

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Erfassung der Schlachtkörper- und Organmassen

Bei 74 Tieren wurden die Schlachtkörpermasse und die Masse von folgenden Organen ermittelt: Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Herz, Drüsenmagen, Muskelmagen, Darmkonvolut und Bursa Fabricii. Die Ergebnisse sind in Tabelle I (Anhang 1) dargestellt.

Beim Vergleich der Massen der Gruppe LV und der Gruppe OLV ($p < 0,05$) zeigten sich bei den Parametern Schlachtkörper, Leber und Herz Unterschiede. Dies verdeutlicht Tabelle 4.

Tabelle 4: Vergleich der Mittelwerte, Minima und Maxima, der 25, 50 und 75 Perzentile der Schlachtkörper-, Leber- und Herzmasse von Hühnern mit (Gruppe LV) und ohne (Gruppe OLV) pathologischen Leberveränderungen

Gruppe		Schlachtkörpermasse	Lebermasse	Herzmasse	
Gruppe LV	Anzahl	64	64	64	
	Mittelwert	798,8	45,4	7,5	
	Minimum	116,3	20,6	4,3	
	Maximum	1408,7	89,5	11,6	
	Perzentile	25	644,6	35,1	6,3
		50	793,1	45,2	7,3
75		917	52,6	8,3	
Gruppe OLV	Anzahl	10	10	10	
	Mittelwert	1236,9	36,1	9,4	
	Minimum	1082	31,2	7,5	
	Maximum	1334,9	39,5	12,4	
	Perzentile	25	1155,4	34,3	8,8
		50	1254,8	35,5	9,1
75		1317,3	38,9	9,9	

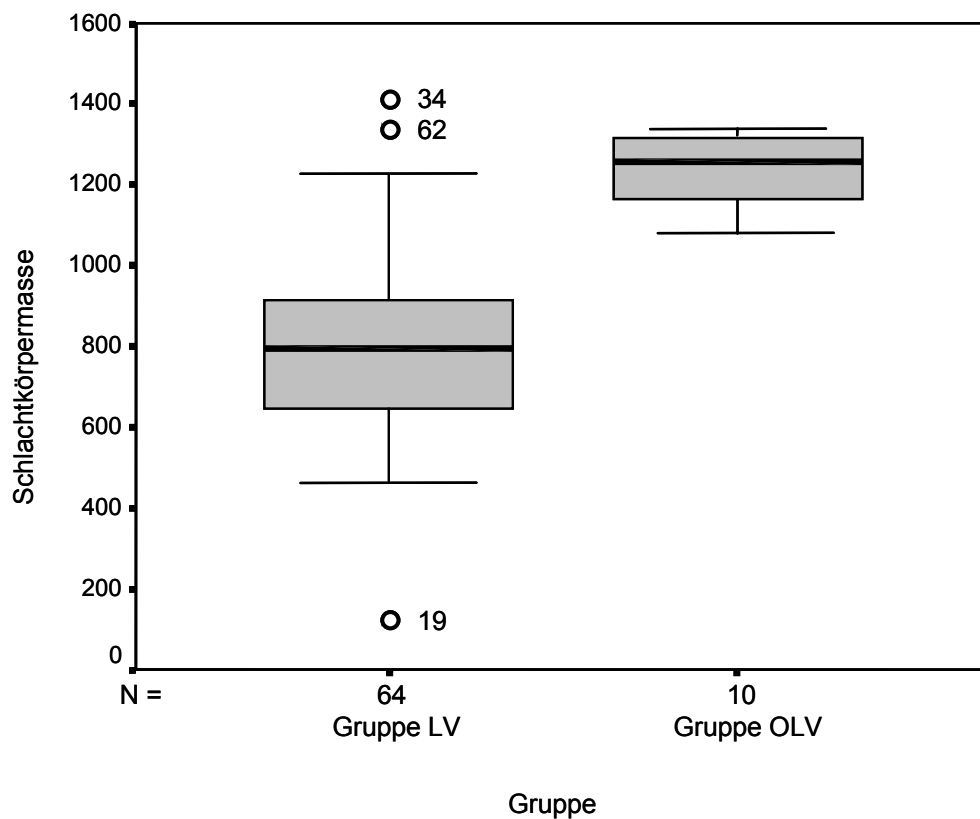


Abbildung 5: Darstellung der Schlachtkörpermassen der untersuchten Hühner

Wie aus Tabelle 4 und Abbildung 5 hervorgeht, lag der Median der Schlachtkörpermasse bei den Hühnern mit pathologischen Leberveränderungen bei 793,10 g. Die makroskopisch unveränderten Hühner zeigten den Median der Schlachtkörpermasse bei 1254,75 g. Es besteht eine Differenz von ca. 462 g im Median dieses Parameters. Die Abbildung 5 verdeutlicht, dass die Tiere mit Nr. 19, 34 und 62 (Gruppe LV) Ausreißer darstellen.

