

Aus dem Institut für Veterinär – Pathologie des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
und
dem Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

**Nachweis einer Infektion mit dem Aviären-Leukose-Virus,
Subgruppe J, bei geschlachteten Jungmasthühnern mit
pathologischen Leberveränderungen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Drinneberg
Tierarzt
aus Mülheim an der Ruhr

Berlin
2003

Journal Nr. 2706

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Volker Bergmann
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Hafez Mohamed Hafez
Dritter Prüfer: Univ.-Prof. Dieter Ebner

Deskriptoren
(nach CAB Thesaurus): chick production, liver diseases, retroviridae, polymerase chain
reaktion, avian oncovirus

Tag der Promotion: 25.05.2003

1	EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Stellung der Subgruppe J im Klassifikationsschema des Aviären Leukose-Sarkomatose-Komplexes	3
2.2	Historisches zur Etablierung der Subgruppe J	8
2.3	Molekulare Eigenschaften von ALV-J	9
2.4	Mutationen von ALV-J	10
2.5	Pathogenität von ALV-J beim Huhn	13
2.6	Zelltropismus	13
2.7	Pathogenität gegenüber anderen Vogelspezies	15
2.8	Epidemiologie	15
2.9	Klinik und Verluste	19
2.10	Pathologisch-anatomische Befunde bei Infektionen mit ALV-J	20
2.11	Pathologisch-histologische Befunde	21
2.12	Elektronenmikroskopische Befunde	23
2.13	Diagnostische Verfahren zur Feststellung einer ALV-J-Infektion	24
3	MATERIAL UND METHODIK	26
3.1	Tiermaterial	26
3.2	Massenerfassung und pathologisch-anatomische Untersuchung	26
3.3	Histologische Untersuchung	26
3.3.1	Färbemethoden:	28
3.3.2	Auswertung der Schnittpräparate	29
3.4	Transmissionselektronenmikroskopie	30
3.4.1	Dünnschnitttechnik	30
3.4.2	Negativkontrasttechnik	32
3.4.3	Auswertung der Ultradünn- und Negativkontrastpräparate	33
3.5	Molekularbiologische Untersuchungen	33
3.5.1	DNA-Extraktion	33
3.5.2	Polymerase-Kettenreaktion	34

3.6	Bakteriologische Untersuchungen	40
3.6.1	Nachweis von Campylobacter spp.	40
3.6.2	Nachweis von Salmonellen	40
3.6.3	Nachweis von coliformen Keimen	41
3.6.4	Nachweis von Pasteurellen und Pseudomonas aeruginosa	41
3.7	Statistische Auswertung	41
4	ERGEBNISSE	42
4.1	Ergebnisse der Erfassung der Schlachtkörper- und Organmassen	42
4.2	Pathologisch-anatomische Untersuchung	46
4.2.1	Makroskopische Beurteilung	46
4.3	Histopathologische Befunde	52
4.3.1	Nachweis von Myelozyten	52
4.4	Elektronenmikroskopische Untersuchung	59
4.4.1	Dünnschnitttechnik	59
4.4.2	Negativkontrasttechnik	62
4.5	Molekularbiologische Untersuchung	64
4.5.1	Referenzmaterial	64
4.5.2	DNA-PCR	64
4.5.3	nested DNA-PCR	65
4.5.4	Verdünnungsreihe der DNA-PCR und nested DNA-PCR	66
4.5.5	Nested RT-PCR (RNA-PCR)	67
4.5.6	Sequenzierung	68
4.5.7	Vergleich der histologischen Funde von Myelozyten in der Leber und den molekularbiologischen Ergebnissen	68
4.5.8	Nachweis der Subgruppen A-E	69
4.6	Bakteriologische Untersuchung	70
4.6.1	Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen	70
4.6.2	Vergleich der bakteriologischen mit den histologischen Befunden	71
4.6.3	Vergleich der bakteriologischen und makroskopischen Ergebnisse	72
5	DISKUSSION	74
5.1	Erfassung der Schlachtkörper- und Organmassen	74
5.2	Pathologisch-anatomische Veränderungen	77
5.3	Histologische Organveränderungen	79
5.4	Nachweise von Myelozyten-Akkumulationen	82
5.5	Weitere histologische Befunde in der Leber und anderen Organen	83
5.6	Elektronenmikroskopische Aussagen	84

