Erste diagnostizierte PCV-2-bedingte „SMEDI-Fälle“ in der Schweiz

Sydler, T ; Brugnera, E ; Weilenmann, R ; Zimmermann, D ; Engels, M ; Sidler, X

Abstract: Der Ausdruck SMEDI (Stillbirth, Mummification, Embryonic Death, Infertility) ist seit langem als Krankheitsbegriff für Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein auch im deutschen Sprachraum weit verbreitet. Als wesentliche Ursachen hierfür werden Virusinfektionen, insbesondere das porcine Parvovirus (PPV) und porcine Enteroviren (20) genannt. Auch andere Viren können beim Schwein transplazentare Infektionen verursachen, wie das klassische Schweinepestvirus, das Virus des Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRSV), das Enzephalomyokarditisvirus und das Virus der Aujeszky'schen Krankheit (18). Porcine Circoviren, die sich durch eine einzelsträngige, zirkulär angeordnete DNA auszeichnen, werden in apathogene porcine Circoviren Typ 1 (PCV-1) und pathogene Circoviren Typ 2 (PCV-2) eingeteilt (13). Bei PCV-2 erfolgt eine Unterteilung in die Genotypen PCV-2a, PCV-2b und PCV-2c (16). PCV-2 ist der ursächliche Erreger für das weltweit wirtschaftlich bedeutungsvolle Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) (1, 7, 13). Es besteht jedoch auch eine Assoziation dieses Virus mit anderen Krankheiten, den so genannten Porcine Circovirus Associated Diseases (PCVAD). Diese umfassen neben PMWS das Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS), den Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC), granulomatöse Enteritiden, nekrotisierende Lymphadenitiden, möglicherweise Fälle von kongenitalem Tremor und eben auch Reproduktionsstörungen (26). Für die Diagnose „PCV-2-bedingte Fruchtbarkeitsstörungen“ genügt der alleinige Nachweis von PCV-2 nicht. Nach Segalès (25, 26) müssen, analog wie von Sorden (28) für die Diagnose von PMWS vorgeschlagen, folgende drei Kriterien erfüllt sein: (I) vermehrt Spätaborte oder Totgeburten, manchmal mit einer Hypertrophie des fetalen Herzens und/oder Mumien, (II) fibrotische und/oder entzündliche oder degenerative Myokardveränderungen und (III) Nachweis großer PCV-2-Mengen in den Läsionen. Im Jahr 1999 wurde zum ersten Mal von PCV-2-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen in Kanada berichtet (31), die etwa 8 Jahre nach dem ersten Vorkommen von PMWS in einer neu aufgebauten Herde mit 450 primiparen Sauen auftraten (8). Bei den Jungsauen ergab sich eine massiv erhöhte Rate an Mumien und Totgeburten. Im untersuchten Wurf mit zwei Mumien, zwei mazerierten, drei autolytischen und zwei frischen, toten Feten konnten am Myokard Degenerationserscheinungen, milde Fibrosierungen, eine nichteitrige Entzündung und immunhistologisch ein hoher Gehalt an PCV-2-Antigen festgestellt werden. Seither wurden weltweit weitere Fallberichte veröffentlicht (3, 10, 15, 19). Nicht nur die experimentelle transuterine Inokulation von PCV-2 in Feten (9, 22, 33), sondern auch die künstliche Besamung mit PCV-2-versetztem Sperma (11) sowie die experimentelle intranasale Infektion trächtiger Sauen mit PCV-2 (14, 17) führten zu einer Infektion der Feten mit Virusvermehrung, Organläsionen und Absterben von Feten. Somit gehört PCV-2 in die Liste der Viren, die eine transplazentare Infektion und Fruchtbarkeitsprobleme verursachen können (18). In der Schweiz fand die PMWS-Epizootie erst gegen Ende des Jahres 2003 statt und erreichte etwa 4 Jahre später ihren Höhepunkt. Sie war mit einer drastischen Verschiebung vom PCV-2a zum PCV-2b-Genotyp assoziiert (32). Im Herbst 2008 wurde in der Schweiz erstmals in Mumien, die negativ für PPV getestet waren, PCV-2 als Ursache für Fruchtbarkeitsstörungen nachgewiesen. Diese Fälle werden im Folgenden näher beschrieben. Die Schweiz war damals und ist heute nach wie vor amtlich frei von PRRS, Aujeszky'scher Krankheit und Schweinepest (30), sodass die Routinediagnostik keine Untersuchungen zum Nachweis der dafür verantwortlichen Erreger beinhaltet. Freiheit von diesen Krankheiten wird jährlich vom Bundesamt für Veterinärwesen durch serologische Untersuchung einer Stichprobe überprüft.

