

Diskussion

1. Voruntersuchungen

Mit dem jeweiligen prozentualen Anteil an seropositiv getesteten Tieren der Stichproben in den verschiedenen Altersgruppen, ist die Infektionsrate mit *M. hyo* in diesem Bestand relativ hoch (HORST et al. 1997).

Zusätzlich wurden bei den Voruntersuchungen verschiedene Erreger isoliert, die darauf schließen lassen, dass in diesem Bestand insgesamt ein hoher Erregerdruck vorlag.

2. Klinisch- ökonomische Zielgrößen

2.1 Pneumonie intra vitam

Der erhöhte Anteil an hustenden Tieren in allen Gruppen ab der Aufzuchtperiode abgesehen von den fieberhaften Pleuropneumonien in der 8. und 16. Lebenswoche lässt entweder auf ein Impfversagen schließen oder gibt einen Hinweis auf Infektionen mit anderen Erregern. Differentialdiagnostisch kommen bei trockenem Husten ohne Fieber vor allem *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, Corona-Viren und Ascaridenbefall in Betracht. Auch die chronische Form einer APP kann einen trockenen Husten auslösen (MAES et al. 1996; ROSS 2001; ZIMMERMANN und PLONAIT 2001). Den Morbiditäten in der 8. und 16. Lebenswoche liegt wahrscheinlich eine akute Infektion mit *A. p. p.* zugrunde. Dies ist anhand der klinischen Symptomatik (ZIMMERMANN und PLONAIT 2001), des Erregernachweises in Sektionstieren im Bestand und aufgrund des hohen Anteils an APP- spezifischen Lungenveränderungen und dem mikrobiologischen Nachweis von *A. p. p.* in den Schlachtlungen bei den Versuchstieren anzunehmen.

Insgesamt sind beide Impfungen aus klinischer Sicht in diesem Bestand erfolglos geblieben.

Auch MAES et al. (1999) und MATEUSEN et al. (2002) konnten keine Unterschiede der klinischen Parameter bei geimpften Schweinen feststellen, obwohl tägliche Zunahmen und in der Studie von MAES et al. (1999) auch die Schwere der Lungenläsionen deutlich verbessert

werden konnten. Die Ursache dafür kann darin liegen, dass die Kolonisierung des Respirationstraktes mit *M. hyo* durch Impfungen nicht verhindert werden kann (CIPRIAN et al. 1994; SCHEIDT et al. 1994; THACKER et al. 1998; WALLGREN et al. 2000).

Im Gegensatz dazu zeigte die konventionelle Impfung gegen *M. hyo* in der Studie von CHARLIER et al. (1994) einen deutlichen Effekt auf die Häufigkeit an Husten.

2.2 Wachstums- und Schlachtleistung

Die Einfachimpfung verbesserte die Wachstumsdaten während der Aufzuchtperiode. Dies galt vor allem für die Tiere mit einem niedrigen Absetzgewicht und/oder Husten in dieser Phase. Dieser Effekt hielt aber nicht bis zur Schlachtung an.

Damit stehen diese Untersuchungen im Widerspruch zu anderen Feldversuchen. Die in dieser Studie verwendete Einfachimpfung konnte in den Studien von DAWSON et al. (2002), SMITH et al. (2003) und LILLIE et al. (2004) erhöhte Tageszunahmen erzielen. Auch die hier verwendete Zweifachimpfung hat in verschiedenen Feldversuchen zu Erfolgen geführt (CHARLIER et al. 1994; MUNOZ 1996; MAES et al. 1998; RADELLOFF und HEINRITZI 1998; MAES et al. 1999; BOUWKAMP et al. 2000). Nicht erfolgreich in Bezug auf die täglichen Zunahmen und das Schlachtgewicht war die konventionelle Impfung in den Studien von LIUM et al. 1994, DIEKMANN et al. 1999; HORST et al. 2000, PALLARES et al. 2000, MATEUSEN et al. 2002 und LILLIE et al. 2004). HORST et al. (2000) und PALLARES et al. (2000) konnten aber einen signifikanten Rückgang der Mortalität und der Lungenläsionen bei den geimpften Tieren gegenüber nicht geimpften Tieren verzeichnen.

Bei den untersuchten Beständen handelte es sich sowohl um offene als auch um geschlossene Herden. Alle Bestände wiesen einen hohen Anteil an mit *M. hyo* infizierten Tieren auf, und es wurde eine große Anzahl an Tieren in den Versuch mit einbezogen. HORST et al. (2000) und MATEUSEN et al. (2002) überprüften Infektionen der Versuchstiere durch andere Erreger vor und während des Versuches. Es lagen hier neben *M. hyo* auch Infektionen mit *A. p.*, dem Influenza- Virus und PRRS- Virus vor, im Bestand der Untersuchung von HORST et al. (2000) zusätzlich *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* und Streptokokken. Allerdings erreichten auch MAES et al. (1998) trotz Anwesenheit von PRRS-, Influenza- und Aujeszky- Virus und NASH (1996) trotz Anwesenheit von Pasteurellen, Bordetellen und *A. p.* mit Zweifachvakzinen einen Impferfolg in Bezug auf die Gewichtszunahme.

