren lassen. DIAZ et al. (2005) und DIAZ et al. (2006) kommen nach Vakzination mit europäischen Stämmen zu ähnlichen Ergebnissen. Dieser unübliche Verlauf der adaptiven Immunantwort auf eine PRRSV-Infektion stützt die Vermutung, dass das PRRS-Virus die Immunreaktion auf die Infektion stark beeinflusst (MATEU und DIAZ, 2008). Vergleicht man die IFN- γ -Gehalte in Schweinelungen bei verschiedenen Infektionskrankheiten, so ist auffällig, dass die IFN- γ -Gehalte bei einer PRRSV-Infektion im Vergleich zu den IFN- γ -gehalten bei Infektionen mit Porcinen Coronaviren oder Schweineinflenzaviren am niedrigsten sind (VAN REETH et al., 1999).

Der exakte Mechanismus mit dem das PRRSV die IFN- γ -Produktion hemmt ist unklar (LEE und KLEIBOEKER, 2005), jedoch unterscheiden sich die verschiedenen PRRSV-Isolate in ihrer Fähigkeit die IFN- γ -Produktion zu hemmen (LEE et al., 2004).

8 Diagnostik

8.1 Direkter Erregernachweis

Das PRRS-Virus lässt sich durch die In-situ-Hybridisierung (LAROCHELLE et al., 1996; SUR et al., 1996), die Immunhistochemie (MAGAR et al., 1993; HALBUR et al., 1995; ROSSOW et al., 1996), den direkten Immunfluoreszenztest (BENFIELD et al., 1992), die Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettreaktion (RT-PCR) (MARDASSI et al., 1994; OLEKSIEWICZ et al., 1998), die real-time-RT-PCR (EGLI et al., 2001; CHUNG et al., 2005; BALKA et al., 2009) und durch Anzucht in Zellkulturen (KIM et al., 1993) nachweisen. Die PCR-Testverfahren zeichnen sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität aus und haben sich daher als Standardverfahren beim direkten Erregernachweis etabliert (BENSON et al., 2002; HORTER et al., 2002; GROSSE BEILAGE et al., 2013). Mittlerweile haben sich die real-time-RT-PCR Verfahren wie die TaqMan™ PCR gegenüber den konventionellen PCR-Verfahren durchgesetzt, da diese zuverlässiger und zeitsparender sind (EGLI et al., 2001). Ebenso kann mit diesem Verfahren die Gefahr der Kreuzkontamination reduziert werden (EGLI et al., 2001). Der direkte Erregernachweis mittels PCR gelingt sowohl aus Organmaterialien (Lunge, Lymphknoten), als auch aus Flüssigkeiten (Bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit, Serum, Fleischsaft, Speichel, Sperma) (GROSSE BEILAGE et al., 2013).

8.2 Indirekter Erregernachweis

Für den serologischen Nachweis von PRRSV-Antikörpern stehen folgende Testverfahren zur Verfügung:

Indirekter Immunfluoreszenztest (YOON et al., 1992), Immunperoxidase Monolayer Assay (WENSVOORT et al., 1991; DREW et al., 1995), Serumneutralisationstest (YOON et al., 1994) und der Enzyme-Linked

Immunosorbent Assay (ELISA) (ALBINA et al., 1992; CHO et al., 1996; FERRIN et al., 2004). Der kommerzielle ELISA (HerdChek® X3 PRRS ELISA, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME) hat sich aufgrund seiner Automatisierbarkeit, Spezifität und Schnelligkeit als Standardverfahren in der Routinediagnostik durchgesetzt (ZIMMERMAN et al., 2012). Die Interpretation solcher ELISA-Ergebnisse ist jedoch mit einigen Einschränkungen verbunden (ZIMMERMAN et al., 2012). Zwar können mit diesem ELISA-Testverfahren sowohl Antikörper vom Genotyp 1 als auch vom Genotyp 2 erfasst werden, eine Differenzierung zwischen diesen beiden Genotypen ist jedoch nicht möglich (PLAGEMANN, 2006; ZIMMERMAN et al., 2012). Durch Entwicklung von tandem PRRS-ELISA Verfahren ist die Differenzierung zwischen Antikörper vom Genotyp 1 und Genotyp 2 inzwischen möglich (SEUBERLICH et al., 2002). Mit den serologischen Testverfahren, die sich in der Routinediagnostik etabliert haben, ist es nicht möglich zwischen Impfantikörpern, maternal bedingten Antikörpern und durch eine Feldvirusinfektion hervorgerufenen Antikörpern zu unterscheiden (ZIMMERMAN et al., 2012). Bei PRRSV kann bei mehrfacher Exposition mit einem homologen Erregerstamm eine detektierbare Serokonversion ausbleiben, so dass diese Tiere im ELISA negativ bleiben (MEIER et al., 2000; GROSSE BEILAGE et al., 2013).

9 Bekämpfung

9.1 Vakzination

In Deutschland sind derzeit sieben Impfstoffe gegen das PRRS-Virus zugelassen (Tabelle 1). Es wird zwischen modifizierten, attenuierten Lebendvakzinen (MLV) und Totvakzinen unterschieden (HU und ZHANG, 2014). Totvakzine sind im Vergleich zu MLV-Vakzinen in ihrer Effektivität begrenzt (MENG, 2000; SCORTTI et al., 2007; ZUCKERMANN et al., 2007; KIM et al., 2011; HU und ZHANG, 2014). Jedoch können sie in bereits endemisch PRRSV-infizierten Herden einen gewissen Schutz vermitteln (PAPATSIROS et al., 2006).

Laut ZUCKERMANN et al. (2007) kann durch MLV eine protektive Immunität gegenüber homologen PRRSV-Isolaten vermittelt werden. Ebenso kann durch eine Vakzinierung mit MLV die Virusscheidung

reduziert werden (CANO et al., 2007a; CANO et al., 2007b; LINHARES et al., 2012). SCORTTI et al. (2006b) zeigen, dass eine Sauenimpfung mit MLV eine Virämie verhindern kann und die Anzahl von totgeborenen sowie in den ersten Lebenstagen verendeten Ferkeln reduziert wird. Die Saugferkel die von MLV-vakzinierten Müttern geboren werden, haben ein höheres Geburtsgewicht und eine höhere Überlebensrate bis zum Absetzen (SCORTTI et al., 2006b). Eine Vakzination mit MLV führt ferner bei PRRSV-infizierten Sauen zur einer Reduktion der Abort- und Umrauschquote sowie zu einer Steigerung der Abferkelrate (ALEXOPOULOS et al., 2005; PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL, 2006). Werden Aufzuchtferkel mit MLV vakziniert, wird dadurch die Virämie vermindert und es kommt zur einer Reduzierung der PRRSV-bedingten Atemwegserkrankungen, sowie zur einer Verbesserung der Tageszunahmen (CHARERNTANTANAKUL et al., 2006; CANO et al., 2007a; CANO et al., 2007b). Während eines akuten PRRS-Ausbruchs hilft die MLV-Vakzinierung bei endemisch infizierten Schweinen die Virusausscheidung und das Auftreten von respiratorischen Erkrankungen zu reduzieren und führt zu einer Erhöhung der Mastleistung (CANO et al., 2007a; CANO et al., 2007b; KRITAS et al., 2007). MLV-Vakzine stellen in der veterinärmedizinischen Praxis ein wichtiges Werkzeug dar, um PRRSV-Infektionen auf der Herdenebene zu kontrollieren (PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL, 2006).

Gegenüber heterologen Isolaten variiert jedoch der Schutz der durch eine MLV-Vakzinierung vermittelt wird (MURTAUGH et al., 2002; LABARQUE et al., 2004; DIAZ et al., 2006; CANO et al., 2007a; MARTELLI et al., 2007; OKUDA et al., 2008; MARTELLI et al., 2009). Auch ist es mit keiner der aktuell verfügbaren Vakzinen möglich, eine respiratorische Infektion, eine diaplazentare Übertragung, eine Übertragung zwischen den Schweinen wie auch eine Reinfektion vollständig zu unterbinden (NODELIJK et al., 2001; LABARQUE et al., 2003b; KIMMAN et al., 2009). BØTNER et al. (1997), MADSEN et al. (1998), OLEKSIEWICZ et al. (1998) und STORGAARD et al. (1999) zeigen, dass die ursprünglich apathogene MLV-Vakzine durch Replikation in vakzinierten Schweinen in einen pathogenen Genotyp revertieren kann.

Tabelle 1 In Deutschland zugelassene PRRS-Impfstoffe (Stand 02/2016)

Typ	Attenuierte Lebendvakzine						Totvakzine	
	Porcilis® PRRS	Unistrain® PRRS	Ingelvac® PRRS MLV	ReproCyc® PRRS EU	Ingelvac® PRRSFLEX EU	Progressis® PRRS	Ingelvac® PRRS KV	
Zulassungs- inhaber	Intervet Deutschland GmbH	HIPRA Deutschland GmbH	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH	MERIAL GmbH	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH	
Genotyp	EU (TYP 1)	EU (TYP 1)	NA (TYP 2)	EU (TYP 1)	EU (TYP 1)	EU (TYP 1)	EU (TYP 1)	
Stamm	DV	VP-046 BIS	ATCC VR 2332	94881	94881	P 120	P 120	
Zulassungs- datum	11/2000	03/2013	07/1999	03/2015	03/2015	11/2000	11/2000	

9.2 Sanierung

Eine erfolgreiche Elimination von PRRSV auf Herdenebene kann durch ein frühes Absetzen der Saugferkel und einer anschließenden getrennten Aufzucht (Segregated Early Weaning) erreicht werden, da damit die PRRSV-Infektionsketten unterbrochen werden (RAJIC et al., 2001). Durch eine komplette Räumung der Ferkelaufzucht (Nursery Depopulation) ist es möglich, PRRSV wirksam aus der Ferkelaufzucht und der Mast zu eliminieren (DEE et al., 1993).

Die komplette Räumung des Bestandes mit darauffolgenden Einstellen von PRRSV-negativen Schweinen („Whole Herd Depopulation and Repopulation“), stellt eine sehr effektive aber auch kostspielige Methode der PRRSV-Sanierung dar (CORZO et al., 2010). Diese Methode ist für Betriebe eine Option, in denen verschiedene PRRSV-Stämme zirkulieren und in denen noch eine Vielzahl von anderen Erkrankungen im Bestand vorkommen (CORZO et al., 2010; ZIMMERMAN et al., 2012).

Das sogenannte Test and Removal Verfahren basiert auf Untersuchungen der gesamten Herde mittels ELISA und RT-PCR und anschließender Keulung der positiven Tiere (DEE und MOLITOR, 1998; DEE et al., 2001; DEE, 2004). Im Anschluss wird ein serologisches Monitoring in vier wöchigen Intervallen über einen Zeitraum von 12 Monaten durchgeführt (DEE et al., 2001; DEE, 2004). Um die wirtschaftlichen Verluste bei diesem Verfahren gering zu halten, beschreiben DEE et al. (2000) eine niedrige Seroprävalenz von unter 15 % als Voraussetzung für die Durchführbarkeit dieses Protokolls.

Das Herd Closure Verfahren basiert auf der Tatsache, dass PRRSV nicht in einer immunen Herde persistieren kann (TORREMORELL et al., 2003; MOLINA et al., 2008) und sieht zunächst eine Schließung des Bestandes über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten vor (TORREMORELL et al., 2003; GROSSE BEILAGE et al., 2013). In dieser Zeit werden weder Jungsauen noch Eber zur Remontierung zugekauft (TORREMORELL et al., 2003; GROSSE BEILAGE et al., 2013). Dies hat zur Folge, dass nur noch immune Tiere im Bestand sind und somit dem PRRSV-Erreger die Replikationsgrundlage genommen wird (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Ist eine stabile Immunitätslage im Bestand

geschaffen, beginnt die natürliche oder forcierte Remontierung der Altsauen. Diese werden dann durch PRRSV-freie Jungsaugen ersetzt, die dann auch als Indikatortiere fungieren (CORZO et al., 2010; GROSSE BEILAGE et al., 2013). Vorteil bei diesem Verfahren sind die geringeren Kosten und der geringere Aufwand etwa im Vergleich zum Test and Removal Verfahren (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Allerdings wird der Bestand durch das langsamere Ausscheiden potentiell infizierter Altsauen über einen längeren Zeitraum einem Infektionsrisiko ausgesetzt (GROSSE BEILAGE et al., 2013) und es sollte nach Möglichkeit eine räumliche Trennung zwischen den verschiedenen Produktionszweigen (Abferkelställe, Ferkelaufzuchtställe, Mastställe) vorliegen (TORREMORELL et al., 2003).

Die Kombination aus Impfmaßnahmen mit MLV-Vakzinen und einer in eine Richtung verlaufenden Tierbewegung (Unidirectional pig flow), ist ebenfalls als eine erfolgreiche Eliminationsmethode beschrieben (DEE und PHILIPS, 1998). VOGLMAYR et al. (2006) kombinieren die Maßnahmen der gezielten MLV-Vakzinierung mit dem Unidirectional pig flow und dem Herd Closure Verfahren und können so in einem geschlossenen Betrieb den PRRSV-Erreger eliminieren ohne dabei die Produktion unterbrechen zu müssen.

III MATERIAL UND METHODEN

1 Zielsetzung

Ein Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, in den 15 untersuchten Betrieben den im November 2012 beginnenden und bis zu 15 Wochen andauernden PRRS-Ausbruch zu beschreiben. Hierzu wurden die über einen Zeitraum von sechs Monaten (Dezember 2012 bis Juni 2013) auf den untersuchten Betrieben erfassten Leistungsdaten ausgewertet. Anhand dieser Leistungsdaten erfolgten eine Kategorisierung und ein Vergleich mit dem PRRS-Status (PRRS-Nichtimpfbetrieb; PRRS-Impfbetrieb) vor der PRRS-Ausbruchsphase.

Der auf den Betrieben erhobene Fragebogen diente als Grundlage für die Einteilung der Betriebe in Tiergesundheit-Score-Kategorien. Anhand dieser Kategorien fand ein Vergleich der Betriebe hinsichtlich des PRRS-Impfschemas nach der PRRS-Ausbruchsphase statt.

Ein weiteres Ziel der eigenen Untersuchungen stellte die Erhebung des PRRS-Status etwa ein Jahr nach dem PRRS-Ausbruch bei Saugferkeln in der Zeit kurz vor dem Absetzen (dritte bis vierte Lebenswoche), bei Aufzuchtferkeln in der mittleren (fünfte bis neunte Lebenswoche) und der letzten (achte bis 13. Lebenswoche) Aufzuchtphase dar. Zu diesem Zweck wurde die PRRSV-Seroprävalenz in der Ferkelaufzucht erhoben und eine molekularbiologische Untersuchung auf PRRSV bei Saug- und Aufzuchtferkeln durchgeführt. Die Detektion des aus einer süddeutschen Eberstation stammenden und für den Ausbruch verantwortlichen Feldisolats (Eberstation-PRRS-Feldisolat) stellte einen weiteren Punkt der eigenen Untersuchungen dar. Hierzu wurden die nachgewiesenen Stämme phylogenetisch kategorisiert. In den Betrieben in denen das Eberstation-PRRS-Feldisolat detektiert werden konnte, erfolgte ein Vergleich zu den erhobenen Tiergesundheit-Score-Kategorien.

2 Untersuchte Betriebe

Insgesamt befanden sich 13 der 15 untersuchten Betriebe in Baden-Württemberg und zwei in Bayern. Alle Betriebe bezogen ihr Sperma von der in Süddeutschland liegenden Eberstation. In den Betrieben wurde während der PRRS-Ausbruchsphase eine Sequenzierung durchgeführt. Nach erfolgreicher Sequenzierung wurde eine Stammbaumanalyse durchgeführt. Es wurden die PRRS-Impfmaßnahmen vor Ausbruch, der klinische Verlauf der PRRSV-Infektion und das PRRS-Impfschema in den verschiedenen Betrieben während und nach dem Ausbruch erfasst.

Bei den untersuchten Betrieben handelte es sich um zwei Ferkelerzeugerbetriebe ohne angeschlossene Aufzucht (=Babyferkelerzeuger), acht Ferkelerzeugerbetriebe mit angeschlossener Aufzucht und fünf geschlossene Betriebe. In den untersuchten geschlossenen und Ferkelerzeugerbetrieben wurden zwischen 160 und 2000 Zuchtsauen gehalten. Die mittlere Betriebsgröße betrug 499 Zuchtsauen (Tabelle 2).

Tabelle 2 Bestandsgröße und Betriebsstruktur

Betriebe	Betriebsstruktur	Bestandsgröße Sauen (n)
2	Ferkelerzeuger	2000
3	Ferkelerzeuger	680
6	Ferkelerzeuger	400
9	Ferkelerzeuger	200
10	Ferkelerzeuger	490
11	Ferkelerzeuger	280
13	Ferkelerzeuger	280
15	Ferkelerzeuger	255
7	Babyferkelerzeuger	420
14	Babyferkelerzeuger	235
1	geschlossen	250
4	geschlossen	180
5	geschlossen	450
8	geschlossen	1200
12	geschlossen	160

3 Während der PRRS-Ausbruchphase erhobene Leistungsdaten

Die über einen Zeitraum von sechs Monaten (Dezember 2012 bis Juni 2013) erhobenen Leistungsdaten (Sauenverluste, Aborte, tot geborene Ferkel, Saugferkelverluste, Aufzuchtferkelverluste) waren Teil der eigenen Auswertung.

Zur Kategorisierung der Leistungsdaten wurden zunächst auf Betriebsebene die durchschnittlichen Verluste (Sauenverluste, Aborte, tot geborene Ferkel, während der Säugephase verendete Ferkel, während der Aufzuchtphase verendete Ferkel) pro Sau ermittelt und anschließend betriebsübergreifend der Mittelwert für alle ausgewerteten Leistungsdaten erhoben. Von diesem Mittelwert ausgehend wurden die Leistungsdaten in eine untere und eine obere Leistungskategorie eingeteilt. In Betrieb 9 wurden in der Ferkelaufzucht keine Leistungsdaten erhoben.

4 Fragebogen zur Ermittlung der Tiergesundheits-Score-Kategorien

Die herdenspezifischen Daten der Betriebe nach dem Ausbruchsgeschehen wurden vom Februar 2014 bis zum April 2014 durch eine persönliche Befragung anhand eines Fragebogens und durch eine darauf folgende Bestandsbegehung ermittelt. Der von der American Association of Swine Veterinarians, im Rahmen des Production Animal Disease Risk Assessment Programs, erstellte Fragebogen (HOLTKAMP et al., 2011) diente als Grundlage für die Erstellung des eigenen Fragebogens.

Um die auf den Betrieben erhobenen herdenspezifischen Daten zu gewichten, wurden jeder Antwort aus dem Fragebogen Scorepunkte zugeteilt. Ein besonderes Augenmerk lag hierbei bei den Betriebsmanagementfaktoren, auf den Zukaufsmodalitäten (Jungsauenzukauf, Tiertransport) und den Quarantänemaßnahmen. Unter dem Punkt der baulichen Voraussetzungen war besonders der Punkt der räumlichen Trennung der Sauenhaltung von der Ferkelaufzucht für das Scoring relevant. Unter dem Punkt Biosecurity waren die Reinigungs- und

Desinfektionsmaßnahmen der Sauen- und der Ferkelaufzuchtställe für die Auswertung von besonderer Relevanz. Die Betriebe ohne angeschlossene Ferkelaufzuchtställe erhielten bei den die Ferkelaufzucht betreffenden herdenspezifischen Daten die maximal zu erreichende Scorepunktzahl (Tabelle 3).

Tabelle 3 Schema der Punkteverteilung des Fragebogenscores

Herdenspezifische Daten	Punkte	Punkte max
Jungsauen		
Zukauf	2	2
Eigenremontierer	0	
Quarantäne \geq sechs Wochen		
ja	2	2
nein	0	
Räumliche Trennung Sauen/Ferkel¹		
zusammen	0	2
getrennt	2	
Entfernung nächster Betrieb		
$\leq 0,5$ km	0	0,75
0,5 – 1 km	0,25	
>1 – 3,3 km	0,5	
> 3,3 km	0,75	
Entfernung Fernverkehrsstraße		
$\leq 0,5$ km	0	0,75
0,5 – 1 km	0,25	
>1 – 3,3 km	0,5	
> 3,3 km	0,75	
Tierkörperbeseitigung		
Lagerplatz betriebsextern	0,5	0,5
Lagerplatz betriebsintern	0	
Futtermühlenfahrzeug auf Hofgelände		
ja	0	0,5
nein	0,5	
Tiertransport Schweine im Fahrzeug		
ja	0	2
nein	2	
Zugang anderer Tierarten²		
ja	0	0,5
nein	0,5	

Trennung rein/unrein		
ja	2	2
nein	0	
Rein-Raus-Duschen Pflicht		
ja inkl. betriebseigene Personen	2	2
ja exkl. betriebseigene Personen	1	
nein	0	
Straßenkleidung im unreinen Bereich		
ja	1	1
nein	0	
Vorkommen von Schadnagern		
ja	0	0,5
nein	0,5	
R+D Abferkelställe		
R+D	2	2
keine oder unregelm. R+D	0	
nur Reinigung	1	
R+D Aufzuchtställe		
R+D	2	2
keine oder unregelm. R+D	0	
Gruppengröße Sauen		
≤ 20 Sauen	0,5	0,5
> 20 Sauen	0	
Gruppengröße FAZ		
≤ 50 Ferkel	0,5	0,5
> 50 Ferkel	0	
Krankenabteil in FAZ		
ja	1	1
nein	0	
Gesamt max		22,5

¹Räumliche Trennung der Sauen- und Ferkelaufzuchtställe; ²Zugang von Haustieren (z.B. Hund, Katze)

5 Durchführung der Blutprobenentnahme

Etwa ein Jahr nach dem Ausbruchsgeschehen erfolgte an einem einzelnen Besuchstermin die Blutprobenentnahme. Die Probengewinnung begann im Februar 2014 und endete im April 2014. Es wurden pro Betrieb insgesamt 30 Saugferkel von zehn Sauen (drei Saugferkel pro Wurf) in der dritten bis vierten Lebenswoche beprobt. Ebenso wurde in den Betrieben mit Ferkelaufzucht Blutproben von jeweils zehn Tieren aus der

mittleren (fünfte bis neunte Lebenswoche) und zehn Tieren aus der letzten Aufzuchtphase (achte bis 13. Lebenswoche) entnommen.

Die Blutentnahme bei den Saugferkeln erfolgte durch Punktion der *Vena cava cranialis*, auf der rechten Körperseite. Hierzu fixierte eine Hilfsperson die Saugferkel in Rückenlage. Bei den verwendeten Kanülen handelte es sich um 0,8 x 40 mm große Einmalkanülen (Sterican[®] Fa. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz).

