

### 3.2.3. Lokalisation

Myxosporea- Trophozoiten wurden in der Darmserosa der Schildkröten Nr. 15, 70 und 71 nachgewiesen, bei Tier Nr. 43 wurde ein Myxosporea Befall des Darmes mit Sporen und Trophozoiten vermutet.

In der Harnblase der Tiere Nr. 64 und 69 konnten Plasmodien gefunden werden.

In den Hoden von Tier Nr. 60 wurden sowohl Plasmodien als auch Sporen nachgewiesen, in den Hoden von Tier Nr. 62 fanden sich ausschließlich Plasmodien.

Über den Befall weiterer Organe gibt Tabelle 5 Auskunft.

**Tabelle 5** betroffene Organe

	Positiv, Häufigkeit	Positiv, Prozent	Negativ, Häufigkeit	Negativ, Prozent
Leber, nativ	21	25.0	63	75.0
Leber, histologisch	32	38.1	52	61.9
Galle, nativ	18	21.4	66	78.6
Niere, nativ	17	20.2	67	79.8
Niere, histologisch	40	47.6	44	52.4
Urin, nativ	12	14.3	72	85.7

### 3.2.4. Ergebnisse der verschiedenen Nachweismethoden

Mithilfe der nativen Untersuchungen konnten 40 Tiere als Myxosporea- positiv erkannt werden, bei drei weiteren Tieren (Nr. 2, 50, 56) wurde die Verdachtsdiagnose gestellt.

Durch die histologische Untersuchung fand bei 43 Tieren ein positiver Myxosporea- Nachweis statt, eine Verdachtsdiagnose wurde bei drei Tieren (Nr. 1, 43, 55) gestellt.

Sowohl bei den Myxosporea- positiven Tieren als auch bei den Verdachtsfällen handelt es sich teilweise um unterschiedliche Tiere (nur in nativer Untersuchung positiv: Tiere Nr. 18, 23, 49, nur in histologischer Untersuchung positiv: Tiere Nr. 9, 10, 19, 63, 78).

Auf die Frage, ob die Beobachtungen der histologischen Färbungen untereinander übereinstimmen, sollen die folgenden Tabellen Auskunft geben. Es wurden 83 gültige Fälle berücksichtigt.

Die Häufigkeiten sporenpositiver Ergebnisse beläuft sich in der Leber auf 2,4% (Hämatoxylin- Eosin, HE) bzw. 20,3% (May- Grünwald/ Giemsa, MG) und in der Niere auf 6,0% (HE) bzw. 26,2% (MG) bei 83 gültigen Fällen.

In Tabelle 6 wurden die Ergebnisse der Färbungen May- Grünwald/ Giemsa (MG) und Hämatoxylin- Eosin (HE) der Leberschnitte verglichen:

**Tabelle 6** Kreuztabelle mit den Variablen HE, Leber, Sporen und MG, Leber, Sporen

		MG, Leber, Sporen			Gesamt
		keine	wenig	mäßig	
HE, Leber, Sporen	keine	66	13	2	81
	wenige	0	2	0	2
Gesamt		66	15	2	83

Mithilfe der Färbung MG konnten bei 15 (13+2) Tieren Sporen nachgewiesen werden, die mit der Standardfärbung HE nicht zu sehen waren. Bei 83 Tieren ist das ein prozentualer Anteil von 18,1%.

In Tabelle 7 ist dieser Vergleich bezogen auf die Nierenschnitte dargestellt:

**Tabelle 7** Kreuztabelle mit den Variablen HE, Niere, Sporen und MG, Niere, Sporen

		MG, Niere, Sporen				Gesamt
		keine	wenige	mäßig	viele	
HE, Niere, Sporen	keine	61	11	6	0	78
	wenige	0	2	2	1	5
Gesamt		61	13	7	1	83

Mit MG konnten 17 (11+6) Tiere als sporenpositiv erkannt werden, die mit HE als negativ eingestuft worden waren. Das sind 20,5% von 83 Tieren. Bei 3 (2+1) Tieren wurde mit MG eine höhere Intensität beurteilt als bei den gleichen Tieren mit HE.

Dem Vergleich der Färbungen MG und Ziehl- Neelsen (ZN) liegen aus technischen Gründen weniger Fälle zugrunde, da weniger Schnitte mit ZN gefärbt wurden. Mit ZN wurden die ersten 42 untersuchten Proben gefärbt und anschließend die Schnitte derjenigen Tiere, die in der nativen Untersuchung, HE oder MG in einem beliebigen Organ bereits positive Ergebnisse zeigten. Aus diesem Grunde beziehen sich die folgenden Angaben auf nur 56 Tiere (66,7% von insgesamt 84 untersuchten Tieren).