5.7	Ergebnisse der PCR	85
5.7.1	DNA-PCR	85
5.7.2	Nested DNA-PCR	86
5.7.3	Nested RT-PCR	87
5.8	Vergleich der pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen mit den Ergebnissen der PCR	88
5.9	Bakteriologische Ergebnisse	89
5.10	Schlussfolgerungen	91
6	ZUSAMMENFASSUNG	93
7	SUMMARY	95
8	LITERATURLISTE	97
9	ANHANG 1	104
10	ANHANG 2	109
11	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	117

Lebenslauf

Name : Wolfgang Drinneberg

Geboren : 17.12.1970 in Mülheim an der Ruhr

1977-1981 : Grundschule Kurfürstenstrasse in Mülheim an der Ruhr

1981-1983 : Gymnasiums Broich in Mülheim an der Ruhr

1983-1988 : Realschule Broich in Mülheim an der Ruhr

1988-1991 : Gesamtschule Saarn in Mülheim an der Ruhr mit Abschluß
Abitur

1.7.1991 : Zivildienstleistender beim Roten Kreuz in Mülheim an der Ruhr
-30.9.1992

1.10.1992 : Studienzeit an der Deutschen Paracelsus Schule für
-30.6.1992 Naturheilverfahren

1.10.1994 : Beginn des Studiums der Veterinärmedizin an der FU-Berlin

2.6. - 25.3.96 : Lehrgang der Tierhaltung für Studenten der Veterinärmedizin in
der Lehr- und Versuchsanstalt für Tierhaltung, Haus Riswick,
47533 Kleve 1

4.9.95 : Vorphysikum

14.10.96 : Physikum

08.10.1997 : erstes Staatsexamen

22.09.1998 : zweites Staatsexamen

15.12.1999 : drittes Staatsexamen

18.01.2000 : Approbation als Tierarzt

01.03.2000 : Beginn der Dissertation mit dem Thema: Nachweis einer
Infektion mit dem Aviären-Leukose-Virus, Subgruppe J, bei ge-
schlachteten Jungmasthühnern mit pathologischen Leberver-
änderungen

Danksagung

Herrn Univ.- Prof. Dr. Volker Bergmann danke ich für die Durchsicht der Dissertation und seine persönliche Hilfestellung und Unterstützung, für die Überlassung des gemeinsam mit Herrn Dr. Reetz, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), formulierten Themas sowie für die Vermittlung ans BfR.

Herrn Dr. Reetz möchte ich ferner für die hilfreiche Zusammenarbeit und Unterstützung bei der Organisation der Untersuchung sowie für die bereitwillige Hilfe bei der Interpretation der elektronenmikroskopischen und histologischen Befunde danken, sowie für die Überlassung des Arbeitsmaterials.

Frau Dr. Schrader sei gesondert für die Hilfestellung und Anleitung bei den molekularbiologischen Teilen dieser Arbeit gedankt, ohne sie wäre dieser Teil nicht realisierbar gewesen.

Mein Dank gilt auch dem damaligen Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) für die Überlassung des Arbeitsplatzes.

Den Mitarbeitern des damaligen BgVV, welche mich mit unterstützt und angelernt haben, sei ebenfalls gedankt. Besonders zu erwähnen seien hier: Frau Manke, Frau Schwebs, Frau Hintelmann, Frau Dittmer und Herr Friedmann.

Dem gesamten Fachgebiet 301 und 302 des damaligen Bundesinstitutes für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) möchte ich für die Überlassung der bakteriologischen Ergebnisse danken.

Vielen Dank auch an Frau Dr. Arndt, Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der FU Berlin, die mich in den statistischen Fragen beriet.

Für die Unterstützung und Geduld meiner vielen Freunde möchte ich mich ebenfalls bedanken. Besonders danke ich Anke Finnah, die mir bei den Tücken von Word und Excel half und immer ein offenes Ohr für mich hatte, sowie Kathrin Szymanowitz die das Manuskript kritische durchsichtete.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe

(Wolfgang Drinneberg)