Die Tiere aus der mittleren Aufzuchtphase wurden ebenfalls durch eine Hilfsperson in Rückenlage fixiert und durch Punktion der rechten *Vena jugularis externa* Blut entnommen. Die Tiere der letzten Aufzuchtphase wurden mit einer Oberkieferschlinge fixiert. Bei diesen Tieren diente ebenfalls die rechte *Vena jugularis externa* der Blutgewinnung. Bei Tieren in der mittleren und letzten Aufzuchtphase wurden zur Blutgewinnung 1,1 x 50 mm große Einmalkanülen (Sterican[®] Fa. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz) verwendet. Bei den zur Verwendung gekommenen Serummonovetten handelte es sich um 10 ml Primavetten[®] V (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth).

5.1 Bearbeitung und Asservierung der Blutproben

Die Bearbeitung der gewonnenen Blutproben erfolgte im hämatologischen Labor der Klinik für Schweine der Ludwigs-Maximilians-Universität (LMU) München. Zur Serumgewinnung wurden die Blutproben für zehn Minuten bei 3.000 U/min in eine Hettich[®] Rotanta 460R Zentrifuge (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen) zentrifugiert. Im Anschluss wurde das gewonnene Serum durch Verwendung einer 1.000 µl Pipette in zwei 1,5 ml Eppendorf Safe-Lock Tubes (Eppendorf AG, Hamburg) überführt. Bei den Serumproben der Saugferkel wurde pro Betrieb jeder Wurf mit einer 200 µl Pipette in einen Pool zusammengefasst (10 Poolproben a' drei Saugferkel). Die Poolproben der Aufzuchttiere bestanden aus Serumproben von zehn Tieren aus der mittleren und zehn Tieren aus der letzten Aufzuchtphase. Diese wurden ebenfalls mit einer 200 µl Pipette jeweils in zwei Poolproben a' fünf Tiere in 1,5 ml Eppendorf Safe-Lock Tubes (Eppendorf AG, Hamburg) überführt. Bis zur weiteren

serologischen und molekularbiologischen Untersuchung wurden die Proben bei -22°C tiefgefroren.

6 Laboruntersuchungen

6.1 Direkter PRRSV-Nachweis

Der Nachweis spezifischer PRRSV-Genomfragmente in den Serum-Poolproben erfolgte mithilfe des real-time-RT-PCR Verfahrens am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionskrankheiten und Zoonosen der LMU München. Bei positivem Befund wurden die Poolproben aufgelöst und durch ein erneutes real-time-RT-PCR Verfahren wurden die PCR-positiven Einzelproben ermittelt. Ab einem CT-Wert von ≥ 40 wurde das Ergebnis als fraglich definiert. Alle CT-Werte < 40 wurden als positiv definiert.

Die am Lehrstuhl für Virologie des Instituts für Infektionskrankheiten und Zoonosen der LMU München verwendete real-time-RT-PCR basiert auf dem Protokoll nach KLEIBOEKER et al. (2005). Bei diesem PCR Verfahren handelt es sich um eine real-time (*TaqMan*) Reverse Transkriptase (RT)-PCR. Diese ermöglicht die multiplex Detektion sowie die Differenzierung und Quantifizierung von Genotyp 1 und Genotyp 2 PRRSV-Isolaten (KLEIBOEKER et al., 2005). Die Virusextraktion erfolgte nach Herstellerangaben mit dem kommerziell erhältlichen High Pure Viral Testkit (F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Schweiz). Der Pipetierroboter Microlab[®] Star^{Let} (Hamilton Life Science Robotics GmbH, Martinsried, Deutschland) übernahm dabei die Schritte der Aufreinigung und der Extraktion der Virus-RNA. Für die Amplifizierung der extrahierten Virus-RNA wurde das virotype[®] PRRSV real-time-RT-PCR-Testkit (Qiagen, Hilden) verwendet. Mit dieser Amplifikationsmethode ist es möglich zwischen Genotyp 1 und Genotyp 2 Isolaten zu differenzieren. Die Primer (Tabelle 4) und TaqMan-Sonden (Tabelle 5) dieses PCR Verfahrens basieren auf den hochkonservierten Nukleotidsequenzen der ORF7. Die Primer amplifizieren dabei bei PRRSV Genotyp 1 ein Fragment von 77 Basenpaaren (bp) und bei PRRSV Genotyp 2 ein Fragment von 114 bp. Für eine Quantifizierung und Differenzierung zwischen Genotyp 1 und

Genotyp 2 sind die TaqMan Sonden mit Fluoreszenzfarbstoff markiert (6 Fam für Genotyp 1, HEX für Genotyp 2). Je 5 µl Nukleinsäureextrakt kamen zusammen mit 12,5 µl Mastermix, 3,25 µl RNase-freien Wasser, 2 µl EU-PRRSV-Mix, 2 µl US-PRRSV-Mix, 0,25 µl RT-Mix in den PCR-Thermo-Cycler (Stratagene Mx 3000 P / Mx 3005 P, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Böblingen, Deutschland). Da sich RNA nicht direkt in der PCR amplifizieren lässt, musste im PCR-Thermo-Cycler zunächst für 30 Minuten bei 50 °C die Reverse Transkription erfolgen, um eine komplementäre DNA zu erhalten. Darauf folgend fand für 15 Minuten bei 95 °C die initiale Denaturierung (Polymeraseaktivierung) statt. Im Anschluss begannen 42 Zyklen, die jeweils aus einer Denaturierung für 30 Sekunden bei 94 °C, einem Annealing (=Primer Anlagerung) und einer Elongation (Synthese) für 60 Sekunden bei 60 °C bestanden.

Tabelle 4 Primer nach KLEIBOEKER et al. (2005), die fett markierten Nukleotide weichen von den publizierten Sequenzfragmenten ab

NA-PRRSV	Vorwärtsprimer 1	5'-ATG ATG RGC TGG CAT TCT-3'
	Vorwärtsprimer 2	5'-ATR ATG RGC TGG CAT TCC-3'
	Rückwärtsprimer	5'-ACA CGG TCG CCC TAA TTG-3'
EU-PRRSV	Vorwärtsprimer	5'-GCA CCA CCT CAC CCR RAC-3'
	Rückwärtsprimer	5'-CAG TTC CTG CRC CYT GAT- 3'

Tabelle 5 TaqMan Sonden nach KLEIBOEKER et al. (2005), die fett markierten Nukleotide weichen von den publizierten Sequenzfragmenten ab

Sonde	Fluorophor	Sequenzfragmente	Quencher
NA-PRRSV	5'-HEX-	TGTGGTGAATGGCACTGATTGACA	-BHQ2-3'
EU-PRRSV	5'-6-FAM-	CCTCTGYTGCATCGATCCAGAC	-BHQ1-3'

6.2 Sequenzierung

Die Auswahl der geeigneten Proben für eine Sequenzierung erfolgte anhand der Höhe der CT-Werte. Pro Betrieb und Altersstufe (Saugferkel,

Aufzuchttiere) wurden die Proben mit den niedrigsten CT-Werten für eine Sequenzierung gewählt, da bei diesen die vermutlich höchste Viruslast zu finden war. Die Sequenzierungsanalyse übernahm der externe Dienstleister IVD GmbH (Gesellschaft für innovative Veterinär diagnostik, Hannover). Dort erfolgte die Interpretation Nukleotidsequenzanalyse, inklusive des Alignments der Referenzstämme mit dessen jeweiligen Genotyp. Für eine Sequenzierung wurden Teilabschnitte des ORF5-Gens herangezogen. Ab einer Sequenzidentität im Teilabschnitt des ORF5 von $\leq 98\%$ zu der EU-Referenzsequenz Lelystad und der NA-Referenzsequenz VR-2332 wurde das Isolat als Feldstamm definiert.

6.3 Sequenzvergleiche

An der Veterinärmedizinischen Universität Wien erfolgte ein phylogenetischer Vergleich in einem Teilabschnitt des ORF5 (606 bp). Als Referenzsequenzen dienten der europäische Impfstamm (DV), die EU-Referenzsequenz Lelystad, der nordamerikanische Impfstamm (ATCC VR 2332) sowie das Eberstation-PRRS-Feldisolat.

6.4 Indirekter PRRSV-Nachweis

Die Untersuchung auf PRRSV spezifische Antikörper fand im hämatologischen Labor der Klinik für Schweine der LMU München statt. Pro Betrieb wurden zehn Serumproben aus der mittleren und zehn Serumproben aus der letzten Ferkelaufzuchtphase serologisch untersucht. Zum Einsatz kam hierbei das indirekte ELISA Testverfahren IDEXX PRRS X3 (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA). Dieser Enzymimmunoassay dient dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das PRRS-Virus. Dieses Testkit kann sowohl für Serum als auch für Plasmaproben von Schweinen verwendet werden. Die Mikrotiterplatte ist dabei in den Vertiefungen mit rekombinanten PRRSV-Antigen beschichtet. Wenn in den Serum- oder Plasmaproben spezifische PRRSV-Antikörper vorhanden sind, bilden diese während der Inkubation einen Komplex mit dem beschichteten Virusantigen. Durch mehrere Waschvorgänge wird das ungebundene Material aus den Vertiefungen ausgewaschen. Im nächsten Schritt wird 100 μl des Konjugats (Anti-Schwein-IgG-Meerrettichperoxidase) in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte

hinzugegeben, dieses Konjugat verbindet sich nun mit den gebundenen Antikörpern. Durch erneute Waschvorgänge wird das nicht gebundene Konjugat entfernt. Im letzten Schritt wird in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte 100 µl des Substrates Tetramethylbenzidin hinzugegeben. Dieses wird nun von dem an dem Anti-Schwein-IgG gebundenen Marker-Enzym (= Meerrettichperoxidase) in einen photometrisch bestimmbaren Farbstoff umgewandelt. Diese Farbentwicklung ist proportional zur gebundenen Anti-PRRSV Antikörpermenge. Die Messung der Extinktionswerte (= optische Dichte) der Proben und der Kontrollen erfolgt bei einer Wellenlänge von 650 nm. Für die Interpretation der Ergebnisse wurde das P/PK-Verhältnis (Verhältnis Probe/Positive Kontrolle) ermittelt.

$$P/PK = \frac{P - NK (MW)}{PK (MW) - NK (MW)}$$

PK = Positivkontrolle NK = Negativkontrolle P = Probe MW = Mittelwert

Damit in diesem Testverfahren ein positiver PRRSV-Antikörpernachweis vorliegt muss das P/PK-Verhältnis $\geq 0,40$ (= Cut-off Wert) betragen.

Zur Validierung des Testverfahrens, muss der Mittelwert der beiden Negativkontrollen eine Extinktion von $\leq 0,150$ aufweisen. Zusätzlich müssen die Mittelwerte der beiden Positivkontrollen subtrahiert von den Mittelwerten, der beiden Negativkontrollen, eine optische Dichte von $\geq 0,150$ aufweisen.

Für die Durchführung dieses Enzymimmunoassays kam ein ThunderBolt[®] Pipetierautomat (GoldStandard Diagnostics, Davis, CA, USA) zum Einsatz.

6.5 Statistische Auswertung

Die statistische Datenauswertung wurde mit der Software IBM SPSS[®] Statistics für Microsoft Windows, Version 23.0 (IBM Corp., Armonk, USA) durchgeführt. Die Diagrammerstellung erfolgte mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Microsoft Excel 2010; Fa. Microsoft, Redmond, USA).

Für alle durchgeführten Testverfahren lag das Signifikanzniveau bei 5 % ($p = \text{kleiner als } 0,05$). Die Fragestellung war ob eine PRRS-Impfung bei

einer Feldinfektion einen klinischen Schutz vermittelt. Die Nullhypothese basierte auf der Annahme, dass kein Unterschied zwischen den vor der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Nichtimpfbetrieben und den vor der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Impfbetrieben bestand. Eine weitere Fragestellung war ob eine PRRS-Impfung die Feldviruspersistenz verhindert. Die zweite Nullhypothese stützte sich auf der Annahme, dass keine Unterschiede hinsichtlich der Feldviruspersistenz, zwischen den nach der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Sauen-impfenden und den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben bestanden.

Der Test auf Normalverteilung zwischen den Gruppen (PRRS-Nichtimpfbetrieb; PRRS-Impfbetrieb) erfolgte mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests. Die Variablen (Sauenverluste, Aborte, tot geborene Ferkel, während der Säugephase verwendete Ferkel) waren normalverteilt und wurden anhand des T-Testverfahrens zwischen den Gruppen (PRRS-Nichtimpfbetrieb; PRRS-Impfbetrieb) verglichen. Die Variable (während der Aufzuchtphase verwendete Ferkel), war nicht normal verteilt. Anhand des Mann-Whitney-U Testverfahrens erfolgte ein Vergleich dieser Daten in Abhängigkeit der Gruppen (PRRS-Nichtimpfbetrieb; PRRS-Impfbetrieb).

Auf Grundlage der betriebsindividuellen durchschnittlichen Leistungsdaten wurde der betriebsübergreifende Mittelwert in Abhängigkeit zum PRRS-Status vor der PRRS-Ausbruchsphase (PRRS-Nichtimpfbetrieb; PRRS-Impfbetrieb) erhoben. Die mittleren Leistungsdaten dienten weiterhin der Kategorisierung der untersuchten Betriebe. Anhand dieser erhobenen Mittelwerte und Leistungskategorien wurde die Häufigkeitsverteilung zwischen den vor der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Nichtimpfbetrieben und den PRRS-Impfbetrieben ermittelt und mittels Chi-Quadrat-Tests ausgewertet. Bei den betriebsübergreifenden Mittelwerten der Leistungsdaten erfolgte zudem die Angabe der Standardabweichung ($= \pm$). Bei einer Stichprobengröße unter fünf wurde der exakte Test nach Fisher verwendet.

Die qualitative Auswertung der molekularbiologischen und serologischen Untersuchungsergebnisse wurde in Abhängigkeit der Gruppen (PRRS-Sauen-impfende und PRRS-Sauen+Ferkel-impfende Betriebe) mit Hilfe

des Chi-Quadrat-Tests ermittelt. Zusätzlich erfolgte bei diesen Kreuztabellen eine Chancenberechnung (Odds Ratio).

Die molekularbiologischen Ergebnisse (CT-Werte) der Gruppen PRRS-Feldisolate und PRRS-Impfstämme waren normalverteilt und wurden mit Hilfe des T-Testverfahrens miteinander verglichen. Bei der Angabe der Mittelwerte wurde zudem die Standardabweichung (\pm) sowie der Minimal- und Maximalwert angegeben.

Auf Grundlage des erhobenen Tiergesundheit-Scores wurde der betriebsübergreifende Medianwert errechnet. Anhand dieses Medianwerts erfolgte die Einteilung der Betriebe in eine Tiergesundheit-Score-Kategorie 1 = hoher Gesundheitsstatus/gute Betriebshygiene und in eine Tiergesundheit-Score-Kategorie 0 = niedriger Gesundheitsstatus/schlechte Betriebshygiene.

IV ERGEBNISSE

1 Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS-Ausbruchsphase

In 13 der 15 untersuchten Betriebe konnte das aus der süddeutschen Eberstation stammende Eberstation-PRRS-Feldisolat entweder im Abortmaterial oder im Serum mittels Sequenzanalyse und nachfolgender phylogenetischer Kategorisierung nachgewiesen werden (Tabelle 6).

Tabelle 6 Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS-Ausbruchsphase

Betriebe	Sequenzanalyseergebnisse (Nukleotididentität EU-Impfstamm)				Phylogenetische Kategorisierung (Verwandtschaft zum Eberstation-PRRS-Feldisolat) %
	Abortmaterial %	Serum %			
		Sauen	Saugferkel	Aufzucht	
1		89,1-89,4			99,8-100
2		Seq. nicht erfolg. ¹			Seq. nicht erfolg.
3		Seq. nicht erfolg.			Seq. nicht erfolg.
4			89,1-89,4		99,8-100
5	89,4	89,1-89,4	89,1-89,4		99,8-100
6		89,0-89,1			99,8-100
7	89,3	89,1-89,3			99,8-100
8	n.n.	n.n.	89,1-89,4		99,8-100
9	89,3				99,8-100
10				89,1-89,4	99,8-100
11		88,0	88,2-88,6		99,8-100
12		89,0-89,3			99,8-100
13	n.n.	n.n.	89,3-89,4		99,8-100
14		88,5-89,1			99,8-100
15		89,3-89,4			99,8-100

¹Sequenzierung nicht erfolgreich

2 Aufteilung der Betriebe entsprechend des PRRS-Status vor der PRRS-Ausbruchsphase

Vor der PRRS-Ausbruchsphase führten sieben der 15 untersuchten Betriebe eine PRRS-Impfung mit der attenuierten Lebendvakzine Porcilis® PRRS (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) durch. Fünf Betriebe impften ihre Sauen terminorientiert (alle vier Monate) und zwei Betriebe impften ihre Sauen reproduktionsorientiert gegen PRRS(= PRRS-Impfbetriebe). Die restlichen acht Betriebe waren vorberichtlich vor dem PRRS-Ausbruch PRRS-unverdächtig und führten keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durch (PRRS-Nichtimpfbetriebe) (Tabelle 7).

Tabelle 7 PRRS-Status vor Ausbruch

PRRS-Status vor der Ausbruchsphase	Betriebe	Gesamt (n)
PRRS-Nichtimpfbetrieb	4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15	8
terminorientierte Sauenimpfung (= PRRS-Impfbetriebe)	1, 3, 7, 11, 13	5
reproduktionsorientierte Sauenimpfung (= PRRS-Impfbetriebe)	2, 10	2

3 Die PRRS-Ausbruchsphase

Vom 19. bis zum 27. November 2012 erfolgten in den untersuchten Betrieben die ersten Besamungen mit dem PRRSV-infiziertem Sperma aus der süddeutschen Eberstation. Erste PRRSV-typische klinische Anzeichen traten vom 23. November bis zum 11. Dezember 2012 in den untersuchten Betrieben auf. Ab dem 9. bis zum 22. Dezember 2012 kam es auf den 15 untersuchten Betrieben zu den ersten Aborten. Es wurden bis zu 15 Wochen lang andauernde klinische Verläufe beobachtet. Sowohl bei den Betrieben die vor der PRRS-Ausbruchsphase nicht gegen PRRS impften als auch bei den PRRS-Impfbetrieben konnten PRRSV-typische klinische Anzeichen beobachtet werden. Bei den Sauen äußerte sich eine

PRRSV-Infektion häufig durch hohes Fieber (bis 42 °C) und Anorexie. Weiterhin konnten PRRSV-typische reproduktive Störungen in Form einer erhöhten Spätabort- und einer erhöhten Umrauschrage beobachtet werden. Die neugeborenen Ferkel waren vermehrt lebensschwach. Des Weiteren kam es zu einem gehäuften Auftreten von tot geborenen Ferkeln. Bei den neugeborenen Ferkeln wurden vermehrt PRRSV-typische Anzeichen wie Ödeme im Bereich des Kopfes und aufgetriebene Schädeldecken beobachtet. In den Betrieben mit angeschlossener Ferkelaufzucht und in den geschlossenen Betrieben traten in der Ferkelaufzucht, beziehungsweise in der Ferkelaufzucht wie auch in der Mast, PRRSV-induzierte Atemwegserkrankungen klinisch in Erscheinung.

4 Leistungsdaten

4.1 Auswertung der Leistungsdaten zwischen den vor der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Nichtimpfbetrieben und den PRRS-Impfbetrieben

Es erfolgte ein Vergleich der erfassten Leistungsdaten (Sauenverluste, Aborte, tot geborene Ferkel, während der Säugephase und während der Aufzuchtphase verendete Ferkel), zwischen den Betrieben die vor Ausbruch nicht gegen PRRS impften und den PRRS-Impfbetrieben. Diese Leistungsdaten wurden über einen Zeitraum von sechs Monaten (Dezember 2012 bis Juni 2013) auf den untersuchten Betrieben erhoben.

Basierend auf den Daten der Tabelle 10 wurde der betriebsübergreifende Mittelwert der erfassten Leistungsdaten zwischen den PRRS-Nichtimpfbetrieben und den PRRS-Impfbetrieben verglichen. Des Weiteren erfolgte zu jedem betriebsübergreifenden Mittelwert der einzelnen Leistungsdaten die Angabe der Standardabweichung ($= \pm$). Bei den betriebsübergreifenden Mittelwerten der tot geborenen Ferkel konnten signifikante Unterschiede zwischen den PRRS-Nichtimpfbetrieben und den PRRS-Impfbetrieben ermittelt werden. Die PRRS-Nichtimpfbetriebe hatten einen signifikant ($p = 0,001$) höheren betriebsübergreifenden Mittelwert der durchschnittlich tot geborenen Ferkel im Vergleich zu den vor der PRRS-Ausbruchsphase bereits PRRS-impfenden Betrieben.

Der betriebsübergreifende Mittelwert bezüglich der während der Säugephase verendeten Ferkel war bei den vor der PRRSV-Infektion nicht gegen PRRS-impfenden Betrieben signifikant ($p = 0,003$) höher im Vergleich zu den Betrieben die vor der PRRS-Ausbruchsphase bereits gegen PRRS impften (Tabelle 8).

Tabelle 8 Leistungsdaten der Betriebe

PRRS-Status	Betriebe	Sauen (n)	Sauenverluste		Aborte		tot geborene Ferkel		verendete Ferkel (n)			
			(n)	% ¹	(n)	%	(n)	n/Sau ²	während Säugephase (n) n/Sau	während Aufzucht (n) n/Sau		
Nichtimpfbetrieb	4	180	2	1,1	1	0,6	319	1,8	295	1,6	86	0,5
Nichtimpfbetrieb	5	450	7	1,6	44	9,8	1483	3,3	335	0,7	143	0,3
Nichtimpfbetrieb	6	400	5	1,3	23	5,8	298	0,7	256	0,6	188	0,5
Nichtimpfbetrieb	8	1200	13	1,1	307	25,6	2335	1,9	560	0,5	269	0,2
Nichtimpfbetrieb	9	200	4	2,0	14	7,0	886	4,4	154	0,8		
Nichtimpfbetrieb	12	160	5	3,1	1	0,6	186	1,2	212	1,3	103	0,6
Nichtimpfbetrieb	14	235	7	3,0	1	0,4	720	3,1	180	0,8		
Nichtimpfbetrieb	15	255	0	0,0	0	0,0	876	3,4	262	1,0	254	1,0
MW ± SD				1,64^a ± 1,04		6,21^b ± 8,65		2,48^c ± 1,27		0,92^d ± 0,39		0,52^e ± 0,28
Impfbetrieb	1	250	8	3,2	44	17,6	70	0,28	40	0,16	180	0,72
Impfbetrieb	2	2000	2	0,1	3	0,2	121	0,06	123	0,06	21	0,01
Impfbetrieb	3	680	1	0,1	2	0,3	65	0,10	145	0,21	35	0,05
Impfbetrieb	7	420	8	1,9	60	14,3	375	0,89	48	0,11		
Impfbetrieb	10	490	0	0,0	2	0,4	134	0,27	178	0,36	38	0,08
Impfbetrieb	11	280	1	0,4	14	5,0	121	0,43	28	0,10	43	0,15
Impfbetrieb	13	280	3	1,1	34	12,1	292	1,04	250	0,89	249	0,89
MW ± SD				0,97^a ± 1,20		7,13^b ± 7,43		0,44^c ± 0,38		0,27^d ± 0,29		0,32^e ± 0,38
Signifikanz				a, a: p = 0,267		b, b: p = 0,832		c, c: p = 0,001		d, d: p = 0,003		e, e: p = 0,240

¹auf Sauengesamtheit bezogen; ²durchschnittlich pro Sau

4.2 Leistungskategorien

Die erhobenen Leistungsdaten wurden kategorisiert und zwischen den Betrieben die vor der PRRS-Ausbruchsphase bereits gegen PRRS impften (Betriebe 1, 2, 3, 7, 10, 11, 13) und den Betrieben (Betriebe 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15) die keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durchführten verglichen. Betrieb 15 fiel in die Sauenverlustkategorie von unter einem Prozent, die restlichen sieben Betriebe (Betriebe 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14) fielen in die Sauenverlustkategorie von über bzw. gleich einem Prozent. Von den sieben Betrieben die vor Ausbruch gegen PRRS impften, waren vier Betriebe (Betriebe 2, 3, 10, 11) in der Sauenverlustkategorie von unter einem Prozent und drei Betriebe (Betriebe 1, 7, 13) in der Sauenverlustkategorie von über bzw. gleich einem Prozent (Tabelle 9).