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich
ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-49766>
Journal Article
Accepted Version

Originally published at:

Sydler, T; Brugnera, E; Weilenmann, R; Zimmermann, D; Engels, M; Sidler, X (2011). Erste diagnostizierte PCV-2-bedingte „SMEDI-Fälle“ in der Schweiz. Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere, 39(4):231-236.

Erste diagnostizierte PCV2-bedingte "SMEDI- Fälle" in der Schweiz

T. Sydler¹, E. Brugnera², R. Weilenmann¹, D. Zimmermann³, M. Engels⁴,
X. Sidler²

¹Institut für Veterinärpathologie (Prof. Dr. A. Pospischil), ²Abteilung Schweinemedizin
des Departementes für Nutztiere (Prof. Dr. U. Braun), ³Institut für klinische
Pathologie, Departement Pathologie, Universitätsspital Zürich (Prof. Dr. H. Moch),
⁴Virologisches Institut, Vetsuisse Fakultät, Universität Zürich (Prof. Dr. M.
Ackermann),

Korrespondierender Autor:

Dr. Xaver Sidler
Abteilung Schweinemedizin des Departementes für Nutztiere
Vetsuisse Fakultät Zürich
Winterthurerstrasse 260
CH-8057 Zürich
E-Mail: xsidler@vetclinics.uzh.ch

Zusammenfassung

PCV2 bedingte Fruchtbarkeitsstörungen wurden in der Schweiz erstmals im Jahre 2008, 5 Jahre nach Beginn der PMWS Epizootie, diagnostiziert. 4 Fälle mit Nachweis von PCV2 werden hier vorgestellt und die Diagnosestellung wird diskutiert. Für die Diagnose „PCV2 bedingte Fruchtbarkeitsstörungen“ genügt der alleinige Nachweis von PCV2 nicht. Nach Segalès (26) müssen analog wie von Sorden (28) für die Diagnose von PMWS vorgeschlagen, folgende 3 Kriterien erfüllt sein: (I) Spätaborte oder vermehrt Totgeburten, manchmal mit einer Hypertrophie des fetalen Herzens und/oder Mumien, (II) fibrotische und/oder entzündliche oder degenerative Myokardveränderungen und (III) Nachweis grosser PCV2 Mengen in den Läsionen. Von den 4 vorgestellten Fällen erfüllen nur 2 alle diese Kriterien. Bei den 2 anderen Fällen bleibt die Ursache für die Fruchtbarkeitsstörungen unklar, obwohl in den fetalen Organen mittels PCR PCV2 DNA nachgewiesen werden konnte.

Schlüsselwörter

Jungsauen, PCV2, Fruchtbarkeitsstörungen mit Mumien, SMEDI, Immunhistochemie, PCR

Summary

Reproductive failures caused by PCV2 were diagnosed for the first time in Switzerland in 2008, 5 years after the onset of Swiss PMWS epizooty. Four cases with reproductive failures are presented and their diagnoses discussed. The presence of PCV2 DNA alone does not suffice for a proper diagnosis. Segales et al. suggested three criteria for diagnosis of PCV2 related reproductive problems (26), similar to the PMWS diagnosis introduced by Sordon et al. (28): (I) increased numbers of mummies, late-term abortions and stillbirths, with occasional evidences of fetal heart hypertrophy and/or mummies, (II) the presence of heart lesions characterized by extensive fibrosis and/or necrotizing myocarditis, and (III) the presence of high PCV2 antigen concentrations in myocardial lesions or other fetal tissues. Only 2 of 4 presented cases fulfilled all three criteria. In the remaining 2 cases the etiology was unclear although PCV2 DNA was detected in these tissues.

69

70 **Key Words**

71

72 Gilt, PCV2, reproductive disorders with mummies, SMEDI, immunohistochemistry,

73 PCR

74

Einleitung

Der Ausdruck SMEDI (Stillbirth, Mummification, Embryonic Death, Infertility) ist seit langem als Krankheitsbegriff für Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein auch im deutschen Sprachraum weit verbreitet. Als wesentliche Ursachen hierfür werden Virusinfektionen, insbesondere das porcine Parvovirus (PPV) und porcine Enteroviren (20) genannt. Auch andere Viren können beim Schwein transplazentare Infektionen erzeugen, wie das klassische Schweinepestvirus, das *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)*, das Enzephalomyokarditisvirus und das Virus der Aujeszky'schen Krankheit (18).

PCV2 ist der ursächliche Erreger für die weltweit wirtschaftlich bedeutungsvolle Krankheit "Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome" (PMWS) (1, 7, 13). PCV2 ist jedoch auch mit anderen Krankheiten assoziiert, den sogenannten "Porcine Circovirus Associated Diseases" (PCVAD). Diese umfassen neben PMWS das "Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome" (PDNS), den "Porcine Respiratory Disease Complex" (PRDC), granulomatöse Enteritiden, nekrotisierende Lymphadenitiden, möglicherweise Fälle von kongenitalem Tremor und eben auch Reproduktionsstörungen (26).