**Tabelle 8** Kreuztabelle mit den Variablen ZN, Niere, Sporen und MG, Niere, Sporen

		MG, Leber, Sporen			Gesamt
		keine	wenige	mäßig	
ZN, Leber, Sporen	keine	41	9	0	50
	wenige	0	4	1	5
	mäßig	0	0	1	1
gesamt		41	13	2	56

Mithilfe von MG wurden 9 Tiere als sporenpositiv beurteilt, die in ZN als sporennegativ eingeschätzt wurden. Bei einem Tier wurde mit MG eine höhere Befallsintensität festgestellt als bei ZN, wie Tab. 8 zu entnehmen ist.

Welche Methode ist für den Sporennachweis am besten geeignet?

Den Tabellen 9 und 10 liegen 56 gültige Fälle zugrunde.

**Tabelle 9** Sporennachweis, Leber

	negativ	positiv
Angenommene Wahrheit	41	15
HE, Leber, Sporen	54	2
ZN, Leber, Sporen	50	6
MG, Leber, Sporen	41	15

**Tabelle 10** Sporennachweis, Niere

	negativ	positiv
Angenommene Wahrheit	34	22
HE, Niere, Sporen	51	5
ZN, Niere, Sporen	43	13
MG, Niere, Sporen	35	21

Aus den Tab. 16 und 17 geht hervor, dass mit HE in der Leber 2 von 15 positiven Tieren erkannt wurden, in der Niere 5 von 22. Die gleichen Schnitte mit der Färbung MG erbrachten ein Ergebnis, welches der angenommenen Wahrheit (Summenvariable aller positiven Befunde des betreffenden Tieres) annähernd entspricht (Leber: 15 von 15 Infizierten erkannt, Niere: 21 von 22 positiven Tieren erkannt).

### 3.2.5. Pathologie

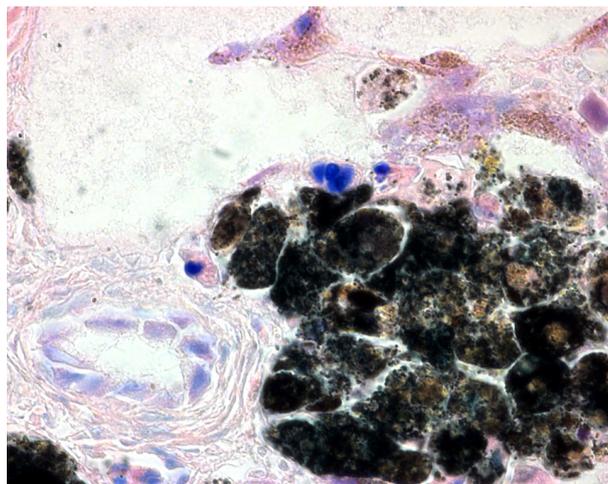
Eine Ausführliche Beschreibung der pathologisch- anatomischen Befunde liefern die Tabellen 15 (für adulte Tiere) und 16 (für juvenile Tiere).

Fast alle eingesandten Schildkröten wiesen eine mehr oder weniger starke Besiedlung mit Bakterien auf. Über die Hälfte der untersuchten Tiere litt unter einer Trematoden- Infektion.

#### a) Leber

Im Lebergewebe, in den Gallengängen und der Gallenblasenwand Myxosporea- infizierter Tiere fand sich häufig in Assoziation mit den Entwicklungsstadien der Myxosporea eine Pseudoeosinophilie bzw. eine Melanomakrophagen- Ansammlung (siehe Abb. 54). Diese leichten Entzündungszeichen wurden allerdings auch bei Schildkröten festgestellt, die ausschließlich unter einer Trematodeninfektion litten.

**Abbildung 51** Sporen und Plasmodien von *Myxidium chelonarum*, Melanomakrophagen umgeben die Entwicklungsstadien, Pseudoeosinophilie, Leber, MGx1000



#### b) Gallenblase

Bei sechs Tieren wurde eine Gallenblasendilatation festgestellt. Die Tiere Nr. 36 und 68 zeigten neben einer Myxosporea- Infektion der Leber eine verdickte Gallenblasenwand und eine Cholecystitis.

#### c) Darm

An den Därmen der vier Schildkröten, die in diesem Organ Plasmodien beherbergten, waren keine pathologischen Veränderungen sichtbar, die auf diese Infektion hinweisen.

#### d) Niere

Trophozoiten der Myxidien fanden sich im Interstitium, in den Glomeruli, Nierenepithelzellen und im Lumen der Nierentubuli (siehe Abb. 33-36, 47-49). Durch Entwicklungsstadien und Sporen der Myxosporea waren häufig die Nierentubuli verstopft. Bei den Tieren Nr. 17 und 69 fanden sich neben Plasmodien in den Tubuli auch Kongrementablagerungen. In Assoziation mit den Entwicklungsstadien der Myxosporea konnten Pseudoeosinophilie und/ oder Melanomakrophagen- Ansammlungen beobachtet werden (z.B. Nr. 10, 11, 12, 62, 64).