Von den acht Betrieben die vor der PRRS-Ausbruchsphase nicht gegen PRRS impften fielen fünf Betriebe (Betriebe 4, 6, 12, 14, 15) in die Abortkategorie von unter sieben Prozent und drei Betriebe (Betriebe 5, 8, 9) in die Abortkategorie von über bzw. gleich sieben Prozent. Von den sieben Betrieben die vor dem PRRS-Ausbruch gegen PRRS impften befanden sich vier Betriebe (Betriebe 2, 3, 10, 11) in der Abortkategorie von unter sieben Prozent und drei Betriebe (Betriebe 1, 7, 13) in der Abortkategorie von über bzw. gleich sieben Prozent (Tabelle 9).

Zwei der acht Betriebe (Betriebe 6, 12), die vor der PRRS-Ausbruchsphase nicht gegen PRRS impften waren in der Kategorie von unter 1,5 tot geborenen Ferkeln pro Sau und sechs Betriebe (Betriebe 4, 5, 8, 9, 14, 15) in der Kategorie von über bzw. gleich 1,5 tot geborenen Ferkeln pro Sau. Alle Betriebe (Betriebe 1, 2, 3, 7, 10, 11, 13) die vor der PRRS Ausbruchsphase die Sauen gegen PRRS impften waren in der Kategorie von unter 1,5 tot geborenen Ferkeln pro Sau. Die Betriebe, die schon vor dem PRRS-Ausbruch ihre Sauen gegen PRRS impften, fielen signifikant ($p = 0,007$) häufiger in die Kategorie von unter 1,5 tot geborenen Ferkeln pro Sau (Tabelle 9).

Von den acht Betrieben die vor der PRRS-Ausbruchsphase keine PRRS-Impfung durchführten befand sich ein Betrieb (Betrieb 8) in der Kategorie von weniger als 0,6 Saugferkelverlusten pro Sau und sieben Betriebe (Betriebe 4, 5, 6, 9, 12, 14, 15) in der Kategorie von über bzw. gleich 0,6

Saugferkelverlusten pro Sau. Von den sieben Betrieben die vor dem PRRS-Ausbruch gegen PRRS impften befanden sich sechs Betriebe (Betriebe 1, 2, 3, 7, 10, 11) in der Kategorie von unter 0,6 Saugferkelverlusten pro Sau und ein Betrieb (Betrieb 13) in der Kategorie von über bzw. gleich 0,6 Saugferkelverlusten pro Sau. Die Betriebe die vor dem PRRS-Ausbruch ihre Sauen gegen PRRS vakzinierten, fielen signifikant ($p = 0,010$) häufiger in die Kategorie von unter 0,6 Saugferkelverlusten pro Sau (Tabelle 9).

Zwei (Betriebe 7 und 14) der 15 untersuchten Ferkelerzeuger besaßen keine Ferkelaufzuchtställe. Bei einem Betrieb (Betrieb 9) wurden keine Daten über die Verluste während der Aufzuchtphase erhoben. Von den sechs Betrieben die vor dem PRRS-Ausbruch nicht gegen PRRS impften, hatten vier Betriebe (Betriebe 4, 6, 12, 15) über bzw. gleich 0,4 Aufzuchtferkelverluste pro Sau und zwei Betriebe (Betriebe 5, 8) weniger als 0,4 Verluste während der Aufzuchtphase. Von den sechs vor der PRRS-Ausbruchphase gegen PRRS-impfenden Betrieben fielen vier Betriebe (Betriebe 2, 3, 10, 11) in die Kategorie von weniger als 0,4 Aufzuchtferkelverlusten pro Sau und zwei Betriebe (Betriebe 1, 13) in die Kategorie von über bzw. gleich 0,4 Aufzuchtferkelverlusten pro Sau (Tabelle 9).

Tabelle 9 Leistungskategorien

PRRS-Status	Sauenverluste		Aborte		tot geborene Ferkel		verendete Ferkel			
	< 1 %	≥ 1 %	< 7 %	≥ 7 %	< 1,5/Sau	≥ 1,5/Sau	< 0,6/Sau	≥ 0,6/Sau	während Säugephase	während Aufzucht
Nichtimpfbetriebe	1/8	7/8	5/8	3/8	2/8	6/8	1/8	7/8	2/6	4/6
Impfbetriebe	4/7	3/7	4/7	3/7	7/7	0/7	6/7	1/7	4/6	2/6
Gesamt	5/15	10/15	9/15	6/15	9/15	6/15	7/15	8/15	6/12	6/12
Signifikanz p =	0,119		1,000		0,007		0,010			0,567

4.3 Aufteilung der Betriebe entsprechend des PRRS-Status vor der PRRS-Ausbruchsphase und dem PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase

Drei (Betriebe 5, 8 und 15) der acht Betriebe (Betriebe 4, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15) die vor der PRRS-Ausbruchsphase keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durchführten, etablierten nach dem PRRS-Ausbruch eine Sauen-Bestandsimpfung gegen PRRS. Die Betriebe 4, 6, 9 und 12 impften zudem die Saugferkel in der zweiten Lebenswoche gegen PRRS. Betrieb 14 wurde nach dem Herd-Closure Verfahren saniert und führte nach und vor der PRRS-Ausbruchsphase keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durch.

Von den sieben Betrieben (Betriebe 1, 2, 3, 7, 10, 11, 13) die bereits vor der PRRS-Ausbruchsphase die Sauen gegen PRRS impften, behielten die Betriebe 2, 3, 7 und 13 die Sauenimpfung gegen PRRS bei, die Betriebe 1, 10 und 11 führten zudem noch die Saugferkelimpfung gegen PRRS in der zweiten Lebenswoche ein.

4.4 Untersuchte Tiere bei der Beprobung ein Jahr nach der Erstinfektion

Insgesamt wurden die Blutproben von 710 Ferkeln aus den 15 Betrieben untersucht, 450 der Proben stammten von Saugferkeln, 130 der Proben von Aufzuchtferkeln aus der mittleren Aufzuchtphase und 130 der Proben von Aufzuchtferkeln aus der letzten Aufzuchtphase. Die Altersverteilung auf den Betrieben schwankte je nach Länge der unterschiedlichen Aufzuchtphasen. So befanden sich die Saugferkel in der dritten bis vierten Lebenswoche, die Tiere aus der mittleren Aufzuchtphase waren zwischen sechs und neun Wochen alt und die Tiere aus der letzten Aufzuchtphase befanden sich in der achten bis 13. Lebenswoche. Es wurde auf Betriebsebene darauf geachtet, dass zwischen den verschiedenen Altersstufen drei Wochen lagen. Die Saugferkel waren im Durchschnitt 3,8 Wochen alt, die Aufzuchtferkel aus der mittleren Aufzuchtphase durchschnittlich 7,5 Wochen und die Tiere aus der letzten Aufzuchtphase durchschnittlich 10,5 Wochen alt.

5 Serologische Untersuchungen ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchsphase

5.1 Anteil seropositiver Serumproben aufgeteilt nach Aufzuchtphasen

Von den 260 untersuchten Serumproben waren 50,4 % (131/260) zum Beprobungszeitraum PRRSV-Antikörper positiv. Von den 131 seropositiven Proben stammten 37,4 % (49/131) aus der mittleren Aufzuchtphase und 62,6 % (82/131) aus der letzten Aufzuchtphase (Abbildung 1).

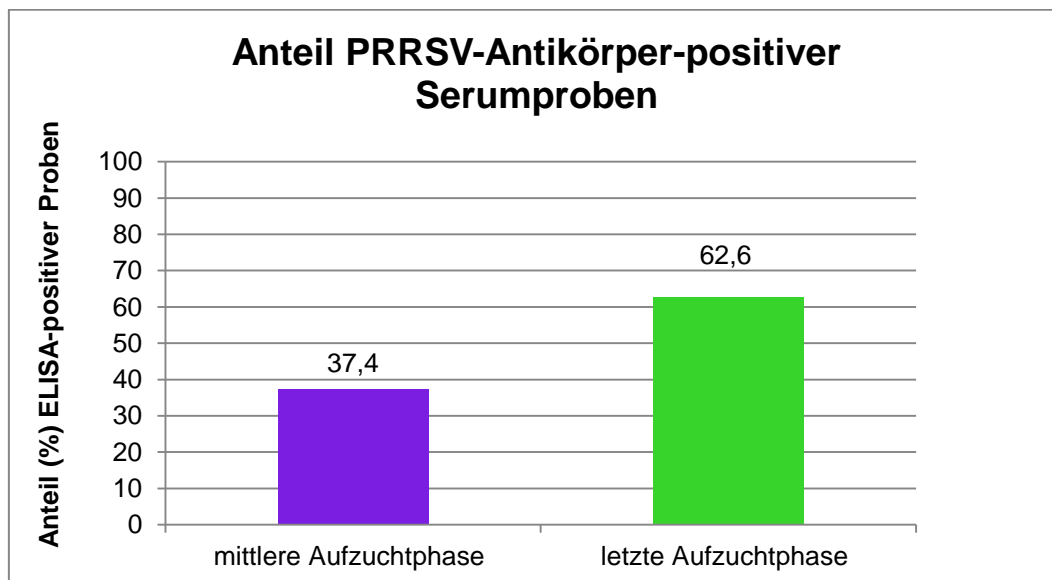


Abbildung 1 Anteil (n) der seropositiven Serumproben aufgeteilt nach Aufzuchtphasen / mittlere Aufzuchtphase (n = 131); letzte Aufzuchtphase (n = 131)

5.2 Seropositive Betriebe in Abhängigkeit vom Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase

In allen der 13 untersuchten Betriebe (Betrieb 7 und 14 waren Ferkelerzeuger ohne angeschlossene Aufzucht) konnten in der Ferkelaufzucht PRRSV-Antikörper positive Proben ermittelt werden.

Es konnte ein signifikanter ($p < 0,001$) Unterschied in der Anzahl der seropositiven Proben der mittleren Aufzuchtphase zwischen den PRRS-

Sauen-impfenden und den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben, festgestellt werden (Tabelle 10). Die Chance, dass die Serumproben bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben in der mittleren Aufzuchtphase seropositiv waren, war gegenüber den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben um das 11,4 fache erhöht (Odds Ratio für seropositive Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase: 11,36; KI: unterer: 4,51; oberer: 28,55).

Bei den seropositiven Proben der letzten Aufzuchtphase konnte ebenfalls ein signifikanter ($p = 0,006$) Unterschied in der Anzahl der seropositiven Proben zwischen den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben und den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben ermittelt werden (Tabelle 10). Die Chance, dass die Serumproben aus der letzten Aufzuchtphase seropositiv waren, war bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben 2,9 fach höher, als bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben (Odds Ratio für seropositive Serumproben aus der letzten Aufzuchtphase: 2,89; KI: unterer: 1,38; oberer: 6,04).

Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben, konnte zwischen den Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase und den Serumproben aus der letzten Aufzuchtphase signifikant ($p = < 0,001$) mehr seropositive Serumproben in der letzten Aufzuchtphase ermittelt werden (Tabelle 10). Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben, wurden keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung zwischen den seropositiven Proben aus der mittleren- und aus der letzten Aufzuchtphase ermittelt (Tabelle 10).

Tabelle 10 PRRSV-ELISA-Ergebnisse von Aufzuchtferkeln bei PRRS-Sauen-impfenden und PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben

Impfschema	Betrieb	m-A.	I-A.	Zeitraum zwischen Impfung und Probennahme		
				Sauen Tage	m-A. Wochen	I-A. Wochen
Sauen	2	2/10	6/10	Sauen Tage		
	3	1/10	1/10	25		
	5	0/10	4/10	64		
	8	2/10	9/10	111		
	13	2/10	1/10	22		
	15	0/10	9/10	110		
	Gesamt (n = 120)	7/60 (11,7 %) (a)	30/60 (50,0 %) (c)	71		
Sauen + Ferkel	1	5/10	6/10	Sauen Tage	m-A. Wochen	I-A. Wochen
	4	10/10	10/10	77	5	8
	6	7/10	10/10	47	6	9
	9	1/10	10/10	133	7	10
	10	4/10	4/10	22	5	8
	11	6/10	3/10	86	5	8
	12	9/10	9/10	97	5	8
	Gesamt (n = 140)	42/70 (60,0 %) (b)	52/70 (74,3 %) (d)	7	5	8

Signifikanzen
a, b: p = < 0,001
c, d: p = 0,006
a, c: p = < 0,001
c, d: p = 0,072

6 Molekularbiologische Untersuchungen ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchphase

6.1 PCR-positive Serumproben

Von den 710 untersuchten Serumproben waren 8,0 % (57/710) zum Beprobungszeitraum in der real-time-RT-PCR PRRSV-positiv. Von den 57 PCR-positiven Proben stammten 5,6 % (25/450) von Saugferkeln, 6,9 % (9/130) von Ferkeln aus der mittleren Aufzuchtphase und 17,7 % (23/130) von Ferkeln aus der letzten Aufzuchtphase (Abbildung 2). In fünf Betrieben (Betriebe 1, 6, 8, 9, 12) konnten in allen untersuchten Altersstufen PRRSV-Genomfragmente im Serum nachgewiesen werden. Im Betrieb 10 waren lediglich die Saugferkelserumproben molekularbiologisch PRRSV-positiv. In drei Betrieben (Betriebe 2, 5, 13) war das Serum von Ferkeln aus der letzten Aufzuchtphase in der real-time-RT-PCR PRRSV-positiv. In zwei Betrieben (Betriebe 11, 15) konnten

sowohl in der mittleren als auch in der letzten Aufzuchtphase PRRSV-Genomfragmente in den Serumproben nachgewiesen werden. In den Betrieben 3 und 4 konnten in keiner Altersstufe PRRSV-Genomfragmente im Serum nachgewiesen werden. Die Saugferkelserumproben von den Betrieben ohne angeschlossene Ferkelaufzucht (Betriebe 7, 14) waren in der real-time-RT-PCR PRRSV-negativ (Tabelle 11).

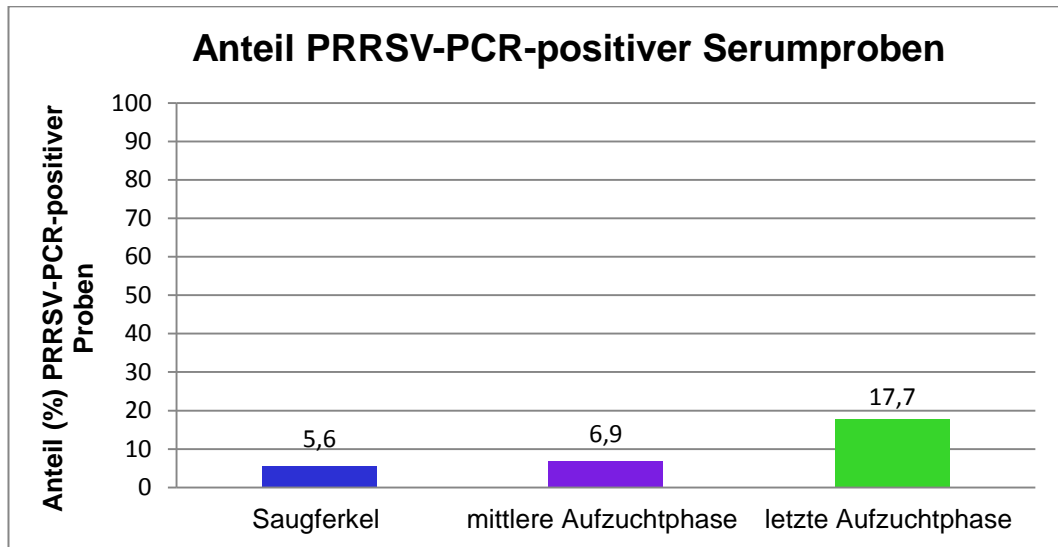


Abbildung 2 Anteil der real-time-RT-PCR-positiven Serumproben aus den verschiedenen Altersstufen / Saugferkel (n = 450); mittlere Aufzuchtphase (n = 130); letzte Aufzuchtphase (n = 130)

Tabelle 11 Real-time-RT-PCR PRRSV-positive Serumproben

Betriebe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Saugferkel	+ ¹	- ²	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
m-A.	+	-	-	-	-	+		+	+	-	+	+	-		+
l-A.	+	+	-	-	+	+		+	+	-	+	+	+		+

¹in der PCR PRRSV-positiv; ²in der PCR PRRSV-negativ

6.2 PCR-positive Betriebe in Abhängigkeit vom PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchphase

Bei den Saugferkelserumproben konnten signifikante ($p = 0,012$) Unterschiede in der Anzahl der in der real-time-RT-PCR PRRSV-positiven Serumproben zwischen den PRRS-Sauen-impfenden und den PRRS-

Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben ermittelt werden. In PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben ist die Chance gegenüber PRRS-Sauen-impfenden Betrieben um das 3,4 fache erhöht, dass PRRSV-spezifische Genomfragmente im Serum von Saugferkeln nachgewiesen werden konnten (Odds Ratio für PRRSV-PCR-positive Saugferkelserumproben: 3,40; KI: unterer: 1,3; oberer 8,6).

In den beiden anderen Altersstufen (mittlere Aufzuchtphase, letzte Aufzuchtphase) konnten keine signifikante Unterschiede in der Anzahl der PCR positiven Serumproben zwischen den PRRS-Sauen-impfenden und den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben ermittelt werden (Tabelle 12).

In der letzten Aufzuchtphase konnten im Vergleich zu den Saugferkelserumproben ($p = < 0,001$) und den Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase ($p = 0,016$) bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben signifikant mehr EU-Stamm-positive Serumproben in der real-time-RT-PCR ermittelt werden. Zwischen den molekularbiologisch positiven Saugferkelserumproben und den PCR positiven Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase wurden keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung ermittelt.

Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben konnten keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der PCR-positiven Serumproben zwischen den verschiedenen Altersstufen (Saugferkel, mittlere Aufzuchtphase, letzte Aufzuchtphase) ermittelt werden.

Betrieb 14 war nicht Teil dieser Auswertung da dieser Betrieb nach dem Herd-Closure Verfahren saniert wurde und zum Beprobungszeitpunkt keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durchführte.

Tabelle 12 Anzahl positiver PRRSV-PCR-Proben von Saugferkeln und Aufzuchtferkeln bei Sauen-impfenden und Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben

Impfschema	Betriebe	Saugferkel (Sf)		m-A.		I-A.		Positiv Gesamt		
		EU ¹	NA ²	EU	NA	EU	NA	EU	NA	
Sauen (S)	2	0/30	0/30	0/10	0/10	1/10	0/10	1/50	NA	
	3	0/30	0/30	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50	0/50	
	5	0/30	0/30	0/10	0/10	6/10	0/10	6/50	0/50	
	7	0/30	0/30	Babyferkel				0/30	0/30	
	8	0/30	6/30	0/10	1/10	0/10	2/10	0/50	9/50	
	13	0/30	0/30	0/10	0/10	1/10	0/10	1/50	0/50	
	15	0/30	0/30	1/10	0/10	1/10	0/10	2/50	0/50	
	Gesamt (n)	0/210 (0,0 %)	6/210 (2,9 %)	1/60 (1,7 %)	1/60 (1,7 %)	9/60 (15,0 %)	2/60 (3,3 %)	10/330 (3,0 %)	9/330 (2,7 %)	
	Sauen + (S+F) Ferkel	1	3/30	0/30	1/10	0/10	2/10	0/10	6/50	0/50
		4	0/30	0/30	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50	0/50
		6	5/30	0/30	2/10	0/10	2/10	0/10	9/50	0/50
		9	6/30	0/30	1/10	0/10	2/10	0/10	9/50	0/50
		10	1/30	0/30	0/10	0/10	0/10	0/10	1/50	0/50
		11	0/30	0/30	1/10	0/10	4/10	0/10	5/50	0/50
		12	4/30	0/30	4/10	0/10	2/10	0/10	10/50	0/50
Gesamt (n)		19/210 (9,0 %)	0/210 (0,0 %)	9/70 (12,9 %)	0/70 (0,0 %)	12/70 (17,1 %)	0/70 (0,0 %)	40/350 (11,4 %)	0/350 (0,0 %)	

Signifikanz innerhalb des Impfschemas (S): p = Sf/m-A.: 0,217; Sf/I-A.: < 0,001; m-A./I-A.: 0,016

Signifikanz innerhalb des Impfschemas (S+F): p = Sf/m-A.: 0,491; Sf/I-A.: 0,078; m-A./I-A.: 0,637

Signifikanz zwischen den Impfschemata (S und S+F): p = Sf/Sf.: 0,012; m-A./m-A.: 0,063; I-A./I-A.: 1,000

¹EU-Stamm; ²NA-Stamm

7 Viruspersistenz des Eberstation-PRRS-Feldisolats

7.1 Nachweis der PRRS-Isolate in Abhängigkeit vom PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase

Bei Ermittlung von real-time-RT-PCR-positiven Serumproben, wurde pro Altersstufe die Serumprobe mit dem niedrigsten CT-Wert für eine weiterführende Sequenzierung ausgewählt. Dieses Sequenzierungsergebnis wurde im Anschluss phylogenetisch mit dem für den PRRS-Ausbruch verantwortlichen Feldisolat und dem europäischen Impfstamm (Porcilis® PRRS) und dem Nordamerikanischen Impfstamm (Ingelvac® PRRS MLV) verglichen. Das Eberstation-PRRS-Feldisolat konnte erstmals 2012 in einer süddeutschen Eberstation isoliert werden.