Porcine Circoviren, die sich durch eine einzelsträngige, zirkulär angeordnete DNA auszeichnen, werden in apathogene porcine Circoviren Typ1 (PCV1) und in pathogene Circoviren Typ 2 (PCV2) eingeteilt (13). PCV2 wird wiederum in die Genotyp-Gruppen PCV2a, PCV2b und PCV2c unterteilt (16).

1999 wurde zum ersten Mal von PCV2-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen in Kanada berichtet (31), welche etwa 8 Jahre nach dem ersten Auftreten von PMWS in einer neu aufgebauten Herde mit 450 primiparen Sauen auftraten (8). Die Jungsauen hatten eine massiv erhöhte Rate an Mumien und Totgeburten. Im untersuchten Wurf mit 2 Mumien, 2 mazerierten, 3 autolytischen und 2 frischen, toten Feten konnten am Myokard Degenerationen, milde Fibrosierungen, eine nicht eitrige Entzündung und immunhistologisch ein hoher Gehalt von PCV2 Antigen festgestellt werden. Seither wurden weltweit weitere Fallberichte veröffentlicht (3, 10, 15, 19).

Nicht nur die experimentelle transuterine Inokulation von PCV2 in Feten (9, 22, 33), sondern auch die künstliche Besamung mit PCV2 versetztem Sperma (11) und auch die experimentelle intranasale Infektion trächtiger Sauen mit PCV2 (14, 17) führten zu einer Infektion der Feten mit Virusvermehrung, Läsionen in Organen und dem

Absterben von Feten. Somit gehört PCV2 in die Liste der Viren, die eine transplazentare Infektion und Fruchtbarkeitsprobleme erzeugen können (18).

In der Schweiz fand die PMWS-Epizootie erst gegen Ende 2003 statt und erreichte etwa 4 Jahre später ihren Höhepunkt. Die PMWS Epizootie war mit einer drastischen Verschiebung vom PCV2a- zum PCV2b-Genotyp assoziiert (32). Im Herbst 2008 wurde in der Schweiz erstmals in Mumien, die negativ für PPV getestet waren, PCV2 als Ursache für Fruchtbarkeitsstörungen diagnostiziert. Diese Fälle werden im Folgenden näher beschrieben.

Die Schweiz war damals und ist heute noch nach wie vor amtlich frei von PRRS, Aujeszky'scher Krankheit und Schweinepest (30), so dass diese Erreger in der Routinediagnostik nicht routinemässig untersucht werden. Die Freiheit wird jährlich mit einer Stichprobe mittels Serologie vom Bundesamt für Veterinärwesen überprüft.

Material und Methoden

Fall 1

Im April 2008 fielen bei Jungsauen in 4 Abferkelbetrieben (A-D) eines Ringes mit arbeitsteiliger Ferkelproduktion (AFP) vermehrt Mumien und Totgeburten auf. Die betroffenen Jungsauen wurden vor dem Abferkeln in Gruppen auf demselben Deck-Wartebetrieb gehalten. Bei den Jungsauen auf den betroffenen Abferkelbetrieben wurden durchschnittlich 0.6 tote Ferkel und 2 Mumien pro Wurf registriert, während pluripare Sauen durchschnittlich nur 0.3 tote Ferkel und 0.3 Mumien aufwiesen. Lebensschwache Ferkel wurden weder bei den Jungsauen noch bei den Altsauen vermehrt festgestellt. Die Ferkel der betroffenen Würfe entwickelten sich ganz normal. Die Jungsauen wurden routinemässig gegen PPV und Rotlauf 2-mal im Abstand von 3 Wochen 5 und 2 Wochen vor der Besamung geimpft.

Auf dem Betrieb A konnten mittels quantitativer PCR in Gewebeflüssigkeit zweier Mumien mit einer Scheitelsteisslänge (SSL) >17 cm, die von 2 Jungsauen stammten, grosse Mengen von PCV2 DNA (1×10^9 Templates/ml Gewebeflüssigkeit) festgestellt werden, nachdem eine vorhergehende Untersuchung auf PPV-Antikörper negativ verlaufen war. Die 2 betroffenen Jungsauen brachten neben 6 Mumien auch 15 lebend geborene, normal entwickelte Ferkel zur Welt. Eines dieser Ferkel starb 3 Wochen später plötzlich und konnte ebenfalls untersucht werden. Aus dem Abferkelbetrieb B gelangten 2 Mumien (SSL 16 und 25 cm), aus Betrieb C ein nicht-

143 mumifizierter, autolytischer Fetus (SSL 23 cm) und aus Betrieb D 4 Mumien (SSL 13,
144 17, 22 und 22 cm) zur Untersuchung.