Der hohe Anteil an hustenden Tieren in der Endmast in der einmal geimpften Gruppe und der hohe Anteil an Pneumonielungen bei der Schlachtung in dieser Studie insgesamt scheinen in Zusammenhang mit den niedrigen Schlachtgewichten zu stehen. Dies konnten auch DOTTORI et al. (2006) zeigen. Dagegen wurden in anderen Untersuchungen (DAWSON et al. 2002; REGULA et al. 2000) keine Auswirkungen des Ausmaßes an Lungenläsionen auf die Gewichtszunahmen gefunden.

2.3 Pneumonien post mortem

Der mikrobiologische Nachweis und die Lungenbefundung zeigten, dass sowohl Mykoplasmen als auch andere Erreger wie *A. p. p.* gehäuft auftraten.

Der hohe Anteil an Tieren mit Spitzenlappenpneumonie in allen Gruppen weist darauf hin, dass eine Infektion mit *M. hyo* nicht nur gegen Ende der Mast, ein Zeitraum in dem insgesamt verhältnismäßig wenig gehustet wurde, stattgefunden haben kann. Möglicherweise waren Mykoplasmen auch an den Bestandsinfektionen in der 8. und 16. Lebenswoche beteiligt. Der hohe Anteil an APP- charakteristischen Veränderungen bestätigt die Annahme, dass es sich bei den fieberhaften Pneumonien in der 8. und 16. Lebenswoche wahrscheinlich primär um Infektionen mit *A. p. p.* handelte.

Der Anteil lungenkranker Tiere war bei der Schlachtung in allen Gruppen sehr hoch und geimpfte Schweine hatten nicht weniger makroskopische Lungenveränderungen als die der Kontrollgruppe. Es zeigte sich sogar, dass die Kontrollgruppe einen höheren Anteil an lungengesunden Tieren aufwies als die Gruppen der geimpften Tiere. Dieser Unterschied ist allerdings nur geringfügig. Die Häufung von Husten in der einfach geimpften Gruppe zum Mastende steht möglicherweise in einem Zusammenhang mit der schlechter ausfallenden Lungenbefundung in dieser Gruppe, da Husten in der Endmast und Lungenveränderungen signifikant positiv assoziiert waren.

Beide Impfregime konnten hier folglich auch in Bezug auf die Lungenveränderungen am Schlachthof keine Erfolge erzielen. In anderen Studien konnten sowohl durch Einfachimpfung (DAWSON et al. 2002; SMITH et al. 2003; LILLIE 2004) als auch durch die konventionelle Zweifachimpfung Lungenläsionen signifikant reduziert werden (LIUM et al. 1994; CHARLIER et al. 1994; MARTINOD 1996; DIEKMAN et al. 1999; MAES et al. 1999; PALLARES et al. 2000; LE GRAND and KOBISCH 1996; MUNOZ et al. 1996; MAES et al.

1998; RADELOFF und HEINRITZI 1998; HORST et al. 2000 LILLIE 2004). Allerdings war die Streuung des prozentualen Anteils der Läsionsreduktion enorm hoch. So konnten DIEKMANN et al. (1999) über 50 % Reduktion konstatieren während es bei RADELOFF und HEINRITZI (1998) und HORST et al. (2000) nur 13,3 bzw. 5,7 % waren.

Keine Verbesserung der Lungenscores erreichten MATEUSEN et al. (2002). Hier lag allerdings insgesamt ein geringer Anteil an *M. hyo-* infizierten Tieren vor und die Studie wurde im Sommer durchgeführt, in dem die Atemwegsproblematik am geringsten ist (MÜLLER und SCHLENKER 2004).

2.4 Gründe für den ausbleibenden Impferfolg

Da die Impfungen durch die Versuchsanstellerin selbst durchgeführt wurden, sind applikationstechnische Gründe für ein Impfversagen weitgehend auszuschließen.

Klimatische Bedingungen und hoher Erregerdruck aber auch die häufige Medikation in diesem Bestand können Ursachen dafür sein, dass beide Impfstoffe nicht die gewünschten Effekte erzielten.

Die klinischen Daten zeigen, dass Husten in allen Gruppen gehäuft im Dezember und Januar auftrat. Die Position der Tiere im Maststall hatte einen deutlichen Einfluss auf das Auftreten von Husten. Dies kann auf Zugluft, niedrige Temperaturen und Temperaturschwankungen zurückzuführen sein. In dieser Zeit kam es in dem untersuchten Betrieb zu Temperaturdifferenzen von bis zu 7°C. Niedrige Temperaturen scheinen die Flimmerbewegungen der Zilien herabzusetzen (MÜLLER und SCHLENKER 2004), wodurch Mukusmenge und Lungenclearance beeinträchtigt werden (DEBEY et al. 1992). Temperaturschwankungen beeinflussen den Metabolismus durch erhöhte Beanspruchung der thermoregulatorischen Reaktionen der Tiere. Beides kann zu Stress oder sogar zum vollständigen Verlust der Homöostase führen. Die Folge ist eine Immunsuppression, wodurch das Eindringen von Erregern, vor allem von Atemwegserregern erleichtert wird (BROWN 1994; COOK et al. 1996; SALAK- JOHNSON et al. 1997). REINHOLD und ELMER (2002) zeigten bei Kälbern, dass sich nach einer plötzlichen Temperatursenkung mikrobiologisch vermehrt Mykoplasmen in der Lunge nachweisen lassen.