In fünf Betrieben (Betriebe 1, 5, 6, 9, 13) konnte etwa ein Jahr nach dem PRRS-Ausbruchsgeschehen das Eberstation-PRRS-Feldisolat detektiert werden. Die Betriebe 1, 6 und 9 führten nach der PRRS-Ausbruchsphase eine Sauen+Ferkel-Impfung (Porcilis® PRRS) gegen PRRSV durch. Die Betriebe 5 und 13 impften die Sauen terminorientiert (Porcilis® PRRS) gegen PRRSV. Durch Sequenzvergleiche wurde in Betrieb 1 in der letzten Aufzuchtphase eine Serumprobe ermittelt die eine Verwandtschaft von 98 % zum Eberstation-PRRS-Feldisolat aufwies. Die Serumprobe aus der Saugferkelphase und die Serumprobe aus der mittleren Aufzuchtphase stimmte in Betrieb 1 zu 99 % mit dem europäischen Impfstamm (Porcilis® PRRS) überein. In Betrieb 5 konnte in der letzten Aufzuchtphase eine Serumprobe isoliert werden die eine Verwandtschaft von 99 % zu dem Eberstation-PRRS-Feldisolat aufwies. In Betrieb 6 konnte in der Saugferkelserumprobe und in der Serumprobe aus der letzten Aufzuchtphase ein Feldstamm detektiert werden, der zu 98 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat verwandt war. In der Serumprobe aus der mittleren Aufzuchtphase wurde in Betrieb 6 ein Stamm isoliert, der eine Homologie von 99 % mit dem europäischen Impfstamm (Porcilis® PRRS) aufwies. In Betrieb 9 konnte in allen drei Altersstufen ein Feldstamm isoliert werden der zu 98 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolats verwandt war. In Betrieb 13 wurde in der letzten Aufzuchtphase eine Serumprobe isoliert, die zu 98 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat ident war.

Betrieb 15 impfte (Porcilis[®] PRRS) nach der PRRS-Ausbruchsphase seine Sauen terminorientiert gegen PRRS. In der Serumprobe aus der mittleren Aufzuchtphase konnte ein Nukleotidsequenzabschnitt des ORF5 ermittelt werden, der zu 96 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat übereinstimmte.

Betrieb 8 impfte (Porcilis[®] PRRS) nach der PRRS-Ausbruchsphase seine Sauen terminorientiert gegen PRRS. Die Betriebe 10, 11 und 12 impften zusätzlich zu den Sauen die Ferkel in der zweiten bis dritten Lebenswoche.

In Betrieb 8 konnten in allen Altersstufen (Saugferkel, mittlere und letzte Aufzuchtphase) ein PRRSV-Stamm sequenziert werden, der im ORF5 eine Verwandtschaft von 94 % zum PRRSV-NA-Referenzstamm VR-2332 aufwies.

Im Betrieb 10 stimmte die Serumprobe aus der Saugferkelphase zu 99 % mit dem Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) überein. Die Serumprobe aus der mittleren Aufzuchtphase wies im Betrieb 11 eine Verwandtschaft von 98 % zum Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) auf. Die Serumprobe aus der letzten Aufzuchtphase war zu 87 % mit der EU-Referenzsequenz Lelystad verwandt. In Betrieb 12 wiesen die Serumproben aus der mittleren und aus der letzten Aufzuchtphase, als auch die Saugferkelserumprobe eine Nukleotid-Sequenzidentität von 99 % zum Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) auf (Tabelle 13).

In zwei Serumproben (Betrieb 2 letzte Aufzuchtphase, Betrieb 15 letzte Aufzuchtphase) konnte kein sequenzierfähiges Amplifikat erzeugt werden.

Tabelle 13 Nukleotididentität des Eberstation-PRRS-Feldisolats und anderer Feldstämme sowie der PRSS-Impfstämme auf Betriebsebene

Impfschema	Betriebe	Saugferkel %			mittlere Aufzuchtphase %			letzte Aufzuchtphase %					
		Eber ¹	DV ²	NA ³	Lely ⁴	Eber	DV	NA	Lely	Eber	DV	NA	Lely
Sauen	5									99			
	8			94				94					94
	13									98			
	15									96			
Sauen + Ferkel	1		99					99		98			
	6	98						99		98			
	9	98							98	98			
	10		99										
	11								98				
	12		99					99			99		87

¹Eberstation-PRRS-Feldisolat; ²Europäischer (EU) Impfstamm (Stamm DV); ³Nordamerikanischer (NA) Impfstamm (Stamm ATCC VR 2332) Ingelvac® PRRS MLV; ⁴EU-Referenzsequenz Lelystad

7.2 Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats im Vergleich zur Tiergesundheit-Score-Kategorie und dem PRRS-Impfschema nach der PRRS-Ausbruchsphase

Mit Hilfe des Tiergesundheits-Scores wurde die interne sowie die externe Betriebssicherheit auf den untersuchten Betrieben ermittelt. Der Tiergesundheits-Score bestand aus 18 Parametern, die je nach Relevanz für die Betriebssicherheit unterschiedlich gewichtet wurden. Eine Übersicht über die erhobenen Fragen, als auch über deren Punkteverteilung ist in dem Teil „Material und Methoden“ unter Punkt 4.1 zu finden. Je höher die erreichte Punktzahl auf den Betrieben umso höher wurde auch der Gesundheitsstatus auf den Betrieben definiert. In dem Tiergesundheits-Score konnten maximal 22,5 Punkte erreicht werden. Tabelle 23 zeigt die Punkteverteilung auf den untersuchten Betrieben und die Score-Platzierung. Anhand des erhobenen Tiergesundheits-Scores erfolgte des Weiteren die Einteilung der untersuchten Betriebe in zwei Kategorien: Tiergesundheits-Score-Kategorie 0 = niedriger Gesundheitsstatus/schlechte Betriebshygiene und Tiergesundheits-Score-Kategorie 1 = hoher Gesundheitsstatus/gute Betriebshygiene. Alle Betriebe, in denen auch ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchsphase das Eberstation-PRRS-Feldisolat gefunden werden konnte, befanden sich in der Tiergesundheits-Score-Kategorie mit dem niedrigen Gesundheitsstatus (= 0) (Tabelle 14).

Weiterhin wurden die im Fragebogen erfassten Tiergesundheits-Score-Kategorien zwischen den nach der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Sauen-impfenden Betrieben (Betriebe 2, 3, 5, 7, 8, 13, 15) und den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben (1, 4, 6, 9, 10, 11, 12) verglichen. Drei der sieben nach der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Sauen-impfenden Betriebe, hatten einen hohen Gesundheitsstatus (Betriebe 2, 3, 7) und vier Betriebe einen niedrigen Gesundheitsstatus (Betriebe 5, 8, 13, 15). Von den sieben nach der PRRS-Ausbruchsphase PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben, fielen fünf Betriebe in die Kategorie mit dem niedrigen Gesundheitsstatus (Betriebe 1, 4, 6, 9, 12). Die Betriebe 10 und 11 fielen in die Kategorie mit dem hohen Gesundheitsstatus (Tabelle 14).

Tabelle 14 Tiergesundheit-Score-Platzierung und Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats

Score (Max 22,5)	Score Platzierung	Betriebe	Tiergesundheit-Score- Kategorie	PRRS Impfschema	Eberstation-PRRS-Feldisolat %		
					Saugferkel	m-A.	I-A.
20,3	1	14	1	1		Babyferkel	
17,8	2	11	1	Sauen+Ferkel			
17,0	3	2	1	Sauen			
16,0	4	3	1	Sauen			
13,8	5	7	1	Sauen		Babyferkel	
13,5	6	10	1	Sauen+Ferkel			
13,0	7	5	0	Sauen			99
12,8	8	8	0	Sauen			
12,0	9	4	0	Sauen+Ferkel			
11,8	10	9	0	Sauen+Ferkel	98		98
11,5	11	13	0	Sauen			98
11,5	11	1	0	Sauen+Ferkel			98
10,8	13	12	0	Sauen+Ferkel			
9,8	14	15	0	Sauen			
8,0	15	6	0	Sauen+Ferkel	98		98

¹ Betrieb wurde saniert und führte zum Beprobungszeitpunkt keine Impfmaßnahmen gegen PRRSV durch

7.3 Vergleich zwischen den mittleren CT-Werten der PRRS-Feldisolate und den mittleren CT-Werten des PRRS-Impfstamms

Es wurden die Stämme als Feldstämme definiert, in denen mittels phylogenetischer Analyse das Eberstation-PRRS-Feldisolat und der NA-Impfstoffabkömmling isoliert werden konnten. Die mittleren CT-Werte dieser Feldstämme wurden mit den mittleren CT-Werten des europäischen PRRS-Impfstamms (Stamm DV) verglichen. Es wurden signifikante Unterschiede in der Höhe der mittleren CT-Werte zwischen den Serumproben mit den PRRS-Feldisolaten und den mittleren CT-Werten der Serumproben mit dem PRRS-Impfstamm ermittelt (Tabelle 15).

Tabelle 15 Vergleich der mittleren CT-Werte zwischen des PRRS-Impfstamms und den PRRS-Feldisolaten

	Anzahl PCR positiver Proben (n)	CT-Werte			
		MW ¹	± ²	Min.	Max.
PRRS-Feldisolate	13	25,8 ^a	3,3	17,9	29,5
PRRS-Impfstamm³	8	28,7 ^a	1,2	26,7	30,8

¹Mittelwert; ² Standardabweichung; ³Impfstamm: Europäischer (EU) Impfstamm (Stamm DV)

Signifikanz: a, a: p= **0,028**

V DISKUSSION

1 Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS-Ausbruchsphase

In den Betrieben 2 und 3 konnten PRRSV-PCR-positive Sauenserumproben gefunden werden, eine Sequenzierung dieser Proben war jedoch nicht erfolgreich. Dennoch spricht der Zusammenhang zwischen der Besamung mit nachweislich PRRSV-infizierten Sperma und dem darauf folgendem Auftreten von PCR-positiven Proben und PRRSV-typischen klinischen Anzeichen dafür, dass eine Infektion mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat stattgefunden hat.

2 Erhobene Leistungsdaten

Die in der vorliegenden Studie über einen Zeitraum von sechs Monaten erhobenen Leistungsdaten wurden zwischen den vor der PRRS-Ausbruchsphase bereits gegen PRRS-impfenden und den vor der Ausbruchsphase PRRS-unverdächtigen Betrieben verglichen. In den PRRS-Impfbetrieben kam es durch die Impfung zu weniger ausgeprägten Verlusten während der Säuge- und Aufzuchtphase und zudem wurden durch die Impfmaßnahmen die Sauenverluste reduziert sowie weniger Ferkel tot geboren. Auffallend war jedoch, dass bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben die Abortwellen weniger ausgeprägt verlaufen sind. Diese Ergebnisse stimmen mit den Erkenntnissen von OLANRATMANEE et al. (2014) überein. In dieser Studie wurden endemisch PRRSV-infizierte MLV-geimpfte Tiere mit endemisch PRRSV-infizierten ungeimpften Herden verglichen. Auch in diesem Feldversuch kam es durch eine PRRS-Vakzinierung zu einer Verbesserung der reproduktiven Parameter, jedoch war auch in dieser Studie die Abortrate der geimpften Tiere (2 %) höher als die Abortrate der nicht geimpften Tiere (1,6 %). Einschränkend ist jedoch zu erwähnen, dass die Herden in der Studie von OLANRATMANEE et al. (2014) bereits vor Studienbeginn seropositiv waren und dies trifft in den eigenen Untersuchungen nur bei den PRRS-Impfbetrieben zu. Zudem wurde in den eigenen Untersuchungen keine

Rücksicht auf andere Managementfaktoren, wie die Sauenremontierungsquote genommen. OLANRATMANEE et al. (2014) zeigen, dass sich die reproduktiven Leistungen durch eine PRRS-MLV-Vakzinierung besonders bei Jungsauen verbessern lassen. Hiermit zeigt sich der Einfluss den die Remontierungsquote auf die reproduktiven Leistungen einer Herde hat. In der Studie von OLANRATMANEE et al. (2014) sind die Unterschiede hinsichtlich der Reproduktionsparameter zwischen den PRRS-impfenden und den nicht impfenden Herden bei den Jungsauen deutlicher, als bei den Altsauen. Somit wird die Annahme unterstützt, dass sich eine PRRSV-Infektion bei Jungsauen klinisch deutlicher äußert und sich durch eine Impfung die Reproduktionsleistungen besonders bei Jungsauen verbessern lassen. Da aber wie oben bereits erwähnt in den eigenen Ergebnissen der Anteil an Jungsauen auf Betriebsebene nicht berücksichtigt wurde, lässt sich im Umkehrschluss auch nicht sagen, inwiefern die reproduktiven Leistungen in den eigenen Studienbetrieben von der jeweiligen Remontierungsquote beeinflusst wurden.

2.1 Sauenverluste

In der vorliegenden Studie konnten bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben mehr Betriebe ermittelt werden, die in die Sauenverlustkategorie von > 1 % fielen. Der prozentuale betriebsübergreifende mittlere Sauenverlustwert (1,64 %) der PRRS-Nichtimpfbetriebe war höher, als der prozentuale betriebsübergreifende mittlere Sauenverlustwert (0,97 %) der PRRS-Impfbetriebe. Diese Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung zwischen den Gruppenvariablen (PRRS-Impfbetriebe, PRRS-Nichtimpfbetriebe) waren jedoch weder bei den Sauenverlustkategorien noch bei den prozentualen betriebsübergreifenden Mittelwerten signifikant. Beide Gruppenvariablen bewegten sich im unteren Bereich der in der Literatur beschriebenen Sauenmortalitätsrate (1-4 %) in vor Ausbruch PRRS-naiven Betrieben (LOULA, 1991; HOPPER et al., 1992). Einschränkend ist zu erwähnen, dass sich die in der Literatur beschriebenen Sauenmortalitätsraten auf die Akutphase der PRRS-Erkrankung beziehen, wohingegen die in den eigenen Untersuchungen erhobenen Leistungsdaten über einen Zeitraum von sechs Monaten auf

den untersuchten Betrieben erfasst wurden. Weiterhin wurde bei den erhobenen Sauenverlusten nicht zwischen peripartalen und partalen Sauenverlusten unterschieden. PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL (2006) führten eine PRRS-Impfstoffstudie in drei polnischen Schweinezuchtbetrieben durch, in denen eine PRRSV-Infektion klinisch und serologisch bestätigt wurde. In diesem Feldversuch wurden die Sauen unabhängig ihres Trächtigkeitsstatus mit einer PRRS-MLV-Vakzine geimpft. Im Anschluss wurden die Leistungsdaten neun Monate vor der PRRS-Impfung und sieben Monate nach der PRRS-Impfung erfasst und miteinander verglichen. Auch in dieser Studie konnte bei den adulten Tieren durch eine PRRS-Vakzinierung keine signifikante Reduzierung hinsichtlich der Mortalität erreicht werden.

2.2 Aborte

Weder bei den betriebsübergreifenden Mittelwerten der prozentualen Aborte, noch bei den Abortkategorien konnten in der vorliegenden Studie Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung zwischen den Gruppenvariablen (PRRS-Impfbetriebe, PRRS-Nichtimpfbetriebe) ermittelt werden. In der von PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL (2006) durchgeführten Impfstoffstudie konnte hingegen in chronisch PRRSV-infizierten Sauenherden durch eine Sauenimpfung mit einer PRRS-MLV-Vakzine die mittlere Abortrate signifikant reduziert werden. In einem Feldversuch von OLANRATMANEE et al. (2013) wurden durch eine PRRS-MLV-Massenvakzinierung die prozentualen Abortraten signifikant reduziert und erreichten vergleichbare Werte wie vor der PRRS-Ausbruchsphase. Hinsichtlich dieser unterschiedlichen Ergebnisse gibt es verschiedene Hypothesen, die das zu beobachtende Geschehen erklären könnten. Zahlreiche Studien kommen zu dem Ergebnis, dass durch eine MLV-Vakzinierung nur ein teilweiser klinischer Schutz gegenüber heterologen PRRSV-Isolaten vermittelt wird (OSORIO et al., 1998; LAGER et al., 1999; MENGELING et al., 2003b; SCORTTI et al., 2006b; MARTELLI et al., 2009). Dieser reicht von 50 % (OSORIO et al., 1998) über 70 % (MARTELLI et al., 2009) bis hin zu 85 % (SCORTTI et al., 2006b). Das für den Ausbruch verantwortliche Eberstation-PRRS-Feldisolat wies lediglich eine Nukleotididentität von 88,0-89,4 % zum EU-Impfstamm auf. In den

Ergebnissen der eigenen Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, dass bei den anderen Leistungsdaten ein klinischer Schutz durch eine PRRS-Impfung vermittelt werden konnte. Die genetische Diversität zum PRRS-Impfstamm liefert somit für die eigenen Ergebnisse keine Erklärung dafür, dass zwischen den vor Ausbruch bereits gegen PRRS-impfenden und somit immunen Betrieben und den nicht gegen PRRS-impfenden und somit naiven Betrieben keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Aborte ermittelt werden konnten. Zudem zeigen sowohl MARTELLI et al. (2009) als auch PRIETO et al. (2008), dass nicht die genetische Homologie zwischen Feld- und Impfstamm ausschlaggebend für die durch eine Impfung zu erwartende protektive Immunität ist, sondern vielmehr die unterschiedliche Fähigkeit der verschiedenen Impfisolate die zelluläre Immunität zu induzieren. So zeigen etwa DIAZ et al. (2006) in einem Infektionsversuch mit einem spanischen Feldisolat, dass der europäische Impfstamm, der „nur“ zu 92 % mit dem Feldstamm übereinstimmt, eine sterile Immunität vermittelt, wohingegen der Impfstamm, der eine Identität von 96 % zu dem Feldisolat aufweist, diesen Schutz nicht in dieser Form vermitteln kann. YOON et al. (1996) und YOON et al. (1997) zeigen, dass durch nicht neutralisierende Antikörper die virale Replikation von PRRSV in alveolaren Makrophagen gesteigert wird. Zum einen repliziert sich PRRSV bevorzugt in Makrophagen und zum anderen werden bei einer Infektion mit PRRSV häufig nur geringe Mengen an neutralisierenden Antikörpern produziert. Dies lässt in Folge vermuten, dass durch die Präsenz von nicht neutralisierenden Antikörpern eine Infektion mit PRRSV verstärkt wird (MURTAUGH und GENZOW, 2011). Dieses Phänomen der Antikörper abhängigen Verstärkung (antibody dependent enhancement = ADE) einer Infektion ist etwa bei einer Infektion mit Dengue-Viren und dem Felinen Immundefizienz-Virus beschrieben (HALSTEAD und O'ROURKE, 1977; RICHARDSON et al., 1997) und steht auch bei PRRS in Verdacht, eine Infektion der alveolaren Makrophagen zu erhöhen (YOON et al., 1996; YOON et al., 1997). Da YOON et al. (1996) und YOON et al. (1997) die durch eine Impfung induzierte Antikörperentwicklung als ursächlich für eine gesteigerte Replikation von Feldviren in geimpften Tieren betrachten, liefert ADE somit eine mögliche Erklärung dafür, dass weder bei den betriebsübergreifenden prozentualen Abort-Mittelwerten, noch bei den

Abortkategorien signifikante Unterschiede zwischen den Gruppenvariablen (PRRS-Impfbetriebe, PRRS-Nichtimpfbetriebe) gefunden werden konnten. Dem widersprechend wurden weltweit zahlreiche PRRSV-Challenge-Versuche durchgeführt, welche die Effizienz von PRRS-Vakzinierungen und die potentiellen Wechselwirkungen mit heterologen Feldisolat-Infektionen untersuchten. In keiner dieser Studien konnten durch eine Vakzinierung schwerwiegendere klinische Anzeichen in Folge von PRRSV-Challenge Versuchen beobachtet werden (CANO et al., 2007a; OKUDA et al., 2008; MARTELLI et al., 2009).

Sowohl bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben als auch bei den PRRS-Impfbetrieben gab es einzelne Betriebe die ausgeprägte Abortwellen aufwiesen. Bei den Betrieben, die vor der Ausbruchsphase PRRS-ungeimpft und somit naiv waren, hätte es durch den PRRS-Ausbruch betriebsübergreifend zu einer einheitlicheren und höheren Abortraten kommen müssen. Da die PRRS-Impfbetriebe über eine gewisse Grundimmunität verfügt haben, hätte es bei diesen Betrieben zu einheitlicheren und niedrigeren Abortraten kommen müssen, da wie bereits erwähnt MLV-Vakzinierungen einen gewissen Schutz vor PRRSV bedingten Aborten gewährleisten (PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL, 2006; OLANRATMANEE et al., 2013). Diese Unstimmigkeiten bezüglich der eigenen Ergebnisse ließen sich mit Sekundär- und oder Koinfektionen etwa durch *Chlamydia suis*, *Leptospiren* oder Influenzaviren erklären, die in Folge sowohl bei den PRRS-Impfbetrieben als auch bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben zu den hohen Abortraten geführt haben könnten. Da es aber nicht Bestandteil des eigenen Versuchsaufbaus war, einheitlich auf Sekundär- und Koerreger zu untersuchen, muss dies eine hypothetische Überlegung bleiben.

2.3 Tot geborene Ferkel

In der vorliegenden Studie wurden sowohl bei den betriebsübergreifenden Mittelwerten der durchschnittlich tot geborenen Ferkel pro Sau als auch in der Kategorie der tot geborenen Ferkel signifikante Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung zwischen den PRRS-Impfbetrieben und den PRRS-Nichtimpfbetrieben ermittelt. Der betriebsübergreifende Mittelwert (0,44) der Betriebe, die ihre Sauen vor dem PRRS-Ausbruch gegen PRRS

impften, war im Vergleich zum betriebsübergreifenden Mittelwert (2,48) der PRRS-Nichtimpfbetriebe signifikant niedriger. Die von PEJSAK und MARKOWSKA-DANIEL (2006) durchgeführte Feldstudie konnte durch die Etablierung einer PRRS-MLV-Impfung ebenfalls die mittlere Rate an tot geborenen Ferkeln signifikant reduzieren. SCORTTI et al. (2006b) zeigen in einem Challenge-Versuch, dass durch eine MLV-Vakzinierung ähnliche Reproduktionsleistungen erreicht werden konnten, wie in der PRRS-naiven und nicht geimpften Kontrollgruppe. Insbesondere der prozentuale Anteil an tot geborenen Ferkeln wurde in dieser Studie durch eine PRRS-Vakzinierung signifikant gesenkt. ALEXOPOULOS et al. (2005) führten einen Feldversuch in einem endemisch PRRS-infizierten Betrieb durch und konnten durch eine PRRS-MLV-Vakzinierung die Totgeburtenrate signifikant senken. OLANRATMANEE et al. (2013) konnten durch eine PRRS-MLV-Sauenvakzinierung die tot geborenen Ferkel pro Sau ebenfalls signifikant reduzieren und darüber hinaus sogar bessere Werte erreichen als vor der PRRS-Ausbruchsphase. Die eigenen Daten entsprechen somit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen.