145

146 **Fall 2**

147 Etwa zur gleichen Zeit wurden aus einem Abferkelbetrieb eines weiteren AFP-Ringes
148 aus einem Wurf einer Erstlingssau mit 7 Mumien und 3 lebend geborenen Ferkeln 3
149 Mumien (SSL ca. 22 cm) zur Untersuchung eingesandt. In diesem Betrieb traten
150 innerhalb von 2 Monaten bei 3 primiparen Sauen, bei 1 Sau im 2. und 1 Sau im 3.
151 Wurf bei normaler Trächtigkeitsdauer 21 mumifizierte Ferkel sehr unterschiedlicher
152 Grösse auf. Alle 3 eingesandten Mumien wurden negativ auf PPV getestet.

153

154 **Fall 3**

155 Im Herbst 2008 wurde 1 Mumie (SSL 26 cm) aus einem dritten AFP-Ring zur
156 Untersuchung auf PCV2 eingesandt. Die Sau hatte im 2. Wurf 14 lebende Ferkel und
157 eine Mumie geboren.

158

159 **Fall 4**

160 Zudem gelangten im Herbst 8 untergewichtige, nicht-mumifizierte Feten mit SSL von
161 23 - 27 cm und Gewichten von 500 - 800g aus einem geschlossenen Zucht-
162 Mastbetrieb mit 105 Sauen zur Untersuchung. Im Betrieb wurde sowohl bei den
163 Jung- wie bei den Altsauen eine erhöhte Abortrate von 3.2% in verschiedenen
164 Trächtigkeitsstadien gemessen.

165

166 **Untersuchungsmethoden**

167 Alle Feten wurden seziiert und makroskopisch beurteilt. Die Organe (Herz, Leber,
168 Lunge, Milz, Nieren, Mesenteriallymphknoten) der eingesandten Tiere wurden
169 histologisch beurteilt und immunhistochemisch (IHC) mittels monoklonalem
170 Antikörper F217 (12) auf PCV2 Antigen untersucht. Von einer Mumie aus Fall 1
171 wurde Lebergewebe im Elektronenmikroskop untersucht. Histologie,
172 Immunhistochemie und Elektronenmikroskopie erfolgten nach Standardverfahren
173 beziehungsweise nach publiziertem Vorgehen (29), wobei Gewebe für die
174 Elektronenmikroskopie aus den Paraffinblöcken herausgestanzt und erst dann in
175 Epoxidblöcken weiter verarbeitet wurde.

Mittels konventioneller PCR wurde DNA aus Schnitten der Gewebeblöcke für eine Sequenzierung amplifiziert (32). Mit einer quantitativen PCR Methode, die auf einer noch nicht veröffentlichten SYBER Green-Technik unter Verwendung der gleichen Primern (Publikation in Vorbereitung) beruhte, wurde die PCV2 DNA Menge in der Gewebeflüssigkeit von homogenisiertem, nicht-fixiertem Gewebe verschiedener Organe der Mumien aus dem Betrieb A und in Gewebeschnitten von Paraffinblöcken von Feten der anderen Betriebe bestimmt.

Für die PPV Diagnostik wurden Teile von Organen der Feten (Leber, Lunge, Milz, Herz, Niere) homogenisiert und auf das Vorhandensein von PPV mittels Immunelektronenmikroskopie (34) oder Real-time PCR (4) bei SSL <17 cm oder das Vorhandensein von Antikörper gegen PPV mittels Immunfluoreszenz bei >17 cm getestet (34).

Resultate

Eine Übersicht zu den einzelnen Fällen ist in Tab. 1 zusammengestellt.

Fall 1

Alle Feten waren negativ für PPV beziehungsweise Antikörper gegen PPV. Das 3-wöchige Wurfgeschwister aus Betrieb A, welches an einer Darminvagination gestorben war, sowie der nicht-mumifizierte Fetus aus Betrieb C waren immunhistochemisch negativ für PCV2. Gewebe der beiden Mumien aus dem Betrieb B, sowie von 3 der 4 Mumien aus Betrieb D waren immunhistochemisch hochgradig positiv für PCV2. Die mumifizierten Organe waren zwar histologisch noch als solche ansprechbar, allerdings waren Zellstrukturen nur noch schlecht zu erkennen und die Zellkerne meist nicht mehr vorhanden. Insbesondere im Myokard konnte deshalb keine entzündliche Zellinfiltration gefunden werden. Ausgedehnte multifokale dystrophische Verkalkungen im Myokard (Abb. 1) waren aber eine auffällige histologische Beobachtung in 3 der 4 immunhistochemisch positiven Herzen (Abb. 2). Nicht bei allen Feten war das Myokard das Organ mit der grössten PCV2 Antigenmenge, sondern auch Leber (Abb. 3), Mesenteriallymphknoten, Milz, Lunge, Nieren und die Lamina propria des Darmes enthielten oft grössere PCV2 Antigenmengen. Von einer Mumie wurde Lebergewebe auch elektronenmikroskopisch untersucht. Dabei wurden viele parakristalline Ansammlungen von

ikosaedrischen, virusähnlichen Partikeln gefunden, wie sie für PCV2 Einschlüsse beschrieben sind (5) (Abb. 4).

