

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

Retrospektive Untersuchung zum Vorkommen des porzinen  
Circovirus Typ 3 in abortierten oder totgeborenen Ferkeln  
und Schweinen mit dem porzinen Dermatitis und  
Nephropathie Syndrom

von Anna Teresa Haydn

aus Starnberg

München 2019



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. Matthias Eddicks



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

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.  
**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann  
**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. Rolf Mansfeld

**Tag der Promotion:** 27. Juli 2019



**Meinen Eltern**





## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>1.</b>	<b>Ätiologie von PCV3 .....</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Vorkommen von PCV3.....</b>	<b>4</b>
<b>3.</b>	<b>Mit PCV3 assoziierte Krankheitsbilder.....</b>	<b>6</b>
3.1.	PDNS .....	6
3.2.	Reproduktionsstörungen .....	8
3.3.	Kongenitaler Tremor .....	10
3.4.	PCV3 assoziierter Durchfall und respiratorische Probleme.....	11
<b>4.</b>	<b>Differentialdiagnosen zu Reproduktionsstörungen beim Schwein .....</b>	<b>12</b>
<b>5.</b>	<b>Nachweis von PCV3 .....</b>	<b>17</b>
5.1.	Genomnachweis mittels real-time PCR.....	17
5.2.	Nachweis von PCV3 Antikörpern mittels ELISA .....	18
5.3.	Histopathologische Untersuchungen .....	19
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>20</b>
<b>1.</b>	<b>Untersuchung von Schweinen mit PDNS .....</b>	<b>20</b>
<b>2.</b>	<b>Untersuchung von totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln .....</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>Quantitative real-time PCR von Serumproben .....</b>	<b>21</b>
<b>4.</b>	<b>Quantitative real-time PCR von Gewebeproben.....</b>	<b>23</b>
<b>5.</b>	<b>Untersuchung der Gewebeproben abortierter, mumifizierter oder totgeborener Ferkel .....</b>	<b>24</b>
<b>6.</b>	<b>Untersuchung von Serumproben der Sauen mit abortierten, totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln .....</b>	<b>25</b>
<b>7.</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>26</b>
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>27</b>

---

<b>1.</b>	<b>Ergebnisse der Untersuchung von Serumproben von Schweinen mit PDNS.....</b>	<b>27</b>
<b>2.</b>	<b>Ergebnisse der Untersuchung von Gewebeproben abortierter, mumifizierter oder totgeborener Ferkel .....</b>	<b>28</b>
2.1.	PCV3 Genomnachweis in Gewebeproben totgeborener Ferkel ....	29
2.2.	PCV3 Genomnachweis in den Organproben abortierter Ferkel....	29
2.3.	PCV3 Genomnachweis in den Organproben mumifizierter Ferkel	31
2.4.	Ergebnisse der Untersuchungen auf PCV3 in einzelnen Organen	32
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse der Untersuchung von Serumproben der Sauen mit abortierten, totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln.....</b>	<b>33</b>
3.1.	Auswertung des PCV3 Genomnachweises bei Sauen in Assoziation der Scheitel-Steiß-Länge und Gewicht der Ferkel (Status Sau) ....	35
3.2.	Auswertung des PCV3 Genomnachweises bei Ferkeln in Assoziation der Scheitel-Steiß-Länge und deren Gewicht (Status Ferkel) .....	36
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>38</b>
1.	PCV3 in Zusammenhang mit klinischen Anzeichen von PDNS	38
2.	PCV3 bei reproduktiven Störungen.....	42
3.	Ct-Werte einzelner Organe .....	45
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>50</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>52</b>
<b>VIII.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>54</b>
<b>IX.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>56</b>
<b>X.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>57</b>
<b>XI.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>68</b>
<b>XII.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>72</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
aa	amino acid
AD	Aujezsky disease
AK	Aujezskysche Krankheit
APPV	Atypical porcine pestivirus
AW1	Pufferlösung 1
AW2	Pufferlösung 2
BB	Brandenburg
bp	base pairs
BW	Baden-Württemberg
BY	Bayern
bzw.	beziehungsweise
Cap	Kapsid
CSF	Classical swine fever
Ct	threshold cycle
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EMCV	Encephalomyokarditisvirus
FMDV	Foot and mouth disease virus
g	Gramm
Hz	Herz
IAV	Influenza A Virus
IHC	Immunhistochemie
KLH	Keyhole limpet hemocyanin
LAMP	loop-mediated isothermal amplification
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
max	maximal
mg	Milligram
min	minimal
ml	Milliliter
MAb 14	Monoclonal antibody 14
n	number
n.d.	nicht detektiert
Nr.	Nummer

---

NI	Niedersachsen
nM	Nanomolar
NRW	Nordrhein-Westfalen
OR	Odds-Ratio
ORF	Open reading frame
PAstV4	Porcine astrovirus 4
PBoV	Porcine bocavirus
PCR	Polymerase chain reaction
PCV	Porcine circovirus
PDCoV	Porcine deltacoronavirus
PDNS	Porcine dermatitis and nephropathy syndrome
PEDV	Porcine epidemic diarrhea virus
PKV	Porcine kobuvirus
PMWS	Post-weaning multisystemic wasting syndrome
PPV	Porcine parvovirus
PRDC	Porcine respiratory disease complex
PRRS	Porcine reproductive and respiratory syndrome
PRRSV	Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
PRV	Pseudorabies virus
PSV	Porcine sapelovirus
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
Q <sub>25</sub>	erstes Quartil
Q <sub>75</sub>	zweites Quartil
RCA	rolling cycle amplification
Rep	Replikase
rev	reverse
RNase	Ribonuklease
RPA	Recombinase polymerase amplification
rpm	Rotations per minute
SH	Schleswig-Holstein
SIV	Swine influenza virus
SMEDI	stillbirth, mummification, embryonic death, infertility
sog.	sogenannt
SPF	Spezifisch pathogenfrei
SRD	Severe respiratory disease complex

---

SSL	Scheitel-Steiß-Länge
ssp.	Subspezies
SVA	Seneca virus A
TGEV	Transmissible gastroenteritis virus
TTSuV	Torque teno sus virus
z. B.	zum Beispiel



## I. EINLEITUNG

Im Jahr 2016 wird von PHAN et al. (2016) und PALINSKI et al. (2017) in nordamerikanischen Schweinebeständen ein Virus mit zirkulärer DNA Struktur nachgewiesen, welches sich laut genetischen Analysen dem porcinen Circovirus (PCV) zuordnen lässt. Die Länge von 2.000 Basenpaaren (bp) erweist sich jedoch deutlich länger als das der bisher bekannten PCV-Spezies, porcines Circovirus Typ 1 (PCV1) und porcines Circovirus Typ 2 (PCV2) (PHAN et al., 2016).

Phylogenetische Analysen zeigen, dass die Genom-Sequenzen des in Nordamerika gefundenen Virus in ein gemeinsames Cluster eingeteilt werden können (PALINSKI et al., 2017). Die Sequenzen dieses Clusters können mithilfe von phylogenetischen Analysen eindeutig von den PCV1- und PCV2-Sequenzen abgegrenzt werden (PALINSKI et al., 2017). Zudem ergibt der Vergleich der offenen Leserahmen (open reading frames; ORF) für das Replikase- (Rep; ORF1) und das Nukleokapsidprotein (Cap; ORF2) zwischen den bekannten und dem neuen porcinen Circovirus nur geringe Sequenzidentitäten auf Nukleotidebene (PALINSKI et al., 2017). Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde vorgeschlagen, das neu entdeckte porcine Circovirus als eigene Spezies mit der Bezeichnung porcines Circovirus Typ 3 (PCV3) zu benennen (PHAN et al., 2016; PALINSKI et al., 2017).

Neben den nordamerikanischen Beständen der USA und Mexikos sind auch Bestände in Brasilien (TOCHETTO et al., 2017), China (KU et al., 2017) Thailand (KEDKOVID et al., 2018), Russland (YUZHAKOV et al., 2018) und Südkorea (KWON et al., 2017) PCV3-positiv. In Europa kann PCV3-DNA bisher in Deutschland (FUX et al., 2018; PRINZ et al., 2019), Polen (STADEJEK et al., 2017), Italien (FACCINI et al., 2017), Dänemark, Spanien (FRANZO et al., 2018a), im Vereinigten Königreich (COLLINS et al., 2017) und Schweden (YE et al., 2018) nachgewiesen werden.

PCV3 wird bisher insbesondere mit dem porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (PALINSKI et al., 2017) und reproduktiven Störungen (PHAN et al., 2016; FACCINI et al., 2017; KU et al., 2017; PALINSKI et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017), sowie mit kardialen und

multisystemischen Entzündungen (PHAN et al., 2016), respiratorischen Problemen (SHEN et al., 2017; ZHAI et al., 2017; KIM et al., 2018) und kongenitalem Tremor neugeborener Ferkel in Verbindung gebracht (CHEN et al., 2017).

Da bis zum heutigen Tag eine Virusisolation noch nicht gelungen ist, ist die Bedeutung von PCV3 als potentieller Krankheitserreger für die weltweite Schweineproduktion noch nicht abschätzbar (PHAN et al., 2016; CHEN et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017). Darauf begründet muss, um das pathogene Potential von PCV3 bei Schweinen zu erfassen, auf Feldbeobachtungen zurückgegriffen werden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll durch eine retrospektive Auswertung das Vorkommen von PCV3-DNA bei diagnostizierten PDNS Fällen der Jahre 2003-2013, sowie dem Vorkommen von Totgeburten, Aborten und Mumien bei Sauen untersucht werden.

Daraus ergeben sich folgende Arbeitshypothesen:

1. Basierend auf vorhergehenden Studien von PALINSKI et al. (2017), wird bei Schweinen mit porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) der Nachweis von PCV3 erwartet.
2. Aufgrund der Feststellung einer hohen PCV3 Prävalenz in deutschen Mastbeständen, durch eigene vorhergehende Untersuchungen (FUX et al., 2018), wird ein Nachweis von PCV3 auch bei Zuchtsauen vermutet.
3. Es wird davon ausgegangen, dass PCV3 analog zu PCV2 vertikal von der Muttersau auf die Feten übertragen wird. Daher wird erwartet, dass PCV3 in Abortmaterial oder totgeborenen Ferkeln nachgewiesen werden kann.



## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1. Ätiologie von PCV3

Porzine Circoviren sind DNA-Viren mit einem zirkulären, einzelsträngigen und kovalent geschlossenen Genom (TISCHER et al., 1982). Das Kapsid, welches das DNA-Genom umgibt, ist unbehüllt und ikosahedral geformt (CROWTHER et al., 2003). Mit einem Durchmesser von 17 bis 20 Nanometern gehören die porzinen Circoviren zu den kleinsten Viren (TISCHER et al., 1982; CROWTHER et al., 2003), die zur autonomen Vermehrung in eukaryotischen Zellen fähig sind (MANKERTZ et al., 2004). Die genetischen Analysen von PCV3 ergeben, dass dessen zirkuläres, einzelsträngiges DNA-Genom in seinem Aufbau dem der porzinen Circoviren entspricht (PALINSKI et al., 2017). Aus den phylogenetischen Analysen von FUX et al. (2018) und in der NCBI GenBank verfügbaren ORF2-Sequenzen zeigt sich, dass sich diese in zwei phylogenetisch abgrenzbare Gruppen (Cluster a und b) unterteilen lassen, welche eventuell PCV3-Genotypen darstellen. Zudem ist zu erkennen, dass PCV3a in weitere Subcluster, nämlich PCV3a-1 und 2 unterteilt werden kann (FUX et al., 2018; KLAUMANN et al., 2018).

Der Ursprung von PCV3 gilt noch als unklar. Das Virus könnte sich seit einiger Zeit unbemerkt in Schweinen entwickelt haben oder durch speziesübergreifende Übertragung entstanden sein (PALINSKI et al., 2017). PCV3 könnte aber auch aus der Rekombination von unbekanntem Circoviren hervorgegangen sein (PALINSKI et al., 2017). Begründet durch die Sequenzähnlichkeiten zu bestimmten Fledermaus-Circoviren vermuten ZOU et al. (2018), dass der Ursprung der Verbreitung von PCV3 in Wirtstieren der Ordnung Chiroptera (Fledertiere) zu suchen ist. FU et al. (2017) vermuten aufgrund ihrer phylogenetischen Analysen, dass PCV3 seit 1966 innerhalb der Schweinebestände zirkuliert (FU et al., 2017). Wegen der geringen Datenlage, ist dies allerdings zunächst als vorläufig anzusehen (FU et al., 2017).

## 2. Vorkommen von PCV3

Im Jahr 2016 gelingt erstmals der Nachweis von PCV3-DNA in nordamerikanischen Hausschweinebeständen (PHAN et al., 2016; PALINSKI et al., 2017). Kurz darauf folgen weltweit weitere Berichte über den Nachweis von PCV3 in Hausschweinbeständen in Asien (KU et al., 2017; SHEN et al., 2017), Südamerika (TOCHETTO et al., 2017), Russland (YUZHAKOV et al., 2018) und Europa (STADEJEK et al., 2017).

In North Carolina, USA, wird bei akut verendeten Sauen mit PDNS-ähnlichen Symptomen, sowie in deren abortierten, mumifizierten Feten PCV3-DNA nachgewiesen (PALINSKI et al., 2017). Im Nordosten der USA erweisen sich untersuchte Gewebehomogenate von drei Schweinen, die zwischen drei und zehn Wochen alt sind, als PCV3 positiv (PHAN et al., 2016). Die Bestände, aus welchen die Schweine stammen, liegen in den USA und Mexiko (PHAN et al., 2016; PALINSKI et al., 2017). Zudem wird bei einem Ferkelerzeuger in Brasilien PCV3-DNA in Serum von Sauen festgestellt (TOCHETTO et al., 2017).

Auch in vielen Regionen Asiens kann PCV3-DNA detektiert werden (KU et al., 2017; KWON et al., 2017; ZHAI et al., 2017). KU et al. (2017) gelingt der Nachweis von PCV3-DNA in einigen chinesischen Provinzen. In den untersuchten Beständen gelingt bei 68,6% (24/35) der Genomnachweis von PCV3. Als Probenmaterial dienen totgeborene Ferkel, Gewebeproben und Sperma, sowie Serumproben (KU et al., 2017). FAN et al. (2017) können PCV3-DNA in einer retrospektiven Untersuchung in den Gewebeproben aus einem Sauenbestand der chinesischen Provinz Hubei detektieren (FAN et al., 2017). Außerdem wird in den chinesischen Provinzen Guangdong und Guangxi PCV3-DNA in Gewebeproben von Ferkeln und Mastschweinen PCV3-DNA nachgewiesen (CHEN et al., 2017; WEN et al., 2018). ZHENG et al. (2017) stellen fest, dass auch Schweinebestände der Provinz Shandong PCV3-positiv sind. Hierfür werden die Gewebeproben totgeborener Feten untersucht. In einer retrospektiven Studie zeigen FU et al. (2017) auf, dass PCV3-DNA in chinesischen Gewebeproben, die aus dem Jahr 2015 stammen, nachgewiesen werden kann.

Im Osten Thailands wiederum kann in einem Sauenbestand PCV3-DNA detektiert werden (KEDKCOVID et al., 2018). Als Untersuchungsmaterial dienen KEDKCOVID et al. (2018) Gewebe- und Serumproben von Aufzuchtferkeln sowie Serumproben von Sauen. In Südkorea sind 72,6% (53/73) der beprobten Bestände PCV3-positiv (KWON et al., 2017). Mit Hilfe von Kaustrieken gelingt der Nachweis von PCV3-DNA in den Altersgruppen von Absetzferkeln, Aufzuchtferkeln und Mastschweinen (KWON et al., 2017).

Auch in Europa kann bei zahlreichen Schweinebeständen PCV3 detektiert werden (COLLINS et al., 2017; FACCINI et al., 2017; STADEJEK et al., 2017; FRANZO et al., 2018). In polnischen Beständen, gelingt der PCV3 Genomnachweis am häufigsten in Serumproben von 1.050 Tieren innerhalb der Gruppe der Absetzferkel und Mastschweine (STADEJEK et al., 2017). Es erweisen sich von diesen Beständen 85,7% (12/14) als PCV3 positiv (STADEJEK et al., 2017). In Deutschland werden 53 Mastbestände, von welchen vorberichtlich bekannt ist, dass deren Schweine wiederholt an Atemwegserkrankungen leiden, retrospektiv für die Untersuchung auf PCV3-DNA herangezogen. In jedem Bestand werden 20 Mastschweine im Alter von 20 bis 24 Wochen beprobt. Insgesamt werden somit 1.060 Serumproben aus dem Jahr 2015 untersucht. In dieser Untersuchung erweisen sich mittels real-time PCR 75,5% (40/53) der deutschen Mastbestände als PCV3-positiv (FUX et al., 2018). Bei einer Untersuchung zweier Schweinebestände der Provinzen Como und auch Mantova, in der italienischen Poebene, stellen FACCINI et al. (2017) fest, dass die Gewebeproben von abortierten und totgeborenen Feten ebenfalls PCV3-positiv sind. Auch in der Wildschweinpopulation des Colli Euganei Regional Park in Norditalien kann PCV3 mit einer Prävalenz von 30% nachgewiesen werden (FRANZO et al., 2018b). Diese Wildschweine zeigen jedoch keinerlei klinische Symptomatik (FRANZO et al., 2018b). Die Arbeitsgruppe beschreibt hierbei eine niedrigere Infektionsrate der Tieren jünger als zwölf Monate (FRANZO et al., 2018b).

Auch deutsche Wildschweinpopulationen erweisen sich als PCV3 positiv (PRINZ et al., 2019). Ebenso wie bei FUX et al. (2018) bestätigt sich hierbei zudem das häufigere Vorkommen des Stamms PCV3b im Vergleich zu dem

Stamm PCV3a (PRINZ et al., 2019). PRINZ et al. (2019) gelingt bei 50% der beprobten Wildschweine im Raum Berlin und Brandenburg der Nachweis von PCV3-DNA mittels real-time PCR. Als Probenmaterial dienen hierfür Organproben der Milz. Diese Proben stammen aus den Jahren 2011 bis 2015. Aufgrund genetischer Analysen, können PRINZ et al. (2019) darauf schließen, dass die Wildschweinpopulationen sowohl östlich als auch westlich der Berliner Mauer schon bereits vor dem Bau, sprich 1961, mit PCV3 infiziert sein müssen.

Darüber hinaus kann in England und Nordirland retrospektiv in Fäkal- und Gewebeproben von Schweinen unterschiedlichen Alters, die aus den Jahren 2001 und 2002 stammen, PCV3-DNA detektiert werden (COLLINS et al., 2017). Auch spanische Bestände erweisen sich als PCV3-positiv (FRANZO et al., 2018a). Für die Untersuchung werden Serumproben von Absetzferkeln und Mastschweinen herangezogen (FRANZO et al., 2018a). Zudem wird in Dänemark PCV3-DNA in Gewebeproben von Sauen sowie in Gewebe- und Serumproben von Schweinen unbekanntem Alters detektiert (FRANZO et al., 2018a). Eine retrospektive Studie zeigt die Präsenz von PCV3 in schwedischen Schweinebeständen bereits seit dem Jahr 1993 (YE et al., 2018).