DEWEY et al. (2004) zeigen jedoch, dass eine PRRS-Sauenimpfung, insbesondere in der späten Phase der Trächtigkeit, die Rate an lebend geborenen Ferkeln reduziert. Im Gegensatz zu den PRRS-Impfbetrieben in den eigenen Untersuchungen, wurden die PRRS-Impfbetriebe in der Studie von DEWEY et al. (2004) jedoch zum ersten Mal gegen PRRS vakziniert. Dieser Unterschied zwischen den eigenen Studienbetrieben mit einer PRRS-Impfhistorie und den Studienbetrieben von DEWEY et al. (2004) ohne eine PRRS-Impfhistorie liefert somit einen möglichen Erklärungsansatz für die unterschiedlichen Ergebnisse, da nicht auszuschließen ist, dass sich die reproduktiven Leistungen in den PRRS-Impfbetrieben im Laufe der Zeit wieder normalisieren würden (DEWEY et al., 2004).

2.4 Während Säugephase verendete Ferkel

In den eigenen Untersuchungen konnten bei den betriebsübergreifenden Mittelwerten der während der Säugephase verendeten Ferkel signifikante Unterschiede zwischen den PRRS-Impfbetrieben (MW = 0,27) und den PRRS-Nichtimpfbetrieben (MW = 0,92) ermittelt werden. Im Vergleich zu

den PRRS-Nichtimpfbetrieben hatten die PRRS-Impfbetriebe betriebsübergreifend signifikant weniger mittlere Verluste während der Säugephase. Auch fielen im Vergleich zu den PRRS-Nichtimpfbetrieben signifikant mehr PRRS-Impfbetriebe in die Kategorie von unter 0,6 Saugferkelverlusten pro Sau. Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen von SCORTTI et al. (2006b). In dieser Challenge-Studie wurden in der infizierten und geimpften Versuchsgruppe signifikant weniger Saugferkelverluste ermittelt als in der infizierten und ungeimpften Versuchsgruppe. DEWEY et al. (2004) zeigen jedoch, dass eine PRRS-Sauenimpfung insbesondere in der späten Phase der Trächtigkeit zu einer erhöhten Saugferkelsterblichkeit führt. Aus den bereits aufgeführten Gründen (siehe 1.3) geht hervor, dass die eigenen Ergebnisse mit den Studienergebnissen von DEWEY et al. (2004) nur unter Vorbehalt zu vergleichen sind.

Wie bereits erwähnt, wurde nicht einheitlich auf potentielle Ko- und oder Sekundärerreger untersucht, in Folge lässt sich also auch nicht ermitteln, ob und wenn ja in wie weit die eigenen Ergebnisse von solchen Infektionen beeinflusst wurden.

2.5 Während Aufzuchtphase verendete Ferkel

Bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben konnten höhere Verluste während der Aufzuchtphase ermittelt werden, als bei den PRRS-Impfbetrieben. Diese Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung waren jedoch nicht signifikant. GELDHOF et al. (2013) zeigen, dass die Saugferkel von PRRS-MLV-vakzinierten Sauen signifikant seltener virämisch werden. Folglich hat eine Sauenimpfung auch einen positiven klinischen Effekt auf die Ferkelaufzucht (GELDHOF et al., 2013). NEUMANN et al. (2005) berichten in PRRS-infizierten Herden von einem deutlichen Anstieg der Mortalitätsrate in der Ferkelaufzucht. Auch STEVENSON et al. (1993) kommen zu dem Ergebnis, dass enzootisch verlaufende PRRSV-Infektionen in der Ferkelaufzucht zu hohen Mortalitätsraten führen. Die PRRS-Erkrankung ist jedoch nicht primär für diese hohe Mortalitätsrate verantwortlich (STEVENSON et al., 1993). Vielmehr führt die PRRSV-induzierte Immunsuppression in den Studienbetrieben von STEVENSON et al. (1993) in Folge zu tödlich verlaufenden, bakteriell (*Salmonella*

choleraesuis) bedingten Septikämien. In den eigenen Untersuchungen wurde nicht einheitlich auf potentielle Folgeinfektionen untersucht. Daher lässt sich bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben nicht eruieren, ob und wenn ja in welchem Ausmaß die Verluste während der Aufzuchtphase durch Folgeinfektionen beeinflusst wurden. Die therapeutischen Kontrollmaßnahmen, die während der PRRS-Ausbruchsphase hauptsächlich bei den PRRS-Nichtimpfbetrieben gegen bakterielle Sekundärinfektionen eingeleitet werden mussten. Hätten in Folge dazu führen können, dass keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Aufzuchtferkelverluste zwischen den PRRS-Impfbetrieben und den PRRS-Nichtimpfbetrieben ermittelt werden konnten. Einschränkend ist jedoch zu erwähnen, dass es wiederum nicht Teil der eigenen Untersuchungen war, inwiefern diese therapeutischen Maßnahmen erfolgreich waren.

3 Serologische Ergebnisse

Ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchsphase wurden labordiagnostische Untersuchungen durchgeführt, um den PRRSV-Infektionsstatus auf den Studienbetrieben zu erfassen. Im Vergleich zu den PRRS-Sauenimpfenden Betrieben konnten bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben signifikant mehr seropositive Proben sowohl in der mittleren als auch in der letzten Aufzuchtphase ermittelt werden. Diese Ergebnisse sind nicht überraschend, da eine Impfung mit MLV-Vakzinen meist eine zuverlässige und ausgeprägte Antikörperbildung induziert (MEIER et al., 2000; DIAZ et al., 2006). Sowohl bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben, als auch bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben konnten die meisten seropositiven Proben in der letzten Aufzuchtphase ermittelt werden. Da aufgrund des angewendeten ELISA-Testverfahrens nicht zwischen Impfantikörpern, maternal bedingten oder durch eine Feldinfektion hervorgerufenen Antikörpern differenziert werden kann, lassen sich nur Vermutungen anstellen, wie es zur jeweiligen Serokonversion gekommen ist. Da bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben lediglich die Sauen gegen PRRS vakziniert wurden, können die seropositiven Serumproben bei den Aufzuchtferkeln nicht direkt durch die Impfung, sondern lediglich passiv über maternale Antikörper, durch eine

transplazentare Übertragung oder in Folge einer PRRSV-Infektion erklärt werden. VAN ALSTINE et al. (1993) berichten, dass die passiv erworbenen maternalen Antikörper üblicherweise bis zur achten Lebenswoche und in Ausnahmefällen sogar bis zur 16. Lebenswoche nachgewiesen werden können. Da die Ferkel in den eigenen Untersuchungen in der mittleren Aufzuchtphase durchschnittlich 7,5 Wochen und in der letzten Aufzuchtphase durchschnittlich 10,5 Wochen alt waren, lässt sich nicht ausschließen, dass das Auffinden PRRSV-spezifischer Antikörper in diesen Altersphasen durch maternale Antikörper bedingt war. SCHELKOPF et al. (2014) zeigen, dass Saugferkel von PRRS-MLV-geimpften Muttersauen vor Kolostrumaufnahme zu 4,3 % im ELISA und zu 53,4 % in der PCR positiv sind. Vor diesem Hintergrund kann eine transplazentare Übertragung von Impfvirus als Ursache für die Serokonversion der Aufzuchtferkel nicht ausgeschlossen werden. Aus den phylogenetischen Analyseergebnissen der eigenen Untersuchungen geht jedoch hervor, dass zumindest bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben in keiner der Saugferkelserumproben der europäische Impfstamm (Porcilis® PRRS) gefunden werden konnte. Bei den PRRS-Sauen-Impfbetrieben kann folglich eine diaplazentare Übertragung von Impfvirus (Porcilis® PRRS) nahezu ausgeschlossen werden.

Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben kam es zwischen der mittleren und der letzten Aufzuchtphase zu einem signifikanten Anstieg der Seroprävalenz von 11,7 % auf 50,0 %. Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben wurde ebenso ein Anstieg der Seroprävalenz von 60,0 % in der mittleren Aufzuchtphase auf 74,3 % in der letzten Aufzuchtphase festgestellt. Dieser Anstieg war jedoch nicht signifikant. Der Anstieg der Seroprävalenz gegen Ende der Aufzuchtphase ließe sich durch eine PRRSV-Feldvirusinfektion in der Ferkelaufzucht erklären. Dies würde sich mit den Ergebnissen von STEVENSON et al. (1993) decken. In dieser Feldstudie konnte in zwei endemisch infizierten Betrieben das verantwortliche Feldvirus noch zweieinhalb Jahre nach der PRRS-Ausbruchphase in der Ferkelaufzucht gefunden werden.

Im Allgemeinen wird ein Anstieg der Seroprävalenz und somit ein häufigeres Vorkommen von seropositiven Proben als hinweisend für eine

Feldinfektion mit PRRSV gesehen (HEINRITZI, 2006; ZIMMERMAN et al., 2012). In MLV-geimpften Herden ist ein solcher Anstieg der Seroprävalenz jedoch erheblich schwieriger zu interpretieren, da nicht unterschieden werden kann, ob die Antikörper gegen Feldviren oder Impfviren gebildet wurden (GROSSE BEILAGE et al., 2013). In der vorliegenden Studie ist aus diesem Grund die Interpretation serologischer Ergebnisse bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben mit erheblichen Unsicherheiten behaftet. Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben lassen sich durch einen Anstieg der Seroprävalenz lediglich Rückschlüsse auf eine Viruszirkulation in der Ferkelaufzucht ziehen. Ob in der Ferkelaufzucht Impf- oder Feldviren frei zirkulieren lässt sich hingegen nicht sagen, da es in beiden Fällen zu einem ausgeprägten Anstieg der Antikörperkonzentration im Serum kommen kann (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Jedoch berichten SCHELKOPF et al. (2014), dass die PRRS-MLV bedingte Impfvirusausscheidung weniger ausgeprägt ist, als die durch PRRS-Feldviren bedingte Ausscheidung.

Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben lässt sich ein Anstieg der Seroprävalenz in der Ferkelaufzucht eher mit einer PRRSV-Feldinfektion in der Ferkelaufzucht in Verbindung bringen, da eventuell vorhandene maternale Antikörper nicht zu einem Anstieg am Ende der Aufzucht führen können. Prinzipiell wäre bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben zwar auch eine transplazentare Übertragung von Impfvirus auf die Saugferkel mit der Folge einer Impfvirusausscheidung und Zirkulation in der Ferkelaufzucht vorstellbar (SCHELKOPF et al., 2014). Aus den bereits genannten Gründen ist der Anstieg der Seroprävalenz in den Betrieben 2, 8 und 15 (Tabelle 10) sehr viel wahrscheinlicher durch eine Infektion mit Feldviren hervorgerufen worden.

Während der Virämie kann PRRSV im Serum mit Hilfe der PCR ab Tag 2 p.i. nachgewiesen werden (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Die Dauer in der PRRSV p.i. in der untersuchten Altersgruppe (Saug- und Aufzuchtferkel) im Serum mittels PCR nachgewiesen wird, kann bis zu vier Wochen betragen (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Der Antikörpernachweis mit dem ELISA gelingt bei EU-Stämmen jedoch in der Regel erst ab Tag 9-15 p.i. und fällt dann innerhalb von zehn Monaten

unter die Nachweisgrenze (GROSSE BEILAGE et al., 2013; SATTLER et al., 2014). Diese Studienergebnisse liefern eine Erklärung dafür, dass in jedem Studienbetrieb der eigenen Untersuchungen Serumproben gefunden werden konnten, die im ELISA positiv jedoch in der real-time-RT-PCR negativ waren. Ebenso liefern die zitierten Studienergebnisse eine Erklärung für die Serumproben, die im ELISA negativ und in der real-time-RT-PCR positiv waren. Bei den Studientieren, deren Serum im ELISA positiv und in der PCR negativ war, hat die Impf- oder Feldvirus-bedingte Virämie bereits stattgefunden. Diese Proben waren in der real-time-RT-PCR bereits wieder negativ, im ELISA jedoch noch positiv. Besonders deutlich wird dies bei den serologischen und molekularbiologischen Ergebnissen von Betrieb 4. In diesem Betrieb waren alle untersuchten Serumproben seropositiv. Molekularbiologisch konnten in diesem Betrieb jedoch keine positiven Proben ermittelt werden.

Im Gegenzug hat bei den Studientieren deren Serum in der real-time-RT-PCR positiv und ELISA negativ war, eine Infektion mit PRRSV gerade erst stattgefunden, so dass es noch nicht zur Serokonversion gekommen ist.

4 Molekularbiologische Ergebnisse

Vergleicht man die Anzahl der molekularbiologisch positiven Saugferkelserumproben innerhalb der beiden PRRS-Impfkonzepte (PRRS-Sauen+Ferkel-impfend, PRRS-Sauen-impfend), so ist auffallend, dass 9,0 % der Saugferkelserumproben der PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betriebe in der real-time-RT-PCR EU-Stamm-positiv waren. Im Gegensatz hierzu war keine der Saugferkelserumproben bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben in der real-time-RT-PCR EU-Stamm-positiv. Dieser Unterschied in der Häufigkeitsverteilung war signifikant.

Sowohl bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben, als auch bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben konnten die meisten real-time-RT-PCR-positiven Serumproben in der letzten Aufzuchtphase nachgewiesen werden. Bei den PRRS-Sauen-Impfbetrieben wurden im Vergleich zur mittleren Aufzuchtphase und den Saugferkeln in der letzten Aufzuchtphase signifikant mehr PCR-positive Serumproben ermittelt. Bei

den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben konnten hingegen keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der PCR positiven Serumproben zwischen den verschiedenen Altersstufen ermittelt werden. Da in der vorliegenden Studie pro Betrieb und Altersstufe nur jeweils eine PCR-positive Serumprobe sequenziert und phylogenetisch analysiert wurde, lassen sich im Folgenden auch nur Vermutungen anstellen, ob die molekularbiologisch positiven Serumproben durch PRRS-Feldstämme oder durch PRRS-Impfstämme bedingt waren. Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben wurden keine Saugferkelimpfungen durchgeführt und es wurden mit Ausnahme von Betrieb 8 (in diesem Betrieb wurde ein NA-Impfstammderivat gefunden) auch keine molekularbiologisch positiven Serumproben bei den Saugferkeln ermittelt. Dies lässt vermuten, dass bei diesen Betrieben keine direkte oder transplazentare Übertragung von PRRS-Impfviren oder PRRS-Feldstämmen auf die Saugferkel stattgefunden hat, da es ansonsten auch zum Nachweis von molekularbiologisch positiven Saugferkelserumproben hätte kommen müssen. Folglich liegt die Vermutung nahe, dass in den molekularbiologisch positiven Serumproben in der Ferkelaufzucht Feldvirusgenom nachgewiesen wurde.

Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben kann nicht ausgeschlossen werden, dass die molekularbiologisch positiven Saugferkelserumproben durch eine transplazentare Übertragung bedingt waren, da Impfvirus in der späten Phase der Trächtigkeit transplazentar auf die Föten übertragen wird (SCHELKOPF et al., 2014).

SCORTTI et al. (2006a) untersuchten die Virämiephasen nach PRRS-MLV-Vakzinierung und nach Exposition mit einem europäischen Feldisolat und zeigten, dass die Sauen in beiden Fällen virämisch wurden. Die Virämiephase betrug jedoch bei den MLV-vakzinierten Sauen nur bis zu fünf Tage, hingegen bei den PRRS-infizierten Sauen bis zu 21 Tage (SCORTTI et al., 2006a). In der vorliegenden Studie erstreckte sich der Zeitraum zwischen Sauenimpfung und Probennahme bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben von sieben Tagen (Betrieb 12) bis zu 133 Tage (Betrieb 6) (Tabelle 10). Folglich ist es eher unwahrscheinlich, dass die Impfviren perinatal von den Muttersauen auf die Saugferkel

übertragen wurden, da sich die Sauen zum Zeitpunkt der Geburt vermutlich nicht mehr in der Impfvirämiephase befanden.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die molekularbiologisch positiven Saugferkelserumproben bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben wäre, dass in diesen Proben PRRS-Impfvirusgenom zu finden war. Dies konnte durch die phylogenetischen Analyseergebnisse in den Betrieben 1, 10 und 12 bestätigt werden. Die Saugferkel auf den untersuchten Betrieben wurden im Alter von zwei Wochen mit der attenuierten Lebendvakzine Porcilis[®] PRRS geimpft. Die Blutentnahme erfolgte in der dritten bis vierten Lebenswoche, also ein bis zwei Wochen nach der Impfung. MARTELLI et al. (2009) konnten in einem vergleichbaren Zeitraum post vaxinationem (0 – 14 Tage) ebenfalls den Impfstamm in den geimpften Studientieren nachweisen. YESKE et al. (2012) untersuchten in wie weit PRRS-Impfvirus ausgeschieden wird. In dieser Studie wurde das Impfvirus nur in einer geringen Konzentration und über einen kurzen Zeitraum ausgeschieden. Des Weiteren wurde das Impfvirus zu keinem Zeitpunkt (bis zum 112. Tag post vaxinationem) von der Impfgruppe auf die ungeimpfte Kontrollgruppe übertragen (YESKE et al., 2012). Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass sich die Kontrollgruppe und die Impfgruppe in der Studie von YESKE et al. (2012) in separaten Räumlichkeiten befanden, so dass kein direkter Tierkontakt zwischen den Studiengruppen möglich war.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass das europäische Impfisolat welches in den Saugferkelserumproben der PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betriebe gefunden wurde, mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt über die Saugferkelimpfung induziert worden ist und nicht durch eine Ausscheidung von Impfvirus.

KRANKER et al. (1998) führten einen PRRSV-Infektionsversuch in verschiedenen Trächtigkeitsstadien durch. Es konnte gezeigt werden das die Sauen, die ab dem 85. Trächtigkeitstag infiziert wurden, den PRRSV-Feldstamm transplazentar auf 56 % der Föten übertragen haben (KRANKER et al., 1998). Weiterhin infizierten sich in der Studie von KRANKER et al. (1998) noch 28 % der Saugferkel in der perinatalen Periode. Beruhend auf diesen Ergebnissen lässt sich in den eigenen

Untersuchungen auch eine transplazentare oder auch perinatale PRRS-Feldinfektion der Saugferkel als Ursache für die molekularbiologisch positiven Saugferkelerumproben bei den PRRS-Sauen+Ferkelimpfenden Betrieben nicht ausschließen. Dies konnte in den Betrieben 6 und 9 durch die eigenen phylogenetischen Analyseergebnisse untermauert werden.

In der vorliegenden Studie waren die positiven Serumproben in der Ferkelaufzucht bei den PRRS-Sauen-Impfbetrieben höchstwahrscheinlich durch eine Feldvirusinfektion in der Ferkelaufzucht bedingt. Bei den PRRS-Sauen+Ferkelimpfenden Betrieben können jedoch die molekularbiologisch positiven Serumproben sowohl durch die PRRS-Impfung als auch durch Feldvirusinfektionen in der Ferkelaufzucht und über die Sauen hervorgerufen worden sein.

5 Nachweis der PRRS-Feld- und Impfisolate und Einflussfaktoren auf die Persistenz des Eberstation-PRRS-Feldisolats

In der vorliegenden Studie wurden in den Betrieben 1, 5, 6, 9, und 13 PRRSV-Stämme phylogenetisch ermittelt, die zu 98 bis 99 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat verwandt waren. In Betrieb 15 konnte durch einen phylogenetischen Vergleich in Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase ein Stamm detektiert werden, der eine Verwandtschaft von 96 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat aufwies. Bei einer genetischen Übereinstimmung von ≥ 98 % werden die Stämme üblicherweise als identisch definiert. Dieser cut-off-Wert basiert unter anderem auf den Ergebnissen von COLLINS et al. (1998). Es ist jedoch zu beachten, dass die Daten in der Studie COLLINS et al. (1998) über einen relativ kurzen Zeitraum von einem Jahr erhoben wurden (MURTAUGH, 2012). Zudem wird die genetische Diversität maßgeblich von biologischen Faktoren wie der viralen Vermehrung innerhalb der Tiere und der Übertragungsraten zwischen den Tieren beeinflusst (MURTAUGH, 2012). So zeigen KLINGE et al. (2009) zum einen, dass es in Jungtieren zu einer hochgradigen Virusvermehrung kommt und zum anderen, dass es auch innerhalb einer

Altersklasse große Unterschiede in der individuellen Virusvermehrungsrate gibt. Die Viruslast ist wiederum positiv mit der Übertragung zwischen den Tieren assoziiert (CHO et al., 2007). Aufgrund dieser Faktoren kann folglich auch nicht sicher ausgeschlossen werden, dass es sich bei der Probe, die zu 96 % mit dem Eberstation-PRRS-Feldisolat verwandt war, um das für den Ausbruch verantwortliche Isolat handelte.

Wie aus den eigenen Studienergebnissen hervorgeht, persistiert das Eberstation-PRRS-Feldisolat sowohl bei den PRRS-Sauen-Impfbetrieben als auch bei den PRRS-Sauen+Ferkel-Impfbetrieben hauptsächlich in der Ferkelaufzucht und innerhalb der Ferkelaufzucht vor allem in der letzten Aufzuchtphase. Dies deckt sich mit den Studienergebnissen von DEE und JOO (1994). In dieser Studie konnte in drei endemisch infizierten Betrieben bei 80-90 % der acht bis neun Wochen alten Schweine eine Infektion mit PRRSV nachgewiesen werden. Die Muttersauen und die Aufzuchtferkel (eine Woche nach dem Absetzen) waren in der Studie von DEE und JOO (1994) meist seronegativ. In den Betrieben 6 und 9 konnte neben der Ferkelaufzucht auch noch bei den Saugferkelserumproben das Eberstation-PRRS-Feldisolat gefunden werden. Laut GROSSE BEILAGE et al. (2013) spricht ein Nachweis von Feldviren bei Saugferkeln in geimpften Herden für eine instabile Sauenherde. In Betrieb 8 konnte in allen Altersstufen ein Stamm isoliert werden, welcher eine Homologie von 94 % zum nordamerikanischen Impfstamm aufwies. Seit der Einführung der PRRS-NA-Impfung in Deutschland und Dänemark im Jahr 1996 konnten PRRS NA-Impfabkömmlinge regelmäßig sowohl in NA-geimpften, als auch in NA-ungeimpften Herden detektiert werden (BØTNER et al., 1997; OLEKSIEWICZ et al., 1998; STORGAARD et al., 1999). Vor Einführung dieser PRRS NA-Impfung, war der PRRS-NA-Genotyp in Deutschland nicht indigen (GROSSE BEILAGE et al., 2009). Da in Betrieb 8 lediglich eine terminorientierte Sauenimpfung mit dem EU-Genotyp (Porcilis® PRRS) durchgeführt wurde, liegt die Vermutung nahe, dass in Betrieb 8 ein NA-Impfstammderivat im Bestand zirkulierte. Da in diesem Betrieb auch bei den Saugferkeln NA-Impfstammabkömmlinge gefunden werden konnten, ist davon auszugehen, dass eventuell vorhandene

partielle kreuzprotektive Effekte der terminorientierten PRRS-EU-Sauenimpfung die frühe Infektion mit den NA-Impfabkömmlingen nicht verhindern konnten. Dies entspricht auch den Ergebnissen von KIM et al. (2015). In diesem Versuch konnte durch eine PRRS-EU-Impfung (Porcilis[®] PRRS) und nachfolgender PRRS-NA-Infektion, keine Reduzierung der Virämie erreicht werden.