In allen PCV2 positiven Feten aus den Betrieben A-D wurde der PCV2b Genotyp nachgewiesen. Die durchschnittliche PCV2 DNA Menge in den Geweben der IHC positiven Feten betrug 1×10^{11} Templates/mg Gewebe, so dass zumindest in den Betrieben A, B und D gemäss Definition PCV2 als Ursache für die Fruchtbarkeitsstörungen diagnostiziert wurde.

Fall 2

Die 2 untersuchten Mumien aus dem zweiten AFP-Ring waren ebenfalls PPV negativ, während die inneren Organe Herz, Leber, Lunge und Niere aller 3 Mumien immunhistochemisch hochgradig PCV2 positiv waren. Bei keinem dieser Mumien waren dystrophische Verkalkungen im Myokard zu beobachten. Infolge der Mumifikation konnte auch hier das Myokard hinsichtlich entzündlicher Veränderungen nicht mehr beurteilt werden. Auch in diesem Fall wurde PCV2b sequenziert und ebenfalls eine durchschnittliche PCV2 DNA Menge von etwa 1×10^{11} Templates/mg Gewebe gemessen, so dass auch in diesem Betrieb PCV2 als Ursache für die Fruchtbarkeitsprobleme dem Einsender mitgeteilt wurde.

Fall 3

Sowohl der PPV-Nachweis, wie auch die immunhistochemischen Untersuchung der fetalen Organe auf PCV2 verliefen negativ. Mit der konventionellen PCR an Paraffin-eingebetteten Organen konnte aber PCV2 DNA amplifiziert und mittels Sequenzierung als PCV2b-Genotyp identifiziert werden. Die quantitative PCR an Paraffin-eingebetteten Organen ergab einen Durchschnittswert von etwa 1×10^7 PCV2-Templates/mg Gewebe. Da die immunhistochemische Untersuchung für PCV2 negativ verlief und der PCV2 DNA Gehalt in den mumifizierten mindestens 10'000-Fach geringer war als in den IHC negativen fetalen Organen, wurde dieser Fall gemäss Vorgaben von Segalès nicht den PCV2 bedingten Reproduktionsstörungen zugeordnet.

Fall 4

Immunhistochemisch konnte kein PCV2 Antigen in den inneren Organen aller 8 untersuchten Feten nachgewiesen werden. Im Gewebe dieser Feten jedoch konnte

der PCV2b Genotyp mittels PCR amplifiziert und 1×10^6 Templates/mg Gewebe gemessen werden. Die Gewebe waren PPV negativ. Histologisch zeigten die Feten eine leichtgradige Pneumonie mit Beteiligung neutrophiler Granulozyten. Bei beiden histologisch untersuchten Plazenten wurde auch eine eitrig-nekrotisierende Plazentitis festgestellt. Daher wurde in diesem Falle die Verdachtsdiagnose „bakteriell bedingte Plazentitis als Abortursache“ gestellt. Bakteriologisch wurde ein mittelgradiger Keimgehalt an *E. Coli* isoliert.

Diskussion

Die Fälle 1 und 2 wurden als „PCV2-bedingte Fruchtbarkeitsstörungen“ und die Fälle 3 und 4 als „nicht PCV2-bedingte Reproduktionsstörungen“ diagnostiziert. Die hochgradig IHC-positiven Gewebe der Fälle 1 und 2 wiesen einen durchschnittlichen Virusgehalt von 10^{11} Viruskopien/mg Gewebe, resp. 10^9 Virustemplates/ml Gewebeflüssigkeit auf, während in IHC-negativen Geweben ein um mindestens 10^4 Fach geringerer Wert von 10^6 - 10^7 Viruskopien/mg Gewebe nachgewiesen werden konnte. Erstaunlicherweise konnte in den fetalen Geweben der Fälle 3 und 4 kein PCV2 Antigen mittels IHC nachgewiesen werden, trotz des relativ hohen Virus DNA Gehaltes. Möglicherweise widerspiegelt dieses Resultat die hohe Sensitivität der verwendeten PCR Methode, oder es ist kein virales Strukturprotein, sondern nur Virus DNA vorhanden. Deshalb ist die Definition eines Grenzwertes schwierig, müsste aber anhand der Resultate (Tab. 1) bei ungefähr 10^8 Viruskopien/mg Gewebe angesetzt werden. Aus den fetalen Organen konnte mittels PCR immer der PCV2b Genotyp amplifiziert werden.