Die Probleme bei der Klimaregulation könnten auch zu einer höheren Ammoniakkonzentration und einem hohen Staubgehalt der Luft beigetragen haben. Auch dies

schädigt das Lungenepithel und fördert somit die Besiedlung des Respirationstraktes. (ANDREASEN et al. 1994; BAEKBO et al. 1996; MÜLLER und SCHLENKER 2004).

Der Erregerdruck kann aus unterschiedlichen Gründen erhöht sein. Zum einen ist im untersuchten Bestand die vertikale Übertragung nicht unterbrochen, da wöchentlich Tiere des Deck- Wartestalls zur nur 5 km entfernten Mastanlage verbracht werden (SIBILA et al. 2004). Zusätzlich birgt die Nähe zum Schlachthof Risiken durch gehäuftem Viehtransport (STÄRK et al. 1992). Auch könnten die Tiere der Kontrollgruppe für einen sehr hohen Erregerdruck gesorgt haben (MAES et al. 1998).

Da hier die Schlachtgewichte in allen Gruppen geringer waren als in vergleichbaren Studien (SCHEIDT et al. 1994; LEGRAND und KOBISCH 1996; RADELLOFF und HEINRITZI 1998; BOUWKAMP et al. 2000; HORST et al. 2000), ist anzunehmen, dass die Tiere alle unter einem enormen Erregerdruck standen, der zum Einbruch des Impfschutzes geführt haben könnte. Auch die trotz Impfung vorhandene große Häufigkeit an Lungenschäden insgesamt deutet auf einen hohen Erregerdruck und ungünstige Haltungsbedingungen bei unseren Versuchstieren hin. Die Voruntersuchungen zeigten, dass in dem Bestand Infektionen mit dem PRRS- Virus, dem Influenza- Virus, *A. p. p.*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Hämophilus parasuis* und Steptokokken vorhanden waren. Die bakteriologische Untersuchung der Schlachtlungen deutet darauf hin, dass die Versuchstiere, abgesehen von *M. hyo*, auch von *A. p. p.*, *Pasteurella multocida* und Steptokokken betroffen waren.

Infektionen mit Erregern, auf die der Impfstoff keinen Einfluss hat, können den Erfolg durch einen Impfstoff mindern (NASH 1996). Diese Umstände sind allerdings auch in anderen Beständen gegeben, in denen trotzdem Impferfolge erzielt wurden (MAES et al. 1998; HORST et al., 2000; MATEUSEN et al., 2002). NASH (1996) erzielte in 2 Beständen mit nachgewiesenen Infektionen mit *M. hyo*, *A. p. p.*, Pasteurellen, PRRS- und Influenza- Virus, einen Impferfolg in Bezug auf das Ausmaß der Lungenläsionen durch *M. hyo*, in einem Bestand konnte die Lungengesundheit allerdings nicht beeinflusst werden. Die Streuung der Gewichtszunahmen und der Reduktion der Lungenläsionen ist aber in diesen Untersuchungen sehr groß, daher ist davon auszugehen, dass das Wirkungsvermögen eines Impfstoffes sehr stark vom Bestand abhängig ist.

Andere Einflüsse, die mit berücksichtigt werden müssen, sind zum Beispiel Impfungen gegen andere Erreger. So kamen THACKER und THACKER (2000) zu der Erkenntnis, dass die PRRS- Virus- Impfung entscheidende Auswirkungen auf den Erfolg einer

Mykoplasmenimpfung haben kann, wenn diese zwischen den Impfungen gegen Mykoplasmen oder während einer stattfindenden Impfreaktion verabreicht wird. Dies war in diesem Bestand der Fall. Auch kann eine Infektion mit dem PRRS- Virus in der 7. Lebenswoche die Wirkung der Mykoplasmenimpfung verhindern (THACKER und THACKER 2000). SURADHAT und THANAWONGNUWECH (2003) und SURADHAT und THANAWONGNUWECH (2004) zeigten, dass sowohl das PRRS- Virus als auch die Lebendvakzine gegen das PRRS- Virus den Level an IL-10 erhöhen. IL-10 wird mit der Hemmung von mononukleären Zellen in Zusammenhang gebracht (RAZIN 1998; THANAWONGWUWECH und THACKER 2003; KHALIFEH und STABEL 2004). Das könnte die Ursache für eine mangelnde Reaktion des Immunsystems auf Impfungen nach einer PRRS- Virus- Infektion sein.