Wie aus den eigenen Ergebnissen hervorgeht, konnte der europäische Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) lediglich bei den PRRS-Sauen+Ferkelimpfenden Betrieben gefunden werden. In den Betrieben 1, 10 und 12 konnten in Saugferkelserumproben Stämme isoliert werden, die eine Homologie von 99 % zu dem europäischen Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) aufwiesen. In den Betrieben 1, 6, 11 und 12 wurden in den Serumproben aus der mittleren Aufzuchtphase Stämme gefunden, die zu 98-99 % mit dem europäischen Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) übereinstimmten. In Betrieb 12 konnte zudem in der letzten Aufzuchtphase ein Stamm ermittelt werden der zu 99 % mit dem europäischen Impfstamm (Porcilis[®] PRRS) verwandt war. Die Saugferkel in den eigenen Untersuchungen wurden im Alter von zwei Wochen mit Porcilis[®] PRRS geimpft und waren zum Beprobungszeitpunkt durchschnittlich 3,8 Wochen alt. Zwischen Impfung und Probennahme lagen also durchschnittlich 13 Tage. Die Aufzuchtferkel aus der mittleren Aufzuchtphase waren im Schnitt 7,5 Wochen und die aus der letzten Aufzuchtphase durchschnittlich 10,5 Wochen alt. Zwischen Impfung und Probennahme lagen also in der mittleren Aufzuchtphase 39 Tage und 60 Tage in der letzten Aufzuchtphase. In dem Betrieb (Betrieb 15), in welchem auch noch in der letzten Aufzuchtphase das Porcilis[®] PRRS Impfisolat gefunden werden konnte, lagen zwischen Impfung und Probennahme 49 Tage. Diese Ergebnisse decken sich mit den Studienergebnisse von STADEJEK et al. (2005) und JOHNSON et al. (2004). Auch in diesen Studien konnte der PRRS-Impfstamm bis zu 49 Tage post vaxinationem mittels RT-PCR detektiert werden. Die Detektion des europäischen Impfstamms ist also mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Saugferkelimpfung zurückzuführen, wobei auch eine Impfvirusübertragung zwischen den Tieren in der letzten Aufzuchtphase nicht sicher ausgeschlossen werden kann (STADEJEK et al., 2005). In

Betrieb 11 wurde in der letzten Aufzuchtphase ein Feldstamm isoliert, der eine Sequenzidentität von 88 % mit dem Referenzstamm Lelystadt aufwies. In der darauf erfolgten phylogenetischen Analyse konnte festgestellt werden, dass es sich bei diesem Stamm weder um das Eberstation-PRRS-Feldisolat noch um ein PRRS-Impfisolat handelte. Daraus folgend hat in Betrieb 11 nach der PRRS-Ausbruchsphase ein PRRS-Feldvirus-Neueintrag stattgefunden. Die weitere phylogenetische Bestimmung des Feldisolats war wiederum nicht Teil der eigenen Auswertung.

6 Tiergesundheitsscore in Korrelation zum PRRS-Impfschema und des Virusnachweises nach der Ausbruchsphase

Drei (Betriebe 1, 6, 9) der fünf Studienbetriebe, in denen das Eberstation-PRRS-Feldisolat noch ein Jahr nach der Ausbruchsphase detektiert werden konnte, führten eine PRRS-Sauen+Ferkel-Impfung durch. Zwei Betriebe (Betriebe 5, 13) impften lediglich die Sauen terminorientiert gegen PRRS. Im Betrieb 11 konnte in der letzten Aufzuchtphase ein PRRS-Feldstamm isoliert werden, der allerdings nicht genauer phylogenetisch bestimmt wurde. CHARERNTANTANAKUL et al. (2006) zeigen, dass durch eine PRRS-MLV-Impfung der Grad der Virämie verringert werden kann. Des Weiteren kann durch eine PRRS-MLV-Impfung die Dauer der Virusausscheidung reduziert werden (CANO et al., 2007a). In Folge kommt es zu einer signifikanten Reduktion der persistent infizierten Tiere (CANO et al., 2007b). Auf Grundlage dieser Ergebnisse hätte es in den PRRS-Sauen+Ferkelimpf-Betrieben zu einer geringeren Nachweisrate des Eberstation-PRRS-Feldisolats kommen müssen, da es in diesen Betrieben zu einer aktiven Immunisierung der Saugferkel gekommen ist. Eine mögliche Erklärung dafür, dass noch Feldvirusgenom nachgewiesen wurde, könnte der in den eigenen Ergebnissen erhobene Tiergesundheitsscore liefern. Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass alle Betriebe in denen das Eberstation-PRRS-Feldisolat gefunden werden konnte, in die Tiergesundheitskategorie 0 (= niedriger Gesundheitsstatus/schlechte Betriebshygiene) fielen. Auch Betrieb 11 fiel in die

Tiergesundheitskategorie 0 (= niedriger Gesundheitsstatus/schlechte Betriebshygiene). Die PRRS-Impfung der Ferkel kann folglich zwar das PRRS-assoziierte klinische Erscheinungsbild kontrollieren, eignet sich jedoch nicht dazu die Zirkulation des Eberstation-PRRS-Feldisolats insbesondere in der Ferkelaufzucht vollständig zu unterbinden. Bei einer schlechten Betriebshygiene werden verstärkt Lungenmakrophagen aktiviert, die in Folge vermehrt für eine Infektion mit PRRSV zu Verfügung stehen (REINER, 2015). Daraus erschließt sich der besondere pathogenetische Zusammenhang der zwischen schlechter Betriebshygiene und einer vermehrten Infektion mit PRRSV besteht, denn PRRSV hat die Eigenschaft insbesondere aktivierte Lungenmakrophagen zu infizieren (REINER, 2015).

Das McRebel-Verfahren (management changes to reduce exposure to bacteria to eliminate losses) (DEE et al., 1996) und der 20 Punkteplan nach Madec (MADEC et al., 2000; SEGALES et al., 2005) basieren auf einer Verbesserung sowohl der internen (Risiko der Persistenz), als auch der externen Biosicherheit. Dadurch kann die Betriebshygiene verbessert und somit die Viruszirkulation, insbesondere in der Ferkelaufzucht, unterbunden werden (MCCAWE, 2000). Basierend auf den eigenen Ergebnissen des Tiergesundheits-Scores und den zitierten Studienergebnissen kann davon ausgegangen werden, dass durch eine Verbesserung der internen Biosicherheit die Viruszirkulation in den Betrieben unterbunden und somit die PRRSV-Persistenz vom Eberstation-PRRS-Feldisolat beendet werden könnte. Im Betrieb 11 kann vermutet werden, dass durch eine Verbesserung der externen Biosicherheit der PRRS-Feldvirusneueintrag in diesem Betrieb nicht stattgefunden hätte.

7 Mittlere CT-Werte der Eberstation-PRRS-Feldisolate und PRRS-Impfstämme

Bei dem Vergleich der mittleren CT-Werte der Eberstation-PRRS-Feldisolate und der PRRS-Impfstämme war auffallend, dass die mittleren CT-Werte der Feldstämme signifikant niedriger und uneinheitlicher waren als die mittleren CT-Werte der Impfstämme. Bei dem zur Verwendung gekommenen virotype[®] PRRSV real-time-RT-PCR Testverfahren handelt

es sich um eine nicht-quantitative PCR. POLSON et al. (2010) zeigen jedoch, dass die Ergebnisse von nicht-quantitativen und quantitativen PRRSV-PCR-Verfahren korrelieren und somit auch, dass anhand der Höhe von nicht-quantitativen CT-Werten gewisse Rückschlüsse auf die Viruslast möglich sind. ANGULO et al. (2011) zeigen weiterhin, dass ein Absinken der PRRS-Viruslast mit einem Anstieg der CT-Werte assoziiert ist. Des Weiteren untersuchten ANGULO et al. (2011) den Einfluss, den eine PRRS-MLV-Implementierung auf die Höhe der CT-Werte von PRRS-Feldvirus positiven Proben hat. Über einen Untersuchungszeitraum von zehn Monaten kam es durch die Etablierung der PRRS-MLV-Vakzinierung zu einer signifikanten Erhöhung der CT-Werte und zu einer geringeren Standardabweichung sowie zu einer Verringerung der Feldviruslast (ANGULO et al., 2011). Die Höhe des CT-Werts kann laut ANGULO et al. (2011) als relativer Indikator für die Feldviruslast dienen.

VI ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wurde der Verlauf eines Porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndrom Virus Ausbruchs in Süddeutschland untersucht, der durch PRRSV-infiziertes Sperma ausgelöst wurde. Hierfür wurden in 15 vom PRRS-Ausbruch betroffenen Betrieben die PRRSV-assoziierten klinischen Anzeichen über einen Zeitraum von sechs Monaten erfasst. Von diesen 15 Studienbetrieben führten acht Betriebe vor der PRRS-Ausbruchsphase keine Impfmaßnahmen gegen PRRS durch. Sieben Betriebe impften bereits vor der Ausbruchsphase ihre Sauen alle vier Monate gegen PRRS. Bei den PRRS-Impfbetrieben kam es zu einer signifikanten Reduktion der tot geborenen Ferkel und der Saugferkelverluste.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit stellte der Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats 12 Monate nach der PRRS-Ausbruchsphase dar. Von den 15 Studienbetrieben etablierten alle Betriebe während der PRRS-Ausbruchsphase eine terminorientierte (alle vier Monate) PRRS-Sauenimpfung. Sieben Betriebe führten zudem noch eine Saugferkelimpfung gegen PRRS in der zweiten Lebenswoche ein. Es wurde untersucht, inwiefern die PRRS-Feldviruspersistenz vom PRRS-Impfschema und der betriebsspezifischen Hygiene beeinflusst wird.

Zur Erhebung des PRRSV-Infektionsstatus erfolgte eine Untersuchung von Saugferkelserumproben (PCR) und Serumproben aus der mittleren- und letzten Aufzuchtphase (PCR und ELISA). Von den 260 untersuchten Serumproben waren 50,4 % im ELISA positiv. 37,4 % dieser serologisch positiven Proben stammten von Ferkeln aus der mittleren Aufzuchtphase und 62,6 % von Ferkeln aus der letzten Aufzuchtphase. Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben wurden signifikant mehr seropositive Serumproben in der letzten Aufzuchtphase als in der mittleren Aufzuchtphase ermittelt. Auch bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben waren die meisten seropositiven Serumproben in der letzten Aufzuchtphase zu finden, allerdings waren die Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung bei diesem Impfkonzept nicht signifikant. In 8,0 %

(57/710) der 710 untersuchten Serumproben wurden PRRSV-spezifische Genomfragmente mittels real-time-RT-PCR nachgewiesen. Von diesen PCR-positiven Proben stammten 5,6 % von Saugferkeln, 6,9 % von Ferkeln aus der mittleren Aufzuchtphase und 17,7 % von Ferkeln aus der letzten Aufzuchtphase. Bei den PRRS-Sauen-impfenden Betrieben war keine der Saugferkelerumproben in der real-time-RT-PCR PRRS-EU-Stamm-positiv. Bei den PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben konnten hingegen signifikant mehr PRRS-EU-Stamm positive Saugferkelerumproben nachgewiesen werden. In fünf Betrieben (zwei PRRS-Sauen-Impfbetriebe und drei PRRS-Sauen+Ferkel-Impfbetriebe) konnte noch 12 Monate nach dem PRRS-Ausbruch das Eberstation-PRRS-Feldisolat in der Ferkelaufzucht isoliert werden. Zusätzlich gelang in zwei PRRS-Sauen+Ferkel-Impfbetrieben der Eberstation-PRRS-Feldisolat-Nachweis bei den Saugferkeln. Der europäische Impfstamm (Porcilis® PRRS) konnte lediglich in den PRRS-Sauen+Ferkel-Impfbetrieben gefunden werden.

Die betriebsspezifische Hygiene betreffend konnte gezeigt werden, dass alle Betriebe, in denen das Eberstation-PRRS-Feldisolat noch ein Jahr nach der PRRS-Ausbruchsphase detektiert werden konnte, eine schlechte Betriebshygiene aufwiesen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die Impfung gegen PRRS zwar ein klinischer Schutz vermittelt wird, es jedoch nicht möglich ist, durch eine PRRS-Impfung einen durchgängigen und einheitlichen Schutz vor Aborten zu gewährleisten. Ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Untersuchung ist, dass Feldstämme vor allem in der Ferkelaufzucht zirkulieren und dass eine Impfung der Ferkel zwar die klinische Erscheinung von PRRS kontrolliert, nicht jedoch die Zirkulation des Feldstammes verhindern kann. Des Weiteren birgt eine schlechte Betriebshygiene ein hohes Risiko für eine PRRS-Feldviruspersistenz.

VII SUMMARY

The present study examined the course of a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus outbreak by PRRSV-infected semen in Southern Germany. Therefore, the PRRSV-associated clinical signs were recorded in 15 affected farms over a time period of six months. Before the PRRS-outbreak eight out of these 15 farms did not vaccinate against PRRS. Seven farms vaccinated their sows every four months against PRRS. On these PRRS-vaccinating farms a significant reduction of the incidence of dead born piglets and losses of suckling piglets was observed.

A further objective of the present study was to isolate the boar stud-PRRS-field strain 12 months after the PRRS outbreak. All 15 study farms established a PRRS-sow vaccination every four months during the PRRS outbreak. Seven farms moreover initiated a suckling piglet vaccination against PRRS in the second week of life. The influence of the PRRSV-vaccination scheme and of the farm specific biosecurity on the PRRSV field virus persistence was evaluated.

To determine the PRRSV-infection status, serum samples from suckling piglets (PCR) as well as from pigs from the middle and the end of the nursery period (PCR and ELISA) were examined. Out of the 260 tested serum samples 50.4 % were positive in the ELISA. 37.4 % of the serological positive samples originated from piglets from the middle of the nursery period and 62.6 % from piglets of the end of the nursery period. On the PRRS-sow vaccinating farms, significantly more seropositive serum samples were detected in the end than in the middle of the nursery period. On the PRRS-sow and piglet vaccinating farms seropositive serum samples were mostly detected in the end of the nursery period. However, the differences in the frequency distribution regarding this vaccination scheme were not significant. In 8.0 % (57/710) of the 710 examined serum samples, PRRSV-specific genomic fragments were detected by real-time-RT-PCR. These PCR-positive samples originated in 5.6 % of the cases from suckling piglets, in 6.9 % from pigs in the middle of the nursery period

and in 17.7 % from pigs of the end of the nursery period. On the PRRS-sow vaccinating farms none of the examined serum samples (suckling piglets) were PRRS-EU-strain-positive in the real-time-RT-PCR. In PRRS-sow and piglet vaccinating farms significantly more PRRS-EU-strain-positive serum samples of the suckling piglets could be detected. In five farms (two sow and piglet vaccinating farms and three sow vaccinating farms) the boar stud PRRS-fieldstrain was detected in the nursery unit 12 months after the initial outbreak. In addition the boar stud PRRS-fieldstrain was isolated in suckling piglets in two of the sow and piglet vaccinating farms. The European PRRSV vaccine strain (Porcilis[®] PRRS) was only isolated in sow and piglet vaccinating farms.

Regarding the farm specific hygiene it was shown that all farms in which the boar stud PRRS-fieldstrain was detected one year after the initial PRRS-outbreak phase had a bad biosecurity.

In conclusion, vaccination against PRRS mediates a clinical protection but it is not able to provide a continuous and consistent protection against abortion. Furthermore, the results of the present study show that field strains circulate especially in the nursery unit. Piglet vaccination was able to control the clinical outcome of PRRS. However, the circulation of the field strain is not influenced by this piglet vaccination scheme. A bad farm biosecurity additionally implicates a high risk for the PRRS-field strain persistence.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

Alber G, Moos M, Pfeffer M, Selbitz HJ, Weigand VW. Infektionslehre. In: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 9. Auflage 2011. eds: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P. Stuttgart, Enke. 2-47.

Albina E, Leforban Y, Baron T, Duran JP, Vannier P. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Ann. Rech. Vet.* 1992; 23: 167-176.

Alexopoulos C, Kritas SK, Kyriakis CS, Tzika E, Kyriakis SC. Sow performance in an endemically porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)-infected farm after sow vaccination with an attenuated PRRS vaccine. *Vet. Microbiol.* 2005; 111: 151-157.

Allan GM, McNeilly F, Ellis J, Krakowka S, Meehan B, McNair I, Walker I, Kennedy S. Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Arch. Virol.* 2000; 145: 2421-2429.

Allende R, Laegreid WW, Kutish GF, Galeota JA, Wills RW, Osorio FA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: description of persistence in individual pigs upon experimental infection. *J. Virol.* 2000; 74: 10834-10837.

Allende R, Lewis TL, Lu Z, Rock DL, Kutish GF, Ali A, Doster AR, Osorio FA. North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome viruses differ in non-structural protein coding regions. *J. Gen. Virol.* 1999; 80: 307-315.

Angulo J, Kolb J, Philips R, Doolittle K. Use of RT-PCR Ct values to assess trends in the magnitude of PRRS virus viremia over time. Allen D. Lemn Swine Conference, Minnesota, USA, 912011: 253-254.

Badaoui B, Rutigliano T, Anselmo A, Vanhee M, Nauwynck H, Giuffra E, Botti S. RNA-sequence analysis of primary alveolar macrophages after in vitro infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of differing virulence. PLoS One 2014; 9: 1-13.

Balka G, Hornyak A, Balint A, Benyeda Z, Rusvai M. Development of a one-step real-time quantitative PCR assay based on primer-probe energy transfer for the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. J. Virol. Methods 2009; 158: 41-45.

Baron T, Albina E, Leforban Y, Madec F, Guilamoto H, Duran JP, Vannier P. Report on the 1st outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France - diagnosis and viral isolation. Ann. Rech. Vet. 1992; 23: 161-166.

Benfield D, Nelson J, Rossow K, Nelson C, Steffen M, Rowland R. Diagnosis of persistent or prolonged porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections. Vet. Res. 2000; 31: 71-71.

Benfield DA, Nelson E, Collins JE, Harris L, Goyal SM, Robison D, Christianson WT, Morrison RB, Gorcyca D, Chladek D. Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (Isolate ATCC VR-2332). J. Vet. Diagn. Invest. 1992; 4: 127-133.

Benson JE, Yaeger MJ, Christopher-Hennings J, Lager K, Yoon KJ. A comparison of virus isolation, immunohistochemistry, fetal serology, and reverse-transcription polymerase chain reaction assay for the identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus transplacental infection in the fetus. J. Vet. Diagn. Invest. 2002; 14: 8-14.

Beyer J, Fichtner D, Schirrneier H, Polster U, Weiland E, Wege H. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): kinetics of infection in lymphatic organs and lung. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 2000; 47: 9-25.

Bierk MD, Dee SA, Rossow KD, Otake S, Collins JE, Molitor TW. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from persistently infected sows to contact controls. *Can. J. Vet. Res.* 2001; 65: 261-266.

Bilodeau R, Archambault D, Vézina SA, Sauvageau R, Fournier M, Dea S. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in a swine operation. *Can. J. Vet. Res.* 1994; 58: 291-298.

Bøtner A, Nielsen J, Billehansen V. Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a danish swine herd and experimental-infection of pregnant gilts with the virus. *Vet. Microbiol.* 1994; 40: 351-360.

Bøtner A, Strandbygaard B, Sorensen KJ, Have P, Madsen KG, Madsen ES, Alexandersen S. Appearance of acute PRRS-like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine. *Vet. Rec.* 1997; 141: 497-499.

Brockmeier SL, Lager KM. Experimental airborne transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Bordetella bronchiseptica*. *Vet. Microbiol.* 2002; 89: 267-275.

Brockmeier SL, Palmer MV, Bolin SR. Effects of intranasal inoculation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, *Bordetella bronchiseptica*, or a combination of both organisms in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 2000; 61: 892-899.

Cano JP, Dee SA, Murtaugh MP, Pijoan C. Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate. *Vaccine* 2007a; 25: 4382-4391.

Cano JP, Dee SA, Murtaugh MP, Trincado CA, Pijoan CB. Effect of vaccination with a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine on dynamics of homologous viral infection in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 2007b; 68: 565-571.

Carlsson U, Wallgren P, Renstrom LHM, Lindberg A, Eriksson H, Thoren P, Eliasson-Selling L, Lundeheim N, Norregard E, Thorn C, Elvander M. Emergence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in Sweden: Detection, Response and Eradication. *Transbound. Emerg. Dis.* 2009; 56: 121-131.

Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ. Evidence that persistent porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in pigs does not require significant genetic change in open reading frame 5. *J. Swine. Health. Prod.* 2009; 17: 318-324.

Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ, Harmon KM, Dixon PM, Dvorak CM, Murtaugh MP. Evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during sequential passages in pigs. *J. Virol.* 2002; 76: 4750-4763.

Chareerntantanakul W, Platt R, Johnson W, Roof M, Vaughn E, Roth JA. Immune responses and protection by vaccine and various vaccine adjuvant candidates to virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006; 109: 99-115.

Cho HJ, Deregt D, Joo HS. An ELISA for porcine reproductive and respiratory syndrome: production of antigen of high quality. *Can. J. Vet. Res.* 1996; 60: 89-93.

Cho JG, Dee SA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 2006; 66: 655-662.

Cho JG, Deen J, Dee SA. Influence of isolate pathogenicity on the aerosol transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 2007; 71: 23-27.

Christianson WT, Choi CS, Collins JE, Molitor TW, Morrison RB, Joo HS. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infection in midgestation sows and fetuses. *Can. J. Vet. Res.* 1993; 57: 262-268.

Christianson WT, Collins JE, Benfield DA, Harris L, Gorcycya DE, Chladek DW, Morrison RB, Joo HS. Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows. *Am. J. Vet. Res.* 1992; 53: 485-488.

Christopher-Hennings J, Holler LD, Benfield DA, Nelson EA. Detection and duration of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen, serum, peripheral blood mononuclear cells, and tissues from Yorkshire, Hampshire, and Landrace boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2001; 13: 133-142.

Christopher-Hennings J, Nelson EA, Hines RJ, Nelson JK, Swenson SL, Zimmerman JJ, Chase CCL, Yaeger MJ, Benfield DA. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1995; 7: 456-464.

Chung WB, Chan WH, Chaung HC, Lien Y, Wu CC, Huang YL. Real-time PCR for quantitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in naturally-infected and challenged pigs. *J. Virol. Methods* 2005; 124: 11-19.

Chung WB, Lin MW, Chang WF, Hsu M, Yang PC. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds. *Can. J. Vet. Res.* 1997; 61: 292-298.