### **3. Mit PCV3 assoziierte Krankheitsbilder**

#### **3.1. PDNS**

Der genaue Pathomechanismus von PDNS ist bis heute noch unklar. Durch den äußerst frequenten Nachweis von PCV2-DNA im Zusammenhang mit PDNS, lässt sich jedoch davon ausgehen, dass PCV2 ein ätiologisches Agens ist (CHOI & CHAE, 2001; WELLENBERG et al., 2004). Für die Ausprägung der klinischen Symptomatik scheinen auch noch weitere Erreger wie PRRSV oder *Pasteurella multocida* ein maßgeblicher Faktor zu sein (CHOI & CHAE, 2001; LAINSON et al., 2002). PCV2 assoziierte klinische Anzeichen wie PDNS oder auch PMWS, lassen sich bisher nur mit einer Koinfektion mit PPV, PRRSV, TTSuV oder einer postnatalen Injektion des Immunstimulators keyhole limpet hemocyanin (KLH) hervorrufen (KRAKOWKA et al., 2001; HA et al., 2008; KRAKOWKA et al., 2008).

Hauptsächlich kann PDNS bei Absetzferkeln und Mastschweinen beobachtet werden (DROLET et al., 1999). Diese Tiere fallen klinisch durch Hautveränderungen in Form von petechialen bis flächenhaften Blutungen, schlechtem Allgemeinbefinden, Fressunlust, Dyspnoe oder Tachypnoe, Blässe und subkutanen Ödemen auf (WELLENBERG et al., 2004). Das klinische Bild ist insbesondere durch Hautveränderungen an den Gliedmaßen, den Ohrrändern, sowie der Inguinal- und Perianalregion, den angrenzenden Bereichen des Abdomens und Thorax gekennzeichnet (THIBAUT et al., 1998). Zunächst bilden sich runde bis unregelmäßige, rote bis violette Flecken und Papeln, die meist konfluieren und somit große, unregelmäßige Erytheme und Plaques bilden (THIBAUT et al., 1998). Typisch für den Symptomkomplex PDNS sind hochgradige leukozytoklastische Vaskulitiden in der Dermis und Subcutis gelegener kleinkalibrigen Blutgefäße sowie akute segmentale Glomerulonephritiden oder chronische Veränderungen mit Verödung einzelner Glomerula sowie multifokale Synechien zwischen den Bowman'schen Kapseln und den Glomerulumschlingen (MAJZOUB et al., 2005).

PALINSKI et al. (2017) berichten von einem Bestand mit einer erhöhten Mortalitätsrate, dessen Sauen ein PDNS-ähnliches klinisches Erscheinungsbild zeigen. Klinisch fallen diese Sauen durch Fressunlust, multifokale Papeln, Makulae und superfizielle Dermatitis auf (PALINSKI et al., 2017). Histologisch werden die Hautläsionen als akute nekrotisierende Dermatitis und Epidermitis zusammen mit lymphoplasmazytären perivaskulären Manschetten charakterisiert (PALINSKI et al., 2017). Die Nieren zeigen dilatierte kortikale Tubuli sowie regeneriertes Endothel. In einer retrospektiven Untersuchung weisen PALINSKI et al. (2017) in 45 von 48 (93,8%) als PCV2-negativ eingestuften PDNS-Fällen PCV3-DNA nach. PCV3 wird zudem auch in Haut, Lunge, Niere und Lymphknoten der Sauen mit PDNS Läsionen mittels PCR nachgewiesen (PALINSKI et al., 2017). Bei drei von fünf PCV3 positiven Fällen, gelingt zudem ein Nachweis mittels Immunhistochemie (IHC) (PALINSKI et al., 2017). Die Autoren gehen von relativ geringen Titern innerhalb des Gewebes aus, was möglicherweise die unregelmäßige Detektion erklärt (PALINSKI et al., 2017).

Auch andere mögliche Pathogene, wie das porcine reproductive and respiratory syndrome Virus (PRRSV), Influenza A Virus (IAV) oder porcine parvovirus (PPV) werden nicht detektiert (PALINSKI et al., 2017). Jedoch wird bei allen PCV3-positiven Fällen auch das torque teno sus Virus 1 (TTSuV1) nachgewiesen (PALINSKI et al., 2017). Ein Virus, das weltweit ubiquitär in Schweinebeständen vorkommt (MCKEOWN et al., 2004). Während TTSuV1 auch bei gesunden Tieren auftritt, gibt es jedoch auch Berichte, dass das TTSuV1 bei einer Koinfektion die klinischen Ausprägung verstärken kann (PALINSKI et al., 2017). Aufgrund dieses Ergebnisses wird vermutet, dass möglicherweise eine Verbindung zwischen dem Nachweis von PCV3-DNA und dem Auftreten von PDNS besteht (PALINSKI et al., 2017).

### **3.2. Reproduktionsstörungen**

Wegen des vermehrten Nachweises von PCV3-DNA in Sauen mit reproduktiven Störungen sowie in deren Feten, assoziieren verschiedene Autoren PCV3 mit reproduktiven Störungen (PALINSKI et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017).

Bei Sauen in North Carolina, USA, die neben charakteristischer PDNS Symptomatik, einen Anstieg der Mortalitätsrate auf 10,2% sowie einen Abfall der Konzeptionsrate um 0,6% zeigen, wird eine Zunahme um 1,19 mumifiziert geborenen Ferkel pro Wurf beobachtet (PALINSKI et al., 2017). Die Ferkel befinden sich in verschiedenen Gestationsstadien, wie es auch bei PCV2 beschrieben ist (PALINSKI et al., 2017). PCV3 ist das einzige Virus, das die Autoren in dem fetalen Gewebe nachweisen können (PALINSKI et al., 2017). Der PCV3-DNA Nachweis gelingt den Autoren mittels real-time PCR (PALINSKI et al., 2017). Die Ct-Werte befinden sich mit 16,7 - 21,3 in einem deutlich positiven Bereich (Siehe Tabelle 3). Andere mögliche Pathogene, wie das porcine reproductive and respiratory syndrome Virus (PRRSV), Influenza A Virus, porcine parvovirus (PPV) und PCV2 werden nicht detektiert (PALINSKI et al., 2017). Aufgrund der hohen Menge an PCV3-DNA, die in den Geweben gefunden wird und der klinischen Anzeichen, sehen die Autoren einen kausalen Zusammenhang zwischen PCV3 und Reproduktionsstörungen (PALINSKI et al., 2017). In der Poebene, einer der schweinedichtesten Regionen Italiens, gelingt der

Nachweis von PCV3-Genom mittels PCR bei einer Poolprobe aus Lungen von Totgeburten (FACCINI et al., 2017). Auch in Como kann in einem kleinen Biobetrieb mit acht Sauen, PCV3 in Lunge, Thymus und Herz bei abortierten Feten detektiert werden (FACCINI et al., 2017). Bei der histopathologischen Untersuchung lassen sich in den Lungengewebeproben keinerlei Läsionen darstellen (FACCINI et al., 2017). Der Herkunftsbestand der Sauen verzeichnet Aborte in verschiedenen Gestationsstadien (FACCINI et al., 2017). Aufgrund der geringen Abortrate von 1,9% wird dies vom bestandsbetreuenden Tierarzt nicht weiter untersucht (FACCINI et al., 2017). Bei weiteren Aborten aus zwei Würfen des Bestandes, wird kein PCV3 nachgewiesen (FACCINI et al., 2017). Alle Proben werden negativ auf das porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), PCV2, porcine parvo virus 1 (PPV1), porcine parvovirus 2 (PPV2), porcine parvovirus 4 (PPV4) und pseudorabies virus (PRV) getestet (FACCINI et al., 2017).

In Brasilien finden TOCHETTO et al. (2017) bei zwei verschiedenen Ferkelerzeugern, die zwischen ein bis vier Totgeburten pro Wurf aufweisen, PCV3 in Serum von Sauen. Diese Tiere zeigen neben reproduktiven Störungen auch schwere respiratorische Probleme, allerdings lässt sich hier bei 20,71% (29/140) der Tiere auch eine Koinfektion mit PRRSV nachweisen (TOCHETTO et al., 2017). Bei den Kontrolltieren, ohne Totgeburten, wird kein PCV3 im Serum der Sauen nachgewiesen. Auch hier vermuten die Autoren einen Zusammenhang zwischen PCV3 und Totgeburten (TOCHETTO et al., 2017).

ZOU et al. (2018) sammeln zwischen 2015 und 2016 Serumproben bei 190 Sauen im Süden Chinas aus Betrieben mit länger bekannten Reproduktionsstörungen. Von Sauen, die durch reproduktive Störungen auffallen, werden 85 Serumproben genommen (ZOU et al., 2018). Bei den verbleibenden 105 Sauen, handelt es sich um klinisch unauffällige Tiere (ZOU et al., 2018). Die Sauen, die durch reproduktive Störungen auffallen, erweisen sich signifikant häufiger als PCV3-positiv, als die Sauen ohne klinische Anzeichen (ZOU et al., 2018). 45,9% (26,6/58) dieser Proben stellen sich in der quantitativen real-time PCR (qPCR) als PCV3 positiv dar (ZOU et al., 2018). Alle diese Sauen sind mehrfach gegen PCV2 geimpft,

sowie mittels PCR negativ auf PRRSV, PRV, PEDV und TGEV getestet (ZOU et al., 2018). Von 33 Aborten dieser Sauen erweisen sich 60,6 % in der qPCR als PCV3 positiv (ZOU et al., 2018). Sechs dieser detektierten PCV3 Stämme im Sauenserum werden als Stamm PCV3a klassifiziert (ZOU et al., 2018). Es wird vermutet, dass eine vertikale Transmission von der Mutter auf die Ferkel stattfindet (ZOU et al., 2018). Auch im Osten Chinas detektieren FAN et al. (2017) bei Gewebeproben (12/14) eines Sauenbetriebes aus dem Jahr 2015 PCV3-Genom. Die Gewebeproben von Gehirn, Lunge und Lymphknoten entstammen Sauen mit vorberichtlich reproduktiven Störungen, welche negativ auf PCV2, PRRSV und aujeszky disease virus (AD) getestet sind (FAN et al., 2017).

### **3.3. Kongenitaler Tremor**

Es gibt fünf verschiedene Faktoren, die laut KIRKWOOD et al. (2012) dem kongenitalen Tremor des Schweines zugeordnet werden: als Erstes wird das classical swine fever virus (CSF), welches durch eine Hypoplasie des Kleinhirns zu neurologischen Ausfällen führt, genannt (Typ AI) (KIRKWOOD et al., 2012). Mit dem Typ All wird das atypical porcine pestivirus (APPV) in Verbindung gebracht, welches zu Hypomyelogenesis des Rückenmarks führt (KIRKWOOD et al., 2012). Des Weiteren wird eine geschlechtsassoziierte Genmutation, welche die männlichen Ferkel der Landrasse betrifft, mit kongenitalem Tremor (Typ AIII) in Verbindung gebracht (KIRKWOOD et al., 2012). Ein autosomal rezessiv vererbtes Gen des britischen Sattelschweines wird als Typ AIV beschrieben (KIRKWOOD et al., 2012). Neben dem aujeszky disease virus (AD), werden solche Symptome auch bei der Anwendung des Antiparasitikums Trichlorfon an Muttersauen zugeordnet (KIRKWOOD et al., 2012).

Von Dezember 2016 bis April 2017 wird in Südchina, in den Provinzen Guangdong und Guangxi, bei neonatalen Ferkeln kongenitaler Tremor festgestellt (CHEN et al., 2017). Klinisch fallen diese Tiere mit starkem Kopfschütteln sowie Schwierigkeiten beim Gehen und Stehen auf, was letztendlich zur Abmagerung der Tiere durch ungenügende Futteraufnahme führt (CHEN et al., 2017). CHEN et al. (2017) untersuchen bis zu drei Tage alte Ferkel mit kongenitalem Tremor aus sieben verschiedenen Beständen. Es werden zwischen 2016 und 2017



Gewebeproben von Gehirn, Herz, Niere, Leber, Lunge und Milz entnommen, um einen möglichen Organtropismus zu untersuchen (CHEN et al., 2017). Eine hohe PCV3 Viruslast lässt sich in Herz und Gehirn nachweisen, jedoch ohne signifikanten Unterschied zu den anderen Organproben (CHEN et al., 2017). Zusätzlich zu PCV3 ließen sich noch andere Erreger wie atypical porcine pestivirus (APPV), porcine deltacoronavirus (PDCoV), porcine epidemic diarrhoeavirus (PEDV), porcine kobuvirus (PKV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), pseudorabies virus (PRV) und porcine sapelovirus (PSV) detektieren (CHEN et al., 2017). Die Untersuchung auf classical swine fever (CSF), foot and mouth disease Virus (FMDV), porcine bocavirus (PBoV), porcine circovirus type 2, porcine parvovirus (PPV), swine influenza virus (SIV) und seneca virus A (SVA) verlaufen negativ (CHEN et al., 2017). Bei einer Probe wird ausschließlich PCV3 nachgewiesen (CHEN et al., 2017). Auch wenn es nicht eindeutig belegt ist (SCHWARZ et al., 2017; YUAN et al., 2017), steht APPV im Verdacht kongenitalen Tremor zu verursachen (DE GROOF et al., 2016; POSTEL et al., 2016). Da jedoch eine Gewebeprobe im Gehirn ausschließlich PCV3 nachweist, vermuten die Autoren einen Zusammenhang zwischen kongenitalem Tremor und PCV3 (CHEN et al., 2017). Auch in Minnesota, USA, wird 2016 bei einem neun bis zehn Wochen alten Ferkel eine multifokale Encephalitis und Meningitis des Cerebellums festgestellt (PHAN et al., 2016). Die Autoren können keine bakteriellen Erreger isolieren und auch die Untersuchungen auf *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyosynoviae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Influenza A Virus, PCV2, EMCV, PPV verlaufen negativ (PHAN et al., 2016). Allerdings kann in den Gewebehomogenaten hemagglutinating encephalomyelitis virus, sowie das porcine astrovirus 4 (PAstV 4) gefunden werden (PHAN et al., 2016).

#### **3.4. PCV3 assoziierter Durchfall und respiratorische Probleme**

2016 wird bei zwei Mastbetrieben in Süd- und Nordchina, deren Mastläufer am severe respiratory disease complex (SRD) erkrankt sind, PCV3 im Serum detektiert (ZHAI et al., 2017). Die Schweine, die mit einem positiven PCV3-DNA Nachweis, an SRD erkrankt sind, ist signifikant höher (63,75%, 51/80), als die Schweine, welche nur milde respiratorische

Symptome zeigen (13,14%, 23/175), oder sich symptomlos darstellen (1,85%, 4/216) (ZHAI et al., 2017). Bei den Schweinen mit SRD kann bei 29 von 140 eine Koinfektion mit PRRSV festgestellt werden (ZHAI et al., 2017).

In den gleichen Betrieben der Regionen Jilin und Guangdong, kann bei sechs bis sieben Wochen alten an Durchfall erkrankten Ferkeln signifikant öfter PCV3 nachgewiesen werden (17,14%, 6/35), als bei der Vergleichsgruppe ohne Durchfall (2,86%, 1/35) (ZHAI et al., 2017). Da PCV3 hierbei auch in Faeces festgestellt werden kann, vermuten die Autoren eine faecal-orale Infektion (ZHAI et al., 2017).

In Thailand wird bei an porcine respiratory disease complex (PRDC) erkrankten Jungsauen PCV3 nachgewiesen. Die Prävalenz von PCV3 innerhalb der an PRDC erkrankten Schweine ist signifikant höher (60%, 15/25), als derer die klinisch unauffällig erscheinen (28%, 7/25) (KEDKOVID et al., 2018). Bei 100% der Schweine aus der Gruppe der 16 (n=5) und 18 Wochen (n=5) alten Schweine wurde PRRSV festgestellt. Bei keinem der Schweine mit PRDC konnte PCV2 nachgewiesen werden (KEDKOVID et al., 2018). In den Gewebeproben von Lunge und Lymphknoten können im Vergleich zu Serumproben höhere PCV3 Titer festgestellt werden (PALINSKI et al., 2017; KEDKOVID et al., 2018).

Bei einem 19 Tage alten Ferkel aus South Dakota, USA, mit vorberichtlich starker Dyspnoe und neurologischen Symptomen, werden eine schwere interstitielle Myokarditis, eine milde interstitielle Pneumonie, sowie eine akute Bronchitis unbekannter Genese festgestellt (PHAN et al., 2016). Bakteriologische Untersuchungen von Lunge und Gehirn, auch auf *Salmonella Subspezies*, verlaufen negativ (PHAN et al., 2016). Darüber hinaus kann weder *Mycoplasma hyorhinis*, PRRSV, PCV2, Encephalomyokarditisvirus (EMCV), Influenza A noch das Senecavirus A mittels PCR detektiert werden (PHAN et al., 2016). Im Myocard des Schweines kann jedoch porcine astrovirus 4 sowie equine hepacivirus DNA gefunden werden (PHAN et al., 2016).

#### **4. Differentialdiagnosen zu Reproduktionsstörungen beim**

### Schwein

Durch ein Zusammenspiel von endokrinen Faktoren bedingt durch infektiöse oder nicht infektiöse Faktoren kann es zum Abort kommen (KIRKWOOD et al., 2012). Um eine Trächtigkeit aufrecht zu erhalten, produziert das Corpus luteum das benötigte Progesteron (KIRKWOOD et al., 2012). Das bei Stress von Sauen oder Feten ausgeschüttete Cortisol kann zur Prostaglandin Ausschüttung des Uterus führen (KIRKWOOD et al., 2012). Diese Prostaglandin Ausschüttung löst eine hormonelle Kaskade aus, die zur Luteolyse führt und somit zum Trächtigkeitsabbruch (KIRKWOOD et al., 2012). Der weitere Verlauf ist abhängig von dem Infektionszeitpunkt der Sau bzw. der Feten (KIRKWOOD et al., 2012).

Falls der Abort durch eine fetale Infektion bedingt ist, kann der Erreger im Allgemeinen in fetalen Geweben und/oder in der Plazenta nachgewiesen werden (NIELSEN et al., 1991). Typischerweise werden nur einzelne Feten infiziert, daraufhin folgt eine in utero Infektion von Fetus zu Fetus (NIELSEN et al., 1991).

In der Klinik wird häufig der Begriff des „SMEDI“-Syndroms im Zusammenhang mit Furchtbarkeitsstörungen gebraucht. Darunter wird ein Symptomkomplex, der sich aus stillbirth (Totgeburt), mummification (Mumifikation), embryonic death (Embryonaler Fruchttod) und infertility (Unfruchtbarkeit) zusammensetzt. Als ein Erreger dieses Symptomkomplexes gilt unter anderem das porcine parvovirus (PPV) (FORMAN et al., 1977; MENGELING et al., 1991). Wird eine naive Sau während der Gravidität infiziert, so kommt es zu einer Virämie, die je nach Virulenz des Erregers zu einer transplazentaren Infektion der Feten führt (MENGELING & CUTLIP, 1976). Fünf bis sechs Tage nach der Infektion der Sau setzt die Virämie ein, welche sodann vier bis fünf Tage andauert (BROWN et al., 1980). Nach einer transplazentaren Übertragung von 10 - 14 Tagen von der Sau auf die Feten, kann sich das Virus von Fetus zu Fetus im Uterushorn weiterverbreiten (MENGELING et al., 1980). Somit kommt es durch unterschiedliche Zeitpunkte der Infektion, zu einem charakteristischen Bild von unterschiedlich großen toten Feten (MENGELING et al., 2000).