Angaben zur Häufigkeit von PCV2-bedingten Fruchtbarkeitsstörungen variieren weltweit beachtlich. Der Nachweis von PCV2 in fetalem Gewebematerial aus Fällen mit Fruchtbarkeitsstörungen variiert von 0% in einer amerikanischen Arbeit (2) bis 27.1% bzw. 20.5% in Arbeiten aus Deutschland und Österreich (6, 21). In den erwähnten Arbeiten wurden PCR Techniken für den PCV2 Nachweis eingesetzt. Allerdings hat der nicht quantifizierbare PCR Nachweis wahrscheinlich wenig Aussagekraft bezüglich der Kausalität der Fruchtbarkeitsproblematik. PCV2 scheint diaplazentar auf die Feten übertragbar zu sein, ohne dass es zu Fruchtbarkeitsstörungen kommen muss. So berichteten Shen et al., von 40% PCV2 DNA Prävalenz in gesunden, neugeborenen Ferkeln vor der Kolostrumaufnahme in

einzelnen Betrieben (27). Konsequenterweise wird daher auch bei PCV2-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen für die definitive Diagnose, analog der Kriterien von Sorden für die PMWS Diagnose, ein 3 Kriterien-Schritt gefordert (28). Erfüllt sein müssen: (I) Vermehrt Mumien, Spätaborte oder Totgeburten, manchmal mit einer Hypertrophie des fetalen Herzens und/oder Mumien, (II) fibrotische und/oder entzündliche oder degenerative Myokardveränderungen und (III) Nachweis grosser PCV2 Mengen in den Läsionen (25). Die Fälle 1 und 2 haben diese Kriterien erfüllt, die Fälle 3 und 4 nicht. In der Mehrzahl der Mumien aus den Fällen 1 und 2 war PCV2 Antigen immunhistochemisch in hohen Mengen in inneren Organen nachweisbar. Das Myokard wird als Hauptangriffsort einer intrauterinen PCV2 Infektion beschrieben (18) mit Ausbildung von Läsionen, wie nicht-eitriger Myokarditis, Myokardfibrosen oder Myokardzellnekrosen und grossen Mengen von PCV2 (3, 15, 31). In unseren Fällen konnten nicht immer im Myokard die höchsten PCV2 Antigenmengen gemessen werden (Abb. 2), sondern lymphatische Organe oder Leber waren oft stärker noch infiziert als das Myokard (Abb. 3). Dies könnte damit erklärt werden, dass die Anfälligkeit von Kardiomyozyten für PCV2 mit Verlaufe der Trächtigkeit abnimmt (23). Im vorliegenden Material waren nur mumifizierte Feten immunhistochemisch für PCV2 positiv. Entzündliche Veränderungen im Myokard der Mumien waren in Folge der schlechten Gewebeerhaltung nicht objektivierbar. Immerhin waren in 3 von 7 Herzen von Mumien dystrophische Verkalkungen (Abb. 1) als eindeutige Degenerationsanzeichen vorhanden.

Obwohl PCV2 ubiquitär ist und auch diaplazentare Infektionen möglicherweise nicht selten vorkommen, sind PCV2 bedingte Fruchtbarkeitsstörungen unter Feldbedingungen eher selten (18) und werden vornehmlich in Betrieben mit hohem Jungsauenanteil oder bei einem Wechsel des Jungsauenlieferanten beschrieben (3, 10, 15, 16, 19, 24, 31). Die hier beschriebenen Fälle 1 und 2 entsprechen diesen Beobachtungen, da mehrheitlich vor allem Jungsauen betroffen waren. Weil die AFP-Ringe, aus denen die Fälle 1 und 2 stammten erst im Aufbau begriffen waren, ist anzunehmen, dass der Jungsauenanteil in diesen Ringen überdurchschnittlich gross war. In den Folgemonaten nahm die Anzahl der Mumien in den Abferkelbetrieben beider AFP-Ringe laufend ab. Trotzdem pendelten sich die Anzahl der Totgeburten und der Mumien erst nach der PCV2-Impfung der Sauen und die zweimalige Impfung der Jungsauen vor dem Decken wieder auf dem früheren Niveau ein.

Fazit für die Praxis

PCV2-bedingte Fruchtbarkeitsstörungen sind selten und kommen vor allem in Betrieben mit einem hohen Jungsauenanteil vor und lassen sich klinisch nicht von PPV- bedingten Fruchtbarkeitsstörungen unterscheiden. Der alleinige Virusnachweis von PCV2 mittels PCR genügt für eine ätiologische Diagnose nicht. Daher müssen für die Diagnostik von PCV2 bedingten Fruchtbarkeitsstörungen vermehrt Mumien, Spätaborte oder Totgeburten, sowie fibrotische und/oder entzündliche Mykardveränderungen und der Nachweis von grossen PCV2 Mengen vorhanden sein. Für die Diagnostik von PPV- oder PCV2 bedingten Fruchtbarkeitsstörungen wird die Einsendung von 3 Feten unterschiedlicher Grösse und falls vorhanden, 1 – 2 Mumien empfohlen.