Auch maternale Antikörper können die Effektivität einer Impfung beeinflussen (JAYAPPA et al. 2001). Der Impfzeitpunkt kann eine Rolle gespielt haben, da vielleicht in erhöhtem Maße maternale Antikörper vorlagen und so die Immunantwort verhindert worden sein kann. Eine andere Studie zeigt allerdings, dass maternale Antikörper, die durch Impfung der Sauen induziert wurden, keine Einfluss auf die Reaktionsfähigkeit des Immunsystems der Ferkel nach Impfung hat (MARTELLI et al. 2006).

Es kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass die Impfdosis zu gering war, um eine entsprechende Immunantwort auszulösen, allerdings entsprach diese den Angaben des Herstellers.

Eine weitere Möglichkeit der Erklärung ist, dass die Infektion mit Mykoplasmen hier nur subklinisch vorlag. Die insgesamt geringen Mastzunahmen könnten auch durch andere Ursachen wie nicht diagnostizierte Erreger bedingt sein.

Letztendlich ist auch nicht auszuschließen, dass es Unterschiede in Bezug auf die Wirksamkeit der Impfstoffe verschiedener Hersteller gibt. TESSIER und LACLADERE (2004) verglichen die Häufigkeit von Lungenläsionen in verschiedenen Schweinebeständen in Frankreich, die mit Einfach- oder Zweifachvakzinen verschiedener Hersteller oder gar nicht geimpft worden waren und erzielten sehr unterschiedliche Erfolge. Allerdings erreichten alle geimpften Bestände eine Verbesserung gegenüber nicht geimpften Herden.

Die anfänglichen Steigerungen der täglichen Zunahmen vor der Mast und des Mastanfangsgewichtes deuten aber doch auf eine eventuell anfänglich bessere Wirkung der Einfachimpfung hin. Möglicherweise hielt die Wirkung der Impfung in diesem Bestand

jedoch nicht lange genug an, um wirtschaftliche Erfolge zu erzielen. Bei Testung eines anderen inaktivierten Impfstoffes gegen *M. hyo* war bei einer Feldinfektion nach 6 Monaten noch ein Impfschutz festgestellt worden (JAYAPPA et al. 2000).

Eventuell hätte ein späterer Zeitpunkt der Impfung in diesem Bestand eine bessere Wirkung am Ende der Mast erzielen können (SCHEIDT et al. 1994; VRAA-ANDERSEN 1994, WALLGREN 2000).

3. Immunologische Untersuchungen

3.1 Humorale Immunantwort

Insgesamt ergaben die Voruntersuchungen in diesem Bestand im Schnitt ein den konventionell geimpften Tieren sehr ähnliches Bild des Antikörpertiterverlaufes. Hier war in der 21. Lebenswoche der Titer stark abgesunken, zeigte allerdings schon in der 25. Lebenswoche einen deutlichen Anstieg. Auch dies waren Tiere, die im Saugferkelalter zweifach gegen *M. hyo* geimpft worden waren.

In der Studie von LILLIE (2004) wurden ebenfalls Titerverläufe nach Einfach- und nach Zweifachimpfung festgehalten. Bei Tieren ohne maternale Antikörper war der Titer hier nach einer Einfachimpfung in der 1. Lebenswoche geringgradig und nach einer Zweifachimpfung 8 Wochen nach der Boosterung stark gestiegen, wobei 4 Wochen vorher keine Blutprobenentnahme durchgeführt wurde. Bei Tieren mit maternalen Antikörpern war der Titer sowohl nach Einfach- als auch nach Zweifachimpfung gesunken. Auch KEßLER und LAHRMANN (2004) beschrieben einen deutlichen Titeranstieg in der 8. und 12. Lebenswoche nach Applikation eines Zweifach-Impfstoffes, während die mit der Einfachimpfung vakzinierte Gruppe keine erhöhten Titer verzeichnete.

Die Ursache dafür, dass in der vorliegenden Studie sowohl nach Einfach- als auch nach Zweifachimpfung nur Einzeltiere zwischen der 8. und 12. Lebenswoche einen steigenden Titer verzeichnen, während andere Tiere einen in dieser Phase sinkenden Titer zeigen, könnte eine unterschiedliche maternale Immunität gewesen sein. Die Voruntersuchungen zeigten, dass ein Teil der Ferkel im Alter von 3 Wochen seropositiv getestet wurde. Auch war ein großer Teil der Muttersauen seropositiv.

Dass maternale Antikörper die Antikörpertiterantwort der neonatalen Ferkel auf die Impfung vermindern, wurde mehrfach gezeigt (THACKER et al. 1998; HODGINS et al. 2002). RADELOFF und HEINRITZI (1998) und LILLIE (2004) stellten fest, dass Ferkel mit einem hohen maternalen Antikörperspiegel in der ersten Lebenswoche erst später aktiv Antikörper als Reaktion auf die Impfung entwickeln als gleichaltrige Ferkel mit einem niedrigen Antikörperspiegel. Daher ist der Impferfolg bei Vakzinierungen in den ersten Lebenswochen umstritten. Allerdings zeigten RADELOFF und HEINRITZI (1998) und LILLIE (2004) auch, dass die Impfung im Saugferkelalter die besten Ergebnisse in Bezug auf Lungengesundheit und Mastleistung erzielte.