#### e) Harnblase

Bei den Tieren Nr. 64 und 69 wurden Plasmodien in der Harnblasenwand festgestellt. Diese schienen keine darstellbaren Wirtsreaktion zu verursachen.

#### f) Gonaden

Die Hoden von Tier Nr. 60, welche sowohl Plasmodien, Myxidium- Sporen als auch Trematoden beherbergten, wiesen eine Pseudoeosinophilie auf.

Die untersuchten Schildkröten befanden sich häufig in sehr schlechtem Zustand, welcher mit multiplen Panzernekrosen (Nr. 4, 17, 32, 41, 43, 49, 51, 63, 79) und schlechtem Ernährungszustand einherging. Die Todesursache einiger weiblicher Tiere war vermutlich Legenot (Nr. 2, 12, 54, 56, 79).

Als weitere Parasiten wurden Hämogregarinen (Nr. 18), Acantella- Larven (Nr. 71) oder Kokzidien (Nr. 34, 61) nachgewiesen.

### 3.2.6. Altersdisposition

Die folgenden Ausführungen beziehen sich ausschließlich auf das Untersuchungsmaterial und haben keinen Anspruch auf eine Verallgemeinerung, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass durch die Art der Probenbeschaffung eine unbeabsichtigte Vorauswahl getroffen wurde. Für die Tabellen 11- 15 wurden 84 gültige Fälle berücksichtigt.

**Tabelle 11** Altersdisposition

			Alter		Gesamt
			juvenil	adult	
Infektion	negativ	Anzahl	<b>15</b>	<b>23</b>	<b>38</b>
		% von Alter	100.0%	33.3%	45.2%
	positiv	Anzahl	<b>0</b>	<b>46</b>	<b>46</b>
		% von Alter	.0%	66.7%	54.8%
Gesamt		Anzahl	<b>15</b>	<b>69</b>	<b>84</b>
		% von Alter	100.0%	100.0%	100.0%

Unter den 84 untersuchten Schildkröten waren 15 juvenile Tiere. Diese waren zu 100% frei von einer Myxosporea- Infektion, wie aus Tab. 11 zu entnehmen ist. Von den 69 adulten Tieren wiesen 46 (66,7%) eine Infektion mit Myxosporea auf.

Da die zweiseitige Signifikanz  $p < 0,001$  ist und damit deutlich unter dem Signifikanzniveau  $p = 0,05$  liegt, muß davon ausgegangen werden, dass Alter und Myxosporidieninfektion voneinander abhängige Variable sind.

### 3.2.7. Geschlechtsdisposition

**Tabelle 12** Geschlechtsdisposition

			Geschlecht			Gesamt
			weiblich	männlich	unbekannt	
Infektion	negativ	Anzahl	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>15</b>	<b>38</b>
		% von Infektion	31.6%	28.9%	39.5%	100.0%
		% von Geschlecht	50.0%	24.4%	100.0%	45.2%
	positiv	Anzahl	<b>12</b>	<b>34</b>	<b>0</b>	<b>46</b>
		% von Infektion	26.1%	73.9%	.0%	100.0%
		% von Geschlecht	50.0%	75.6%	.0%	54.8%
Gesamt		Anzahl	<b>24</b>	<b>45</b>	<b>15</b>	<b>84</b>
		% von Infektion	28.6%	53.6%	17.9%	100.0%
		% von Geschlecht	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Die folgenden Aussagen beziehen sich auf Tab. 12. Unter den 84 untersuchten Tieren waren 45 männliche Schildkröten. Bei 34 davon konnte eine Myxosporea- Infektion nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass 75,6% der männlichen Tiere eine Infektion aufwiesen, während nur 11 männliche Tiere (24,4%) frei von einer Myxosporea- Infektion waren. 73,9% der positiv getesteten Schildkröten waren männlichen Geschlechts.

Unter den 24 weiblichen Schildkröten waren jeweils 12 Tiere infiziert und 12 Tiere waren frei von einer Myxosporea- Infektion, d.h. je 50 % der weiblichen Tiere waren infiziert bzw. nicht infiziert. 26,1% der infizierten Tiere waren weiblich.

Bei 100% der Tiere unbekanntes Geschlechts konnte keine Infektion festgestellt werden. Das ist darauf zurückzuführen, dass alle juvenilen Tiere in die Kategorie unbekanntes Geschlecht eingeordnet wurden, und sich im Verlauf der Untersuchungen ein Zusammenhang zwischen Alter und Infektion herausgestellt hat (siehe Tab. 11).