In früheren Studien hat sich gezeigt, dass bei PCV2 der Nachweis von hohen Virusmengen in Feten mit Reproduktionsstörungen, wie zum Beispiel einem vermehrten Aufkommen von Mumien, korrelieren (SEGALES, 2012). So lässt sich bei PCV2 assoziierten Reproduktionsstörungen (PCV2-RD) nicht nur Abortgeschehen in späteren Gestationsstadien beobachten, sondern auch vermehrtes Umrauschen (SEGALES, 2012). Bei den Feten lässt sich eine fibrinöse bis nekrotisierende Entzündung des Myokards feststellen. Moderate bis hohe Virusmengen lassen sich auch in diesem detektieren (SEGALES, 2012).

Ein weiterer Erreger, der weltweit eine Rolle bei Reproduktionsstörungen beim Schwein spielen kann, ist das porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) (KIRKWOOD et al., 2012). Charakteristisch für eine PRRSV Infektion ist das häufige Auftreten von Spätaborten (THIEL et al., 2011). Es kommt zur Zunahme von Totgeburten und mumifizierten Ferkeln (DONE & PATON, 1995). Durch sinkende Nidationsraten bei den Sauen kommt es auch zu geringeren Abferkelraten (DONE & PATON, 1995; KIRKWOOD et al., 2012).

Eine chronische Leptospireninfektion, beim Schwein am häufigsten durch die Serovare *L. pomona*, *L. tarassovi* und *L. bratislava* bedingt (STRUTZBERG-MINDER & KREIENBROCK, 2011), kann bei Zuchtsauen zu reduzierter Reproduktionsleistung, Infertilität, sowie zur Geburt von lebensschwachen Ferkeln, Totgeburten und Mumien führen (NETO et al., 1997). Diese chronische Form der Leptospirose, kommt vor allem bei einer geschwächten Herdenimmunität zum Vorschein (STRUTZBERG-MINDER & KREIENBROCK, 2011).

Chlamydieninfektionen sind nicht nur dafür bekannt bei Schweinen Polyarthrit, Polyserositis, Pneumonien, Konjunktivitis und Enteritis hervorzurufen, sondern können auch zu Abortgeschehen bei Sauen führen (SCHAUTTEET & VANROMPAY, 2011). CAMENISCH et al. (2004) stellen mittels serologischen Untersuchungen eine Seroprävalenz von Chlamydien von bis zu 61,7 % in Zuchtsauenherden fest. In Schweinebeständen können vor allem vier Spezies (*C. pecorum*, *C. psittaci*, *C. abortus* und *C. suis*) regelmäßig gefunden werden (SCHAUTTEET & VANROMPAY, 2011). Vor allem Infektionen der Genitalien stellen eine

---

Ursache für Mumien, perinatale Mortalität (DANIELS et al., 1994), Aborte (THOMA et al., 1997) und wiederholtes Umrauschen dar (CAMENISCH et al., 2004).

**Tabelle 1: Infektiöse Ursachen beim Schwein für Aborte, Totgeburten und Mumifikation der Ferkel nach (KIRKWOOD et al., 2012)**

INFEKTIOSE URSACHEN				
	Erreger	Totgeburten	Aborte	Mumien
VIRAL	African swine fever virus	x	x	
	Border disease virus	x	x	
	Bovine viral diarrhea virus	x	x	
	CSFV	x	x	x
	Encephalomyocarditis virus	x	x	x
	Foot-and-mouth disease	x		
	Influenza A virus	x	x	
	PPV	x	x	x
	PCV2	x	x	x
	Porcine cytomegalievirus			
	PRRSV	x	x	
	Pseudorabies virus	x	x	x
Teschovirus	x		x	
PARASITÄR	Toxoplasma gondii	x	x	
BAKTERIELL	<i>Actinobacillus spp.</i>		x	
	<i>Brucella suis</i>	x	x	
	<i>Chlamydia spp.</i>	x	x	x
	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>		x	
	<i>Lawsonia intracellularis</i>		x	
	<i>Leptospira spp.</i>	x	x	x
	<i>Listeria monocytogenes</i>	x	x	
	<i>Mycoplasma suis</i>		x	
	<i>Salmonella spp.</i>		x	
	<i>Staphylococcus spp.</i>		x	
<i>Streptococcus spp.</i>		x		

## 5. Nachweis von PCV3

Die PCV3-Diagnostik basiert derzeit vor allem auf dem Nachweis PCV3-spezifischer Genomfragmente. Hierfür werden neben der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (PARK et al., 2018; XU et al., 2018; ZOU et al., 2018) auch isothermale Methoden zur Amplifikation, wie die recombinase polymerase amplification (RPA) (ZOU et al., 2018), rolling circle amplification (RCA) (PALINSKI et al., 2017) und loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (PARK et al., 2018) genutzt. Die sequenzunabhängigen Anreicherung von zirkulärer DNA mittels RCA wird weiterhin verwendet, um eine höhere Sensitivität anschließender Nachweismethoden oder bessere Erfolge bei der Sequenzierung zu erzielen (PALINSKI et al., 2017).

Die RPA ist eine Methode der isothermalen DNA-Amplifikation, die einen einfachen und schnellen Nukleinsäurenachweis ermöglicht (PIEPENBURG et al., 2006). WANG et al. (2017) gelingt mittels der RPA der schnelle Nachweis von PCV3-DNA in Gewebe- sowie in Serumproben.

Die LAMP ist ebenfalls eine ausreichend sensitive Amplifikationsmethode von DNA (NOTOMI et al., 2000). Mithilfe der LAMP gelingt es, das Genom des PCV3-Kapsidproteins bei Schweinen zu detektieren (PARK et al., 2018).

Ein In-situ-Nachweis von PCV3 in Geweben gelingt mittels der In-situ-Hybridisierung (PHAN et al., 2016) oder durch Immunhistochemie (PALINSKI et al., 2017). Ebenso wird ein serologischer Antikörpernachweis mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) beschrieben (DENG et al., 2018).

### 5.1. Genomnachweis mittels real-time PCR

In den bisherigen Studien wird meist das quantitative real-time PCR-Verfahren für den Nachweis von PCV3-DNA durchgeführt (PHAN et al., 2016; PALINSKI et al., 2017). In der Molekulardiagnostik dient die PCR als Goldstandard für den Nukleinsäurenachweis (MACKAY et al., 2002). Unter den PCR-Methoden wird aufgrund ihrer Schnelligkeit sowie der Möglichkeit einen quantitativen Nachweis zu erhalten und ihres geringen Risikos von Kreuzreaktionen mit anderen Erregern, häufig die real-time

PCR verwendet (MACKAY et al., 2002). Auch bei einem gewissen Autolysegrad ist die PCR immer noch sensitiv (KIRKWOOD et al., 2012). Bisher gelingt der PCV3-DNA Nachweis in vielen verschiedenen Gewebeproben, wie z.B. dem Herzen (PHAN et al., 2016), der Lunge (FU et al., 2017), den Nieren und der Leber (ZHENG et al., 2017; XU et al., 2018). Zudem wird PCV3-DNA in Gehirn und Thymus (ZHAI et al., 2017) sowie in der Milz, Lymphknoten, den Tonsillen und in Nabelschnüren (COLLINS et al., 2017; ZHENG et al., 2017) detektiert. PALINSKI et al. (2017) gelingt der PCV3 Genomnachweis auch in der Haut PDNS-ähnlicher Läsionen. Außerdem dienen Speichel- und Kotproben (ZHAI et al., 2017) sowie Serum- (STADEJEK et al., 2017) und Spermaproben (KU et al., 2017) dem Nachweis von PCV3-DNA. CHEN et al. (2017); PALINSKI et al. (2017) beschreiben verschiedene Optionen für den PCV3 Genomnachweis: Zum einen kann PCV3-DNA unter Verwendung von sequenzspezifischen Sonden (z.B. TaqMan) mittels real-time PCR nachgewiesen werden (PALINSKI et al., 2017), zum anderen gelingt XU et al. (2018) der Nachweis von PCV3-DNA mithilfe der SYBR green-based real-time PCR. Wenn PCV3-DNA im Probenmaterial enthalten ist, werden durch die Anreicherung des SYBR Green-Farbstoffes Fluoreszenzsignale sichtbar (XU et al., 2018). Unter Anwendung einer multiplex real-time PCR gelingt in einem einzigen Verfahren der differenzierte Nachweis von PCV2- und PCV3-DNA (KIM et al., 2017). Zur Unterscheidung von PCV2- und PCV3-DNA werden hierbei die Enden der PCV2- bzw. PCV3-spezifischen Sonden mit Farbstoffen markiert, die in unterschiedlichen Farben fluoreszieren (KIM et al., 2017). Die verwendeten Primer sind ebenfalls PCV2- bzw. PCV3-spezifisch (KIM et al., 2017)

## **5.2. Nachweis von PCV3 Antikörpern mittels ELISA**

Im Vergleich zu zahlreichen Studien, die den Nachweis von PCV3 mittels PCR zeigen, gibt es nur wenig Informationen über den Nachweis von PCV3 Serumantikörpern (FU et al., 2017; PALINSKI et al., 2017). Die Feststellung von Serumantikörpern gelingt den Arbeitsgruppen mittels eines rekombinanten PCV3 Cap Proteins als Antigen (FU et al., 2017; PALINSKI et al., 2017). DENG et al. (2018) sehen diese Methode als sensitiv und ohne Risiko von Kreuzreaktionen mit anderen Erregern wie PCV1 oder PCV2.



### 5.3. Histopathologische Untersuchungen

Bisher liegen nur vereinzelte Studien über histopathologische Untersuchungen von PCV3 vor (PALINSKI et al., 2017). Bei einem drei Wochen alten Ferkel stellen PHAN et al. (2016) Entzündungen des Myokards fest. Mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung, lässt sich in den histologischen Untersuchungen eine nicht eiterige Entzündung des Myokards und der Arteriolen feststellen (PHAN et al., 2016). Zudem sind in der tunica adventitia und media der kardialen Arteriole Lymphozyten und Histiozyten erkennbar (PHAN et al., 2016). Bei einer Sau mit PDNS ähnlichen Läsionen stellen PALINSKI et al. (2017) eine Dermatitis mit multifokalen Papeln und Maculae fest. Mikroskopisch ist eine akute, nekrotisierende Dermatitis und Epidermitis mit perivaskulärer Ansammlung von Lymphozyten zu sehen (PALINSKI et al., 2017). Eine Dilatation der kortikalen Tubuli der Nieren, sowie eine Infiltration des kortikalen Interstitiums und der Glomeruli mit Lymphozyten und Makrophagen ist erkennbar (PALINSKI et al., 2017).

Mittels immunhistochemischer Untersuchung gelingt PALINSKI et al. (2017) der PCV3-Antigen-Nachweis mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern (MAb 14). Als Probenmaterial werden Gewebeproben aus der Haut, Niere, Lunge und den Lymphknoten von Sauen mit PDNS-ähnlichen Läsionen verwendet (PALINSKI et al., 2017). Die MAb 14, welche durch Immunisierung von Mäusen gewonnen werden, detektieren das PCV3-Antigen innerhalb der histologisch typischen PDNS-Läsionen und senden Fluoreszenzsignale aus (PALINSKI et al., 2017).

Mithilfe In-situ-Hybridisierung wird PCV3-mRNA in kardialen Läsionen nachgewiesen (PHAN et al., 2016). Durch spezifische PCV3-Sonden können innerhalb von Zellen rote Hybridisierungssignale sichtbar gemacht werden (PHAN et al., 2016). Mit der Darstellung von PCV3-mRNA in den kardialen Zellen wird die Replikation von PCV3 im Bereich der Herzläsionen vermutet (PHAN et al., 2016).

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1. Untersuchung von Schweinen mit PDNS**

Aus den Jahren 2003 bis 2013 konnte retrospektiv bei 43 Schweinen mit diagnostizierten porcine dermatitis and nephropathy syndrome ein möglicher Zusammenhang mit PCV3 näher betrachtet werden. Bei den vorliegenden Serumproben wurde im Rahmen der Routinediagnostik PDNS anhand pathologisch-anatomischer sowie histopathologischer Untersuchungen von dem Institut für Tierpathologie der LMU München festgestellt.

Ebenso wurde bereits im Rahmen von Untersuchungen aus den Jahren 2003 bis 2013 PCV2-DNA detektiert (siehe Abbildung 1). In der vorliegenden Untersuchung wurden diese Proben mittels quantitativer real-time PCR auf PCV3 und erneut auf PCV2-DNA untersucht.

Die Verteilung der Proben auf die jeweiligen Jahre ist Abbildung 1 zu entnehmen. Bis zur Untersuchung im Rahmen der vorliegenden Studie wurden die Proben bei -20° Celsius in der Klinik für Schweine der LMU München tiefgefroren gelagert.

#### **2. Untersuchung von totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln**

Die im Folgenden ausgewerteten Organ- und Blutproben wurden zu routinediagnostischen Zwecken von den bestandsbetreuenden Tierärzten gewonnen und im Rahmen der vorliegenden Untersuchung retrospektiv molekularbiologisch auf das Vorhandensein von PCV3-DNA untersucht. Somit lagen 949 Organproben aus den Jahren 2017 bis 2018 vor. Darüber hinaus lagen aus den Jahren 2017 und 2018 ebenfalls zur Routineuntersuchung eingesandte abortierte (n=45), totgeborene (n=35) und mumifizierte (n=10) Ferkel von 20 Beständen vor, die auf PCV3-DNA untersucht wurden (n<sub>ges</sub>=90). Es konnten Ferkel aus den Bundesländern Baden-Württemberg (BW), Bayern (BY), Brandenburg (BB), Niedersachsen (NI) und Nordrhein-Westfalen (NRW) beprobt werden. Von allen eingesandten Ferkeln, wurden je zwölf Organproben (n<sub>ges</sub>= 949)

entnommen.

Den 90 eingesandten totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln konnten insgesamt 26 Serumproben zugehöriger Muttersauen zugeordnet werden, die zusammen mit dem Abortmaterial eingesandt wurden.

### **3. Quantitative real-time PCR von Serumproben**

Der PCV3-Genomnachweis erfolgte am Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München mittels einer quantitativen real-time PCR nach dem Protokoll von PALINSKI et al. (2017). Die dafür nötige Extraktion der Virus-DNA aus den Serumproben erfolgte manuell. Folgendes Protokoll des Herstellers fand Anwendung:

Vorbereitung durch Versetzung der Puffer AW1 und AW2 mit angegebener Menge Ethanol (96%). Als Reaktionsgefäße dienten Biosphere® SafeSeal Tube 1,5ml (SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland). Als Pipettenspitzen dienten Biosphere® Filter Tips (20µl, 100µl, 1000µl) (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Den Reaktionsgefäßen wurden 20 µl Proteinase K vorgelegt. Dazu wurden 200 µl der Serumprobe hinzugefügt, bevor 200 µl des AL Puffers zugegeben werden. Im Anschluss wurden die Proben 15 Sekunden impuls-vorgetextet und danach 10 Minuten bei 56°C in einem Thermomixer comfort® (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) inkubiert. Daraufhin wurden die Serumproben kurz mittels der Eppendorf Zentrifuge 5417R (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) zentrifugiert, um kondensierte Tropfen von der Gefäßwand zu entfernen. Bevor das Reaktionsgefäß wieder für 15 Sekunden vorgetextet wurde, mussten 200 µl Ethanol 96%) zugefügt werden. Dieses Gemisch wurde auf eine Säule überführt und für 30 Sekunden bei 11.000 rpm zentrifugiert. Der Durchfluss konnte mitsamt dem Auffanggefäß verworfen und ein neues Auffanggefäß verwendet werden. Hierzu wurden 500µl des Puffers AW1 gegeben und wieder 30 sec bei 11.000 rpm zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde danach nochmals mit der AW2 Pufferlösung wiederholt. Der Rückstand wurde bei 14.000 rpm für eine Minute ein weiteres Mal zentrifugiert. Dem Zentrifugat wurde wieder 100 µl des AE Puffers zugegeben und eine Minute inkubiert und als letztes 30

Sekunden bei 11.000 rpm zentrifugiert.

Als Proben- und Elutionsvolumen wurden jeweils 200 µl verwendet. Für die real-time PCR wurde das QIAamp DNA Mini Kit® (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) verwendet. In Tabelle 2 sind die Sequenzen und Konzentrationen der verwendeten Primer sowie der TaqMan Sonde dargestellt.

**Tabelle 2: Darstellung der Sequenzen und Konzentrationen der Oligonukleotid-Primer und der TaqMan Sonde (PALINSKI et al., 2017)**

Name	Konzentration	Sequenz
Primer PCV3-for	800 nM	5' AGT GCT CCC CAT TGA ACG
Primer PCV3-rev	800 nM	5' ACA CAG CCG TTA CTT CAC
TaqMan Sonde PCV3	200 nM	5' FAM ACC CCA TGG CTC AAC ACA TAT GAC C BHQ1

Je Reaktion wurden 5 µl der eluierten DNA zu 20 µl Reaktionsmix (12,5 µl PCR Mastermix, 5,5 µl RNase-freies Wasser und 2 µl Primer-Sonden-Mix) hinzugefügt. Die Reaktionsansätze wurden gemeinsam mit einer Positiv- und einer Negativkontrolle (non-template) in den PCR-Cycler (Stratagene Mx 3000P, Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG, Waldbronn, Deutschland) gegeben. Als Reaktionsgefäße dienen 0,2 ml Thin-walled 8 Tube Strips (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) Folgendes Temperaturprotokoll fand Anwendung: Einmalige Polymeraseaktivierung bei 94°C für 15 Minuten, anschließend 42 Zyklen mit Denaturierung (94°C für 15 Sekunden) und Annealing/Extension (60°C für 60 Sekunden).