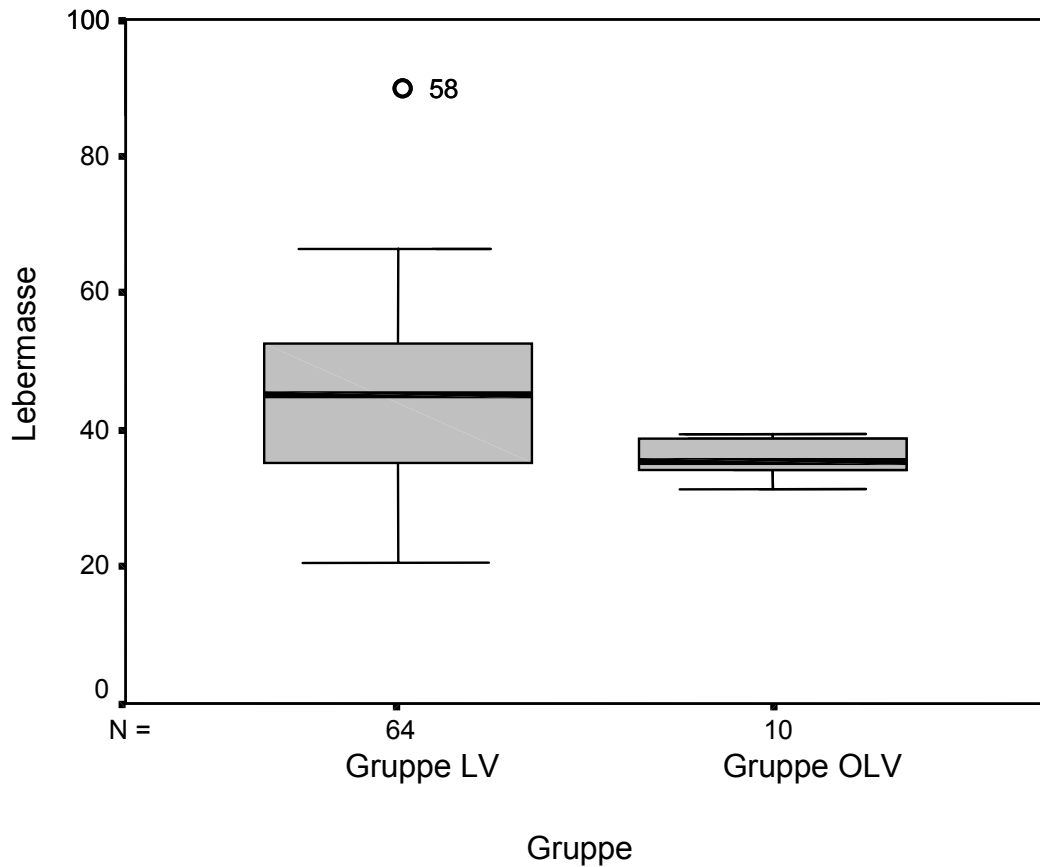


Abbildung 6: Darstellung der Lebermassen der untersuchten Hühner

Der Median der Lebermassen von Tieren der Gruppe LV und Gruppe OLV unterscheidet sich um ca. 10 g (Median der Gruppe OLV = 35,5 g, Median der Gruppe LV = 45,2 g). Bei diesem Vergleich liegen die Lebermassen der Gruppe LV deutlich höher als die Werte der Gruppe OLV ($p < 0,05$). Abbildung 6 zeigt, dass das Tier mit der Nr. 58 (Gruppe LV) außerhalb der Box des Boxplots liegt. Derartige Ausreißer gibt es in der Gruppe OLV nicht.

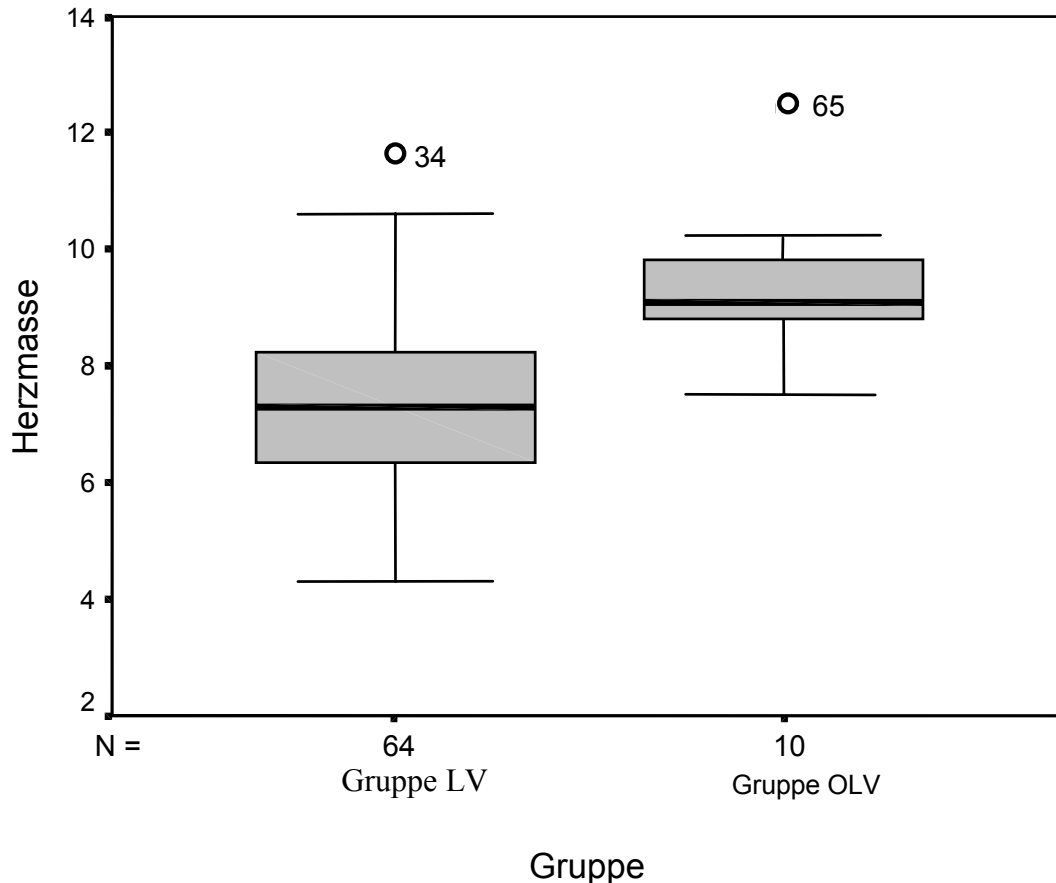


Abbildung 7: Darstellung der Herzmassen der untersuchten Hühner

Die Herzmassen der untersuchten Hühner unterscheiden sich ebenso deutlich zwischen Gruppe LV und Gruppe OLV ($p < 0,05$). Bei diesem Parameter liegt der Median der Gruppe OLV (9,1 g) ca. 2 g höher als derjenige der Gruppe LV (7,3) (Tabelle 4 und Abbildung 7 zeigen diese Werte).