Bei der Berechnung der Signifikanz wurden die Tiere unbekanntes Geschlechts nicht berücksichtigt, da diese Tiere alle juvenil waren und bereits ein Zusammenhang zwischen Alter und Myxosporidieninfektion im vorliegenden Untersuchungsmaterial festgestellt wurde.

Da  $p = 0,059$  und damit  $>0,05$  ist, wird für dieses Untersuchungsmaterial kein Zusammenhang zwischen den Merkmalen Myxosporea- Infektion und Geschlecht festgestellt.

### 3.2.8. Betroffene Gattungen

**Tabelle 13** Betroffene Gattungen

	Infektion		Gesamt
	negativ	positiv	
Graptemys sp.	9	19	28
Chrysemys sp.	5	9	14
Phrynops sp.	11	3	14
Sternotherus sp.	4	9	13
Rhinoclemmys sp.	0	4	4
Kinosternon sp.	2	1	3
Trionyx sp.	3	0	3
Trachemys sp.	1	1	2
Chinemys sp.	1	0	1
Emys sp.	1	0	1
Platemys sp.	1	0	1
<b>Gesamt</b>	<b>38</b>	<b>46</b>	<b>84</b>

Über die Gattungen *Chinemys*, *Emys*, *Kinosternon*, *Platemys*, *Rhinoclemmys*, *Trachemys* und *Trionyx* können keine statistisch aussagefähigen Angaben bezüglich einer Häufung von Myxosporea- Infektionen gemacht werden, da aus diesen Gattungen zu wenig Tiere für eine Untersuchung zur Verfügung standen (siehe Tab. 13).

Bei *Chrysemys* sp. waren 9 (64,3%) von 14 Tieren Myxosporea- positiv und stellten damit 19,6% aller positiven Tiere bei einem Anteil von 16,7% dieser Gattung an der Gesamttierzahl. Von den 28 Tieren, die der Gattung *Graptemys* angehören, waren 19 Myxosporea- positiv (67,9%). 41,3 % der positiven Schildkröten gehören dieser Gattung an, wobei diese Gattung nur 33,3% an der Gesamtanzahl der untersuchten Tiere ausmacht.

Es wurden 14 Schildkröten der Gattung *Phrynops* untersucht, von denen nur 3 (21,4%) positiv waren. Damit stellten sie 6,5% der positiven Tiere, obwohl die Gattung einen Anteil von 16,7% an der Gesamttierzahl hat.

13 Tiere der Gattung *Sternotherus* konnten untersucht werden. Davon erwiesen sich 9 (69,2%) als Myxosporea- positiv. Die Gattung ist mit 15,5% an der Gesamttierzahl beteiligt und stellt 19,6% der positiven Tiere.

Die Asymptotische Signifikanz wurde für die Gattungen *Chrysemys*, *Graptemys*, *Phrynops* und *Sternotherus* betrachtet und beträgt  $p= 0,021$ . Das bedeutet, dass die Merkmale Gattung und Myxosporea- Infektion im vorliegenden Untersuchungsmaterial voneinander abhängig sind.

### 3.2.9. Zusammenhang zwischen Trematodeninfektion und Myxosporea- Infektionen

**Tabelle 14** Trematodeninfektionen im Verhältnis zu Myxosporea- Infektionen

			Trematodeninfektion		Gesamt
			negativ	positiv	
Infektion	negativ	Anzahl	<b>31</b>	<b>7</b>	<b>38</b>
		% von Infektion	81.6%	18.4%	100.0%
		% von Trematodeninfektion	77.5%	15.9%	45.2%
	positiv	Anzahl	<b>9</b>	<b>37</b>	<b>46</b>
		% von Infektion	19.6%	80.4%	100.0%
		% von Trematodeninfektion	22.5%	84.1%	54.8%
Gesamt		Anzahl	<b>40</b>	<b>44</b>	<b>84</b>
		% von Infektion	47.6%	52.4%	100.0%
		% von Trematodeninfektion	100.0%	100.0%	100.0%

Wie aus Tab. 14 zu entnehmen ist, wiesen von den 84 untersuchten Schildkröten 44 Tiere (52,4%) eine Trematodeninfektion auf. Von diesen 44 Tieren waren 37 (84,1%) gleichzeitig mit Myxosporea infiziert. 80,4% der Myxosporea- infizierten Tiere wiesen gleichzeitig eine Trematodeninfektion auf.

77,5% der Schildkröten ohne Trematodeninfektion hatten auch keine Myxosporea- Infektion und 81,6% der Tiere ohne Myxosporea- Infektion hatten auch keine Trematodeninfektion.

Im Exakten Test nach Fisher ist  $p \leq 0,001$  und liegt damit deutlich unter dem Signifikanzniveau von  $p = 0,05$ . Daher gilt für das hier untersuchte Material, dass es einen Zusammenhang zwischen Trematoden- und Myxosporea- Infektion gibt.