Literatur

1. Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses, a review. J Vet Diag Invest 2000; 12: 3-14.
2. Bogdan J, West K, Clark E, Konoby C, Haines D, Allan GM, McNeilly F, Meehan B, Krakowka S, Ellis JA. Association of porcine circovirus 2 with reproductive failure in pigs: a retrospective study, 1995-1998. Can Vet J 2001; 42: 548-50.
3. Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. J Vet Diagn Invest 2007; 19: 368-75.
4. Chena HY, Li XK, Cuia BA, Wei ZY, Li XS, Wanga YB, Zhaoa L, Wanga ZY. A TaqMan-based real-time polymerase chain reaction for the detection of porcine parvovirus. J Virol Meth 2009; 156: 84-88.
5. Crowther RA, Berriman JA, Curran WL, Allan GM, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. J Virol 2003; 77(24): 13036-41.
6. Dastig B, Schmoll F, Lang C, Irgang P, Spergser MJ, Schuh M, Sipos W. Detection of pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets. 4th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases Rome, 2003; 88.

7. Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, Elvinger F, Meng XJ. Two amino acid mutations in the capsid protein of type 2 porcine circovirus (PCV2) enhanced PCV2 replication in vitro and attenuated the virus in vivo. *J Virol* 2004; 78: 13440-46.
8. Harding J, Clark EG. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Swine Health and Production* 1997; 5: 201-03.
9. Johnson CS, Joo HS, Direksin K, Yoon KJ, Choi YK. Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 507-12.
10. Josephson G, Charbonneau G. Case report of reproductive problems in a new startup operation. *J Swine Health and Production* 2001; 9: 258-59.
11. Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 2009; 46:707-16.
12. McNeilly F, McNair I, Mackie DP, Meehan B, Kennedy S, Moffett D, Ellis J, Krakowka S, Allan GM. Production, characterisation and applications of monoclonal antibodies to porcine circovirus 2. *Arch Virol* 2001; 146: 909–22.
13. Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol* 1998; 79: 2171-79.
14. Nielson J, Ladekjær-Hansen AS, Bille-Hansen V, Lohse L, Bøtner A. PCV2-associated disease following intrauterine infection. *Proc 18th IPVS, Hamburg, Germany*. 2004; Vol1; 14.
15. O'Connor B, Gauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G, Ellis JA. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can Vet J* 2001; 42: 551-53.
16. Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 591-15.

17. Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim JK, Kim SH, Chae C. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J Comp Pathol.* 2005; 132: 139-44.
18. Pensaert MB, Sanchez RE, Ladekjaer-Mikkelsen AS, Allan GM, Nauwynck HJ. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet Microbiol* 2004; 98: 175-83.
19. Pittman JS. Reproductive failure associated with porcine circovirus type 2 in gilts. *Journal of Swine Health and Production* 2008; 16: 144-48.
20. Plonait H. Fortpflangungsphysiologie und Gynäkologie der Sau. In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten.* Hrsg. Waldmann KH, Wendt M. Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, 2004: 455-61.
21. Ritzmann M, Wilhelm S, Zimmermann P, Etschmann B, Bogner KH, Selbitz HJ, Heinritzi, K, Truyen U. Prävalenz sowie Assouiation von prozinem Circovirus Typ 2 (PCV2), porzinem Parvovirus (PPV) und porzinem reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in abortierten Feten, mumifizierten Feten, totgeborenen und lebensschwach geborenen Ferkeln. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2005; 112: 348-51.
22. Sanchez RE, Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol* 2001; 83: 169-76.
23. Sanchez RE, Meerts P, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life. *Vet Microbiol* 2003; 95: 15-25.
24. Sanford SE. PCV-2 related reproductive failure in startup herds. 17th IPVS-Congress Iowa, USA, 2002; Vol 1: 171.
25. Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. In: *Diseases of swine.* Hrsg. Straw, Zimmerman, D'Allaire and Taylor, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006; 299-307.
26. Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated diseases. *Vet Microb* 2004; Feb 4; 98 (2): 137-49.
27. Shen H, Wang C, Madson DM, Opriessnig T. High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev Vet Med.* 2010; Dec 1; 97(3-4): 228-36.