Abbildung 5, Abbildung 6 und Abbildung 7 zeigen bei der Gruppe LV eine größere Variabilität in den Massen als bei der Gruppe OLV. Diese Abbildungen und Tabelle 4 verdeutlichen, dass die asymptotische Signifikanz (p) bei allen untersuchten Parametern < 0.05 ist. Damit wurde gezeigt, dass zwischen Gruppe OLV und LV bei den untersuchten Tieren ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Schlachtkörper-, Leber- und Herzmassen besteht. Schlachtkörper und Herzen der Gruppe LV sind leichter, Lebern schwerer als bei den Tieren der Gruppe OLV.

Die weiteren Ergebnisse der Massenfeststellung zeigt Tabelle I (Anhang 1).

4.2 Pathologisch-anatomische Untersuchung

Die pathologisch-anatomische Untersuchung von Masthühnchen sollte Aufschluss darüber geben, inwieweit Leberveränderungen nachzuweisen sind, die möglicherweise in Zusammenhang mit einer Infektion an aviären Leukoseviren der Subgruppe J stehen. Bei dieser Untersuchung wurden Hühner ausgewählt, welche in der Geflügelfleischkontrolle auf Grund von Leberveränderungen auffielen. Diese Leberveränderungen wurden in sechs Typen eingeteilt. Sie sind der Tabelle 5 zu entnehmen und unter dem Punkt 4.2.1.1 beschrieben.

Eine Gruppe OLV (ohne makroskopische Veränderungen) wurde in allen angeführten Punkten mituntersucht.

4.2.1 Makroskopische Beurteilung

Die Tiere wurden am Schlachtband auf Grund von pathologischen Leberveränderungen ausgewählt und anschließend gewogen und pathologisch-anatomisch untersucht.

Insgesamt wurden 64 Tiere mit (Gruppe LV) und 10 Tiere ohne (Gruppe OLV) makroskopisch ersichtliche Leberveränderungen untersucht.

4.2.1.1 Leberbefunde

Die Lebern der **Gruppe LV** wurden makroskopisch den **Typen I bis VI** (siehe Tabelle 5) zugeordnet.

Die Lebern des **Typs I** (siehe Abbildung 8 und Tabelle 5) waren deutlich geschwollen, eine deutliche Läppchenzeichnung und Marmorierung war zu erkennen. Mit dem bloßen Auge wurden nur vereinzelt stecknadelkopfgroße, grauweiße Herde erkannt.

Beim **Typ II** (siehe Abbildung 9 und Tabelle 5) wurden ebenfalls geschwollene Lebern mit abgerundeten Ränder eingeordnet. Die Schwellung erschien quantitativ geringer als beim Typ I. Auch bei diesem Typ ließ sich eine Marmorierung erkennen. Die grauweißen Herde kamen aber vermehrt vor und unterschieden sich zum Typ I in der Größe. Zusätzlich stellten sich dunkelrot verfärbte Herde (Blutungen) dar.

Der **Typ III** (siehe Abbildung 10 und Tabelle 5) wurde dadurch gekennzeichnet, dass nur eine geringgradige Leberschwellung und eine kaum vom Normalbild abweichende Läppchenzeichnung zu sehen war. Dieser Typ wurde durch viele, überwiegend konfluierende unterschiedlich große, grau bis grauweiße Herde gekennzeichnet.

Der **Typ IV** (siehe Abbildung 11 und Tabelle 5) wies eine brüchige Konsistenz der Leber auf und war durch, auf der Oberfläche liegende, grauweiße Herde gekennzeichnet (mottenfraßähnlich). Die Konsistenz der Lebern variierte mit der Menge der konfluierenden Herde. Die Lebern fühlten sich weichelastisch (wenige Herde) bis bröckelig (viele Herde) an.

Der **Typ V** (siehe Abbildung 12 und Tabelle 5) wurde durch derbe, speckige Umfangsvermehrungen auf der Oberfläche der Lebern und im Parenchym der Lebern gekennzeichnet. Dies wurde in einem Fall beobachtet. Hier wurden bis zu walnussgroße, feste Zubildungen ertastet, welche im Anschnitt speckig, grau- bis gelbweiß erschienen und das umliegende Lebergewebe zurückdrängten. Histologisch wurde hier die Diagnose „Fibrosarkom“ gestellt. An dieser Stelle soll bereits erwähnt werden, dass lichtmikroskopisch noch bei einer weiteren Leber Fibrosarkome gefunden wurden.

Der **Typ VI** (siehe Tabelle 5) dieser Einteilung erwies sich als Ausnahme. Es wurde nur eine Leber in diese Gruppe mit aufgenommen. Diese wies eine grünlich schwarze Farbe auf.

Tabelle 5: makroskopische Typeneinteilung der Gruppe LV

Typ	Veränderung
I	Deutliche Leberschwellung Deutliche Läppchenzeichnung (Marmorierung) Vereinzelt bis stecknadelkopfgroße grauweiße bis gelbweiße Herde
II	Leberschwellung Deutliche Läppchenzeichnung (Marmorierung) Zahlreiche unterschiedlich große, konfluierende, grauweiße bis gelbweiße Herde Dunkelrot verfärbte Herde (Blutungen)
III	Geringgradige Leberschwellung Kaum vom Normalbild abweichende Läppchenzeichnung (ggr. Marmorierung) Überwiegend konfluierende, unterschiedlich große, grau bis gelbweiße Herde
IV	Überwiegend konfluierende, unterschiedlich große, grau bis gelbweiße Herde mit einer brüchige Leber
V	Grauweiße, unterschiedliche große, derbe, speckige, z. T. konfluierende Herde
VI	Grünlich-schwarz verfärbte Leber