Collins J, Frank R, Rossow K. Interpreting PRRSV sequencing data. Allen D. Lemans Swine Conference, Minnesota, USA, 1998: 1-9.

Collins JE. Newly recognized respiratory syndromes in North American swine herds. *Am. Assoc. Swine. Pract. News* 1991; 13: 7-11.

Collins JE, Benfield DA, Christianson WT, Harris L, Hennings JC, Shaw DP, Goyal SM, McCullough S, Morrison RB, Joo HS, Gorcyca D, Chladek D. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (Isolate ATCC VR-2332) in North-America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1992; 4: 117-126.

Corbellini LG, Schwermer H, Presi P, Thur B, Stark KDC, Reist M. Analysis of national serological surveys for the documentation of freedom from porcine reproductive and respiratory syndrome in Switzerland. *Vet. Microbiol.* 2006; 118: 267-273.

Corzo CA, Mondaca E, Wayne S, Torremorell M, Dee S, Davies P, Morrison RB. Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus. Res.* 2010; 154: 185-192.

Costers S, Lefebvre DJ, Delputte PL, Nauwynck HJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus modulates apoptosis during replication in alveolar macrophages. *Arch. Virol.* 2008; 153: 1453-1465.

Cutler TD, Wang C, Hoff SJ, Kittawornrat A, Zimmerman JJ. Median infectious dose (ID₅₀) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate MN-184 via aerosol exposure. *Vet. Microbiol.* 2011; 151: 229-237.

Das PB, Dinh PX, Ansari IH, de Lima M, Osorio FA, Pattnaik AK. The minor envelope glycoproteins GP2a and GP4 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus interact with the receptor CD163. *J. Virol.* 2010; 84: 1731-1740.

Dea S, Bilodeau R, Athanassious R, Sauvageau R, Martineau GP. Swine reproductive and respiratory syndrome in Quebec: Isolation of an enveloped virus serologically-related to Lelystad virus. *Can. Vet. J.* 1992; 33: 801-808.

Dee S, Bierk MD, Rossow K, Deen J, Guedes MI, Molitor T. PRRS eradication: Test and removal. Allen D. Lemman Swine Conference, Minneapolis, USA, 2000: 54-58.

Dee S, Collins J, Halbur P, Keffaber KK, Lautner B, McCaw MB, Polson D, Rodibaugh MT, Sanford E, Yeske P. Control of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Swine Health Prod.* 1996; 4: 95-98.

Dee S, Molitor T. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a test and removal process. *Vet. Rec.* 1998; 143: 474-476.

Dee S, Morrison B, Joo HS. Eradicating porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus using two-site production and nursery depopulation. *J. Swine Health Prod.* 1993; 1: 20-23.

Dee S, Philips RE. Using vaccination and unidirectional pig flow to control PRRSV transmission. *J. Swine Health Prod.* 1998; 6: 21-25.

Dee SA. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 30 farms by test and removal. *J. Swine. Health Prod.* 2004; 12: 129-133.

Dee SA, Bierk MD, Deen J, Molitor TW. An evaluation of test and removal for the elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 5 swine farms. *Can. J. Vet. Res.* 2001; 65: 22-27.

Dee SA, Deen J, Otake S, Pijoan C. An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can. J. Vet. Res.* 2004; 68: 128-133.

Dee SA, Joo HS. Prevention of the spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in endemically infected pig herds by nursery depopulation. *Vet. Rec.* 1994; 135: 6-9.

Delputte PL, Costers S, Nauwynck HJ. Analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus attachment and internalization: distinctive roles for heparan sulphate and sialoadhesin. *J. Gen. Virol.* 2005; 86: 1441-1445.

Delputte PL, Vanderheijden N, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Involvement of the matrix protein in attachment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to a heparinlike receptor on porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 2002; 76: 4312-4320.

Dewey CE, Wilson S, Buck P, Leyenaar JK. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccination in breeding-age animals. *Prev. Vet. Med.* 2004; 62: 299-307.

Diaz I, Darwich L, Pappaterra G, Pujols J, Mateu E. Immune responses of pigs after experimental infection with a European strain of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 2005; 86: 1943-1951.

Diaz I, Darwich L, Pappaterra G, Pujols J, Mateu E. Different European-type vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus

have different immunological properties and confer different protection to pigs. *Virology* 2006; 351: 249-259.

Done SH, Paton DJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome: clinical disease, pathology and immunosuppression. *Vet. Rec.* 1995; 136: 32-35.

Drew TW, Meulenbergh JJ, Sands JJ, Paton DJ. Production, characterization and reactivity of monoclonal antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 1995; 76: 1361-1369.

Duan X, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Microbiol.* 1997; 56: 9-19.

Egli C, Thur B, Liu L, Hofmann MA. Quantitative TaqMan RT-PCR for the detection and differentiation of European and North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods* 2001; 98: 63-75.

Fairbanks K, Chase C, Benfield DA. Tonsil biopsies and polymerase chain reaction assay for detection of breeding age gilts persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Swine Health Prod.* 2002; 10: 87-88.

Fangman TJ, Kleiboeker SB. Tonsillar crypt exudate to evaluate shedding and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus after inoculation with live field virus or vaccination with modified live virus vaccine. *J. Swine Health Prod.* 2007; 15: 219-223.

Fano E, Pijoan C, Dee S. Evaluation of the aerosol transmission of a mixed infection of *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 2005; 157: 105-108.

Feng W, Laster SM, Tompkins M, Brown T, Xu JS, Altier C, Gomez W, Benfield D, McCaw MB. In utero infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus is sufficient to increase susceptibility of piglets to challenge by *Streptococcus suis* type II. *J. Virol.* 2001; 75: 4889-4895.

Ferrin NH, Fang Y, Johnson CR, Murtaugh MP, Polson DD, Torremorell M, Gramer ML, Nelson EA. Validation of a Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004; 11: 503-514.

Forsberg R, Storgaard T, Nielsen HS, Oleksiewicz MB, Cordioli P, Sala G, Hein J, Botner A. The genetic diversity of European type PRRSV is similar to that of the North American type but is geographically skewed within Europe. *Virology* 2002; 299: 38-47.

Foss DL, Zilliox MJ, Meier W, Zuckermann F, Murtaugh MP. Adjuvant danger signals increase the immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viral. Immunol.* 2002; 15: 557-566.

Geldhof MF, Van Breedam W, De Jong E, Lopez Rodriguez A, Karniychuk UU, Vanhee M, Van Doorselaere J, Maes D, Nauwynck HJ. Antibody response and maternal immunity upon boosting PRRSV-immune sows with experimental farm-specific and commercial PRRSV vaccines. *Vet. Microbiol.* 2013; 167: 260-271.

Goldberg TL, Hahn EC, Weigel RM, Scherba G. Genetic, geographical and temporal variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Illinois. *J. Gen. Virol.* 2000; 81: 171-179.

Goldberg TL, Lowe JF, Milburn SM, Firkins LD. Quasispecies variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during natural infection. *Virology* 2003; 317: 197-207.

Gradil C, Dubuc C, Eaglesome MD. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: seminal transmission. *Vet. Rec.* 1996; 138: 521-522.

Grøntvedt CA, Sjurseth SK, Er C. The surveillance programme for specific viral infections in swine herds in Norway 2014. In: Surveillance programmes for terrestrial and aquatic animals in Norway. Annual report 2014. Oslo, Norway, Norwegian Veterinary Institute 2015.

Grosse Beilage E, Nathues H, Grummer B, Hartung J, Kamphues J, Kietzmann M, Rohde J, Spindler B, Weissenböck H. Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, 1. Auflage 2013. ed. Grosse Beilage E, Wendt, M. Stuttgart, Eugen Ulmer. 200-270.

Grosse Beilage E, Nathues H, Meemken D, Harder TC, Doherr MG, Grotha I, Greiser-Wilke I. Frequency of PRRS live vaccine virus (European and North American genotype) in vaccinated and non-vaccinated pigs submitted for respiratory tract diagnostics in North-Western Germany. *Prev. Vet. Med.* 2009; 92: 31-37.

Halbur PG, Miller LD, Paul PS, Meng XJ, Huffman EL, Andrews JJ. Immunohistochemical identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen in the heart and lymphoid system of three-week-old colostrum-deprived pigs. *Vet. Pathol.* 1995; 32: 200-204.

Halbur PG, Paul PS, Meng XJ, Lum MA, Andrews JJ, Rathje JA. Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-

derived, colostrum-deprived pig model. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1996; 8: 11-20.

Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J. Exp. Med.* 1977; 146: 201-217.

Harms PA, Sorden SD, Halbur PG, Bolin SR, Lager KM, Morozov I, Paul PS. Experimental Reproduction of Severe Disease in CD/CD Pigs Concurrently Infected with Type 2 Porcine Circovirus and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Vet. Pathol.* 2001; 38: 528-539.

Heinritzi K. Virale Infektionskrankheiten. In: *Schweinekrankheiten*, 1. Auflage 2006. eds: Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U. Stuttgart, Eugen Ulmer. 107-125.

Hill HT. Overview and history of mystery swine disease (swine infertility and respiratory syndrome). Mystery Swine Disease Committee Meeting, Denver, USA, 1990: 29-30.

Holtkamp D, Lin H, Wang C, Polson D, Mowrer C. PADRAP: Production Animal Disease Assessment Program. Annual Meeting AASV Arizona, USA, 2011: 521-524.

Holtkamp DJ, Kliebenstein JB, Neumann EJ, Zimmerman JJ, Rotto HF, Yoder TK, Wang C, Yeske PE, Mowrer CL, Haley CA. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on United States pork producers. *J. Swine Health Prod.* 2013; 21: 72-84.

Hopper SA, White ME, Twiddy N. An outbreak of blue-eared pig disease (porcine reproductive and respiratory syndrome) in four pig herds in Great Britain. *Vet. Rec.* 1992; 131: 140-144.

Horter DC, Pogranichniy RM, Chang CC, Evans RB, Yoon KJ, Zimmerman JJ. Characterization of the carrier state in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Microbiol.* 2002; 86: 213-228.

Hu J, Zhang C. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Vaccines: Current Status and Strategies to a Universal Vaccine. *Transbound. Emerg. Dis.* 2014; 61: 109-120.

Johnson CR, Griggs TF, Gnanandarajah J, Murtaugh MP. Novel structural protein in porcine reproductive and respiratory syndrome virus encoded by an alternative ORF5 present in all arteriviruses. *J. Gen. Virol.* 2011; 92: 1107-1116.

Johnson W, Roof M, Vaughn E, Christopher-Hennings J, Johnson C, Murtaugh M. Pathogenic and humoral immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) are related to viral load in acute infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004; 102: 233-247.

Karniychuk UU, Nauwynck HJ. Pathogenesis and prevention of placental and transplacental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Res.* 2013; 44: 14.

Karniychuk UU, Saha D, Geldhof M, Vanhee M, Cornillie P, Van den Broeck W, Nauwynck HJ. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) causes apoptosis during its replication in fetal implantation sites. *Microb. Pathog.* 2011; 51: 194-202.

Keffaber KK. Reproductive failure of unknown etiology. *Am. Assoc. Swine. Pract. News* 1989; 1: 1-19.

Kim H, Kim HK, Jung JH, Choi YJ, Kim J, Um CG, Hyun SB, Shin S, Lee B, Jang G, Kang BK, Moon HJ, Song DS. The assessment of efficacy of

porcine reproductive respiratory syndrome virus inactivated vaccine based on the viral quantity and inactivation methods. *Viol. J.* 2011; 8: 323.

Kim H, Kwang J, Yoon I, Joo H, Frey M. Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogenous subpopulation of MA-104 cells. *Arch. Virol.* 1993; 133: 477-483.

Kim T, Park C, Choi K, Jeong J, Kang I, Park SJ, Chae C. Comparison of Two Commercial Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Modified Live Vaccines against Heterologous Type 1 and Type 2 PRRSV Challenge in Growing Pigs. *Clin. Vaccine. Immunol.* 2015; 22: 631-640.

Kimman TG, Cornelissen LA, Moormann RJ, Rebel JMJ, Stockhofe-Zurwieden N. Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology. *Vaccine* 2009; 27: 3704-3718.

Kleiboeker SB, Schommer SK, Lee SM, Watkins S, Chittick W, Polson D. Simultaneous detection of North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome virus using real-time quantitative reverse transcriptase-PCR. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2005; 17: 165-170.

Klinge KL, Vaughn EM, Roof MB, Bautista EM, Murtaugh MP. Age-dependent resistance to Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in swine. *Viol. J.* 2009; 6: 177.

Kranker S, Nielsen J, Bille-Hansen V, Botner A. Experimental inoculation of swine at various stages of gestation with a Danish isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Microbiol.* 1998; 61: 21-31.

Kristensen CS, Botner A, Takai H, Nielsen JP, Jorsal SE. Experimental airborne transmission of PRRS virus. *Vet. Microbiol.* 2004; 99: 197-202.

Kritas SK, Alexopoulos C, Kyriakis CS, Tzika E, Kyriakis SC. Performance of fattening pigs in a farm infected with both porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and porcine circovirus type 2 following sow and piglet vaccination with an attenuated PRRS vaccine. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2007; 54: 287-291.

Labarque G, Reeth KV, Nauwynck H, Drexler C, Van Gucht S, Pensaert M. Impact of genetic diversity of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains on vaccine efficacy. *Vaccine* 2004; 22: 4183-4190.

Labarque G, Van Gucht S, Nauwynck H, Van Reeth K, Pensaert M. Apoptosis in the lungs of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and associations with the production of apoptogenic cytokines. *Vet. Res.* 2003a; 34: 249-260.

Labarque G, Van Gucht S, Van Reeth K, Nauwynck H, Pensaert M. Respiratory tract protection upon challenge of pigs vaccinated with attenuated porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines. *Vet. Microbiol.* 2003b; 95: 187-197.

Ladinig A, Detmer SE, Clarke K, Ashley C, Rowland RR, Lunney JK, Harding JC. Pathogenicity of three type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains in experimentally inoculated pregnant gilts. *Virus. Res.* 2015; 203: 24-35.

Ladinig A, Wilkinson J, Ashley C, Detmer SE, Lunney JK, Plastow G, Harding JC. Variation in fetal outcome, viral load and ORF5 sequence mutations in a large scale study of phenotypic responses to late gestation exposure to type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *PLoS One* 2014; 9: 1-11.

Lager KM, Mengeling WL, Brockmeier SL. Evaluation of protective immunity in gilts inoculated with the NADC-8 isolate of porcine

reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and challenge-exposed with an antigenically distinct PRRSV isolate. *Am. J. Vet. Res.* 1999; 60: 1022-1027.

Larochelle R, Mardassi H, Dea S, Magar R. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in cell cultures and formalin-fixed tissues by in situ hybridization using a digoxigenin-labeled probe. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1996; 8: 3-10.

Le Jan C. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Vet. Res.* 1996; 27: 403-417.

Lee SM, Kleiboeker SB. Porcine arterivirus activates the NF-kappaB pathway through IkappaB degradation. *Virology* 2005; 342: 47-59.

Lee SM, Schommer SK, Kleiboeker SB. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus field isolates differ in in vitro interferon phenotypes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004; 102: 217-231.

Lee YJ, Park CK, Nam E, Kim SH, Lee OS, Lee du S, Lee C. Generation of a porcine alveolar macrophage cell line for the growth of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods* 2010; 163: 410-415.

Li Y, Wang X, Bo K, Wang X, Tang B, Yang B, Jiang W, Jiang P. Emergence of a highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the Mid-Eastern region of China. *Vet. J.* 2007; 174: 577-584.

Lindhaus W, Lindhaus B. Rätselhafte Schweinekrankheit. *Prakt. Tierarzt* 1991; 72: 423-425.

Linhares DC, Cano JP, Wetzell T, Nerem J, Torremorell M, Dee SA. Effect of modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine on the shedding of wild-type virus from an infected population of growing pigs. *Vaccine* 2012; 30: 407-413.

Lopez Fuertes L, Domenech N, Alvarez B, Ezquerra A, Dominguez J, Castro JM, Alonso F. Analysis of cellular immune response in pigs recovered from porcine respiratory and reproductive syndrome infection. *Virus Res.* 1999; 64: 33-42.

Lopez OJ, Osorio FA. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004; 102: 155-163.

Loula T. Mystery pig-disease. *Agri-Pract.* 1991; 12: 23-24.

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

Madsen KG, Hansen CM, Madsen ES, Strandbygaard B, Botner A, Sorensen KJ. Sequence analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus of the American type collected from Danish swine herds. *Arch. Virol.* 1998; 143: 1683-1700.

Magar R, Larochelle R, Robinson Y, Dubuc C. Immunohistochemical detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using colloidal gold. *Can. J. Vet. Res.* 1993; 57: 300-304.

Magar R, Robinson Y, Dubuc C, Larochelle R. Isolation and experimental oral transmission in pigs of a porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1995; 380: 139-144.

Mardassi H, Wilson L, Mounir S, Dea S. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and efficient differentiation between Canadian and European strains by reverse transcription and PCR amplification. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32: 2197-2203.

Martelli P, Cordioli P, Alborali LG, Gozio S, De Angelis E, Ferrari L, Lombardi G, Borghetti P. Protection and immune response in pigs intradermally vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and subsequently exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain. *Vaccine* 2007; 25: 3400-3408.

Martelli P, Gozio S, Ferrari L, Rosina S, De Angelis E, Quintavalla C, Bottarelli E, Borghetti P. Efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity. *Vaccine* 2009; 27: 3788-3799.

Mateu E, Diaz I. The challenge of PRRS immunology. *Vet. J.* 2008; 177: 345-351.

Mateusen B, Van Soom A, Maes DG, Favoreel H, Nauwynck HJ. Receptor-determined susceptibility of preimplantation embryos to pseudorabies virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Biol. Reprod.* 2007; 76: 415-423.

McCaw MB. Effect of reducing crossfostering at birth on piglet mortality and performance during an acute outbreak of porcine reproductive and respiratory syndrome. *J. Swine Health Prod.* 2000; 8: 15-21.

Meier WA, Galeota J, Osorio FA, Husmann RJ, Schnitzlein WM, Zuckermann FA. Gradual development of the interferon-gamma response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. *Virology* 2003; 309: 18-31.

Meier WA, Wheeler J, Husmann RJ, Osorio FA, Zuckermann FA. Characteristics of the immune response of pigs to wild-type PRRS virus or to commercially available vaccines: an unconventional response. *Am. Assoc. Swine Pract.*, Indianapolis, USA, 2000: 415-418.

Meng XJ. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet. Microbiol.* 2000; 74: 309-329.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am. J. Vet. Res.* 1994; 55: 1391-1398.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. Clinical consequences of exposing pregnant gilts to strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus isolated from field cases of "atypical" PRRS. *Am. J. Vet. Res.* 1998; 59: 1540-1544.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC, Clouser DF. Comparative safety and efficacy of attenuated single-strain and multi-strain vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Microbiol.* 2003a; 93: 25-38.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC, Koehler KJ. Strain specificity of the immune response of pigs following vaccination with various strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 2003b; 93: 13-24.

Meulenberg JJ, Hulst MM, de Meijer EJ, Moonen PL, den Besten A, de Kluyver EP, Wensvoort G, Moormann RJ. Lelystad virus, the causative agent of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS), is related to LDV and EAV. *Virology* 1993; 192: 62-72.

Meulenbergh JJ, Petersen den Besten A, de Kluyver E, van Nieuwstadt A, Wensvoort G, Moormann RJ. Molecular characterization of Lelystad virus. *Vet. Microbiol.* 1997; 55: 197-202.

Meulenbergh JJM. PRRSV, the virus. *Vet. Res.* 2000; 31: 11-21.

Meulenbergh JJM, Petersendenbesten A, Dekluyver EP, Moormann RJM, Schaaper WMM, Wensvoort G. Characterization of proteins encoded by orf-2 to orf-7 of lelystad-virus. *Virology* 1995; 206: 155-163.

Molina RM, Cha SH, Chittick W, Lawson S, Murtaugh MP, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Yoon KJ, Evans R, Rowland RR, Wu W, Zimmerman JJ. Immune response against porcine reproductive and respiratory syndrome virus during acute and chronic infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008; 126: 283-292.

Murtaugh MP. Use and interpretation of sequencing in PRRSV control programs. Allen D. Leman Swine Conference, Minnesota, USA, 392012: 49-55.

Murtaugh MP, Genzow M. Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vaccine* 2011; 29: 8192-8204.

Murtaugh MP, Xiao Z, Zuckermann F. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral. Immunol.* 2002; 15: 533-547.

Nauwynck HJ, Duan X, Favoreel HW, Van Oostveldt P, Pensaert MB. Entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages via receptor-mediated endocytosis. *J. Gen. Virol.* 1999; 80: 297-305.

Nauwynck HJ, Van Gorp H, Vanhee M, Karniychuk U, Geldhof M, Cao A, Verbeeck M, Van Breedam W. Micro-Dissecting the Pathogenesis and Immune Response of PRRSV Infection Paves the Way for More Efficient PRRSV Vaccines. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012; 59: 50-54.

Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benfield DA. Serum immune responses to the proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1994; 6: 410-415.

Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmerman JJ. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005; 227: 385-392.

Nodelijk G, de Jong MC, van Leengoed LA, Wensvoort G, Pol JM, Steverink PJ, Verheijden JH. A quantitative assessment of the effectiveness of PRRSV vaccination in pigs under experimental conditions. *Vaccine* 2001; 19: 3636-3644.

OIE. World Animal Health 1991. In: World Animal Health 1991. 1992.

Okuda Y, Kuroda M, Ono M, Chikata S, Shibata I. Efficacy of vaccination with porcine reproductive and respiratory syndrome virus following challenges with field isolates in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2008; 70: 1017-1025.

Olanratmanee EO, Nuntawan Na Ayudhya S, Thanawongnuwech R, Kunavongkrit A, Tummaruk P. Reproductive parameters following a PRRS outbreak where a whole-herd PRRS MLV vaccination strategy was instituted post-outbreak. *Trop. Anim. Health. Prod.* 2013; 45: 1099-1106.

Olanratmanee EO, Thanawongnuwech R, Kunavongkrit A, Tummaruk P. Reproductive performance of sows with and without PRRS modified live

virus vaccination in PRRS-virus-seropositive herds. *Trop. Anim. Health. Prod.* 2014; 46: 1001-1007.

Oleksiewicz MB, Botner A, Madsen KG, Storgaard T. Sensitive detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by RT-PCR amplification of whole viral genes. *Vet. Microbiol.* 1998; 64: 7-22.

Osorio FA, Galeota JA, Nelson E, Brodersen B, Doster A, Wills R, Zuckermann F, Laegreid WW. Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity. *Virology* 2002; 302: 9-20.

Osorio FA, Zuckermann F, Wills R, Meier W, Christian S, Galeota J, Doster A. PRRSV: Comparison of commercial vaccines in their ability to induce protection against current PRRSV strains of high virulence. *Allen D. Leman Swine Conference, Minnesota, USA, 251998: 176-182.*

Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet. Microbiol.* 2010; 145: 198-208.