**Tabelle 3: Einteilung der Ergebnisse der real-time PCR**

Kategorie	Ct-Wert	PCV3
I	≥ 40	negativ
II	35 - 39,9	schwach positiv
III	30 - 34,9	positiv
IV	< 30	stark positiv

#### 4. Quantitative real-time PCR von Gewebeproben

Der PCV3-Genomnachweis erfolgte am Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München mittels einer quantitativen real-time PCR nach dem Protokoll von PALINSKI et al. (2017). Zunächst wurde das Organmaterial steril in ein 2,0 ml Biosphere® SafeSeal Tube Reaktionsgefäß (SARSTEDT AG & Co. KG, Deutschland) überführt. Danach wurden 100µl PBS und eine Stahlkugel hinzugefügt und 1 min bei 25 Hz in der Laborschwingmühle (Schwingmühle MM300, Retsch® GmbH, Haan, Deutschland) homogenisiert. Die anschließende Extraktion der Virus-DNA aus den Organproben erfolgte manuell nach folgenden Protokoll:

Zunächst wurden die Puffer AW1 und AW2 mit angegebener Menge Ethanol versetzt (96%) und währenddessen der Thermomixer comfort® (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) auf 56°C gebracht. Als Proben- und Elutionsvolumen wurden jeweils 25 mg benötigt. Nach einer kurzen Zentrifugation wurde 125 µl ATL Puffer und 25 µl Proteinase K zugegeben. Danach erfolgte eine Inkubation von 30 Minuten bei 56°C mit 450 rpm. Um kondensierte Tropfen an der Wand des Gefäßes zu lösen wurden die Proben kurz zentrifugiert. Als nächster Schritt wurden 250 µl des AL Puffers zugegeben und für 10 Minuten bei 70°C inkubiert. Darauf wurde die Probe wieder zentrifugiert und der 400 µl Überstand in ein neues 1,5 ml Biosphere® SafeSeal Tube Reaktionsgefäß (SARSTEDT AG & Co. KG, Deutschland) überführt. Diesem Überstand wurden 200 µl Ethanol (96%) hinzugefügt und mit der Pipette durchmischt. Nach der Verwerfung des Durchflusses und der Verwendung eines neuen Auffanggefäßes, wurde dieses Gemisch auf eine Säule überführt und 30 Sekunden mit 11.000 rpm zentrifugiert. Der Durchfluss davon konnte mitsamt dem Gefäß verworfen werden. Dem Rückstand wurden 500 µl des AW1 Puffers zugefügt, bevor er bei 11.000 rpm für 30 Sekunden zentrifugiert wurde. Das Ganze wurde nochmals unter Zugabe des AW2 Puffers wiederholt und im Anschluss 1 min bei 14.000 rpm zentrifugiert und auf ein 1,5 ml Biosphere® SafeSeal Tube Reaktionsgefäß (SARSTEDT AG & Co. KG, Deutschland) überführt. Als letzten Schritt der Isolierung wurde 100 µl AE Puffer auf die Säule gegeben und nach einer Minute Inkubation 30 Sekunden bei 11.000 rpm

zentrifugiert. Für die real-time PCR wurde das QIAamp DNA Mini Kit® (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) verwendet. In Tabelle 2 sind die Sequenzen und Konzentrationen der verwendeten Primer sowie der TaqMan Sonde dargestellt.

## 5. Untersuchung der Gewebeproben abortierter, mumifizierter oder totgeborener Ferkel

Bevor die Ferkel am Institut für Tierpathologie der LMU München einer Sektion unterzogen werden konnten, wurden sie zwischenzeitlich bei -20°C eingefroren gelagert. Eine Beschreibung der eingesendeten Proben wurde bereits unter III.1 dargestellt. Eine Übersicht über die Anzahl und Verteilung der Würfe innerhalb Deutschlands wird in Tabelle 4 dargestellt.

**Tabelle 4: Aufteilung der Ferkel (n<sub>ges</sub>=90), Würfe (n<sub>ges</sub>=34) und untersuchte Bestände (n<sub>ges</sub>=20) der fünf deutschen Bundesländer**

	BY	BW	NI	NRW	BB
<b>Anzahl Ferkel (n<sub>ges</sub>= 90)</b>	34	9	7	38	2
<b>Prozent der Ferkel</b>	37,8%	10%	7,8%	42,2%	2,2%
<b>Anzahl Würfe (n<sub>ges</sub>= 34)</b>	13	4	2	16	1
<b>Prozent der Würfe</b>	38,2%	11,8%	5,9%	47,0%	2,9%
<b>Bestände (n<sub>ges</sub>= 20)</b>	8	2	2	7	1
<b>Prozent der Bestände</b>	40,0%	10,0%	10,0%	35,0%	5,0%

Jedes Ferkel bzw. jeder Fetus wurde gewogen und die Scheitel-Steiß Länge gemessen. Um zu verifizieren, dass es sich nicht um lebend geborene Tiere handelte, wurde eine Lungenschwimmprobe durchgeführt. Bei der Entnahme der einzelnen Organproben, wurde das Sektionsbesteck nach jeder Entnahme in Ethanol (95 %) getaucht und mit einem Bunsenbrenner abgeflammt.

Folgende Organproben wurden von jedem Ferkel entnommen:

- 1) Milz
- 2) Leber
- 3) Dünndarm
- 4) Magen
- 5) Niere
- 6) Lunge
- 7) Herz
- 8) Inguinallymphknoten
- 9) Thymus
- 10) Tonsille
- 11) Gehirn
- 12) Knochenmark

Da es sich teilweise um retrospektiv untersuchte Gewebeproben handelte, konnten nicht von allen 90 Tieren zwölf Organproben Sets gewonnen werden. Von diesen Tieren wurden die Organproben als Poolproben ausgewertet.

#### **6. Untersuchung von Serumproben der Sauen mit abortierten, totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln**

Nach Erhalt der eingesandten Serumproben, wurden diese bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C in der Klinik für Schweine tiefgefroren. Die Untersuchung der Proben auf PCV3-DNA mittels real-time PCR fand am Institut für Infektionskrankheiten und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München statt.

Es lag Probenmaterial von 14 Betrieben innerhalb Deutschlands vor. 28,6% (4/14) der Betriebe lagen in Bayern, 14,3% (2/14) in Baden-Württemberg, 21,4% (3/14) in Niedersachsen, sowie 35,7% (5/14) in Nordrhein-Westfalen. Insgesamt kamen 19,2% (5/26) der Serumproben

aus Bayern, 38,5% (10/26) aus Nordrhein-Westfalen, 26,9% (7/26) aus Niedersachsen und 15,4 % (4/26) aus Baden-Württemberg. Aus den anderen Betrieben ( $n_{\text{ges}}=20$ ) lagen keine Serumproben vor. 42,3% (11/26) der Serumproben stammten von Sauen mit Aborten, 50% (13/26) mit Totgeburten und zu 7,6 % (2/26) mit Mumien. Die Aufteilung der untersuchten Sauenserren pro Bundesland wird in Abbildung 2 ersichtlich.

## 7. Statistische Auswertung

Die vorliegende Untersuchung wurde als Querschnittsuntersuchung durchgeführt, wobei ermittelt werden sollte, ob und in welchem Ausmaß PCV3-DNA in abortierten, totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln und, wenn vorhanden, zugehörigen Seren von Muttersauen nachweisbar ist. Des Weiteren sollte untersucht werden, in wieweit der Infektionsstatus der Muttersauen mit dem Infektionsstatus der Feten / Mumien assoziiert ist. Als unabhängige Faktoren wurden Scheitel-Steiß-Länge und Gewicht der Ferkel und Parität der zugehörigen Sauen ausgewählt. Als unabhängiger Faktor galt der Nachweis von PCV3-DNA.

Die Daten wurden mittels Microsoft Excel® 2010 (Fa. Microsoft, Redmond, USA), IBM SPSS® Statistics Version 24.0 (Fa. IBM Corp. Armonk, USA) erfasst und ausgewertet. Jede Sau galt als statistische Einheit. Metrische Variablen wie die Scheitel-Steiß-Länge, Gewicht der Ferkel und Parität der Sauen wurden mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung getestet. Wurde dieser abgelehnt, fand der Mann-Whitney-U-test zur Auswertung der Unterschiede zwischen positiven und negativen Sauen bzw. Ferkeln Anwendung. Bei Normalverteilung der Parameter, wurde ein ungepaarter t-Test verwendet. Das Signifikanzniveau wurde mit  $p < 0,05$  festgelegt. Das Konfidenzintervall betrug 95%.

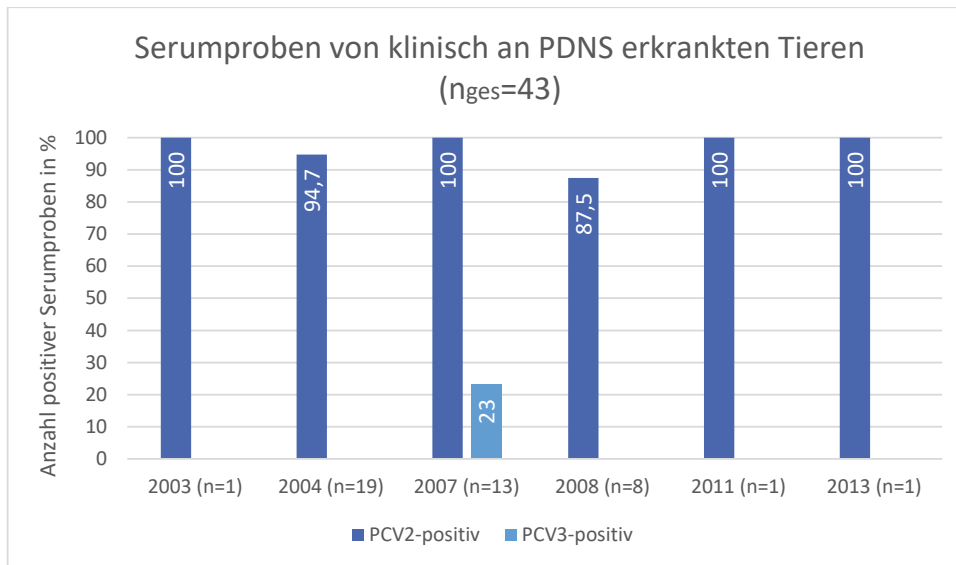
Die Probenanzahl von 90 totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln wurde so ausgewählt, dass sich bei einer Prävalenz von 17,7% bei einem 95% Konfidenzintervall von 10,5 – 27,3% ergibt. Somit kann die Prävalenz mit einer Genauigkeit von etwa +/- 10% angegeben werden.



## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Ergebnisse der Untersuchung von Serumproben von Schweinen mit PDNS**

Aus den Jahren 2003 bis 2013 wurden 43 Serumproben von PDNS Fällen molekularbiologisch retrospektiv auf PCV3- und PCV2-DNA untersucht. Die molekularbiologische Untersuchung mittels real-time PCR, fand am Institut für Infektionskrankheiten und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München statt. Bei insgesamt 7% (3/43) der Serumproben gelang der PCV3 Genomnachweis. PCV2-DNA konnte in 95,4% (41/43) der Fälle detektiert werden. Alle PCV3 positiven Proben (3/13) stammten aus dem Jahr 2007. Insgesamt erwiesen sich 23,1% (3/13) der Proben aus dem Jahr 2007 als PCV3-positiv. Aus dem Probenmaterial aus den anderen Jahren gelang kein Nachweis von PCV3-DNA. Die Anzahl sowie der Anteil PCV3- oder PCV2-positiver Serumproben in den jeweiligen Jahren sind in Abbildung 1 aufgeführt. Die Ct-Werte der PCV3 positiven Seren befanden sich mit 31,9, 35,5 sowie 36,4 im positiven bis schwach positiven Bereich. Alle drei Proben erwiesen sich auch als PCV2-positiv. Bei der Probe mit einem PCV3 Ct-Wert von 31,9, wies das Tier zudem einen stark positiven PCV2 Ct-Wert von 14,9 auf.



**Abbildung 1: PCV2 und PCV3 positive Proben von Schweinen mit PDNS aus den Jahren 2003 bis 2013 (n<sub>ges</sub>=43)**

## 2. Ergebnisse der Untersuchung von Gewebeproben abortierter, mumifizierter oder totgeborener Ferkel

Im Rahmen dieser Studie standen 90 totgeborene, abortierte oder mumifizierte Ferkel aus 20 Beständen innerhalb Deutschlands (BW, BY, BB, NRW, NI) zur Verfügung. Bei insgesamt 17,7% (16/90) der eingesandten Tiere, gelang der PCV3-DNA Nachweis. Eine Übersicht über die PCV3-positiv getesteten Ferkel für die jeweilige Kategorie, lässt sich Tabelle 5 entnehmen.

**Tabelle 5: Übersicht der PCV3 Genomnachweise in abortierten, totgeborenen oder als Mumien geborenen Ferkeln**

PCV3-DNA Nachweisrate (n <sub>ges</sub> =90)		
Kategorie	PCV3 positive Tiere in %	Anzahl PCV3 positiver Tiere
Totgeburt (n=45)	20,0%	(9/45)
Abort (n=35)	17,4%	(6/35)
Mumie (n=10)	10,0%	(1/10)
<b>Gesamt (n=90)</b>	<b>17,7%</b>	<b>(16/90)</b>

### **2.1. PCV3 Genomnachweis in Gewebeproben totgeborener Ferkel**

In der vorliegenden Studie wurden 50,0% (45/90) der insgesamt untersuchten Ferkel als Totgeburten definiert. Die Totgeburten stammten von 13 verschiedenen Würfen aus fünf deutschen Bundesländern. Zu 23,1% (3/13) stammten die beprobten Würfe aus Baden-Württemberg, zu 38,5% (5/13) aus Bayern, 30,8% (4/13) aus Nordrhein-Westfalen und zu 7,7 % (1/13) aus Brandenburg. Aus diesen Würfen lagen insgesamt neun Ferkel aus Baden-Württemberg, 14 aus Bayern, 17 aus Nordrhein-Westfalen, drei aus Niedersachsen und zwei aus Brandenburg totgeborene Ferkel vor.

Wie in Tabelle 5 ersichtlich, gelang bei 20% (9/45) der totgeborenen Ferkel ein PCV3 Genomnachweis.

Die Ct-Werte der insgesamt neun PCV3-positiv getesteten Totgeburten lagen mit einem Ct-Wert zwischen 19 (stark positiv) und 36 (schwach positiv).

Der Mittelwert der Scheitel-Steiß-Länge (SSL) der PCV3 negativ getesteten Totgeburten betrug 22,7 cm, mit einer Standardabweichung von  $\pm 4,0$  und einem Minimum (Min) von 14 cm und Maximum (Max) von 30 cm. Der Mittelwert (MW) des Gewichts der PCV3 negativen Ferkel betrug 1102 g (Min: 360, Max: 1980) bei einer Standardabweichung von  $\pm 405,7$ . Der Mittelwert der Parität der Sauen von PCV3-negativen Totgeburten beträgt 4,4 (Min: 1; Max: 8) bei einer Standardabweichung von  $\pm 2,1$ .

Zwei Scheitel-Steiß-Längen und Gewichtsmessungen der PCV3-positiv getesteten Totgeburten, lagen mit 14 und 15 cm sowie 360 und 400 g vor. Die Paritäten der zugehörigen Sauen der PCV3 positiven Ferkel lagen bei drei (2/9), vier (2/9), fünf (2/9) und sechs (3/9).

### **2.2. PCV3 Genomnachweis in den Organproben abortierter Ferkel**

Bei 38,9% (35/90) der beprobten Ferkel handelte es sich um Tiere, die bis zu vier Wochen vor dem errechneten Geburtstermin abortiert wurden. Wie in Tabelle 5 ersichtlich, gelang bei der hier vorliegenden Studie der PCV3-DNA Nachweis in 17,4% (6/35) dieser abortierten Ferkel. Eine Übersicht der untersuchten abortierten Ferkel pro Wurf und Bundesland mit den jeweiligen Ct-Werten ist Tabelle 6 zu entnehmen. Die Ct-Werte der

abortierten Ferkel, die sich als PCV3-positiv erwiesen, befanden sich nach Tabelle 3 im schwach positiven Bereich.

**Tabelle 6: Anzahl Ferkel ( $n_{\text{ges}}=35$ ) und Würfe ( $n_{\text{ges}}=15$ ) mit Ct-Werten der untersuchten Aborte pro Bundesland**

Niedersachsen			Bayern			Nordrhein-Westfalen		
		Ct			Ct			Ct
Wurf 1	Ferkel 1	36	Wurf 1	Ferkel 1	n.d.	Wurf 1	Ferkel 1	36
	Ferkel 2	34		Ferkel 2	n.d.		Ferkel 2	36
	Ferkel 3	n.d.*		Ferkel 3	n.d.		Ferkel 3	36
Wurf 2	Ferkel 4	34	Wurf 2	Ferkel 4	n.d.	Wurf 2	Ferkel 4	n.d.
Wurf 3	Ferkel 5	n.d.		Ferkel 5	n.d.		Ferkel 5	n.d.
				Ferkel 6	n.d.		Wurf 3	Ferkel 6
			Ferkel 7	n.d.	Ferkel 7	n.d.		
			Ferkel 8	n.d.	Ferkel 8	n.d.		
			Wurf 3	Ferkel 9	n.d.	Wurf 4	Ferkel 9	n.d.
				Ferkel 10	n.d.		Ferkel 10	n.d.
			Wurf 4	Ferkel 11	n.d.	Wurf 5	Ferkel 11	n.d.
				Ferkel 12	n.d.		Ferkel 12	n.d.
			Wurf 6	Ferkel 13	n.d.		Wurf 6	Ferkel 13
				Ferkel 14	n.d.	Ferkel 14		n.d.
				Ferkel 15	n.d.	Ferkel 15		n.d.
					Ferkel 16	n.d.		

n.d.\* = nicht detektierbar

Wie in Tabelle 8 ersichtlich, erwies sich in Bayern der Abort einer PCV3-positiven Sau, als PCV3-negativ. Bei zwei Würfen aus Niedersachsen (siehe Tabelle 7) gelang der PCV3 Genomnachweis sowohl bei den abortierten Feten, als auch bei den beiden zugehörigen Zuchtsauen.

**Tabelle 7: PCV3 positive abortierte Würfe aus Niedersachsen (n=2)**

		Ct-Wert	SSL	Gewicht	Parität Sau	Ct-Wert Sau
Wurf 1	Ferkel 1	36	14cm	360g	3	35
	Ferkel 2	34	15cm	400g	3	35
	Ferkel 3	n.d.	13cm	480g	3	35
Wurf 2	Ferkel 4	34	16cm	530g	2	35

**Tabelle 8: PCV3-negativer Abort aus Bayern einer PCV3-positiven Sau (n=5)**

		Ct-Wert	SSL	Gewicht	Parität Sau	Ct-Wert Sau
ABORT	Ferkel 1	n.d.	17cm	280g	2	25
	Ferkel 2	n.d.	16cm	300g	2	25
	Ferkel 3	n.d.	14cm	290g	2	25
	Ferkel 4	n.d.	16cm	280g	2	25
	Ferkel 5	n.d.	14cm	560g	2	25

Die Gewichtsverteilung der PCV3-negativ getesteten Aborte lag im Median bei 610 g (Min: 106; Max: 1400) mit einem 1. Quartil ( $Q_{25}$ ) von 297,5 und einem 3. Quartil ( $Q_{75}$ ) von 1125. Die Scheitel-Steiß-Länge dieser Tiere lag bei einem Median von 18,5 cm (Min: 10; Max: 27) mit einem  $Q_{25}$  von 12,7 und  $Q_{75}$  von 25,0. Die Gewichtsverteilung sowie Scheitel-Steiß-Länge der positiv getesteten Tiere wird in Tabelle 7 ersichtlich.

### 2.3. PCV3 Genomnachweis in den Organproben mumifizierter Ferkel

Im Rahmen dieser Studie lagen zehn Mumien zur Untersuchung auf PCV3-DNA vor. Insgesamt erwiesen sich 10% (1/10) der Mumien als PCV3 positiv. Da es sich bei der PCV3-positiven Mumie um ein stark mumifiziertes Tier handelte, wurden die Gewebeproben der Mumie gepoolt untersucht. Aus Bayern wurden fünf Mumien aus fünf verschiedenen Würfen eingesandt. Bei einer dieser Mumien gelang mit einem Ct-Wert von 33 der PCV3 Genomnachweis mittels qPCR. Die dazugehörigen Muttersauen der Mumien befanden sich jeweils in der

dritten oder sechsten Parität. Die PCV3-negativ detektierten Mumien zeigten einen Mittelwert der SSL von 13,3 cm (Min: 8; Max: 21) und einer Standardabweichung von  $\pm 4$ . Das Gewicht der Mumien betrug im Median 120 g (Min: 25; Max: 805). Das 1. Quartil betrug 65 und das 3. Quartil 190. Eine Auflistung der untersuchten Mumien ist unter Tabelle 9 einzusehen.