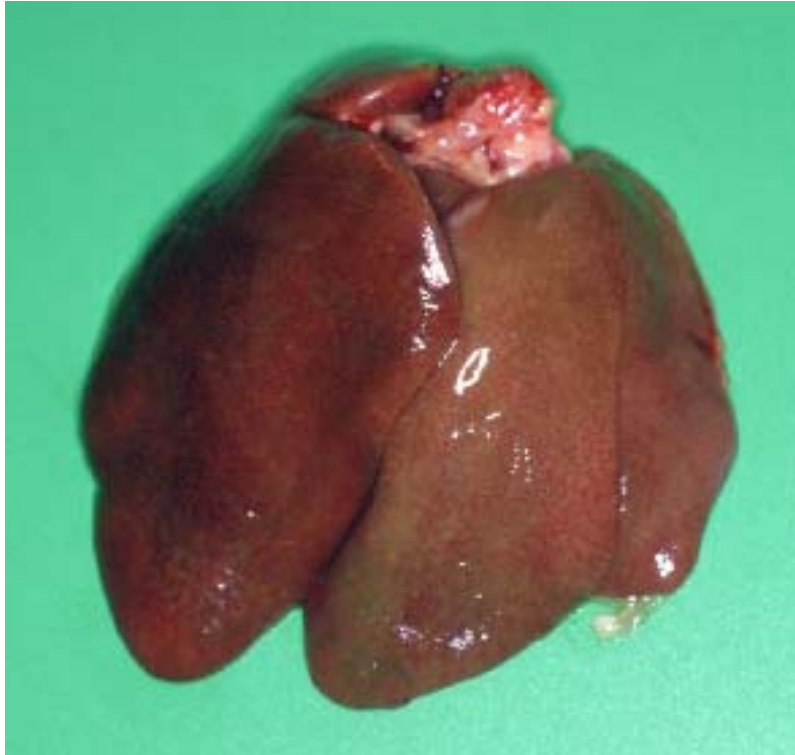


Abbildung 8: Lebertyp I mit deutlicher Läppchenzeichnung bzw. Marmorierung, Schwellung und vereinzelt Nekroseherden



Abbildung 9: Lebertyp II mit deutlicher Läppchenzeichnung, zahlreichen Nekroseherden und Blutungen



Abbildung 10: Lebertyp III, welcher in Bezug auf die Läppchenzeichnung bzw. Marmorierung kaum vom Normalbild der Hühnerleber abweicht. Die Leber ist kaum geschwollen. Zahlreiche Nekroseherde sind vorhanden

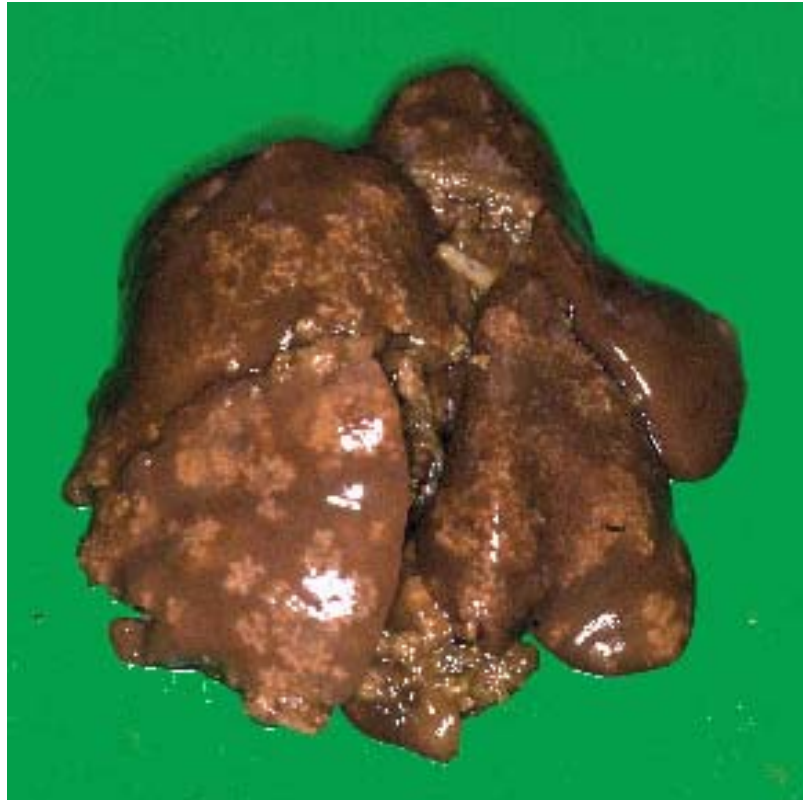


Abbildung 11: Lebertyp IV (mottenfraßähnlich) mit unterschiedlich großen, grauweißen bis graugelben, zumeist konfluierenden Herden, durch welche die Konsistenz brüchig ist



Abbildung 12: Lebertyp V mit dazugehöriger Milz. Es treten speckige, weißgelbliche Zubildungen auf, die über das Niveau der Leber hervorragen. Die Konsistenz ist festelastisch. Deutlich zu erkennen ist, dass eine Metastase in der Milz ist

Die serösen Häute der Lebern waren in sechs Fällen entzündlich verändert und mit den umliegenden Strukturen verklebt (Perihepatitis).

Kombinationen der Veränderungen kamen vor. Die Einteilung in die verschiedenen Lebertypen richtete sich nach den Hauptmerkmalen der Veränderungen. Die Ergebnisse der Einteilung gibt Tabelle 6 wieder.

Tabelle 6: Häufigkeitsverteilung der Lebertypen der Gruppe LV und Gruppe OLV bei 74 untersuchten Hühnern

Lebertyp	Anzahl
I	18
II	20
III	19
IV	5
V	1
VI	1
Gruppe OLV	10

Die Lebern der **Gruppe OLV** boten folgendes Bild: Die Farbe dieser Lebern war rotbraun, eine Marmorierung war nicht zu erkennen. Die Ränder waren scharf, die Oberfläche feucht, glatt und glänzend. Im Anschnitt stellte sich das Leberparenchym ohne Besonderheiten dar. Die Konsistenz dieser Organe erwies sich als festelastisch.

In Abbildung 13 wird die Häufigkeit des Vorkommens der Lebertypen von den 74 untersuchten Hühnern verdeutlicht. Die Lebertypen I, II und III nehmen 77% (57 Lebern) dieser Einteilung ein. 14% (10 Lebern) der untersuchten Lebern wiesen keinerlei makroskopische Veränderungen auf (Gruppe OLV).