THACKER und THACKER (2000) erwähnen, dass der Titer nach Impfungen gegen *M. hyo* ca. 4 bis 6 Wochen nach der Boosterung wieder in den seronegativen Bereich abfällt. In einem Bestand, in welchem (gemessen am Anteil seropositiver nicht-geimpfter Tiere) ein sehr niedriger Infektionsdruck vorlag, sank der Anteil seropositiver geimpfter Tiere ebenfalls ab der 10. Lebenswoche, um gegen Mastende wieder anzusteigen (MATEUSEN et al. 2002). In einem Experiment, in dem Schweine erst in der 24. Lebenswoche künstlich infiziert wurden, sank der Titer nach Impfung im Saugferkelalter ab der 15. Lebenswoche (JAYAPPA et al. 2000). Dies entspricht dem Absinken des Antikörpertiters 7 bis 12 Wochen nach experimenteller oder natürlicher Infektion mit Mykoplasmen (KOBISCH et al. 1993; SÖRENSEN et al. 1994). RADELOFF und HEINRITZI (1998) zeigten dagegen, dass eine im Ferkelalter angewendete konventionelle Impfung gegen *M. hyo* einen progressiven Anstieg des Antikörpertiters vom Tag der zweiten Impfung an bis zur Schlachtung induzierte. Ähnlich ist das Bild in der Studie von MAES et al. (1998), wobei der Autor dies auf einen stetigen Infektionsdruck zurückführt.

Der hohe Titer gegen Ende der Mast in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Lungenbefundung lassen in dieser Studie auf eine *M. hyo*-Feldinfektion in der Endphase der Mast schließen, da es zu einem plötzlichen hohen Titeranstieg kam und auch die Kontrollgruppe betroffen war. Es ist davon auszugehen, dass die Infektion ca. 3 bis 7 Wochen vor der Schlachtung stattfand (STRASSER 1992; KOBISCH et al. 1993; SÖRENSEN et al. 1994; CZAJA et al. 2002).

In der einfach-geimpften Gruppe zeigten 9 von 18 Tieren in der 28. Lebenswoche einen seropositiven Titer, in den anderen beiden Gruppen waren dies nur jeweils 5 Individuen. Die signifikant höhere Häufigkeit an Husten in der einfach-geimpften Gruppe stimmt mit dem

hohen Anteil an serokonvertierten Tieren in dieser Gruppe überein. Auch schien die Serokonversionsrate negativ mit dem Schlachtgewicht und der Lungengesundheit assoziiert zu sein. Der Zusammenhang zwischen Serokonversionsrate und dem Vorkommen von Spitzenlappenpneumonie in Bezug auf *M. hyo*-Antikörper konnte hergestellt werden.

Die Serokonversion wird oft als Indikation für die Wirksamkeit einer Impfung angesehen, da dies ein Effekt der meisten herkömmlichen Impfungen ist und tägliche Gewichtszunahmen und Anteil an Lungenläsionen mit Impfungen verbessert werden können (STRASSER 1992; KOBISCH et al. 1993; SÖRENSEN et al. 1994; ROSS 2001; HODGINS et al. 2002; LLOPART et al. 2002; LANGE 2003).

Diese Studie zeigt, dass die Serokonversion vorwiegend mit der klinischen Symptomatik einer Feldinfektion einhergeht. Auch SÖRENSEN (1994), LEON (2001) und VICCA et al. (2002) fanden eine Übereinstimmung zwischen dem Auftreten von starken klinischen Symptomen und dem Anstieg der Serokonversionsrate. In einer anderen Studie war der Großteil der hustenden Tiere über 10 Wochen nach einer Feldinfektion seropositiv getestet worden, während bei Tieren ohne klinische Symptomatik keine Antikörpertiter gegen *M. hyo* nachweisbar waren (WALLGREN et al. 1998). KOBISCH et al. (1993) zeigten, dass die Häufigkeit von Husten in experimentell mit *M. hyo* infizierten SPF-Tieren mit dem Antikörpertiter und der Häufigkeit an Lungenläsionen korreliert. Eine positive Korrelation des Antikörpertiters mit dem Vorkommen bzw. Ausmaß von Lungenläsionen fanden auch YAGIHASHI (1993), SÖRENSEN et al. (1994) und MORRIS et al. (1995). Auch die Tatsache, dass Einfachimpfungen trotz fehlender serologischer Reaktion zu Verbesserungen bezüglich Tageszunahmen und Lungengesundheit führen, zeigt, dass der Antikörpertiter keinen Schluss auf den Schutz durch die Impfung gegen *M. hyo* zulässt (ROOF et al. 2001; SMITH et al., 2003; LILLIE 2004).