**Tabelle 9: Auf PCV3 untersuchte Mumien aus den Jahren 2017 und 2018 (n<sub>ges</sub>=10)**

	Bundesland	Ct-Wert	SSL (cm)	Gewicht (g)	Parität Sau	Ct Sau
<b>Mumie 1</b>	BY	33,0	10	180	5	n.d
<b>Mumie 2</b>	BY	n.d.*	11	120	3	n.d.
<b>Mumie 3</b>	BY	n.d.	17	220	6	n.d.
<b>Mumie 4</b>	BY	n.d.	9	80	6	n.d.
<b>Mumie 5</b>	BY	n.d.	8	75	6	n.d.
<b>Mumie 6</b>	NRW	n.d.	21	805	6	n.d.
<b>Mumie 7</b>	NRW	n.d.	15	160	1	n.d.
<b>Mumie 8</b>	NRW	n.d.	14	120	5	n.d.
<b>Mumie 9</b>	NRW	n.d.	13	100	5	n.d.
<b>Mumie 10</b>	NRW	n.d.	12	110	5	n.d.

\*n.d. = nicht detektiert

#### 2.4. Ergebnisse der Untersuchungen auf PCV3 in einzelnen Organen

Bei fünf Aborten aus zwei Betrieben in Baden-Württemberg ließen sich aus den Organproben PCV3 Ct-Werte zuordnen. Die einzelnen Ct-Werte sind Tabelle 10 zu entnehmen.

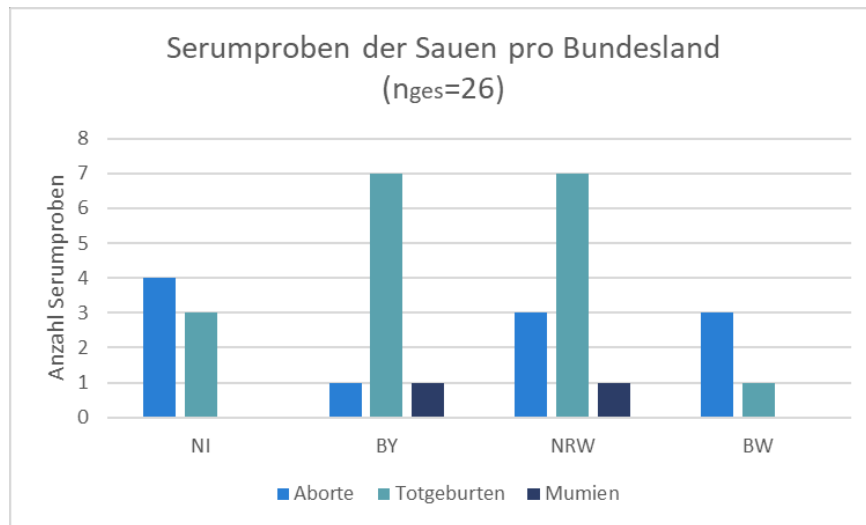
**Tabelle 10: Ct-Werte in einzelnen Organen von abortierten Ferkeln zweier Bestände in Baden-Württemberg aus dem Jahr 2017 (n=5)**

	Bestand 1			Bestand 2			
	Ct-Werte der Gewebe						
Gewebe	Ferkel 1	Ferkel 2	Ferkel 3	Ferkel 4	Ferkel 5	Ø Ct-Wert pro Organ	n Ct-Werte pro Organ
Lunge	18,8	17,7	32,0	n.d.	n.d.	22,8	3
Milz	20,1	17,4	35,3	n.d.	n.d.	24,3	3
Leber	17,9	17,9	38,4	n.d.	n.d.	24,7	3
Niere	23,9	18,5	35,0	n.d.	n.d.	25,8	3
Magen	23,3	18,4	n.d.	37,2	n.d.	26,3	3
Dünn-/ Dickdarm	20,2	16,1	35,0	n.d.	37,7	27,3	4
Gehirn	20,0	16,8	34,0	35,1	33,3	27,8	5
Inguinal- lymphknoten	23,2	15,9	37,0	38,2	34,7	29,8	5
Knochenmark	24,8	21,8	34,6	33,0	39,8	30,8	5
Thymus	30,1	32,5	n.d.	n.d.	36,3	32,9	3
n Ct-Werte pro Ferkel	10	10	8	4	5	10	
Ø Ct-Wert pro Ferkel	22,2	19,3	35,2	35,9	36,4		
	stark positiv	stark positiv	schwach positiv	schwach positiv	schwach positiv		

\*n.d. = nicht detektiert

### 3. Ergebnisse der Untersuchung von Serumproben der Sauen mit abortierten, totgeborenen oder mumifizierten Ferkeln

Insgesamt lagen 26 Serumproben von Sauen mit Reproduktionsstörungen zur Detektion von PCV3-DNA vor. Die in der vorliegenden Studie untersuchten Proben wurden jenen Sauen zugeordnet, von denen auch die untersuchten Aborte, Totgeburten und Mumien stammten. Einen Überblick über die zur Diagnostik eingesandten Serumproben bietet Abbildung 2.



**Abbildung 2: Verteilung der untersuchten Serumproben der Sauen bezüglich der abortierten, mumifizierten oder totgeborenen Ferkel pro Bundesland (NI, BY, NRW, BW). Doppelnennung ist möglich, wenn pro Sau sowohl Mumien, als auch Totgeburt und/oder Abort auftraten**

Mittels real-time PCR ließ sich bei 34,6% (9/26) der eingesandten Serumproben PCV3-DNA detektieren. Bei 57,1% (4/7) der untersuchten Proben aus Niedersachsen gelang ein positiver PCV3-DNA Nachweis. Drei dieser Proben lagen mit Ct-Werten zwischen 35 und 36 im schwach positiven Bereich. Bei den dazugehörigen abortierten Feten der beiden Zuchtsauen aus Niedersachsen konnte PCV3-DNA mit Ct-Werten zwischen 34 und 36 nachgewiesen werden. Eine der Serumproben wies einen Ct-Wert von 31 (positiv) auf. Bei den übrigen beiden Proben war kein PCV3 Genomnachweis möglich. Ebenso wurde bei den jeweiligen Totgeburt dieser Sauen keine PCV3-DNA detektiert. Bei 20% (2/10). der Serumproben aus Nordrhein-Westfalen gelang mit Ct-Werten von 33 (positiv) und 38 (schwach positiv) der PCV3-DNA Nachweis. Bei keinem der dazugehörigen Ferkel konnte PCV3 bestätigt werden. In Bayern wurden bei 60% (3/5). der eingesandten Serumproben PCV3-DNA detektiert. Die Ct-Werte der drei Zuchtsauen lagen in den Bereichen von 25 (stark positiv) bis 38 (schwach positiv). Die vier Wochen vor dem errechneten Geburtstermin abortierten Feten der Zuchtsau mit einer hohen Viruslast erwiesen sich als PCV3-negativ.

Bei den drei Sauen mit Abortgeschehen aus Baden-Württemberg gelang



kein Nachweis von PCV3-DNA in den Serumproben. Bei drei der vier dazugehörigen Würfe dieser Sauen gelang ein PCV3 Genomnachweis. Die Ct-Werte dieser PCV3-positiven Gewebeproben betrugen zwischen 19 und 36. Das Verhältnis zwischen einem PCV3-positiven Nachweis bei Muttersauen und deren Würfen ist Tabelle 11 zu entnehmen. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Infektionsstratus der Sau zum Zeitpunkt der Geburt und den Ergebnissen der Würfe bestand nicht ( $p=0,3$ )

**Tabelle 11: Anzahl PCV3-positiver (n=5) oder negativer (n=21) Würfe pro PCV3 positiver (n=17) oder negativer Sau (n=9)**

	Wurf positiv	Wurf negativ	Gesamt
Sau positiv	3 (11,5%)	6 (23,1%)	9 (34,6%)
Sau negativ	2 (7,7%)	15 (57,7%)	17 (65,4%)
Gesamt	5 (19,2%)	21 (80,8%)	26 (100%)

### 3.1. Auswertung des PCV3 Genomnachweises bei Sauen in Assoziation der Scheitel-Steiß-Länge und Gewicht der Ferkel (Status Sau)

Das Gewicht sowie die Scheitel-Steiß-Länge der Ferkel von PCV3-positiven Sauen konnte als normal verteilt angesehen werden. Ebenso wiesen die PCV3-positiv getesteten Sauen bezüglich der Parität eine normale Verteilung auf.

Die PCV3-negativ getesteten Sauen wiesen eine normale Verteilung bezüglich der Scheitel-Steiß-Länge und des Gewichts der Ferkel auf. Die Paritäten der PCV3-negativen Sauen, erwiesen sich als nicht normal verteilt (siehe Tabelle 14). Der Vergleich der SSL von Ferkeln die von PCV3-positiv getesteten Sauen stammten ergab, dass diese eine signifikant geringere SSL aufwiesen, als die, welche von PCV3-negativ getesteten Sauen stammten ( $p < 0,05$ ) (siehe Tabelle 12). Hinsichtlich des mittleren Gewichtes von Ferkeln PCV3-positiver oder negativer Sauen, konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden ( $p > 0,05$ ) (siehe Tabelle 13).

**Tabelle 12: Mittlere SSL (cm) der Ferkel von PCV3-positiven (n=9) oder negativen Sauen (n=17)**

		PCV3-positive Sau	PCV3-negative Sau
Scheitel- Steiß- Länge	MW	14,6 <sup>a</sup>	21,6 <sup>b</sup>
	SD	± 3,8	± 5,7
	(Min ; Max)	(8 ; 22)	(11 ; 26)

ab: p= 0,04

**Tabelle 13: Gewicht (g) der Ferkel von PCV3-positiven (n=9) oder negativen Sauen (n=17)**

		PCV3-positive Sau	PCV3-negative Sau
Gewicht	MW	379,4	785,0
	SD	± 320,7	± 462,5
	(Min ; Max)	(25 ; 1110)	(110 ; 1400)

**Tabelle 14: Parität von PCV3-positiv (n=9) und negativ getesteter Sauen (n=17)**

		PCV3-positive Sauen	PCV3-negative Sauen
Parität	Median Parität	3	3
	(Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> )	(2,5 ; 4)	(1 ; 3)
	(Min ; Max)	(1 ; 6)	(1 ; 8)

### 3.2. Auswertung des PCV3 Genomnachweises bei Ferkeln in Assoziation der Scheitel-Steiß-Länge und deren Gewicht (Status Ferkel)

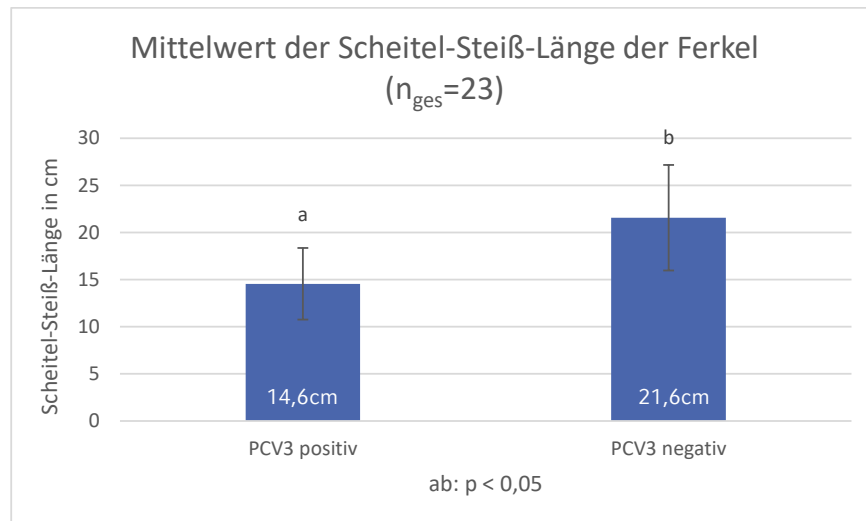
Die Verteilung der SSL und des Gewichts der PCV3-positiven Ferkel erwies bezüglich eine normale Verteilung. Die Paritäten der zugehörigen Muttersauen waren nicht normal verteilt.

Die gemessene SSL der PCV3-negativ getesteten Ferkel wies eine normale Verteilung auf. Keine normale Verteilung zeigte sich bezüglich des Gewichts der Ferkel sowie der Parität der Muttertiere von positiven Ferkeln.

Die PCV3-negativen Ferkel zeigten im Median ein Gewicht von 702,5 g (Min: 25; Max: 1400) und mit einem 1. Quartil (Q<sub>25</sub>) von 130 sowie einem 3. Quartil (Q<sub>75</sub>) von 1060. Das Gewicht der drei PCV3-positiven Ferkel

denen eine Serumprobe der Muttersau zugeordnet werden konnte, betrug 360 g, 400 g und 530 g mit Scheitel-Steiß-Längen von 14 cm, 15 cm und 16 cm.

Mithilfe des t-Tests, konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen PCV3 positiven bzw. negativen Ferkeln und deren Scheitel-Steiß-Länge ( $p < 0,05$ ) nachgewiesen werden.



**Abbildung 3: Mittelwerte der Scheitel-Steiß-Länge von PCV3 positiv oder negativ getesteten Ferkeln. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) bezüglich der mittleren Scheitel-Steiß-Länge**

## V. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde retrospektiv die Prävalenz von PCV3 bei Schweinen aus Deutschland, die klinische Anzeichen von PDNS zeigten, untersucht. Hierfür lagen 43 Serumproben aus den Jahren 2003 bis 2013 vor, bei denen anhand von pathomorphologischen und histopathologischen Untersuchungen das porcine dermatitis and nephropathy syndrome vom Institut für Tierpathologie der LMU München diagnostiziert wurde. Mithilfe einer real-time PCR wurden diese Schweine auf PCV3- und PCV2-DNA untersucht. Bezüglich des PCV2 Infektionsstatus dieser Tiere lagen bereits Ergebnisse vor. So wurde bei allen untersuchten Tieren PCV2 mithilfe einer PCR oder ISH detektiert.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung möglicher Zusammenhänge von PCV3 Infektionen und Reproduktionsstörungen. Dafür wurden 949 Organproben von totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln mittels real-time PCR auf das Vorkommen von PCV3-DNA untersucht. Diese Ferkel stammten aus insgesamt 34 verschiedenen Würfen aus fünf deutschen Bundesländern. Zusätzlich standen auch 26 Serumproben der zugehörigen Muttersauen für eine Untersuchung auf PCV3-DNA zur Verfügung. Die Gewebe- und Serumproben wurden im Rahmen der Routinediagnostik von den bestandsbetreuenden Tierärzten an die Klinik für Schweine der LMU München gesandt.

Darüber hinaus war es Ziel dieser Studie, mithilfe möglicher PCV3 Nachweise in den zwölf entnommenen Organproben pro totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkel festzustellen, ob ein Genomnachweis in bestimmten Organen häufiger gelingt und somit in Zukunft eine gezieltere PCV3 Diagnostik möglich ist.

### 1. PCV3 in Zusammenhang mit klinischen Anzeichen von PDNS

Zum aktuellen Zeitpunkt ist es schwer PCV3 mit einem Krankheitsbild in

Verbindung zu bringen, da hierfür ein Infektionsversuch notwendig wäre, jedoch bis zum heutigen Tag noch kein Virus isoliert werden konnte (PHAN et al., 2016; CHEN et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017). In einem Versuch zur Virusisolation wurden porcine Hoden- und Nierenzellen mit fetalen Gewebeproben beimpft (PALINSKI et al., 2017). Dabei stellten die Autoren weder einen zytopathischen Effekt noch Fluoreszenzsignale, die auf das Vorkommen von PCV3 hindeuten, mittels MAb 14 fest (PALINSKI et al., 2017).

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung lagen 43 Serumproben von PDNS Fällen aus den Jahren 2003 bis 2013 vor. Diese Tiere erwiesen sich bereits zu 100% zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als PCV2-positiv. Mit 43 Tieren war die Probenanzahl in der vorliegenden Studie vergleichbar mit der Anzahl der Proben in der Untersuchung von PALINSKI et al. (2017), die 48 Schweine mit PDNS auf PCV3-DNA mittels IHC und qPCR untersuchten. In der Arbeit von PALINSKI et al. (2017) konnte bei 45 von 48 Schweinen PCV3-DNA mittels qPCR detektiert werden (PALINSKI et al., 2017). In der vorliegenden Studie gelang lediglich bei insgesamt 7% (3/43) der PDNS Fälle der PCV3-DNA Nachweis mittels real-time PCR in den Serumproben. Zweifelsfrei unterscheiden sich die oben beschriebenen Ergebnisse von PALINSKI et al. (2017) hinsichtlich des Nachweises von PCV3-DNA im Zusammenhang mit PDNS, deutlich von den Ergebnissen dieser Studie.

Eine mögliche Ursache für diese stark unterschiedliche Nachweisrate bei Schweinen mit klinischen Anzeichen von PDNS, könnte die unterschiedliche Vorselektion der beprobten Tiere sein. So wählten PALINSKI et al. (2017) für ihre Untersuchungen nur Tiere aus, die bereits negativ auf PCV2-DNA getestet wurden. Bei der vorliegenden Arbeit handelte es sich im Gegensatz zu der Studie von PALINSKI et al. (2017), um PDNS Fälle die vorberichtlich zu 100% PCV2-positiv getestet wurden. Die Bedeutung von PCV3 für die Entstehung von PDNS kann auf Basis der vorliegenden Ergebnisse nicht eindeutig geklärt werden. Da PCV3 bei den Tieren mit PDNS lediglich zu 7% nachgewiesen werden konnte, lässt sich in diesen Fällen nicht auf eine Kausalität von PCV3 für klinische Anzeichen von PDNS schließen. PCV2 assoziierte Symptome wie PDNS oder auch

PMWS ließen sich bisher nur mit einer Koinfektion mit PPV, PRRSV, TTSuV oder einer postnatalen Injektion des Immunstimulators keyhole limpet hemocyanin (KLH) experimentell hervorrufen (KRAKOWKA et al., 2001; HA et al., 2008; KRAKOWKA et al., 2008). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten allerdings keine weiteren möglichen infektiösen Faktoren, die für das Auftreten von PDNS verantwortlich gemacht werden und somit auch nicht als ursächlich ausgeschlossen werden. Infolgedessen ist es im Rahmen der vorliegenden Arbeit als fraglich anzusehen, ob Symptome wie PDNS durch eine reine PCV3 Infektion ausgelöst werden können.

Basierend auf retrospektiven PCV3-DNA Nachweisen aus den Jahren 1993 in Schweden (YE et al., 2018) sowie 2001 und 2002 im Vereinigten Königreich (COLLINS et al., 2017), schien bei sachgemäßer Lagerung der Serumproben auch nach vielen Jahren, ein Genomnachweis noch möglich zu sein. PCV2-DNA konnte bei der erneuten Untersuchung zu 95,4% (41/43) detektiert werden. Die Ct-Werte der real-time PCR zur Untersuchung auf PCV2 aus den Jahren 2003 bis 2013 lagen nicht vor. Somit ist die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, dass die zwei in der Nachuntersuchung negativ getesteten Proben schon in der ersten zurückliegenden Untersuchung einen sehr hohen Ct-Wert, sprich eine niedrige Viruslast, aufwiesen und bei der wiederholten Untersuchung im Rahmen dieser Studie einige Jahre später nicht mehr als PCV2-positiv detektiert werden konnten.