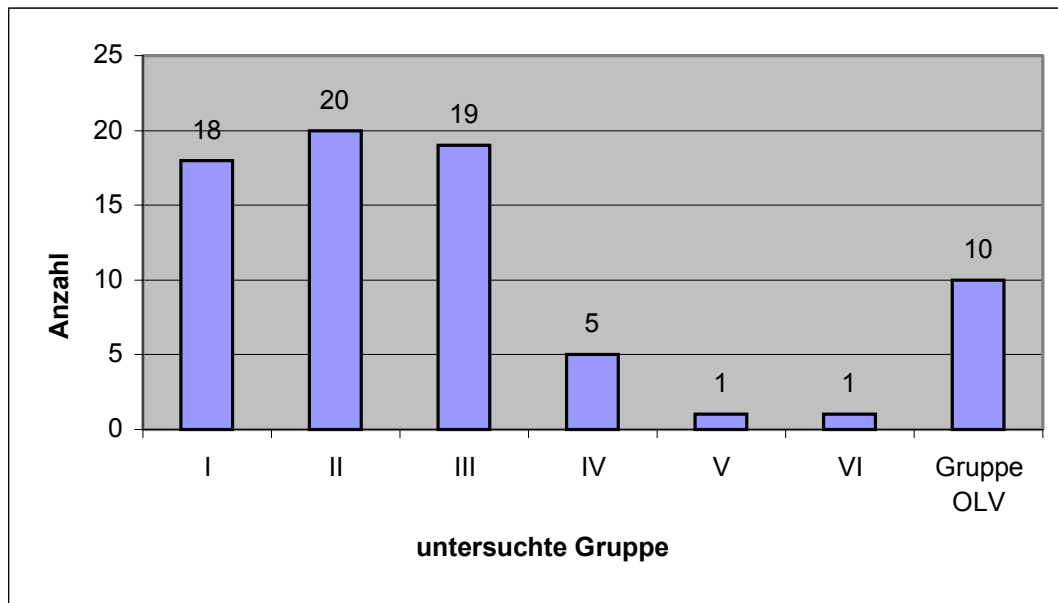


Abbildung 13: Anzahl der 74 untersuchten Hühnerlebern in den Lebertypkategorien I bis VI und der Gruppe OLV

4.2.1.2 Weitere makroskopische Befunde

Das **Knochenmark** wurde bei 31 Tieren (21 Tier der Gruppe LV und 10 der Gruppe OLV) mituntersucht. Die Konsistenz desselben bei den Tieren aus der Gruppe LV war häufig sulzig, die Farbe des Knochenmarks war hellrot und blass. Bei den Tieren der Gruppe OLV stellte sich das Knochenmark gelartig und rot bis dunkelrot dar.

Bei drei Tieren der Gruppe OLV wurde ein **Hydroperikard** mit ca. 2 ml einer gelblichen, serösen, fadenziehenden Flüssigkeit im Herzbeutel diagnostiziert.

Im **Dünndarm** von acht der untersuchten Tiere traten blutige Einlagerungen in der Schleimhaut auf. Diese waren unscharf begrenzt und ca. zwei mm im Durchmesser. Die Einlagerungen überragten nicht das Niveau der Schleimhaut. Histologisch wurde bei diesen (und bei 12 weiteren) Tieren eine Dünndarmkokzidiose festgestellt.

In einem Fall wurde eine Darminvagination im **Jejunum** festgestellt. Diese zog sich über eine Strecke von 9,5 cm hin.

Die **Schleimhaut des gesamten Darmes** war in einem Fall grünlich verfärbt. Dieses Huhn wies einen Ikterus auf. Alle weiteren sichtbaren Schleimhäute des Tieres schimmerten gelblich. Die **Gallenblase** des Huhns war prall gefüllt und vergrößert.

Bei einem weiteren Huhn wurde ebenfalls eine prall gefüllte Gallenblase erkannt. Dieses Tier zeigte jedoch keinen Ikterus und war auch ansonsten unauffällig.

Im **Bauchraum** eines der untersuchten Tiere der Gruppe LV wurde eine seröse, gelbliche Flüssigkeit gefunden (Aszites). Bis auf die Leberveränderungen wurden bei diesem Huhn keine weiteren Auffälligkeiten entdeckt.

Die **Nieren** waren in einem Fall derart verändert, dass sich nekrotische, speckige, grauweiße, erbsengroße, festelastische Zubildungen erkennen ließen. Die **Nebennieren**

waren bei diesem Fall ebenso verändert. Dieses Huhn wies derartige Tumoren auch in der Leber, in der Lunge und an den Rippenbögen, dem Synsacrum und an der Wirbelsäule auf. Es handelte sich um das Tier, welches auf Grund der Leberbefunde dem „Typ V“ zugeordnet wurde.

In der **Milz** von dem Tier mit Fibrosarkomatose war eine Metastase zu erkennen (siehe Abb. 12).

4.3 Histopathologische Befunde

Die HE-Färbung kam bei allen Präparaten zum Einsatz. Bei den Lebern wurde zusätzlich die Giemsa-, die Warthin–Starry- und die Azanfärbung genutzt.

Von folgenden Organen wurden Proben mit der HE-Färbung gefärbt und lichtmikroskopisch untersucht: Leber, Herz, Knochenmark, Nieren, Nebennieren, Dünndarm, Dickdarm, Trachea, Lunge, Thymus, Milz, Bursa Fabricii, Nervus ischiadicus, Kropf und Drüsenmagen.