Otake S, Dee SA, Jacobson L, Torremorell M, Pijoan C. Evaluation of aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under controlled field conditions. *Vet. Rec.* 2002a; 150: 804-808.

Otake S, Dee SA, Moon RD, Rossow KD, Trincado C, Pijoan C. Evaluation of mosquitoes, *Aedes vexans*, as biological vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 2003a; 67: 265-270.

Otake S, Dee SA, Rossow KD, Deen J, Joo HS, Molitor TW, Pijoan C. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *J. Swine Health Prod.* 2002b; 10: 59-65.

Otake S, Dee SA, Rossow KD, Joo HS, Deen J, Molitor TW, Pijoan C. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. *Vet. Rec.* 2002c; 150: 114-115.

Otake S, Dee SA, Rossow KD, Moon RD, Pijoan C. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can. J. Vet. Res.* 2002d; 66: 191-195.

Otake S, Dee SA, Rossow KD, Moon RD, Trincado C, Pijoan C. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 2003b; 152: 73-76.

Palzer A, Haedke K, Heinritzi K, Zoels S, Ladinig A, Ritzmann M. Associations among *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis*, and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections in pigs with polyserositis. *Can. Vet. J.* 2015; 56: 285-287.

Papatsiros VG, Alexopoulos C, Kritas SK, Koptopoulos G, Nauwynck HJ, Pensaert MB, Kyriakis SC. Long-term administration of a commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-inactivated vaccine in PRRSV-endemically infected sows. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health* 2006; 53: 266-272.

Pejsak Z, Markowska-Daniel I. Randomised, placebo-controlled trial of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus in sows on infected farms. *Vet. Rec.* 2006; 158: 475-478.

Pirtle EC, Beran GW. Stability of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the presence of fomites commonly found on farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996; 208: 390-392.

Plagemann PG. Peptide ELISA for measuring antibodies to N-protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods* 2006; 134: 99-118.

Polson D, Doolittle K, Hartsook G, Vaughn E. Evaluation of the Ct values of non-quantitative real time RT-PCR as a proxy for determining PRRS viral load and its potential for monitoring swine populations, areas and regions. 21st International Pig Veterinary Society (IPVS) congress, Vancouver, Canada, II 2010: 475.

Prather RS, Rowland RR, Ewen C, Tribble B, Kerrigan M, Bawa B, Teson JM, Mao J, Lee K, Samuel MS, Whitworth KM, Murphy CN, Egen T, Green JA. An intact sialoadhesin (Sn/SIGLEC1/CD169) is not required for attachment/internalization of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol.* 2013; 87: 9538-9546.

Prieto C, Alvarez E, Martinez-Lobo FJ, Simarro I, Castro JM. Similarity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains to vaccine strain is not necessarily predictive of the degree of protective immunity conferred. *Vet. J.* 2008; 175: 356-363.

Prieto C, Sanchez R, Martin-Rillo S, Suarez P, Simarro I, Solana A, Castro JM. Exposure of gilts in early gestation to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 1996a; 138: 536-539.

Prieto C, Suarez P, Bautista JM, Sanchez R, Rillo SM, Simarro I, Solana A, Castro JM. Semen changes in boars after experimental infection with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Theriogenology* 1996b; 45: 383-395.

Rajic A, Dewey CE, Deckert AE, Friendship RM, Martin SW, Yoo D. Production of PRRSV-negative pigs commingled from multiple, vaccinated, serologically stable, PRRSV-positive breeding herds. *J. Swine Health Prod.* 2001; 9: 179-184.

Reiner G. Erkrankungen des Schweines. In: *Krankes Schwein-kranker Bestand 2015.* ed. Reiner G. Stuttgart, Eugen Ulmer. 61-127.

Richardson J, Moraillon A, Baud S, Cuisinier AM, Sonigo P, Pancino G. Enhancement of feline immunodeficiency virus (FIV) infection after DNA vaccination with the FIV envelope. *J. Virol.* 1997; 71: 9640-9649.

Rossow KD. Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.* 1998; 35: 1-20.

Rossow KD, Bautista EM, Goyal SM, Molitor TW, Murtaugh MP, Morrison RB, Benfield DA, Collins JE. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infection in one-week-old, 4-week-old, and 10-week-old pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1994; 6: 3-12.

Rossow KD, Benfield DA, Goyal SM, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Collins JE. Chronological immunohistochemical detection and localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 1996; 33: 551-556.

Rossow KD, Collins JE, Goyal SM, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benfield DA. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet. Pathol.* 1995; 32: 361-373.

Rowland RR, Steffen M, Ackerman T, Benfield DA. The evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: quasispecies and emergence of a virus subpopulation during infection of pigs with VR-2332. *Virology* 1999; 259: 262-266.

Sattler T, Wodak E, Revilla-Fernandez S, Schmoll F. Comparison of different commercial ELISAs for detection of antibodies against porcine respiratory and reproductive syndrome virus in serum. *BMC Vet. Res.* 2014; 10: 300.

Schelkopf A, Nerem J, Cowles B, Amodie D, Swalla R, Dee S. Reproductive, productivity, and mortality outcomes in late-gestation gilts and their litters following simulation of inadvertent exposure to a modified-live vaccine strain of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Vaccine* 2014; 32: 4639-4643.

Schulze M, Revilla-Fernandez S, Schmoll F, Grossfeld R, Griessler A. Effects on boar semen quality after infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a case report. *Acta. Vet. Scand.* 2013; 55: 16.

Schurrer JA, Dee SA, Moon RD, Murtaugh MP, Finnegan CP, Deen J, Kleiboeker SB, Pijoan CB. Retention of ingested porcine reproductive and respiratory syndrome virus in houseflies. *Am. J. Vet. Res.* 2005; 66: 1517-1525.

Scotti M, Prieto C, Alvarez E, Simarro I, Castro JM. Failure of an inactivated vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome to protect gilts against a heterologous challenge with PRRSV. *Vet. Rec.* 2007; 161: 809-813.

Scotti M, Prieto C, Martinez-Lobo FJ, Simarro I, Castro JM. Effects of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts. *Vet. J.* 2006a; 172: 506-514.

Scotti M, Prieto C, Simarro I, Castro JM. Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 2006b; 66: 1884-1893.

Segales J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 2005; 6: 119-142.

Seuberlich T, Tratschin JD, Thur B, Hofmann MA. Nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection and differentiation of antibodies against European and North American porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002; 9: 1183-1191.

Shibata I, Mori M, Uruno K. Experimental Infection of Maternally Immune Pigs with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus. *J. Vet. Med. Sci.* 1998; 60: 1285-1291.

Shibata I, Yazawa S, Ono M, Okuda Y. Experimental dual infection of specific pathogen-free pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and pseudorabies virus. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 2003; 50: 14-19.

Shimizu M, Yamada S, Murakami Y, Morozumi T, Kobayashi H, Mitani K, Ito N, Kubo M, Kimura K, Kobayashi M, et al. Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus from Heko-Heko disease of pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 1994; 56: 389-391.

Sirinarumitr T, Zhang Y, Kluge JP, Halbur PG, Paul PS. A pneumo-virulent United States isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces apoptosis in bystander cells both in vitro and in vivo. *J. Gen. Virol.* 1998; 79: 2989-2995.

Spilman MS, Welbon C, Nelson E, Dokland T. Cryo-electron tomography of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: organization of the nucleocapsid. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 527-535.

Stadejek T, Oleksiewicz MB, Potapchuk D, Podgorska K. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional

diversity in eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *J. Gen. Virol.* 2006; 87: 1835-1841.

Stadejek T, Oleksiewicz MB, Scherbakov AV, Timina AM, Krabbe JS, Chabros K, Potapchuk D. Definition of subtypes in the European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristics and geographical distribution in Europe. *Arch. Virol.* 2008; 153: 1479-1488.

Stadejek T, Porowski M, Pejsak Z. Viraemia and seroconversion in piglets following vaccination with PRRSV-EU type vaccine - A field observation. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2005; 49: 273-277.

Stadejek T, Stankevicius A, Murtaugh MP, Oleksiewicz MB. Molecular evolution of PRRSV in Europe: current state of play. *Vet. Microbiol.* 2013; 165: 21-28.

Stevenson GW, Van Alstine WG, Kanitz CL, Keffaber KK. Endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of nursery pigs in two swine herds without current reproductive failure. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1993; 5: 432-434.

Storgaard T, Oleksiewicz M, Bøtner A. Examination of the selective pressures on a live PRRS vaccine virus. *Arch. Virol.* 1999; 144: 2389-2401.

Sur JH, Cooper VL, Galeota JA, Hesse RA, Doster AR, Osorio FA. In vivo detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus RNA by in situ hybridization at different times postinfection. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34: 2280-2286.

Sur JH, Doster AR, Christian JS, Galeota JA, Wills RW, Zimmerman JJ, Osorio FA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicates

in testicular germ cells, alters spermatogenesis, and induces germ cell death by apoptosis. *J. Virol.* 1997; 71: 9170-9179.

Terpstra C, Wensvoort G, Pol JM. Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. *Vet. Q.* 1991; 13: 131-136.

Thacker EL, Halbur PG, Ross RF, Thanawongnuwech R, Thacker BJ. *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 620-627.

Thanawongnuwech R, Brown GB, Halbur PG, Roth JA, Royer RL, Thacker BJ. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility to *Streptococcus suis* infection. *Vet. Pathol.* 2000; 37: 143-152.

Thanawongnuwech R, Halbur PG, Ackermann MR, Thacker EL, Royer RL. Effects of low (modified-live virus vaccine) and high (VR-2385)-virulence strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on pulmonary clearance of copper particles in pigs. *Vet. Pathol.* 1998a; 35: 398-406.

Thanawongnuwech R, Halbur PG, Andrews JJ. Immunohistochemical detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen in neurovascular lesions. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1997a; 9: 334-337.

Thanawongnuwech R, Rungsipat A, Disatian S, Saiyasombat R, Napakanaporn S, Halbur PG. Immunohistochemical staining of IFN- γ positive cells in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected lungs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003; 91: 73-77.

Thanawongnuwech R, Thacker EL, Halbur PG. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (isolate ATCC VR-2385) infection on bactericidal activity of porcine pulmonary intravascular macrophages (PIMs): in vitro comparisons with pulmonary alveolar macrophages (PAMs). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1997b; 59: 323-335.

Thanawongnuwech R, Thacker EL, Halbur PG. Influence of pig age on virus titer and bactericidal activity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-infected pulmonary intravascular macrophages (PIMs). *Vet. Microbiol.* 1998b; 63: 177-187.

Thiel HJ, König M, Beer M, Haas L, Pfeffer M. Einzelstrang-RNA-Viren. In: *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, 9. Auflage 2011. eds: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P. Stuttgart, Enke. 531-651.

Tian KG, Yu XL, Zhao TZ, Feng YJ, Cao Z, Wang CB, Hu Y, Chen XZ, Hu DM, Tian XS, Liu D, Zhang SO, Deng XY, Ding YQ, Yang L, Zhang YX, Xiao HX, Qiao MM, Wang B, Hou LL, Wang XY, Yang XY, Kang LP, Sun M, Jin P, Wang SJ, Kitamura Y, Yan JH, Gao GF. Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark. *Plos One* 2007; 2: 1-10.

Tirado SM, Yoon KJ. Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease. *Viral. Immunol.* 2003; 16: 69-86.

Torremorell M, Henry S, Christianson W. Eradication using herd closure. PRRS compendium. National Pork Board, Pork Checkoff, 2003: 157-160.

Trincado C, Dee S, Jacobson L, Otake S, Rossow K, Pijoan C. Attempts to transmit porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosols under controlled field conditions. *Vet. Rec.* 2004a; 154: 294-297.

Trincado C, Dee S, Rossow K, Halvorson D, Pijoan C. Evaluation of the role of mallard ducks as vectors of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Rec.* 2004b; 154: 233-237.

Truyen U. Allgemeine Virologie. In: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 9. Auflage 2011. eds: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P. Stuttgart, Enke. 387-419.

Van Alstine WG, Stevenson GW, Kanitz CL. Diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. *J. Swine Health Prod.* 1993; 1: 24-28.

Van der Linden IF, Voermans JJ, van der Linde-Bril EM, Bianchi AT, Steverink PJ. Virological kinetics and immunological responses to a porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of pigs at different ages. *Vaccine* 2003; 21: 1952-1957.

Van Gorp H, Van Breedam W, Delputte PL, Nauwynck HJ. Sialoadhesin and CD163 join forces during entry of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 2008; 89: 2943-2953.

Van Gorp H, Van Breedam W, Delputte PL, Nauwynck HJ. The porcine reproductive and respiratory syndrome virus requires trafficking through CD163-positive early endosomes, but not late endosomes, for productive infection. *Arch. Virol.* 2009; 154: 1939-1943.

Van Reeth K, Labarque G, Nauwynck H, Pensaert M. Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Res. Vet. Sci.* 1999; 67: 47-52.

Van Reeth K, Nauwynck H, Pensaert M. Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine

respiratory coronavirus or swine influenza virus: a clinical and virological study. *Vet. Microbiol.* 1996; 48: 325-335.

Van Reeth K, Nauwynck H, Pensaert M. Clinical effects of experimental dual infections with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by swine influenza virus in conventional and colostrum-deprived pigs. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 2001; 48: 283-292.

Vanderheijden N, Delpitte PL, Favoreel HW, Vandekerckhove J, Van Damme J, van Woensel PA, Nauwynck HJ. Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 2003; 77: 8207-8215.

Veijalainen PM-L, Tapiovaara H. No Aujeszky's disease or PRRS in Finland. *Vet. Res.* 2000; 31: 153-154.

Voglmayr T, Sipos W, Schuh M, Truschner K, Griessler A, Mourits B, Schmoll F. PRRSV-Eradikation in einem geschlossenen Herdbuchzuchtbetrieb ohne Unterbrechung der Produktion mit Einsatz einer Lebendvirus- (MLV-)Vakzine und Schließung der Herde. *Tierärztl. Prax. Ausg. Grosstiere Nutztiere* 2006; 34: 241-248.

Wagstrom EA, Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ. Shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in mammary gland secretions of sows. *Am. J. Vet. Res.* 2001; 62: 1876-1880.

Wensvoort G, Dekluyver EP, Luitze EA, Denbesten A, Harris L, Collins JE, Christianson WT, Chladek D. Antigenic comparison of Ielystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1992; 4: 134-138.

Wensvoort G, Terpstra C, Pol JMA, Terlaak EA, Bloemraad M, Dekluyver EP, Kragten C, Vanbuiten L, Denbesten A, Wagenaar F, Broekhuijsen JM, Moonen P, Zetstra T, Deboer EA, Tibben HJ, Dejong MF, Vantveld P,

Groenland GJR, Vangennep JA, Voets MT, Verheijden JHM, Braamskamp J. Mystery swine disease in the Netherlands - the isolation of Ielystad virus. *Vet. Q.* 1991; 13: 121-130.

Wills RW, Gray JT, Fedorka-Cray PJ, Yoon KJ, Ladely S, Zimmerman JJ. Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Salmonella choleraesuis* in swine. *Vet. Microbiol.* 2000a; 71: 177-192.

Wills RW, Osorio F, Doster A. Susceptibility of Selected Non-Swine Species to Infection with PRRS Virus. *Am. Assoc. Swine Pract.* 2000b; 31: 411-413.

Wills RW, Zimmerman J, Swenson SL, Yoon KJ, Hill HT, Bundy DS, McGinley MJ. Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *J. Swine Health Prod.* 1997a; 5: 213-218.

Wills RW, Zimmerman JJ, Yoon KJ, Swenson SL, McGinley MJ, Hill HT, Platt KB, Christopher-Hennings J, Nelson EA. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet. Microbiol.* 1997b; 55: 231-240.

Wu WH, Fang Y, Farwell R, Steffen-Bien M, Rowland RRR, Christopher-Hennings J, Nelson EA. A 10-kDa structural protein of porcine reproductive and respiratory syndrome virus encoded by ORF2b. *Virology* 2001; 287: 183-191.

Xiao Z, Batista L, Dee S, Halbur P, Murtaugh MP. The level of virus-specific T-cell and macrophage recruitment in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in pigs is independent of virus load. *J. Virol.* 2004; 78: 5923-5933.

Yaeger MJ, Prieve T, Collins J, Christopher-Hennings J, Nelson E, Benfield D. Evidence for the transmission of porcine reproductive and

respiratory syndrome (PRRS) virus in boar semen. *J. Swine Health Prod.* 1993; 1: 8-9.

Yeske P, Cano J, Philips RE, Polson D. Evaluation of airborne shedding of modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus in growing pigs. AASV Annual Meeting, Denver, USA, 2012: 219-223.

Yoon IJ, Joo HS, Christianson WT, Kim HS, Collins JE, Morrison RB, Dial GD. An indirect fluorescent-antibody test for the detection of antibody to swine infertility and respiratory syndrome virus in swine sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1992; 4: 144-147.

Yoon IJ, Joo HS, Christianson WT, Morrison RB, Dial GD. Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Swine Health Prod.* 1993; 1: 5-8.

Yoon IJ, Joo HS, Goyal SM, Molitor TW. A modified serum neutralization test for the detection of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1994; 6: 289-292.

Yoon KJ, Wu LL, Zimmerman JJ, Hill HT, Platt KB. Antibody-dependent enhancement (ADE) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in pigs. *Viral. Immunol.* 1996; 9: 51-63.

Yoon KJ, Wu LL, Zimmerman JJ, Platt KB. Field isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vary in their susceptibility to antibody dependent enhancement (ADE) of infection. *Vet. Microbiol.* 1997; 55: 277-287.

Yoon KJ, Zimmerman JJ, Chang CC, Cancel-Tirado S, Harmon KM, McGinley MJ. Effect of challenge dose and route on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in young swine. *Vet. Res.* 1999; 30: 629-638.

Zhang Q, Yoo D. PRRS virus receptors and their role for pathogenesis. *Vet. Microbiol.* 2015; 177: 229-241.

Zimmerman J, Benfield DA, Dee S, Murtaugh MP, Stadejek T, Stevenson GW, Torremorell M. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: *Diseases of Swine 10th edn 2012.* ed. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G. Blackwell Publishing. 461-486.

Zimmerman JJ, Yoon KJ, Pirtle EC, Wills RW, Sanderson TJ, McGinley MJ. Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Vet. Microbiol.* 1997; 55: 329-336.

Zinkernagel RM, LaMarre A, Ciurea A, Hunziker L, Ochsenbein AF, McCoy KD, Fehr T, Bachmann MF, Kalinke U, Hengartner H. Neutralizing antiviral antibody responses. *Adv. Immunol.* 2001; 79: 1-53.

Zuckermann FA, Garcia EA, Luque ID, Christopher-Hennings J, Doster A, Brito M, Osorio F. Assessment of the efficacy of commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines based on measurement of serologic response, frequency of gamma-IFN-producing cells and virological parameters of protection upon challenge. *Vet. Microbiol.* 2007; 123: 69-85.

IX ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1 Anteil (n) der seropositiven Serumproben aufgeteilt nach Aufzuchtphasen / mittlere Aufzuchtphase (n = 131); letzte Aufzuchtphase (n = 131).....</i>	<i>46</i>
<i>Abbildung 2 Anteil der real-time-RT-PCR-positiven Serumproben aus den verschiedenen Altersstufen / Saugferkel (n = 450); mittlere Aufzuchtphase (n = 130); letzte Aufzuchtphase (n = 130)</i>	<i>49</i>

X TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1 In Deutschland zugelassene PRRS-Impfstoffe (Stand 02/2016)</i>	21
<i>Tabelle 2 Bestandsgröße und Betriebsstruktur</i>	25
<i>Tabelle 3 Schema der Punkteverteilung des Fragebogenscores</i>	27
<i>Tabelle 4 Primer nach KLEIBOEKER et al. (2005), die fett markierten Nukleotide weichen von den publizierten Sequenzfragmenten ab</i>	31
<i>Tabelle 5 TaqMan Sonden nach KLEIBOEKER et al. (2005), die fett markierten Nukleotide weichen von den publizierten Sequenzfragmenten ab</i>	31
<i>Tabelle 6 Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats während der PRRS-Ausbruchsphase</i>	37
<i>Tabelle 7 PRRS-Status vor Ausbruch</i>	38
<i>Tabelle 8 Leistungsdaten der Betriebe</i>	41
<i>Tabelle 9 Leistungskategorien</i>	44
<i>Tabelle 10 PRRSV-ELISA-Ergebnisse von Aufzuchtferkeln bei PRRS-Sauen-impfenden und PRRS-Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben</i>	48
<i>Tabelle 11 Real-time-RT-PCR PRRSV-positive Serumproben</i>	49
<i>Tabelle 12 Anzahl positiver PRRSV-PCR-Proben von Saugferkeln und Aufzuchtferkeln bei Sauen-impfenden und Sauen+Ferkel-impfenden Betrieben</i>	51
<i>Tabelle 13 Nukleotididentität des Eberstation-PRRS-Feldisolats und anderer Feldstämme sowie der PRSS-Impfstämme auf Betriebsebene</i>	54
<i>Tabelle 14 Tiergesundheit-Score-Platzierung und Nachweis des Eberstation-PRRS-Feldisolats</i>	56
<i>Tabelle 15 Vergleich der mittleren CT-Werte zwischen den PRRS-Impfstämmen und den Eberstation-PRRS-Feldisolaten</i>	57

XI DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Bereitstellung des interessanten und aktuellen Dissertationsthemas bedanken. Durch Ihre kompetente, geduldige und stets freundliche Art, haben Sie maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. Andreas Palzer für die stets umfassende, verständnisvolle und fachkompetente Rundumbetreuung (sowohl Wochentags als auch am Wochenende).

Ein ganz großes Dankeschön möchte ich meinen Mitdoktoranden und Unikollegen aussprechen, die mich jederzeit bei der Lösung von kleineren und größeren Problemen unterstützt haben. Durch Euch wurde die Zeit an der Klinik für Schweine zu einer lehrreichen, im besonderen Maße lustigen und unvergesslichen Zeit und ohne Eure Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Herrn Dr. Robert Fux und seinem gesamten Team danke ich für die geduldige sowie jederzeit freundliche Unterstützung bei der labordiagnostischen Auswertung.

Der Firma Intervet und im speziellen Dr. Kerstin Fiebig danke ich für die finanzielle und fachliche Unterstützung.

Frau Dr. Andrea Ladinig möchte ich für die spontane und kompetente Unterstützung bei der phylogenetischen Auswertung meiner Proben im besonderen Maße danken.

Bei den Landwirten bedanke ich mich für die Mithilfe bei der Probennahme und für die Beantwortung des Fragebogens.

Zu guter Letzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, die mich von Geburt an in allen Bereichen meines Lebens uneingeschränkt unterstützt haben. Durch eure liebevolle und geduldige Erziehung bin ich der Mensch, der ich heute bin. Daher möchte ich die Gelegenheit nutzen, um Euch Danke zu sagen für alles, was Ihr für mich getan habt.