ZOU et al. (2018) vermuteten aufgrund ihrer phylogenetischen Berechnungen, dass PCV3 schon seit 1966 innerhalb der Schweinebestände zirkuliert und es sich dabei um kein erst kürzlich aufgetretenes Virus handelt. Ebenso ließ sich bei der vorliegenden Untersuchung, der früheste Nachweis von PCV3-DNA in deutschen Hausschweinbeständen bereits auf das Jahr 2007 datieren. Darauf begründet, kann angenommen werden, dass PCV3 schon seit mindestens 2007 in deutschen Hausschweinbeständen zirkuliert. Aufgrund genetischer Analysen vermuten PRINZ et al. (2019) ebenso, dass bereits seit vor dem Bau der Berliner Mauer im Jahr 1961 und damit der geographischen Trennung diverser Wildschweinfamilien, PCV3 in der

untersuchten Wildschweinpopulation zirkuliert. Auch in Italien verzeichnete die Wildschweinpopulation des Colli Euganei Regional Park eine Prävalenz von 30%. Diese Wildschweine zeigten keinerlei klinische Anzeichen (FRANZO et al., 2018b). Somit bleibt auch nachhaltig die Frage offen, ob Wildschweinpopulationen als PCV3 Reservoir für die deutschen Hausschweinbestände angesehen werden könnten (PRINZ et al., 2019) oder PCV3 durch speziesübergreifende Übertragung von Circoviren entstanden sein könnte (PALINSKI et al., 2017). Begründet durch die Sequenzähnlichkeiten zu bestimmten Fledermaus-Circoviren vermuten ZOU et al. (2018), dass der Ursprung der Verbreitung von PCV3 in Wirtstieren der Ordnung Chiroptera (Fledertiere) zu suchen ist. PCV3 könnte aber auch aus der Rekombination von unbekanntem Circoviren hervorgegangen sein (PALINSKI et al., 2017). Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse bestätigen zumindest, dass PCV3 auch in der deutschen Hausschweinpopulation mindestens seit 2007 zirkuliert und der Nachweis in klinisch auffälligen Tieren erst kürzlich gelungen ist.

Wie aus Tabelle 3 zu entnehmen, wiesen die auf PCV3-DNA positiv getesteten Schweine alle mit Werten über 30 eine niedrige Viruslast auf. In allen drei PCV3-positiven Proben konnte auch PCV2-DNA nachgewiesen werden: So wurde in der Probe mit einem PCV3 Ct-Wert von 31,8 ein stark positiver PCV2 Ct-Wert von 14,8 detektiert, bei den Tieren mit PCV3 Ct-Werten von 35,6 und 36,4 beliefen sich die PCV2 Ct-Werte auf 27,3 und 29,6. Da die für die Untersuchung auf PCV3 angewandte qPCR jedoch als spezifisch für PCV3 gilt, kann nicht von einer Kreuzreaktion zwischen PCV2 und PCV3 ausgegangen werden (LI et al., 2018). Alle weiteren Proben (40/43) aus den Jahren 2003 bis 2013 erwiesen sich als PCV3-negativ.

Mehrere Autoren konnten PCV3 bei Tieren ohne jegliche klinische Anzeichen nachweisen (COLLINS et al., 2017; KWON et al., 2017; STADEJEK et al., 2017; FRANZO et al., 2018a). So zeigten STADEJEK et al. (2017) in ihrer Studie, dass neben den Serumproben von Sauen mit klinischen Anzeichen von PDNS oder Reproduktionsstörungen, auch die Seren klinisch unauffälliger Schweine PCV3-positiv waren. Die PCV3 Prävalenz der Tiere mit Anzeichen von PDNS betrug in jenem Bestand

20% (STADEJEK et al., 2017). Da PDNS jedoch nur bei einigen wenigen Tieren auftrat, fand keine weitere Diagnostik statt (STADEJEK et al., 2017). ZHAI et al. (2017) beobachteten in ihren Untersuchungen zu PCV3, dass niedrige Ct-Werte unter 25 nur in den Serumproben nachgewiesen wurden, die von Schweinen mit respiratorischen Anzeichen stammten. Daher vermuteten ZHAI et al. (2017), dass ähnlich zu PCV2 (BRUNBORG et al., 2007; HARDING et al., 2008) hohe PCV3 Mengen klinische Erscheinungsbilder hervorrufen könnten (ZHAI et al., 2017). Die in der vorliegenden Studie detektierten PCV3 Ct-Werte lagen eher in positiv bis schwach positiven Bereichen, somit bleibt fraglich, ob eine sehr viel höhere PCV3 Viruslast eher für eine Kausalität einer PCV3 Infektion bei klinischen Anzeichen von PDNS sprechen könnte. Die oben gestellte Arbeitshypothese eines Zusammenhangs von PCV3 mit PDNS, konnte im Rahmen dieser Untersuchungen nicht bestätigt werden.

## **2. PCV3 bei reproduktiven Störungen**

Aufgrund vorhergehender internationaler Berichte, die PCV3-DNA in fetalen Gewebeproben nachweisen konnten, wird eine mögliche vertikale Übertragung von PCV3 von der Sau auf die Feten, sowie eine Rolle bei Abortgeschehen, diskutiert (FACCINI et al., 2017; FAN et al., 2017; KU et al., 2017; PALINSKI et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017; ZOU et al., 2018).

Aufgrund ihrer Ergebnisse vermuten ZOU et al. (2018), dass eine vertikale Transmission von PCV3 durch die Muttersau auf die Feten stattfinden könnte. Ebenso beschrieben SUKMAK et al. (2018) eine vertikale Übertragung von Muttertieren auf die Feten indem sie PCV3-DNA bei einen Tag alten Ferkeln nachwiesen. Dieser Weg der vertikalen Übertragung konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden. ZOU et al. (2018) sammelten zwischen 2015 und 2016 Serumproben von 190 Sauen im Süden Chinas aus Betrieben mit länger bekannten Reproduktionsstörungen. Von Sauen, die klinisch durch Reproduktionsstörungen auffielen, wurden 85 Serumproben entnommen (ZOU et al., 2018). Bei den verbleibenden 105 Sauen, handelte es sich um klinisch unauffällige Tiere (ZOU et al., 2018). 45,9% der von ZOU et al. (2018) untersuchten Serumproben, stellten sich in der qPCR als PCV3-



positiv dar. Im Gegensatz zu den Tieren innerhalb dieser Arbeit wurde von der Arbeitsgruppe eine umfangreiche Ausschlussdiagnostik betrieben. So waren alle diese Sauen mehrfach gegen PCV2 geimpft, sowie mittels PCR negativ auf PRRSV, PRV, PEDV und TGEV getestet (ZOU et al., 2018). Von 33 Aborten, darunter sechs Mumien, dieser Sauen erwiesen sich 60,6% in der qPCR als PCV3-positiv (ZOU et al., 2018). In der hier vorliegenden Studie wurden insgesamt 17,7% (16/90) totgeborene, abortierte oder mumifizierte Ferkel positiv auf PCV3 getestet. Somit ist der Umfang der untersuchten Ferkel wesentlich größer angesetzt, als in der Studie von ZOU et al. (2018). Die Nachweisrate von PCV3-DNA innerhalb der Ferkel im Rahmen der vorliegenden Arbeit unterscheidet sich jedoch erheblich von den Ergebnissen von ZOU et al. (2018). Auch die Zusammensetzung der beprobten Ferkel unterschied sich insoweit, dass in der vorliegenden Arbeit auch totgeborene Ferkel auf PCV3-DNA untersucht wurden. Ob diese unterschiedliche Zusammensetzung der beprobten Tiere die PCV3 Nachweisrate beeinflussen könnte, lässt sich zum heutigen Tag noch nicht beantworten. Bei den Aborten der Studie von ZOU et al. (2018) handelte es sich um Tiere, die im mittleren bis Endstadium der Trächtigkeit geboren wurden. Sechs dieser detektierten PCV3 Stämme im Sauenserum wurden als Stamm PCV3a klassifiziert (ZOU et al., 2018). Es wird sich auch in zukünftigen Untersuchungen die Frage stellen, ob verschiedene PCV3 Stämme ein unterschiedlich pathogenes Potential bergen könnten.

Interessanterweise konnte bei einer fieberhaften Sau aus Bayern, die einen PCV3 Ct-Wert von 25,0 aufwies und vier Wochen vor Geburtstermin den gesamten Wurf abortiert hatte, in keinem der abortierten Feten PCV3-DNA nachgewiesen werden. Aufgrund der fehlenden Virusdetektion, ist nicht von einem durch PCV3 verursachten Abortgeschehen auszugehen, obwohl der Nachweis von PCV3-DNA in Gewebeproben der Sau mit einem Ct-Wert von 25,0 als stark positiv galt. Nicht ausgeschlossen werden kann eine akute PCV3 Virämie der Zuchtsau, die gegebenenfalls zu einem PCV3 bedingten Abort geführt haben könnte. Auch von PCV2 sind Reproduktionsstörungen bei Sauen die zu Spätaborten führen können, beschrieben (SEGALES, 2012).

Im Rahmen dieser Studie konnte keine Assoziation zwischen einem

positiven PCV3 Infektionsstatus von Muttersauen und dem Infektionsstatus der zugehörigen Ferkel bzw. Würfe festgestellt werden ( $p=0,30$ ). Jedoch ließ sich ein signifikanter Zusammenhang ( $p<0,05$ ) sowohl zwischen PCV3-positiven Sauen, als auch PCV3-positiven Würfen bezüglich einer kürzeren Scheitel-Steiß-Länge der Ferkel erkennen. Das Gewicht der abortierten, mumifizierten oder totgeborenen Ferkel ließ keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zu einer vorhandenen PCV3 Infektion bei Sauen oder auch Ferkeln erkennen. Dies könnte jedoch auch mit dem teilweise unterschiedlichen Autolysegrad der Ferkel einhergehen (ZHOU & BYARD, 2015). Basierend auf dieser Datenlage, kann davon ausgegangen werden, dass eine vertikale Übertragung von der Zuchtsau auf die Feten stattfinden kann. Jedoch kann basierend auf diesen Ergebnissen nicht auf eine Kausalität von PCV3 als möglicher Aborterreger geschlossen werden. So wurden in der vorliegenden Untersuchung keine weitere Diagnostik auf andere mögliche Aborterreger durchgeführt. Insgesamt konnte nur bei drei PCV3-positiv getesteten Sauen auch im Abortmaterial PCV3-DNA detektiert werden. Auch die Parität der Zuchtsauen lies keine Aussage darüber zu, ob ein Wurf der Sau potentiell eher PCV3-DNA aufweisen könnte. Somit war im Rahmen dieser Arbeit kein Zusammenhang zu erkennen, ob bei Altsauen eher PCV3-DNA detektiert werden kann als bei Jungsaunen. Die Arbeitshypothese, dass PCV3 bei Zuchtsauen in Deutschland detektiert werden kann, bestätigte sich im Rahmen dieser Studie.

Betrachtet man die SSL der vorliegenden PCV3-positiven Ferkel mit einer durchschnittlichen SSL von 14,5cm so würden diese sich in einem Alter von etwa 60 bis 70 Tagen zum Zeitpunkt der sistierenden Weiterentwicklung innerhalb des Uterus befinden (vergleichen mit Tabelle 15) (EVANS & SACK, 1973). Die hier untersuchten PCV3-negativen Ferkel würden laut EVANS und SACK (1973) mit einem Mittelwert von 21,5cm einem Alter von 80 bis 90 Tagen post conceptionem (p.c.) zugeordnet werden.

**Tabelle 15: Korrelation des Alters der Feten mit der Scheitel-Steiß-Länge nach EVANS und SACK (1973)**

Korrelation SSL zu Alter der Feten	Alter der Feten in Tagen	SSL in mm
	20	12
	25	20
	30	25
	35	30
	40	50
	45	65
	50	85
	55	106
	60	125
	70	160
	80	210
	90	240
100	270	

Demnach kann vermutet werden, dass PCV3 schon in frühen Trächtigkeitsstadien von der Muttersau auf die Feten übertragen wird. Falls PCV3 Infektionen bei Reproduktionsstörungen, wie Aborten oder totgeborenen Ferkeln, eine Rolle spielen würden (PALINSKI et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017), könnte aufgrund der Daten in der vorliegenden Arbeit in Betracht gezogen werden, dass PCV3 Infektion im Anfangsstadium der Trächtigkeit einen Einfluss auf die Sau oder deren Feten hat. Dem vorausgesetzt, wären für eine gezielte Diagnostik von PCV3, eher die Aborte oder Totgeburten mit einer kürzeren SSL heranzuziehen.

### 3. Ct-Werte einzelner Organe

Im einer retrospektiven Studie aus Schweden wurden 49 Lymphknotengewebebeobproben von Schweinen aus den Jahren 1993 bis 2004 zur Untersuchung von PCV3-DNA verwendet (YE et al., 2018). Von den 49 beprobten Lymphknotengewebe gelang der Genomnachweis von PCV3 bei zehn Proben (20,4%) (YE et al., 2018). Ein Großteil dieser Tiere wies keinerlei klinische Anzeichen auf (9/10) (YE et al., 2018). Lediglich eines der PCV3-positiven Schweine stammte aus einem Betrieb mit

vorberichtlicher PMWS Problematik (YE et al., 2018). Bei 70% der PCV3-positiven Tiere konnten Koinfektionen wie TTSuV 1, TTSuV 2 sowie zu 50% PBoCV detektiert werden (YE et al., 2018). In der vorliegenden Arbeit, wie in Tabelle 10 ersichtlich, gelang ein PCV3-DNA Nachweis aus Inguinallymphknoten von abortierten Feten in einer vergleichbar hohen Anzahl (n=5).

YUZHAKOV et al. (2018) untersuchten zwei Sauenbestände an unterschiedlichen Orten Russlands. Bei einem Betrieb in West Sibiriens fielen Sauen durch klinische Anzeichen von PDNS, sowie abortierte und totgeborene Ferkel auf (YUZHAKOV et al., 2018). In einem zweiten Bestand in Smolensk konnten ebenso vermehrt Aborte und totgeborene Ferkel, sowie multisystemische Entzündungen bei Sauen beobachtet werden (YUZHAKOV et al., 2018). Alle entnommenen Proben (Serum, Körperhöhlenflüssigkeit, Nierengewebeproben von Absetzern, Milzgewebeproben von Mastschweinen) erweisen sich als PCV2-negativ (n=77) (YUZHAKOV et al., 2018). Bei 10% der entnommenen Serumproben der Sauen konnte PCV3-DNA nachgewiesen werden. Die Arbeitsgruppe detektierte PCV3-DNA zu 100% in der Körperhöhlenflüssigkeit und zu 75% in der Milz totgeborener Ferkel (YUZHAKOV et al., 2018). Allerdings wurden in dieser Studie weder Ct-Werte noch eine Aufstellung der Anzahl der einzelnen Proben angegeben. Um eine Aussage darüber treffen zu können, weshalb der Arbeitsgruppe ein häufigerer Genomnachweis in Körperhöhlenflüssigkeiten, als in Gewebeproben gelang, würden weitere Studien benötigt werden.

Auch in Japan versuchten HAYASHI et al. (2018), einen Zusammenhang zwischen der Nachweisrate von PCV3-DNA und bestimmten Organproben festzustellen. HAYASHI et al. (2018) sammelten von 73 Schweinen aus 27 japanischen Beständen Gewebeproben von Feten, Saugferkeln, abgesetzten Ferkeln und Mastschweinen. Die Tiere wurden aufgrund verstärkter abdominaler Atmung, plötzlichem Verenden, reduziertem Allgemeinbefinden, neurologischen Symptomen oder reproduktiven Störungen ausgewählt und auf PCV3-DNA mittels qPCR untersucht (HAYASHI et al., 2018). Die Nachweisraten von PCV3-DNA der jeweiligen Gruppen lag hier bei 6,7% (1/15) der Feten, 13,3% (2/15) der Saugferkel,

9,0% (1/11) der abgesetzten Ferkel und 9,4% (3/32) der Mastschweine (HAYASHI et al., 2018). Die Positivrate der Organe lag bei 1,8% der fetalen Organe (1/55), 6,4% in Lungenproben (3/47), 8,0% in der Leber (1/32), 8,0% in Pulmonallymphknoten (2/25), 4,3% in der Milz (1/23), 11,8% in Därmen, 28,6% in der Niere (4/14), 8,3% im Gehirn (1/12), 0% in Tonsillen (0/11), 25% in Mesenteriallymphknoten (1/4), 33,3% in Mandibularlymphknoten (1/3), 0% in Inguinallymphknoten (0/2) und zu 0% in der Placenta (0/2) (HAYASHI et al., 2018). Außerdem konnten bei diesen Tieren auch Koinfektionen mit PPV, PRRSV, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus suis* und *Escherichia coli* detektiert werden (HAYASHI et al., 2018). Prozentual gesehen, gelang HAYASHI et al. (2018) somit der frequenteste PCV3-DNA Nachweis in Mesenterial- und Mandibularlymphknoten. Der Nachweis von PCV3-DNA in Inguinallymphknoten fiel, im Gegensatz zu der hier vorliegenden Arbeit, negativ aus. Jedoch ist die Datenlage noch als insgesamt zu gering zu betrachten, um eine valide Aussage treffen zu können in welchem Organ bei einer bestehenden PCV3 Infektion ein Genomnachweis am wahrscheinlichsten wäre. Die häufige Detektion von PCV3-DNA im Nierengewebe wie HAYASHI et al. (2018) sie beschreiben, konnte in der hier vorliegenden Studie nicht bestätigt werden (siehe Tabelle 10). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch KU et al. (2017), die zwar in verschiedenen Organen PCV3-DNA nachwiesen, PCV3 jedoch keinen eindeutigen Organtropismus zuordnen konnten (HAYASHI et al., 2018). Zwar wird das Virusgenom in diversen Untersuchungen (PHAN et al., 2016; POSTEL et al., 2016; PALINSKI et al., 2017; KEDKOVID et al., 2018) bei einigen klinisch erkrankten Tieren nachgewiesen, jedoch konnten in vielen Fällen auch verschiedene Koinfektionen nachgewiesen werden. PHAN et al. (2016) beschreiben PCV3 im Zusammenhang mit kardialen und multisystemischen Entzündungen und wiesen PCV3 vor allem im Herzen der Tiere nach. Jedoch wurden hier auch andere Erreger wie das porcine astrovirus 4, Rotavirus A, porcine cytomegalievirus oder das porcine hemagglutinating encephalomyelitisvirus detektiert (PHAN et al., 2016). Letzteres steht in dem Verdacht, genauso wie die nachgewiesenen bovine Astroviren, zu neurologischen Symptomen bei Schweinen zu führen (BOUZALAS et al., 2016; LI et al., 2016).