28. Sordon SD. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome. J Swine Health Product 2000; 8: 133-36.
29. Staebler S, Buergi E, Litzenberger B, McCullough K, McNair I, McNeilly F, A. Pospischil A, Sydler T. Porcine circovirus as a possible cause of postweaning wasting in pigs in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilk 2004; 146: 461-69.
30. Tierseuchenstatistik 2010;
www.bvet.admin.ch/themen/tiergesundheit/übersicht/tierseuchenstatistik
31. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, Konoby C, Martin K, Ellis JA. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J Vet Diagn Invest 1999; 11: 530-32.
32. Wiederkehr D, Titus Sydler T, Buergi E, Haessig M, Zimmermann D, Pospischil A, Brugnera, Sidler X. A new emerging genotype subgroup within PCV-2b dominates the PMWS epizooty in Switzerland. Vet Microb 2009; 136: 27-35.
33. Yoon KJ, Jepsen RJ, Pogranichniy RM, Sorden S, Stammer R, Evans LE. A novel approach to intrauterine viral inoculation of swine using PCV type 2 as a model. Theriogenology. 2004; 61:1025-37.
34. Zanoni RG, Henn V, Rutishauser UP, Wyler R. Häufigkeit der porcinen Parvovirusinfektion in der Schweiz und ein neuer Virusnachweis mittels Immunelektronenmikroskopie. Zentralbl Veterinarmed B 1984; 31: 729-42.

448 Korrespondenzanschrift
449
450 Vetsuisse Fakultät Zürich
451 Departement Nutztiere
452 Abteilung Schweinemedin
453 Dr. med. vet. Xaver Sidler
454 Winterthurerstrasse 260
455 CH-8057 Zürich
456
457 E-Mail: xsidler@vetclinics.uzh.ch
458 Tel: 0041 44 635 82 22
459 Fax: 0041 44 635 89 28
460

Abb. 1

Mumifiziertes Myokardgewebe (HE; mittlere Vergrößerung). Kern- und Zelldetails sind weitgehend verloren gegangen, was ein Ansprechen einer Entzündung verunmöglicht. Die violetten, scholligen Myokardfasern stellen dystrophische Verkalkung dar und sind eineindeutiges Degenerationsanzeichen.

Abb. 2

Mumifiziertes Myokardgewebe (PCV2 Immunhistochemie mit dem monoklonalen Antikörper F217; mittlere Vergrößerung)
Das orangebraun gefärbte Material stellt PCV2 Antigen in mittlerer bis hochgradiger Menge in den Myokardzellen dar. Immunhistochemie ist auch am mumifizierten Gewebe durchführbar.

Abb. 3

Mumifiziertes Lebergewebe links (PCV2 Immunhistochemie mit dem monoklonalen Antikörper F217; mittlere Vergrößerung) und IHC negatives Lebergewebe im Vergleich rechts.
Das orangebraun gefärbte Material stellt PCV2 Antigen dar. In diesem Fall war die Leber viel stärker infiziert, als das Myokard.

Abb. 4

Elektronenmikroskopisches Bild: In mumifizierten Leberzellen konnten intrazelluläre Einschlüsse bestehend aus einer parakristallinen Anordnung von ikosaedrischen Viruspartikeln dargestellt werden. Die Partikel haben einen Durchmesser von etwa 20 nm.

Tab. 1 Resultate in der Übersicht

495 **Abb. 1**
496

497
498
499
500
501

502 **Abb. 2**
503

504
505
506
507
508
509
510
511

512 **Abb. 3**
513

514
515

516 **Abb. 4**
517

518
519

520 **Tab. 1**

Fall	Anamnese	Anzahl untersuchter Feten	PPV	IHC gegen PCV2	PCV2 DNA Templates (T)	Diagnose, Bemerkungen
1	AFP-Ring Mumien und Totgeburten bei Jungsaunen	Gewebeflüssigkeit von 2 von Mumien aus Betrieb A 2 Mumien aus Betrieb B und 4 Mumien aus Betrieb D 1 autolyt. Fetus aus Betrieb C 1 Wurfgeschwister aus Betrieb A	neg. neg.	n.d. 5^a +++ 1^a neg. neg. neg.	1x10⁹ T/ml * 1x10¹¹ T/mg Gewebe	Diagnose: PCV2-bedingt dystrophische Verkalkungen im Myokard bei 3 Mumien
2	AFP-Ring Mumien und Totgeburten 1. - 3. Wurf	3 Mumien aus Wurf mit 7 Mumien und 3 Lebendgeborenen	neg.	3^a +++	1x10¹¹ T/mg Gewebe	Diagnose: PCV2-bedingt keine dystrophische Verkalkung im Myokard
3	AFP-Ring Mumie bei Sau (2. Wurf)	1 Mumie aus Wurf mit 14 Lebendgeborenen	neg.	neg.	1x10⁷ T/mg Gewebe	Diagnose: nicht PCV2-bedingt
4	geschlossener Zuchtbetrieb, gehäuft Aborte	8 abortierte Feten	neg.	neg.	1x10⁶ T/mg Gewebe	Diagnose: nicht PCV2-bedingt

* PCR von Gewebeflüssigkeit (Templates/ml)

A-D: Abferkelbetriebe aus Fall 1

n.d: nicht durchgeführt

^a Anzahl Tiere