In einer experimentellen Studie verzeichneten LLOPART et al. (2002) allerdings ein positives Impfergebnis in Bezug auf Lungengesundheit und Gewichtszunahme obwohl die geimpften Tiere einen weitaus höheren Titer zum Zeitpunkt der Schlachtung (4 Wochen nach der Administration des Erregers) zeigten.

Möglicherweise ist es generell sinnvoller, hauptsächlich die lokale Immunität zu stimulieren, da diese die wichtigste Rolle gegen Mykoplasmen zu spielen scheint. (MESSIER et al. 1990; SIMECKA 1993; CARTNER et al. 1998; THACKER et al. 1998; SARRADELL et al. 2003).

3.2 Zellvermittelte Abwehr

3.2.1 Blutbild, Differentialblutbild und Lymphozytenstimulationsfähigkeit

Die Werte des Blutbildes und des Differentialblutbildes entsprachen in allen Gruppen zu allen Zeitpunkten der in der Literatur angegebenen Normalwerte (HEINRITZI und PLONAIT 2004). Die Pleuropneumonien in der 8. und 16. Lebenswoche sowie die *M. hyo*-Feldinfektion gegen Ende der Mast führten demnach nicht zu einer Leukozytose zu den Zeitpunkten der Blutentnahmen. Dies könnte den Hinweis darauf geben, dass eventuell eine Immunsuppression vorlag. Dies würde auch erklären, warum die Lymphozyten zum Zeitpunkt der 28. Lebenswoche nicht zu stimulieren waren. Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, dass die Blutentnahmen vor oder nachdem sich eine Leukozytose entwickelte, stattfanden.

3.2.2 Anteile der Lymphozytenpopulationen und Subpopulationen

Der Anteil an B- Zellen war in der 8. und 12. Lebenswoche bei allen Tieren sehr niedrig. Der Anteil an B- Zellen beträgt nach DE GROOT et al. (2000) beim Schwein im Alter von 22 Wochen ca. 20-30% und im Alter von ca. 4 Wochen sollte die Menge der B- Zellen denen eines ausgewachsenen Schweines entsprechen (BLECHA 2001). Der niedrige Anteil an B- Zellen in der 8. und 12. Woche könnte die Folge einer Immunsuppression gegen Ende der Läuferphase bzw. Anfang der Mast sein. Diese hängt möglicherweise mit der APP- Infektion in der 8. Lebenswoche zusammen. Im Alter von 25. Wochen lag der Anteil der B- Zellen in allen Gruppen bei ca. 30%, bei einem Teil der Tiere auch weit über 30%, wobei die Kontrollgruppe höhere Werte als die geimpften Gruppen erreichte. Die hohen Anteile an B- Zellen können als Reaktion auf eine Infektion gedeutet werden und stehen wahrscheinlich in Zusammenhang mit den hohen Antikörpertitern bei einem Teil der Tiere in der 28. Lebenswoche. Kurz vor der Schlachtung ist der proportionale Anteil der B- Zellen im Vergleich zu der vorherigen Blutentnahme in allen Gruppen leicht gesunken und damit die Infektion anscheinend rückläufig.

Die T- Zellen stiegen von niedrigen Werten in der 8. Lebenswoche auf Normalwerte (DE GROOT 2000) in der 12. Lebenswoche. In der 25. Lebenswoche verändert sich in allen Gruppen die Zusammensetzung der T- Zellen. Es zeigt sich hier eine sehr hohe CD4+/CD8+

T- Zellratio. Auch dies könnte ein Anzeichen dafür sein, dass die Tiere hier schon stark auf eine Infektion reagierten. APPELYARD et al. (2002) zeigten an SPF-Schweinen, dass der proportionale Anteil an CD4+ T- Zellen bei 18-22% und an CD8+ Zellen bei 20-25% liegt. Daraus resultiert eine CD4+/CD8+ T- Zellratio von 0,8-1. Die Ergebnisse dieser Studie ergaben in der 8., 12. und 28. Lebenswoche wesentlich niedrigere und in der 25. Lebenswoche wesentlich höhere CD4+/CD8+ T- Zellratios. Der hohen Ratio in der 25. Lebenswoche liegt vor allem ein niedriger Anteil an CD8+ T- Zellen zugrunde, aber auch eine leichte Erhöhung des Anteils der CD4+ T-Zellen. In dieser Studie konnte aber nicht gezeigt werden, dass die Tiere mit einer hohen CD4+/CD8+ T- Zellratio 4 Wochen vor dem Schlachtermin hochgradigere Lungenläsionen vorweisen. Auch bestand scheinbar kein Zusammenhang mit dem Vorkommen von Spitzenlappenpneumonien. Allerdings zeigte sich kurz vor der Schlachtung wieder eine Zunahme an CD8+ T-Zellen, während der Anteil der CD4+ T-Zellen relativ konstant blieb. Demzufolge war die CD4+/CD8+ T- Zellratio deutlich gesunken.