Im Rahmen der hier vorliegenden Studie war es das Ziel den Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PCV3-DNA und dem Vorkommen in verschiedenen Organen zu untersuchen. Bisher wurde nur geringere Anzahlen von abortierten Feten oder Totgeburten herangezogen. Der PCV3-DNA Nachweis bei abortierten Ferkeln oder Totgeburten gelang nur in einem so kleinen Rahmen, dass keine valide Aussage darüber getroffen werden konnte, in welchen Organen besonders häufig PCV3 nachgewiesen werden kann. Aufgrund der geringen Datenlage, gibt es bisher auch keinen eindeutigen Hinweis dafür, in welchem Organ bei einer vorhandenen PCV3 Infektion eine hohe Viruslast zu erwarten ist. Nur bei fünf abortierten Feten aus zwei Betrieben in Baden-Württemberg war es möglich, PCV3-DNA zu detektieren und die einzelnen Organe mithilfe einer real-time PCR zu untersuchen. Zwei der untersuchten abortierten Feten stellten sich in der qPCR als PCV3 stark positiv heraus. Wie in Tabelle 10 ersichtlich, ließ sich die höchste Viruslast in Lunge, Milz, Leber und Niere bei stark positiven Tieren nachweisen. Hier fiel auf, dass in vielen Organen kein PCV3 Genomnachweis gelang. Lediglich in Gehirn, Lymphknotengewebe und im Knochenmark gelang bei fünf von fünf Organproben der PCV3 Nachweis. Die in Tabelle 10 angegebenen Ct-Werte der jeweiligen Organe lassen jedoch aufgrund der geringen Probenanzahl keine Aussage darüber treffen, ob eine gezielte Probenentnahme von speziellen Organen bei PCV3 künftig als zielführend zu erachten ist.

Bei PCV2 ist ein Zusammenhang zwischen hoher Viruslast in Geweben und virusbedingten histopathologischen Läsionen laut SEGALLES (2012) anzunehmen. SEGALLES (2012) empfiehlt zum quantitativen Nachweis von PCV2 eine Kombination aus histopathologischer Untersuchung und qPCR von den betroffenen Organen und des lymphatischen Gewebes. Angesichts der hohen Prävalenz von PCV3 und der im Allgemeinen nicht sehr starken Viruslast in Geweben, stellt sich nachhaltig die Frage, ob dieses Prinzip auch für PCV3 anwendbar ist (FUX et al., 2018). Bisher liegen nur vereinzelte Studien über histopathologische Untersuchungen von PCV3 vor (PALINSKI et al., 2017). Aufgrund der häufig niedrigen Viruslast der Proben und moderaten Sensitivität der PCR, nutzten FUX et al. (2018) eine

RCA um größere Fragmente des PCV3-Genoms zu amplifizieren, um daraus vollständige Genomsequenzen zu erhalten. Somit werden auch im Bereich der Nachweisverfahren von PCV3-DNA weitere Studien nötig sein.

Um über die Wahrscheinlichkeit des Nachweises von PCV3 in bestimmten Organen eine Aussage treffen zu können kann aufgrund der geringen Datenlage noch keine abschließende Aussage gemacht werden. Zudem gilt nach wie vor als fraglich, inwieweit PCV3 als neu entdecktes Virus ein pathogenes Potential für die weltweite Hausschweinpopulation birgt. Bis heute liegt noch kein Virusisolat von PCV3 für einen möglichen Infektionsversuch bei Schweinen vor (PHAN et al., 2016; CHEN et al., 2017; TOCHETTO et al., 2017). Um eine valide Aussage über ein potentielles Risiko von PCV3 für die Hausschweinpopulation treffen zu können, wäre um die Henle-Koch-Postulate zu erfüllen, ein Infektionsversuch notwendig.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Im Jahr 2016 wurde porcine circovirus type 3 (PCV3) DNA erstmals in nordamerikanischen Hausschweinebeständen detektiert. Im weiteren Verlauf bestätigten sich Infektionen der Haus- und Wildschweinpopulationen in verschiedenen Regionen der Welt. Seit der ersten Entdeckung wurde PCV3 mit der Präsenz von verschiedenen klinischen Anzeichen wie z.B. porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS), Reproduktionsstörungen, Myokarditis oder auch ohne klinische Anzeichen festgestellt.

Basierend auf diesen Studien wurden aus den Jahren 2017 bis 2018 949 Organproben von totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln mittels real-time PCR auf PCV3-DNA untersucht. Diese Ferkel stammten von insgesamt 34 verschiedenen Würfen aus fünf deutschen Bundesländern. Dazu wurden auch 26 Serumproben der zugehörigen Sauen untersucht. Die Ferkel und Serumproben der Sauen lagen als routinediagnostische Proben in der Klinik für Schweine der LMU München vor. In der vorliegenden Untersuchung, konnte bei 17,8% (16/90) der Gewebeproben der Ferkel PCV3-DNA nachgewiesen werden. Bei 34,6% (9/26) der Serumproben von Sauen mit Reproduktionsstörungen konnte ebenfalls PCV3 detektiert werden. Hierbei fiel auf, dass kein Zusammenhang zwischen einer PCV3 Infektion bei Sauen und einem positiven PCV3-DNA Nachweis von deren totgeborenen, abortierten oder mumifizierten Ferkeln festgestellt werden konnte. Das Gewicht der Ferkel stand in keinem signifikanten Zusammenhang zu einer möglichen PCV3 Infektion der Sauen und Ferkel. Auch die Parität der Sau schien kein Indikator dafür zu sein, ob eine PCV3 Infektion sowohl bei der Sau als auch bei deren Ferkel wahrscheinlicher ist. Im Rahmen dieser Untersuchungen, konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen PCV3-positiven Ferkeln und einer kürzeren Scheitel-Steiß Länge der abortierten, mumifizierten oder totgeborenen Ferkel nachgewiesen werden. Dies wurde ebenso bei PCV3-positiven Sauen festgestellt deren Ferkel ebenso eine kürzere Scheitel-Steiß-Länge aufwiesen.



Um eine Aussage über die Häufigkeit des Auftretens von PCV3-DNA in speziellen Gewebeproben machen zu können, wurden von den 90 Ferkeln Organproben entnommen und diese einzeln auf PCV3 untersucht. Aus jedem der 20 Bestände wurden durchschnittlich vier Ferkel beprobt. PCV3 konnte, im Rahmen dieser Studie, kein valider Organtropismus zugeordnet werden.

Weiterhin war es auch Ziel den Zusammenhang zwischen einer PCV3 Infektion und dem porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) zu untersuchen. Dafür standen aus den Jahren 2003 bis 2013 insgesamt 43 Serumproben von Schweinen mit klinischen Anzeichen von PDNS zur Verfügung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Serumproben der PDNS Fälle nochmals auf PCV2 und PCV3 mittels real-time PCR untersucht. 95,4% (41/43) erwiesen sich als PCV2 positiv. Der Nachweis der PCV3-DNA gelang bei 7% (3/43) der Proben. Somit kann im Rahmen dieser Arbeit kein Zusammenhang zwischen PDNS und einer PCV3 Infektion bestätigt werden.

## VII. SUMMARY

### **Retrospective study of the occurrence of the porcine circovirus type 3 in aborted or stillborn piglets and swine with the porcine dermatitis and nephropathy syndrome**

For the first time porcine circovirus type 3 (PCV3) DNA was detected in North American livestock in 2016. Subsequently the infections in populations of domestic swines and wild boars were confirmed in various regions of the world. Since the first detection PCV3 has been found in the presence of various clinical symptoms like porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS), reproductive failure, myocarditis – or even without any symptoms.

Based on these studies 949 organ samples of stillborn, aborted or mummified piglets from the years 2017 to 2018 were examined for PCV3-DNA by means of real-time PCR. These piglets originated from a total of 34 different litters from five German states. In addition 26 serum samples of the pertinent sows were examined. The piglets and serum samples from the sows were present as routine diagnostic samples at the Clinic for Swine of the Ludwig-Maximilians-University, Munich. The results of the examination through real-time PCR was that 17.8% (16/90) of the organ samples of the piglets could be tested positively for PCV3-DNA in tissue samples of the piglets. In 34.6% (9/26) of the sera from sows with reproductive failure PCV3 was also detected. It was noticed that there was no correlation between a PCV3 infection in sows and a PCV3-positive result of their stillborn, aborted or mummified piglets. The bodyweight of the piglets was not in a significant correlation to a possible PCV3 infection of the sows and their piglets. Moreover the parity of the sows did not seem to be an indicator whether a PCV3 infection is more presumable in sows as well as in their piglets. In the context of these studies a significant correlation could be established between PCV3-positive piglets and a shorter crown-rump-length of the aborted, mummified or stillborn piglets. This could also be verified in piglets of PCV3-positive sows.

To be able to make a statement as to the frequency of finding PCV3-DNA

---

in specific tissue samples, organ samples were taken from 90 piglets and each of them was examined for PCV3. An average of four piglets was sampled from each of the twenty livestock. Within the scope of this study no valid organ tropism could be associated for an PCV3.

Apart from the study regarding the reproductive failure of the sows was another objective to examine the association between PCV3 and the porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS). For this 43 serum samples from swines with clinical signs from the years 2003 to 2013 were available. In this study the serum samples of the PDNS cases were examined again for PCV2 and PCV3 via real-time PCR. 95.4% (41/43) turned out to be PCV2 positive. PCV3-DNA was successfully found in 7% (3/43) of the serum samples. In the scope of this work there could not be made an association between PDNS and PCV3.

## VIII. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Infektiöse Ursachen beim Schwein für Aborte, Totgeburten und Mumifikation der Ferkel nach (KIRKWOOD et al., 2012) .....</i>	<i>16</i>
<i>Tabelle 2: Darstellung der Sequenzen und Konzentrationen der Oligonukleotid-Primer und der TaqMan Sonde (PALINSKI et al., 2017).</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 3: Einteilung der Ergebnisse der real-time PCR.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 4: Aufteilung der Ferkel (n<sub>ges</sub>=90), Würfe (n<sub>ges</sub>=34) und untersuchte Bestände (n<sub>ges</sub>=20) der fünf deutschen Bundesländer .....</i>	<i>24</i>
<i>Tabelle 5: Übersicht der PCV3 Genomnachweise in abortierten, totgeborenen oder als Mumien geborenen Ferkeln.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 6: Anzahl Ferkel (n<sub>ges</sub>=35) und Würfe (n<sub>ges</sub>=15) mit Ct-Werten der untersuchten Aborte pro Bundesland .....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 7: PCV3 positive abortierte Würfe aus Niedersachsen (n=2) .....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 8: PCV3-negativer Abort aus Bayern einer PCV3-positiven Sau (n=5).....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 9: Auf PCV3 untersuchte Mumien aus den Jahren 2017 und 2018 (n<sub>ges</sub>=10) .....</i>	<i>32</i>
<i>Tabelle 10: Ct-Werte in einzelnen Organen von abortierten Ferkeln zweier Bestände in Baden-Württemberg aus dem Jahr 2017 (n=5).....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 11: Anzahl PCV3-positiver (n=5) oder negativer (n=21) Würfe pro PCV3 positiver (n=17) oder negativer Sau (n=9).....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 12: Mittlere SSL (cm) der Ferkel von PCV3-positiven (n=9) oder negativen Sauen (n=17) .....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 13: Gewicht (g) der Ferkel von PCV3-positiven (n=9) oder negativen Sauen (n=17) .....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 14: Parität von PCV3-positiv (n=9) und negativ getesteter Sauen (n=17).....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 15: Korrelation des Alters der Feten mit der Scheitel-Steiß-Länge nach EVANS und SACK (1973) .....</i>	<i>45</i>
<i>Tabelle 16: Auflistung der Proben von abortierten, totgeborenen und mumifizierten Ferkeln 1= totgeboren, 2= abortiert, 3= mumifiziert), Ct-Werte Ferkel, PCV3 pos ja/nein( = 1/0), SS-Länge, Gewicht, Ct-Werte Sau, Parität Sau, Bundesland, Bestandsnr.....</i>	<i>68</i>

*Tabelle 17: PDNS Serumproben aus den Jahren 2003 bis 2013 ..... 70*

## **IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

<i>Abbildung 1: PCV2 und PCV3 positive Proben von Schweinen mit PDNS aus den Jahren 2003 bis 2013 (<math>n_{ges}=43</math>).....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 2: Verteilung der untersuchten Serumproben der Sauen bezüglich der abortierten, mumifizierten oder totgeborenen Ferkel pro Bundesland (NI, BY, NRW, BW). Doppelnennung ist möglich, wenn pro Sau sowohl Mumien, als auch Totgeburt und/oder Abort auftraten .....</i>	<i>34</i>
<i>Abbildung 3: Mittelwerte der Scheitel-Steiß-Länge von PCV3 positiv oder negativ getesteten Ferkeln. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied (<math>p &lt; 0,05</math>) bezüglich der mittleren Scheitel-Steiß-Länge.....</i>	<i>37</i>

## X. LITERATURVERZEICHNIS

Bouzalas IG, Wuthrich D, Selimovic-Hamza S, Drogemuller C, Bruggmann R, Seuberlich T. Full-genome based molecular characterization of encephalitis-associated bovine astroviruses. *Infect Genet Evol* 2016; 44: 162-168.

Brown JT, Paul P, Mengeling W. Response of conventionally raised weanling pigs to experimental infection with a virulent strain of porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 1980; 41: 1221-1224.

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: 368-375.

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

Chen GH, Mai KJ, Zhou L, Wu RT, Tang XY, Wu JL, He LL, Lan T, Xie QM, Sun Y, Ma JY. Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. *Transbound Emerg Dis* 2017; 64: 1650-1654.

Choi C, Chae C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephropathy syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol* 2001; 38: 436-441.

Collins PJ, McKillen J, Allan G. Porcine circovirus type 3 in the UK. *Vet Rec* 2017; 181: 599-599.

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: 13036-13041.

Daniels E, Woollen N, Wilson D, Phillips R, Yeary T. Investigating the link between Chlamydia and perinatal morbidity and mortality in swine herds. *Vet Med* 1994: 157-162.

de Groof A, Deijs M, Guelen L, van Grinsven L, van Os-Galdos L, Vogels W, Derks C, Cruijssen T, Geurts V, Vrijenhoek M, Suijskens J, van Doorn P, van Leengoed L, Schrier C, van der Hoek L. Atypical porcine pestivirus: a possible cause of congenital tremor Type A-II in newborn piglets. *Viruses* 2016; 8: E271.

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

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

Drolet R, Thibault S, D'Allaire S, Thomson J, H. Done S (1999) Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): An overview of the disease

Evans HE, Sack WO. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Zentralbl Veterinarmed C* 1973; 2: 11-45.



Faccini S, Barbieri I, Gilioli A, Sala G, Gibelli LR, Moreno A, Sacchi C, Rosignoli C, Franzini G, Nigrelli A. Detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in Italy. *Transbound Emerg Dis* 2017; 64: 1661-1664.

Fan S, Ku X, Chen F, Wang Y, Yu X, He Q. Complete genome sequence of a novel porcine circovirus type 3 strain, PCV3/CN/Hubei-618/2016, isolated from China. *Genome Announc* 2017; 5: e00100-00117.

Forman AJ, Lenghaus C, Hogg GG, Hale CJ. Association of parvovirus with an outbreak of foetal death and mummification in pigs. *Aus Vet J* 1977; 53: 326-329.

Franzo G, Legnardi M, Hjulsager CK, Klaumann F, Larsen LE, Segales J, Drigo M. Full-genome sequencing of porcine circovirus 3 field strains from Denmark, Italy and Spain demonstrates a high within-Europe genetic heterogeneity. *Transbound Emerg Dis* 2018a; 65: 602-606.

Franzo G, Tucciarone CM, Drigo M, Cecchinato M, Martini M, Mondin A, Menandro ML. First report of wild boar susceptibility to Porcine circovirus type 3: High prevalence in the Colli Euganei Regional Park (Italy) in the absence of clinical signs. *Transbound Emerg Dis* 2018b: 957-962.

Fu X, Fang B, Ma J, Liu Y, Bu D, Zhou P, Wang H, Jia K, Zhang G. Insights into the epidemic characteristics and evolutionary history of the novel porcine circovirus type 3 in southern China. *Transbound Emerg Dis* 2017: E296-E303.

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

Ha Y, Lee YH, Ahn K-K, Kim B, Chae C. Reproduction of postweaning

multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Vet Pathol* 2008; 45: 842-848.

Harding JC, Baker CD, Tumber A, McIntosh KA, Parker SE, Middleton DM, Hill JE, Ellis JA, Krakowka S. Porcine circovirus-2 DNA concentration distinguishes wasting from nonwasting pigs and is correlated with lesion distribution, severity, and nucleocapsid staining intensity. *J Vet Diagn Invest* 2008; 20: 274-282.

Hayashi S, Ohshima Y, Furuya Y, Nagao A, Oroku K, Tsutsumi N, Sasakawa C, Sato T. First detection of porcine circovirus type 3 in Japan. *J Vet Med Sci* 2018; 1337-1341.

Kedkovid R, Woonwong Y, Arunorat J, Sirisereewan C, Sangpratum N, Lumyai M, Kedsangsakonwut S, Teankum K, Jittimanee S, Thanawongnuwech R. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). *Vet Microbiol* 2018; 215: 71-76.

Kim HR, Park YR, Lim DR, Park MJ, Park JY, Kim SH, Lee KK, Lyoo YS, Park CK. Multiplex real-time polymerase chain reaction for the differential detection of porcine circovirus 2 and 3. *J Virol Methods* 2017; 250: 11-16.

Kim SC, Nazki S, Kwon S, Juhng JH, Mun KH, Jeon DY, Jeong CG, Khatun A, Kang SJ, Kim WI. The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea. *BMC Vet Res* 2018; 14: 294.

Kirkwood R, Althouse G, Yaeger M, Carr J, Almond G. Diseases of the Reproductive System. In: *Diseases of Swine*, 10th edn. Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K, Stevenson G, eds. Wiley-Blackwell: 2012: 329-348.

Klaumann F, Dias-Alves A, Cabezon O, Mentaberre G, Castillo-Contreras

R, Lopez-Bejar M, Casas-Diaz E, Sibila M, Correa-Fiz F, Segales J. Porcine Circovirus 3 (PCV-3) is highly prevalent in serum and tissues and may persistently infect wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Transbound Emerg Dis* 2018; 91-101.

Krakovka S, Ellis JA, McNeilly F, Ringler S, Rings DM, Allan G. Activation of the Immune System is the Pivotal Event in the Production of Wasting Disease in Pigs Infected with Porcine Circovirus-2 (PCV-2). *Vet Pathol* 2001; 38: 31-42.

Krakovka S, Hartunian C, Hamberg A, Shoup D, Rings M, Zhang Y, Allan G, Ellis JA. Evaluation of induction of porcine dermatitis and nephropathy syndrome in gnotobiotic pigs with negative results for porcine circovirus type 2. *Am J Vet Res* 2008; 69: 1615-1622.

Ku X, Chen F, Li P, Wang Y, Yu X, Fan S, Qian P, Wu M, He Q. Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China. *Transbound Emerg Dis* 2017; 64: 703-708.

Kwon T, Yoo SJ, Park C-K, Lyoo YS. Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations. *Vet Microbiol* 2017; 207: 178-180.

Lainson FA, Aitchison KD, Donachie W, Thomson JR. Typing of *Pasteurella multocida* Isolated from Pigs with and without Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 588-593.