4.3.1 Nachweis von Myelozyten

Besondere Aufmerksamkeit wurde den Myelozyten gewidmet. Diese Zellen werden in der Literatur z. Z. unterschiedlich benannt: „Zellen der Monozyten/Makrophagen-Abstammung“ (Arshad et al. 1997a), „myelomonozytäre Zelllinie“ (Arshad et al. 1997b), „Zellen der myeloischen Reihe“ (Weikel et al. 2001), „unreife Myelozyten“ (Aly 2000), „Myeloblasten“ (Payne et al. 1991), „unreife Granulozyten“ (Randall et al. 1983, Reetz et al. 2002) oder „unreife Zellen der Myelozytopoese“ (Trautwein 1991). Der am häufigsten verwendete Ausdruck ist „unreife granulierten Myelozyten“ (Payne 1998; Fadly und Smith 1999; Venugopal 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Begriff **Myelozyt** gewählt. Die so bezeichneten Zellen mussten dafür folgende morphologische und färbetechnische Kriterien erfüllen:

- Die Zellen erschienen polymorph, meist sphärisch geformt.
- Die Granula stellten sich in der HE- und Giemsa-Färbung eosinophil dar. Die Form der im Zytoplasma liegenden Granula war rund bis oval.
- Das Zytoplasma, welches blass basophil bis farblos erschien, war je nach Reifezustand mit derartigen Granula ausgefüllt. Die Anzahl der Granula nimmt mit dem Reifegrad der Zelle zu.
- Der Kern dieser Zellen war rund bis oval und füllte das Volumen der Zelle weitgehend aus. Eine Segmentierung des Kerns war selten erkennbar. Die Segmentierung des Kerns nimmt mit der Reife der Zelle zu, die Größe der Myelozyten hingegen nimmt ab.
- Das Chromatin des Zellkernes war aufgelockert, die Anzahl der Kernkörperchen variierte.
- Mitosestadien wurden selten gefunden.

In Abbildung 16 und Abbildung 19 werden solche Zellen dargestellt, welche in der vorliegenden Studie als Myelozyt bezeichnet wurden. Als Myelozyten-Akkumulation wurde eine Anhäufung dieser Zellen bezeichnet. Die Anzahl der Zellen variierte stark, lag aber häufig zwischen 200 und 400 Zellen pro Akkumulation. Die Zellen lagen in direkter Nachbarschaft und so hoben sich diese Zellen deutlich vom Organparenchym ab.

Reife heterophile Granulozyten stellen sich im Gegensatz zu den Myelozyten in histologischen Schnittpräparaten als Zellen mit einem meist zweigeklappten Kern dar. Das Chromatin ist kondensiert, dadurch erscheint der Kern dicht und klein. Die eosinophilen Granula sind hellrot bis ziegelrot. Die Form der Granula ist oval bis stechapelförmig.

Lichtmikroskopisch wurden in folgenden Organen Myelozyten nachgewiesen: Leber, Herzmuskel, Nieren, Lunge, Drüsenmagen, Nebennieren und Dickdarm. Abbildung 14 zeigt die Häufigkeit der Verteilung in den einzelnen Organen.

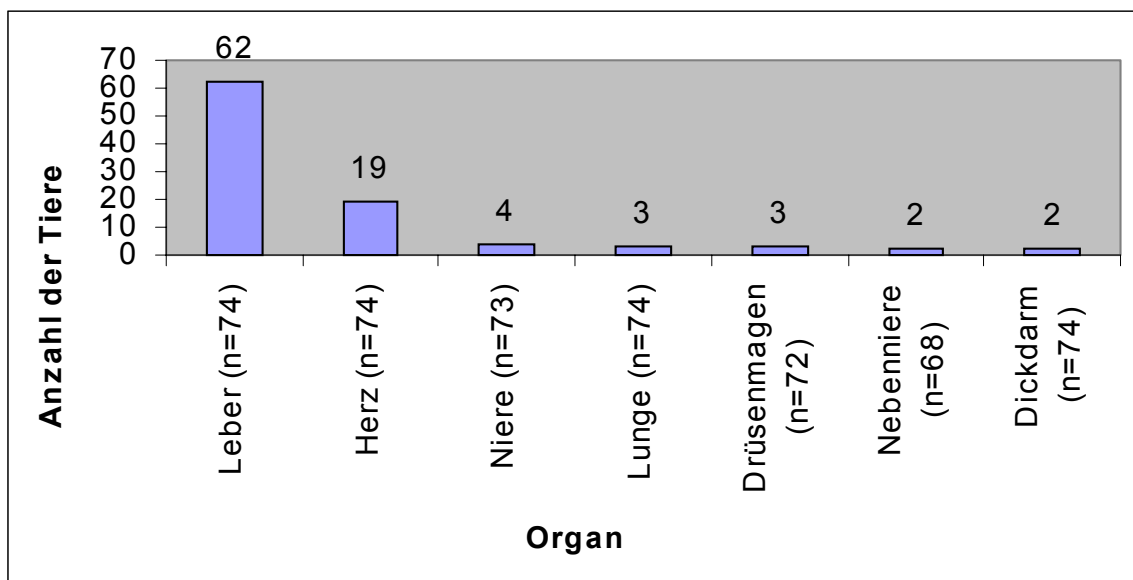


Abbildung 14: Histologischer Nachweis von Myelozyten in den aufgeführten Organen

4.3.1.1 Myelozytennachweise in der Leber

Wie Abbildung 15 zeigt, wurden bei insgesamt 62 der untersuchten Tiere (54 Tiere der Gruppe LV und 8 Tiere der Gruppe OLV) zumeist multifokale Akkumulationen von Myelozyten im Lebergewebe gefunden. Diese Lebern wurden semiquantitativ nach der Ausbreitung der Akkumulationen im Schnittpräparat in vier Grade unterteilt (-, +, ++, +++), siehe hierzu Tab. 3.

Die Lebern wurden außer mit der HE-Färbung zur lichtmikroskopischen Untersuchung zusätzlich mit einer modifizierten Giemsa-Technik gefärbt. Hierdurch wurde eine Unterscheidung zwischen den Myelozyten und den reifen heterophilen Granulozyten erleichtert, da die Segmentierung der Zellkerne deutlicher zu erkennen war.