In Bezug auf die Zellanteile ergaben sich einige Unterschiede zwischen den geimpften Gruppen und der Kontrollgruppe. In der Kontrollgruppe scheint der prozentuale Anteil der B-Zellen einiger Einzeltiere in der 25. Lebenswoche noch höher zu liegen als in den geimpften Gruppen. Die Kontrollgruppe verzeichnete in der 25. Lebenswoche außerdem eine sowohl durch einen niedrigeren Anteil an CD8+ T-Zellen als auch einen höheren Anteil an CD4+ T-Zellen deutlich höhere CD4+/CD8+ T- Zellratio im Vergleich zu den geimpften Gruppen. Das könnte bedeuten, dass die Tiere der Kontrollgruppe unterschiedlich auf die Infektion reagierten als die geimpften Gruppen. Daraus könnte man schließen, dass die Impfung zu dieser Zeit noch einen Effekt auf die Immunantwort gehabt haben könnte, indem die TH1 Antwort geringgradig stimuliert wurde. Allerdings lag die CD4+/CD8+ T- Zell- Ratio der Kontrollgruppe schon in der 12. Lebenswoche etwas höher als die der anderen beiden Gruppen.

In einem experimentellen Versuch wurde festgestellt, dass die CD4+/CD8+ T- Zell- Ratio bei Infektion mit dem Erreger *A. p. p.* innerhalb eines Tages ansteigt. Den stärksten Anstieg verzeichneten die Tiere, die sich bereits zuvor mit dem Erreger auseinandergesetzt hatten, dann folgten die Tiere, die gegen *A. p. p.* geimpft worden waren und nur ein leichter Anstieg konnte bei den Tieren beobachtet werden, die noch keinen Kontakt mit dem Antigen hatten (APPELYARD et al. 2002). Möglicherweise hatten sich die Kontrolltiere mit der höchsten

CD4+/CD8+ T- Zellratio also lange vor der 25. Lebenswoche schon einmal mit *M. hyo* infiziert.

ROMERO-ROJAS et al. (2001) zeigten in mit *Mycoplasma pulmonis* infizierten Mäusen, dass die CD4+/CD8+ T- Zellratio im Blut zwischen dem 15. und 46. Tag nach experimenteller Infektion erhöht ist. Dies ging in der Studie mit einem erhöhten Level von IL-4 einher und wurde als Ursache für eine chronische Infektion gedeutet. IL-4 verschiebt die Immunantwort in die Richtung der Reaktion einer TH2-Antwort und wurde in Mäusen als eine Ursache für Immunsuppression und gehäufte Lungenläsionen gesehen (KENDALL et al. 2001; ROMERO- ROJAS et al. 2001; JONES et al. 2002).

JONES et al. (2002) kamen zu dem Schluss, dass CD8+ T- Zellen eine wichtige Rolle bei Mykoplasmen-Infektionen spielen. CD8+ T-Zellen sind vor allem bei der Immunantwort gegen intrazelluläre Erreger wie Salmonellen, Listerien und das Influenza A Virus von Bedeutung (HEINEN et al. 2001). Aber WATERS et al. (1999) konnten auch feststellen, dass gegen den extrazellulären Erreger *Brachyspira hyodysenteriae* geimpfte Schweine einen höheren CD8+ T- Zellgehalt aufweisen als nicht geimpfte Schweine. In einer weiteren Studie wurde in genesenden Schweinen nach Infektion mit diesem Erreger im Vergleich zu nicht infizierten Tieren ebenfalls eine größere Menge an CD8+ T- Zellen gemessen. Zu diesen gehörten sowohl einfach- positive Lymphozyten als auch doppel- positive Lymphoblasten. Die Größe der Zellen deutet darauf hin, dass es sich um Effektorzellen und nicht um ruhende Gedächtniszellen handelt (WATERS et al. 2000). Da sich Mykoplasmen sowohl extrazellulär als auch fakultativ intrazellulär aufhalten, ist anzunehmen, dass auch hier CD8+ T- Zellen entscheidend zur Bekämpfung beitragen (RAZIN et al. 1998).

Nach JONES et al. (2002) hemmen die CD8+ T- Zellen die durch CD4+ T-Zellen verursachten Entzündungskaskaden und haben daher einen regulatorischen Effekt. Zudem sind CD8+ T-Zellen eine Quelle des IFN γ (KENDALL et al. 2001; ROMERO- ROJAS et al. 2001; JONES et al. 2002; KAMBAYASHI et al. 2003), welches nach THACKER et al. (2000) und ANDREONI et al. (2006) zur Bekämpfung der Mykoplasmen-Infektion beim Schwein beiträgt. Zwar sind sowohl CD8+ als auch CD4+ T- Zellen in der Lage IFN γ zu synthetisieren, aber CD4+ T- Zellen produzieren ebenfalls IL-4, ein Zytokin, welches die TH2-Immunantwort fördert und damit die IFN γ Sekretion hemmt (OPITZ et al. 1996; JONES et al. 2002; RODRIGUEZ-CARRENO et al. 2002).