Li X, Qiao M, Sun M. A Duplex Real-Time PCR Assay for the Simultaneous Detection of Porcine Circovirus 2 and Circovirus 3. *Viol Sin* 2018; 33: 181-186.

Li Z, He W, Lan Y, Zhao K, Lv X, Lu H, Ding N, Zhang J, Shi J, Shan C, Gao F. The evidence of porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus induced nonsuppurative encephalitis as the cause of death in piglets. *Peer J* 2016; 4: e2443.

Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 1292-1305.

Majzoub M, Ritzmann M, Truyen U, Matiasek K, Heinritzi K, Hermanns W. Porzines Dermatitis-Nephropathie-Syndrom (PDNS) – eine Übersicht über pathomorphologische Veränderungen. *Tierärztl Prax Ausg G Großtiere Nutztiere* 2005; 33: 169-174.

Mankertz A, Caliskan R, Hattermann K, Hillenbrand B, Kurzendoerfer P, Mueller B, Schmitt C, Steinfeldt T, Finsterbusch T. Molecular biology of Porcine circovirus: analyses of gene expression and viral replication. *Vet Microbiol* 2004; 98: 81-88.

McKeown NE, Fenaux M, Halbur PG, Meng XJ. Molecular characterization of porcine TT virus, an orphan virus, in pigs from six different countries. *Vet Microbiol* 2004; 104: 113-117.

Mengeling WL, Cutlip RC. Reproductive disease experimentally induced by exposing pregnant gilts to porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 1976; 37: 1393-1400.

Mengeling WL, Paul PS, Brown TT. Transplacental infection and embryonic death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception. *Archives of Virology* 1980; 65: 55-62.

Mengeling WL, Lager KM, Zimmerman JK, Samarikermani N, Beran GW. A current assessment of the role of porcine parvovirus as a cause of fetal porcine death. *J Vet Diagn Invest* 1991; 3: 33-35.

Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 199-210.

Neto JF, Vasconcellos SA, Ito FH, Moretti ASA, Camargo CA, Sakamoto SM, Marangon S, Turilli C, Martini M. *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae seropositivity and the reproductive performance of sows. *Prev Vet Med* 1997; 31: 87-93.

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

Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: E63.

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

Park YR, Kim HR, Kim SH, Lee KK, Lyoo YS, Yeo SG, Park CK. Loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid and visual detection of novel porcine circovirus 3. *J Virol Methods* 2018; 253: 26-30.

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

Piepenburg O, Williams CH, Stemple DL, Armes NA. DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biol* 2006; 4: e204.

Postel A, Hansmann F, Baechlein C, Fischer N, Alawi M, Grundhoff A,

Derking S, Tenhüdnfeld J, Pfankuche VM, Herder V, Baumgärtner W, Wendt M, Becher P. Presence of atypical porcine pestivirus (APPV) genomes in newborn piglets correlates with congenital tremor. *Sci Rep* 2016; 6: 27735.

Prinz C, Stillfried M, Neubert LK, Denner J. Detection of PCV3 in German wild boars. *Virology* 2019; 16: 25.

Schautteet K, Vanrompay D. Chlamydiaceae infections in pig. *Vet Res* 2011; 42: 29.

Schwarz L, Riedel C, Hogler S, Sinn LJ, Voglmayr T, Wochtl B, Dinhopf N, Rebel-Bauder B, Weissenböck H, Ladinig A, Rumenapf T, Lamp B. Congenital infection with atypical porcine pestivirus (APPV) is associated with disease and viral persistence. *Vet Res* 2017; 48: 1.

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

Shen H, Liu X, Zhang P, Wang L, Liu Y, Zhang L, Liang P, Song C. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China. *Transbound Emerg Dis* 2017: 264-266.

Stadejek T, Wozniak A, Milek D, Biernacka K. First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. *Transbound Emerg Dis* 2017: 1350-1353.

Strutzberg-Minder K, Kreienbrock L. Leptospireninfektionen beim Schwein: Epidemiologie, Diagnostik und weltweites Vorkommen. *Berl Münch Tierärztl* 2011; 124: 345-359.

Sukmak M, Thanantong N, Poolperm P, Boonsoongnern A, Ratanavanichrojn N, Jirawattanapong P, Woonwong Y, Soda N, Kaminsonsakul T, Phuttapatimok S, Wajjwalku W. The retrospective identification and molecular epidemiology of porcine circovirus type 3 (PCV3) in swine in Thailand from 2006 to 2017. *Transbound Emerg Dis* 2018; 611-616.

Thibault S, Drolet R, Germain M-C, D'allaire S, Larochelle R, Magar R. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Vet Pathol* 1998; 35: 108-116.

Thiel H, König M, Beer M, Haas L, Pfeffer M. Einzelstrang-RNA-Viren. In: *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, 9th edn Stuttgart Enke Verlag 2011: 531-651.

Thoma R, Guscetti F, Schiller I, Schmeer N, Corboz L, Pospischil A. Chlamydiae in porcine abortion. *Vet Pathol* 1997; 34: 467-469.

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

Tochetto C, Lima DA, Varela APM, Loiko MR, Paim WP, Scheffer CM, Herpich JI, Cerva C, Schmitd C, Cibulski SP, Santos AC, Mayer FQ, Roehe PM. Full-genome sequence of porcine circovirus type 3 recovered from serum of sows with stillbirths in Brazil. *Transbound Emerg Dis* 2017; 65: 5-9.

Wang J, Zhang Y, Wang J, Liu L, Pang X, Yuan W. Development of a TaqMan-based real-time PCR assay for the specific detection of porcine circovirus 3. *J Virol Methods* 2017; 248: 177-180.

Wellenberg G, Stockhofe-Zurwieden N, De Jong M, Boersma W, Elbers A. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. *Vet Microbiol* 2004; 99: 203-214.

Wen S, Sun W, Li Z, Zhuang X, Zhao G, Xie C, Zheng M, Jing J, Xiao P, Wang M, Han J, Ren J, Liu H, Lu H, Jin N. The detection of porcine circovirus 3 in Guangxi, China. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65: 27-31.

Xu PL, Zhang Y, Zhao Y, Zheng HH, Han HY, Zhang HX, Chen HY, Yang MF, Zheng LL. Detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in central China. *Transbound Emerg Dis* 2018: 1163-1169.

Ye X, Berg M, Fossum C, Wallgren P, Blomstrom AL. Detection and genetic characterisation of porcine circovirus 3 from pigs in Sweden. *Vir Gen* 2018; 54: 466-469.

Yuan J, Han Z, Li J, Huang Y, Yang J, Ding H, Zhang J, Zhu M, Zhang Y, Liao J, Zhao M, Chen J. Atypical porcine pestivirus as a novel type of pestivirus in pigs in China. *Front Microbiol* 2017; 8: 862.

Yuzhakov AG, Raev SA, Alekseev KP, Grebennikova TV, Verkhovsky OA, Zaberezhny AD, Aliper TI. First detection and full genome sequence of porcine circovirus type 3 in Russia. *Virus Genes* 2018; 54: 608-611.

Zhai SL, Zhou X, Zhang H, Hause BM, Lin T, Liu R, Chen QL, Wei WK, Lv DH, Wen XH, Li F, Wang D. Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations. *Viol J* 2017; 14: 222.

Zheng S, Wu X, Zhang L, Xin C, Liu Y, Shi J, Peng Z, Xu S, Fu F, Yu J, Sun W, Xu S, Li J, Wang J. The occurrence of porcine circovirus 3 without clinical infection signs in Shandong Province. *Transbound Emerg Dis* 2017; 64: 1337-1341.



---

Zhou C, Byard RW. Accelerated autolysis and putrefaction at autopsy. *Pathology* 2015; 47: S86.

Zou Y, Zhang N, Zhang J, Zhang S, Jiang Y, Wang D, Tan Q, Yang Y, Wang N. Molecular detection and sequence analysis of porcine circovirus type 3 in sow sera from farms with prolonged histories of reproductive problems in Hunan, China. *Arch Virol* 2018: 2841–2847.

## XI. ANHANG

**Tabelle 16: Auflistung der Proben von abortierten, totgeborenen und mumifizierten Ferkeln 1= totgeboren, 2= abortiert, 3= mumifiziert), Ct-Werte Ferkel, PCV3 pos ja/nein( = 1/0), SS-Länge, Gewicht, Ct-Werte Sau, Parität Sau, Bundesland, Bestandsnr.**

Anzahl	Patientennr.	1=t, 2=a, 3=m	Ct- Wert PCV3	PCV3 1/0	SS- Länge	Gewicht in g	Wurf	PCV3 Ct- Wert Sau	Parität Sau	Bundesland
1	5.2.2.	1	0	0			1		3	BW
2	5.3.1.	1	28	1			2		5	BW
3	5.3.2.	1	19	1			2		5	BW
4	6.1.1.	1	33	1			3		3	BW
5	6.1.2.	1	0	0			3		3	BW
6	6.1.3.	1	34	1			3		3	BW
7	6.2.1.	1	36	1			4		4	BW
8	6.2.2.	1	0	0			4		4	BW
9	6.2.3.	1	33	1			4		4	BW
10	950/2017	1	0	0			5		6	BY
11	951/2017	1	0	0			5		6	BY
12	952/2017	1	0	0			5		6	BY
13	953/2017	1	34	1			5		6	BY
14	954/2017	1	34	1			5		6	BY
15	955/2017	1	33	1			5		6	BY
16	956/2017	3	33	1		180	5		6	BY
17	S8/2018	2	36	1	14	360	6	35	3	NS
18	S9/2018	2	34	1	15	400	6	35	3	NS
19	S10/2018	2	0	0	13	480	6	35	3	NS
20	E10/2018	2	34	1	16	530	7	35	2	NS
21	A7/2018	2	36	1			8		2	NRW
22	A7/2018	2	36	1			8		2	NRW
23	A7/2018	2	36	1			8		2	NRW
24	A018/2018	2	0	0			9		4	BY
25	A018/2018	2	0	0			9		4	BY
26	A018/2018	2	0	0			9		4	BY
27	P79/18	2	0	0	17	280	10	25	2	BY
28	P80/2018	2	0	0	16	300	10	25	2	BY
29	P81/2018	2	0	0	16	280	10	25	2	BY
30	P82/2018	2	0	0	14	290	10	25	2	BY
31	P83/2018	2	0	0	14	560	10	25	2	BY
32	A32/18	3	0	0	11	120	11		3	BY
33	A32/18	2	0	0	15	300	11		3	BY
34	P137/2018	2	0	0	26	1300	12	0	8	BY
35	P138/2018	2	0	0	24	1300	12	0	8	BY
36	P155/2018	3	0	0	17	220	12	0	6	BY
37	P156/2018	2	0	0	25	900	13	0	6	BY
38	A41/2018	1	0	0	23	890	14		6	NRW

39	A41/2018	3	0	0	21	805	14	0	6	NRW
40	A41/2018	1	0	0	19	870	14	0	6	NRW
41	A41/2018	1	0	0	19	850	15	0	6	NRW
42	A41/2018	1	0	0	24	950	15	0	6	NRW
43	A42/2018	1	0	0	26	1050	16	0	3	NS
44	A42/2018	1	0	0	22	940	16	0	3	NS
45	A42/2018	1	0	0	18	920	16	0	3	NS
46	A44/2018	1	0	0	21	1360	17		8	BY
47	A44/2018	1	0	0	20	1100	17		8	BY
48	A44/2018	1	0	0	24	1260	18		3	BY
49	A44/2018	1	0	0	25	1450	19		3	BY
50	A44/2018	1	0	0	26	1400	20		7	BY
51	A45/2018	1	0	0	30	1950	21	0	7	NRW
52	A45/2018	1	0	0	29	1580	21	0	7	NRW
53	A45/2018	1	0	0	27	1980	21	0	7	NRW
54	A45/2018	1	0	0	24	800	21	0	7	NRW
55	A45/2018	1	0	0	26	940	21	0	7	NRW
56	A45/2018	2	0	0	26	1100	22	0	8	NRW
57	A45/2018	2	0	0	25	780	22	0	8	NRW
58	A47/2018	2	0	0	27	1300	23	0	3	BY
59	A47/2018	2	0	0	24	1200	23	0	3	BY
60	A47/2018	2	0	0	25	1230	23	0	3	BY
61	A49/2018	2	0	0	12	120	24	0	3	NRW
62	A49/2018	2	0	0	11	106	24	0	3	NRW
63	A49/2018	2	0	0	12	110	24	0	3	NRW
64	A50/2018	2	0	0	26	1400	25	0	1	NRW
65	A50/2018	2	0	0	24	1060	25	0	1	NRW
66	A50/2018	3	0	0	15	160	26	0	1	NRW
67	A50/2017	3	0	0	14	120	26	0	5	NRW
68	A51/2018	2	0	0	21	600	27	0	5	NRW
69	A51/2018	2	0	0	21	620	27	0	5	NRW
70	A51/2018	2	0	0	20	580	27	0	5	NRW
71	A51/2018	3	0	0	13	100	28	0	5	NRW
72	A51/2018	3	0	0	12	110	28	0	5	NRW
73	A54/2018	1	0	0	23	1000	29		3	BB
74	A54/2018	1	0	0	22	960	29		3	BB
75	A59/2018	2	0	0		760	30		8	NRW
76	A59/2018	2	0	0		640	30		8	NRW
77	A59/2018	2	0	0		460	30		8	NRW
78	A63/2018	1	0	0	28	1060	31			NRW
79	A63/2018	1	0	0	27	1000	31			NRW
80	A63/2018	1	0	0	25	800	31			NRW
81	A64/2018	1	0	0	23	1000	32		1	NRW
82	A64/2018	1	0	0	24	1200	32		1	NRW
83	A64/2018	1	0	0	22	1000	32		2	NRW
84	A64/2018	1	0	0	18	600	32		2	NRW
85	A64/2018	1	0	0	17	400	32		2	NRW
86	A67/2018	3	0	0	9	30	33		6	BY

<b>87</b>	A67/2018	3	0	0	8	25	33	6	BY
<b>88</b>	A83/2018	1	0	0	22	1100	34		BY
<b>89</b>	A83/2018	1	0	0	19	980	34		BY
<b>90</b>	A83/2018	1	0	0	21	1000	34		BY

Tabelle 17: PDNS Serumproben aus den Jahren 2003 bis 2013

	Kliniknummer	Jahr	PCV2 Ct 0/1	Ct	PCV3 Ct 0/1	Ct
<b>1</b>	612/03	2003	1	33,93	0	
<b>2</b>	014/04	2004	1	33,66	0	
<b>3</b>	150/04	2004	1	33,78	0	
<b>4</b>	506/04	2004	1	39,81	0	
<b>5</b>	508/04	2004	1	37,43	0	
<b>6</b>	509/04	2004	1	38,12	0	
<b>7</b>	511/04	2004	1	33,91	0	
<b>8</b>	686/04	2004	1	33,07	0	
<b>9</b>	687/04	2004	1	35,50	0	
<b>10</b>	695/04	2004	1	35,86	0	
<b>11</b>	701/04	2004	0	0	0	
<b>12</b>	741/04	2004	1	31,57	0	
<b>13</b>	743/04	2004	1	31,43	0	
<b>14</b>	749/04	2004	1	24,51	0	
<b>15</b>	753/04	2004	1	35,32	0	
<b>16</b>	755/04	2004	1	32,97	0	
<b>17</b>	857/04	2004	1	36,46	0	
<b>18</b>	866/04	2004	1	33,96	0	
<b>19</b>	873/04	2004	1	33,23	0	
<b>20</b>	875/04	2004	1	31,73	0	
<b>21</b>	970/04	2007	1	29,93	0	
<b>22</b>	292/07	2007	1	29,59	1	36,43
<b>23</b>	293/07	2007	1	27,33	1	35,63
<b>24</b>	390/07	2007	1	24,66	0	
<b>25</b>	391/07	2007	1	31,75	0	
<b>26</b>	437/07	2007	1	33,56	0	
<b>27</b>	443/07	2007	1	25,09	0	
<b>28</b>	464/07	2007	1	33,22	0	
<b>29</b>	465/07	2007	1	35,85	0	
<b>30</b>	521/07	2007	1	30,59	0	
<b>31</b>	529/07	2007	1	33,15	0	
<b>32</b>	600/07	2007	1	25,58	0	
<b>33</b>	602/07	2007	1	14,86	1	31,88
<b>34</b>	57/08	2008	1	27,83	0	
<b>35</b>	75/08	2008	1	37,13	0	
<b>36</b>	87/08	2008	1	36,41	0	
<b>37</b>	178/08	2008	1	38,27	0	

---

<b>38</b>	183/08	2008	1	27,38	0
<b>39</b>	398/08	2008	0	0	0
<b>40</b>	451/08	2008	1	30,04	0
<b>41</b>	758/08	2008	1	32,37	0
<b>42</b>	160/11	2011	1	27,89	0
<b>43</b>	55/13	2013	1	38,21	0

## **XII. DANKSAGUNG**

Mein herzlichster Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. Mathias Ritzmann, der es mir ermöglichte meine Doktorarbeit unter seiner Leitung an der Klinik für Schweine anzufertigen. Ebenso möchte ich ihm für die Bereitstellung dieses interessanten und hochaktuellen Themas danken und dafür, dass er bei Fragen immer helfend zur Seite stand. In der Klinik für Schweine sorgte er stets für eine angenehme und außerordentlich kollegiale Arbeitsatmosphäre, wofür ich ihm ebenfalls sehr dankbar bin.

Meinem Betreuer Dr. Matthias Eddicks möchte ganz besonders dafür danken, dass er mich durch seine konstruktiven Gedanken, wertvollen Inspirationen und mit größter Geduld in meiner Doktorarbeit unterstützt hat. Bei Frage- und Problemstellungen war er immer eine sehr große Hilfe, weshalb ein herzlicher Dank an ihn geht.

Ein großer Dank geht an Dr. Robert Fux, Andrea Jahnke, Christine Poneleit sowie allen anderen Mitarbeiter des Instituts für Virologie, die einen erheblichen Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Sie haben mich jederzeit bei meinen labordiagnostischen Tätigkeiten unterstützt und waren durch ihre umfassende Beantwortung meiner Fragen eine großartige Hilfe.

Ein weiterer Dank geht an die Mitarbeiter des Instituts für Tierpathologie, die es mir auch immer kurzfristig ermöglicht haben, meine Proben zu verarbeiten. Vielen herzlichen Dank an dieser Stelle an Josef Grieser, der mich bei meinen umfangreichen Probenentnahmen immer unterstützt hat.

Ich möchte mich auch besonders bei meinen Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Schweine bedanken, die mir eine unglaublich schöne Zeit ermöglicht haben. Allen voran, gilt hier mein Dank Dr. Steffanie Senf und Dr. Christine Renken, die jederzeit ein offenes Ohr für meine Fragen hatten.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern. Mama und Papa, ich danke Euch von Herzen, dass ihr mir jederzeit den Rücken freigehalten habt und mir

in meinem Leben immer alles ermöglicht. Du, Papa hast mir immer gezeigt, dass man mit einem starken Willen alles im Leben erreichen kann. Und ohne Dich und Deine Herzlichkeit, Mama, wäre ich sehr wahrscheinlich, trotz der Rückschläge zu Beginn des Jahres, nicht so einfach wieder aufgestanden. Ihr seid mir stets ein großes Vorbild und werdet dies auch immer sein!