10 Tiere der Gruppe LV und 2 Tiere der Gruppe OLV zeigten keine Myelozyten in der Leber.

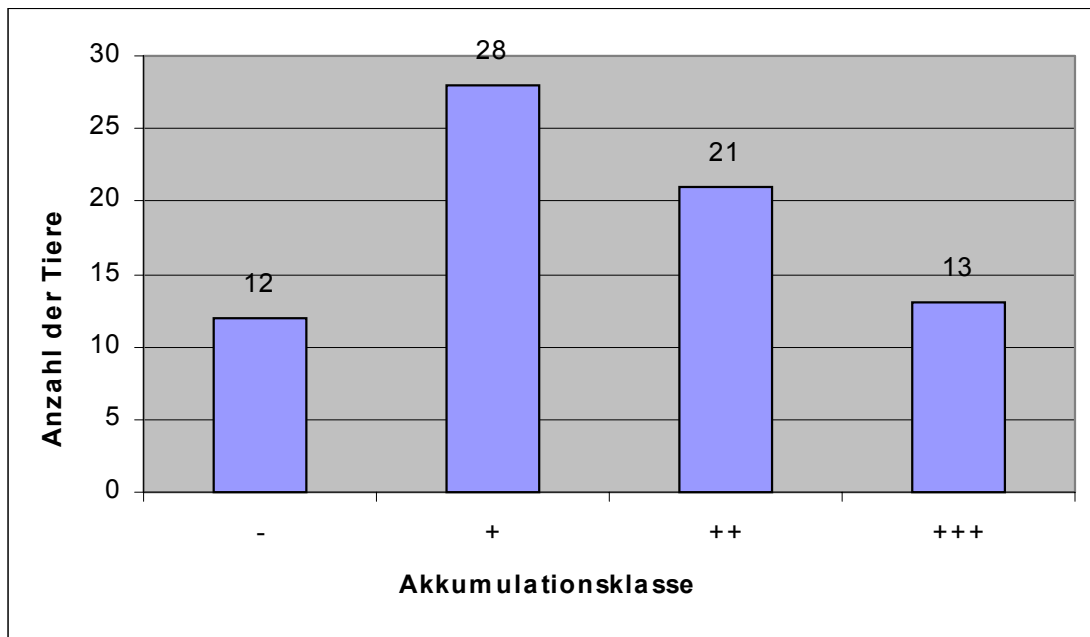


Abbildung 15: Semiquantitative Einteilung der lichtmikroskopischen Nachweise von Myelozytenakkumulationen im Lebergewebe der 74 untersuchten Hühner

Die Lebern zeigten diese Ansammlungen von Myelozyten vorrangig im periportalen Gewebe. Ein solches Bild verdeutlicht Abbildung 16.

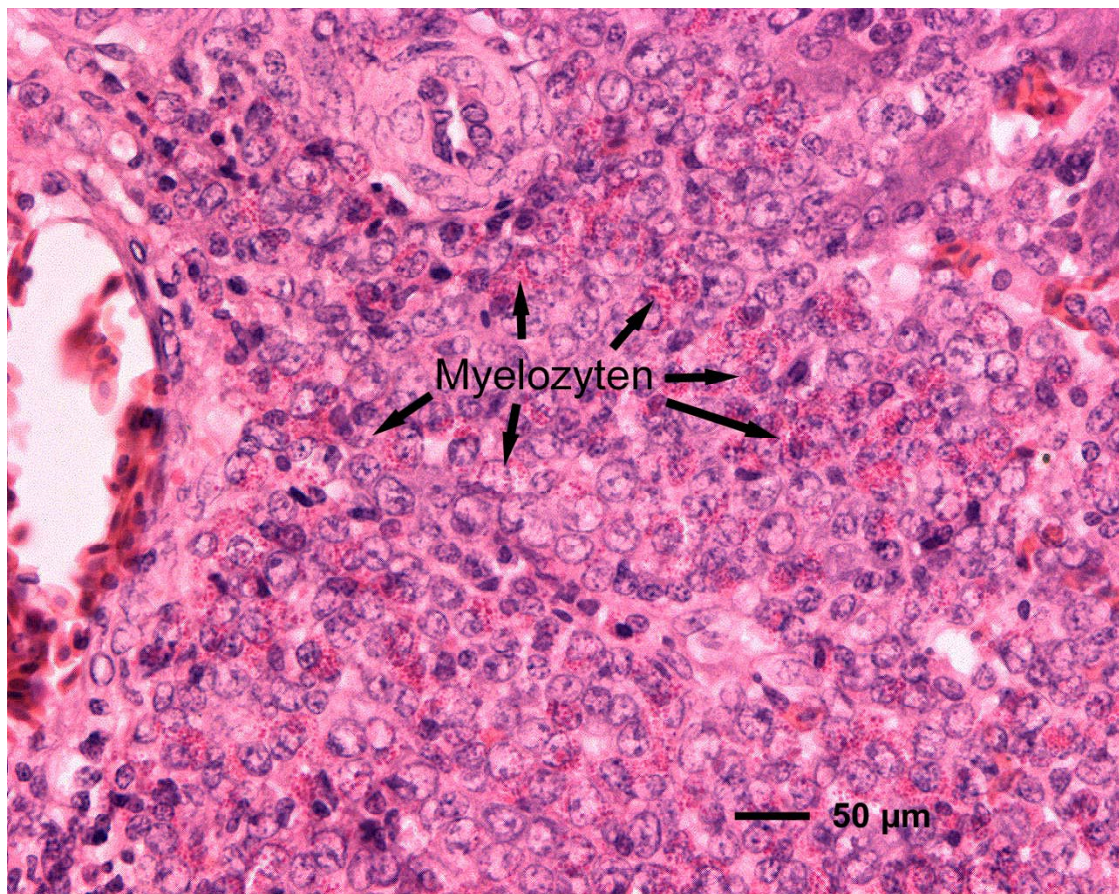


Abbildung 16: Akkumulation von Myelozyten im Parenchym einer Hühnerleber (Giemsa-Färbung, 600fache Vergrößerung)

Wie aus Tabelle 7 und Abbildung 17 hervorgeht, wurden von dem Typ I 10 Tiere mit +++ und 7 Tiere mit ++ beurteilt. Ein Tier wies keine Akkumulationen auf.

Der Typ II (20 Tiere) zeigte ebenfalls häufig die Akkumulationsgrade ++ und +++. Auch bei diesen Tieren fiel eine Leber auf, welche histologisch keine Myelozyten erkennen ließ.

Beim Typ III (19 Tiere) und Typ IV (5 Tiere) wurden außer +++ alle Myelozytengrade gefunden.

In die Typen V (+) und VI (-) wurde jeweils nur eine Leber eingestuft.