Mehrere Studien führten zu dem Verdacht, dass Mykoplasmen die Immunantwort in der Weise manipulieren, dass vorwiegend die TH2-Subpopulation reagiert und die TH1-Immunantwort unterdrückt (THACKER et al. 2000; THACKER 2001; THANAWONGWUWECH et al. 2001; JONES et al. 2002; VANDEN BUSH und ROSENBUSCH 2003; ZHONGUA 2003). So wurden kurz nach der Infektion im Lungengewebe von Mäusen und im BALT von Schweinen vor allem CD4+ T-Zellen gefunden (JONES et al. 2002; SARRADELL et al. 2003). Impfungen sollten daher die TH2-Subpopulation fördern, um wirksam zu sein (THACKER 2001).

Da die Kontrollgruppe in dieser Studie zu dem vermuteten Zeitpunkt der Infektion mit *M. hyo* in der 25. Lebenswoche eine noch höhere CD4+/CD8+ T- Zell- Ratio aufweist als die geimpften Gruppen, könnte man daraus schließen, dass die Impfung hier möglicherweise einen Einfluss auf die Ausprägung der jeweiligen TH- Subpopulation gehabt hat.

4. Methodenkritik

Der Bestand, der für diese Studie beobachtet wurde, verzeichnete seit einiger Zeit einen hohen Infektionsdruck mit Erregern von Atemwegserkrankungen. Zu den isolierten Erregern gehörten Bordetellen, Pasteurellen, *Hämophilus parasuis*, *A. p. p.*, Mykoplasmen, das PCV II, das PRRS- und das Zytomegalievirus. Der größte Teil dieser Keime ist häufig als Sekundärerreger an der durch Mykoplasmen induzierten Erkrankung des Respirationstraktes beteiligt (AMASS et al. 1994; NASH 1996; SÖRENSEN et al. 1997; THACKER et al. 1999; HALBUR und OPRIESSING 2004). Daher waren die Voraussetzungen dafür gegeben, einen Impfstoff zu testen, der gegen Mykoplasmen und damit gegen den Wegbereiter für andere infektiöse Partikel wirkt.

Eine persistente Infektion durch *M. hyo* wurde anhand der Voruntersuchungen nachgewiesen. Während dieser Zeit gab es keine schwerwiegenden Krankheitsausbrüche durch andere Erreger. Am Beginn des Versuches allerdings kam es zu einem APP- Ausbruch, der dazu führte, dass abgesehen von den Versuchstieren alle Tiere des Bestandes gegen *A. p. p.* geimpft wurden aber auch die Versuchstiere medikamentell behandelt werden mussten. Dadurch kam es auch bei den Versuchstieren vermehrt zur Antibiotikagabe. Dies könnte u.a. die Wirkung der Impfung beeinflusst haben, stellt aber die Bedingungen eines Feldversuches dar, bei dem

es darum ging, in einem echten Problembestand den Effekt einer Impfung zu testen. Die Ergebnisse sind daher nicht übertragbar.

Eine zusätzliche Problematik ergibt die Frage nach der Haltung der Tiere während des Versuches. Da es im Betrieb zu hochgradigen Temperaturschwankungen während des Versuches kam, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, dass die Tiere innerhalb eines Abteils wirklich identischen Bedingungen ausgesetzt waren. Die teilweise zu niedrigen Temperaturen sind ein zusätzlicher Stressor (REINHOLD und ELMER 2002).

Die gemeinschaftliche Haltung von geimpften und nicht-geimpften Schweinen birgt ebenfalls zwei Probleme: Erstens ist der Erregerdruck so möglicherweise höher, als wenn diese Tiere getrennt gehalten worden wären (MAES et al. 1998) und zweitens könnten bei geringem Infektionsdruck die Kontrolltiere durch die sie umgebenden geimpften Tiere geschützt werden. Beides kann dazu führen, dass keine erheblichen Unterschiede zwischen den Gruppen erkannt werden. Die Trennung der Kontrolltiere hätte wiederum unter Umständen zu verfälschten Ergebnissen führen können, da es im Feldversuch schwierig ist, zu 100% kontrollierte Bedingungen zu schaffen.

Bezüglich der klinischen Daten ist davon auszugehen, dass der durch *M. hyo* ausgelöste Husten z. T. über Wochen persistiert und damit die einmal wöchentliche Kontrolle ausreichte, um alle Tiere zu erfassen (MAES et al. 1996; ROSS 2001; ZIMMERMANN und PLONAIT 2001). Auch in anderen Studien wurden klinische Parameter wöchentlich festgehalten und daraus Schlussfolgerungen auf die Wirksamkeit von Impfungen gezogen (SCHEIDT et al. 1994; MAES et al. 1999; MATEUSEN et al. 2002).

Die Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen lassen in dieser Studie keine eindeutigen Schlussfolgerungen zu, da der Stichprobenumfang der verwendeten Tiere für die Blutentnahme aus Kostengründen gering gehalten werden musste.