In der Gruppe OLV (10 Tiere) wurden nur zwei Tiere detektiert, welche histologisch keine Myelozyten aufwiesen. Bei sieben Tiere wurden die Akkumulationen von Myelozyten im Lebergewebe mit +, bei einem Tier mit ++ beurteilt.

Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung der Myelozytengrade in den Lebertypkategorien I bis VI und der Gruppe OLV

	-	+	++	+++
I	1	0	7	10
II	1	6	10	3
III	8	8	3	0
IV	1	3	1	0
V	0	1	0	0
VI	1	0	0	0
Gruppe OLV	2	7	1	0

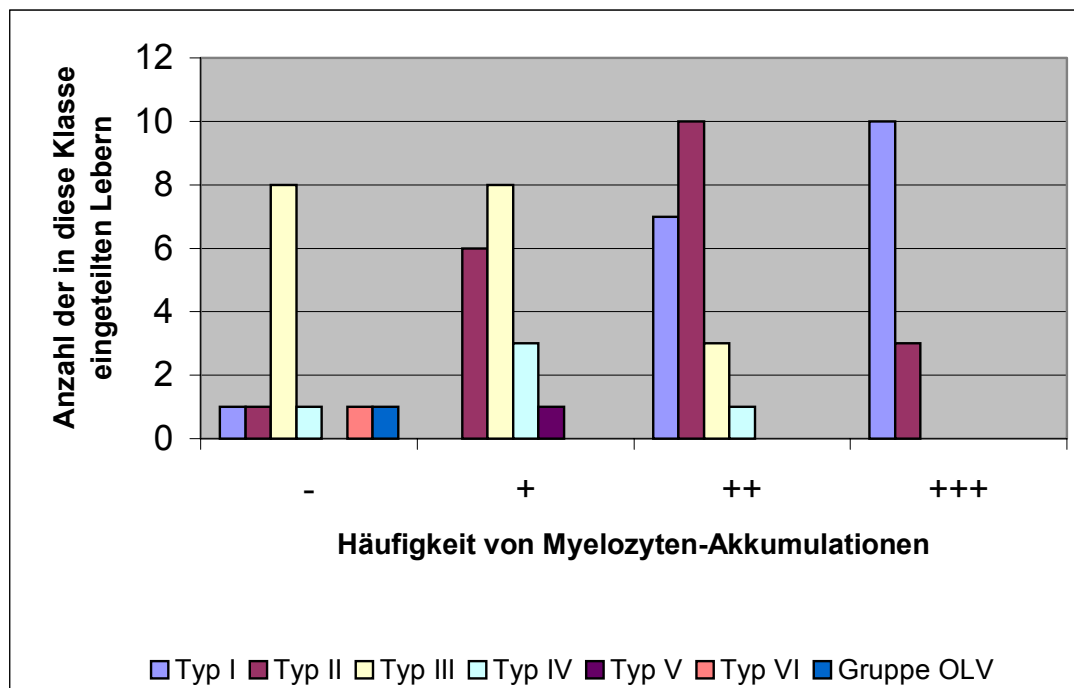


Abbildung 17: Grafische Darstellung des Vergleiches zwischen Lebertypen (einschließlich Gruppe OLV) und Akkumulationsklassen

4.3.1.2 Sonstige histopathologische Veränderungen in der Leber

Zusätzlich zu den Myelozyten wurden lichtmikroskopisch in den untersuchten Lebern der Gruppe LV Granulome, Nekrosen, Bindegewebszubildungen, Gallengangsproliferationen und Gallenpigmentablagerungen in unterschiedlicher Häufigkeit gesehen. Die Ergebnisse werden in der Tabelle II (Anhang 1) und in Abbildung 18 demonstriert.

Die Lage der Myelozytenherde waren unabhängig von diesen Veränderungen.

Heterophile granulozytäre Infiltrate

Heterophile granulozytäre Infiltrate wurden bei 53 Hühnern (52 Tiere der Gruppe LV und 1 Tier der Gruppe OLV) in der Leber gefunden. Diese Infiltrate kamen in Kombination mit Nekrosen und bindegewebigen Zubildungen vor. In nur 2 Fällen traten diese Infiltrate ausschließlich in Kombination mit Nekrosen, jedoch ohne vermehrtes Bindegewebe auf. Die Azanfärbung ließ bei diesen Tieren lichtmikroskopisch keine Bindegewebszunahme erkennen. Bei den Tieren der Gruppe OLV traten diese Infiltrate vereinzelt auf und wurden erst nach längerem Durchmustern des Leberpräparates erkannt. Nekrotische Bezirke oder Bindegewebszubildungen waren in diesen Fällen nicht sichtbar. Die Infiltrate sind als Substrate einer Hepatitis anzusehen.

Nekrosen

Nekrosen kamen bei 52 Tieren (Gruppe LV) in der Leber vor. Die Bezirke waren durch Zelldetritus auffällig, welcher von nur wenigen Abwehrzellen und Reparationsgewebe umgeben bzw. durchsetzt war. Die Zellkerne ließen Karyopyknose, Karyorrhesis und Karyolyse erkennen.

Bindegewebszubildungen

Um die Bindegewebszubildungen deutlicher als im HE-Schnitt darstellen zu können, wurden von den Lebern Proben mit der Azantechnik gefärbt.

Die Diagnose „Bindegewebszubildung“ wurde mit Hilfe dieser Färbetechnik bei 53 Tieren der Gruppe LV gestellt. Die Bindegewebszubildung stand immer im Zusammenhang mit degenerativen Prozessen (Tabelle II, Anhang 1).

Bei den Tieren der Gruppe OLV wurde deutlich weniger Bindegewebe im Leberparenchym nachgewiesen als bei den Tieren der Gruppe LV. Die Einteilung erfolgte semiquantitativ.

Granulome

Es wurde in 28 Fällen (Gruppe LV) histologisch die Diagnose „Granulome“ in der Leber gestellt. Hierbei wurde das nekrotische Gewebe von mehrkernigen Riesenzellen, weiteren Entzündungszellen und Bindegewebe umgeben.