

Untersuchungen zur Pathologie und Pathogenese der *Clostridium perfringens*-Typ-A- Enterotoxämie des Huhnes

2. Pathomorphologische und bakteriologische Befunde nach
experimenteller intraduodener *Cl. perfringens*-Typ A-Infek-
tion (Sporen und vegetative Keime) und -Toxinapplikation

Th. Vissiennon, U. Johannsen, Solveig Menger und B. Köhler

Institut für Veterinär-Pathologie (damaliger Direktor: Prof. Dr. med. vet. U. Johannsen) der
Universität Leipzig, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Potsdam (Direktor: Prof.
Dr. Dr. B. Schlatterer)

Zusammenfassung. Es wurden verendete bzw. getötete Küken nach experimenteller intraduodener Applikation von *Cl. perfringens* Typ A (vegetativer Form n = 146), -Sporen (n = 6) bzw. -Toxin (n = 6) pathomorphologisch und bakteriologisch untersucht und mit 60 Kontrollküken verglichen.

Pathologisch-anatomisch wurden prästatische Hyperämie der parenchymatösen Organe, starke Injektion der mesenterialen Gefäße, mit Gasblasen durchsetzter wäßriger Dünndarminhalt, Lungenödem sowie Schwellung und Aufhellung der Nieren festgestellt. Nekrosen bzw. Hämorrhagien der Darmschleimhaut waren bei keinem Tier zu beobachten. Histologische Untersuchungen erbrachten folgende Befunde: Besiedlung und Vermehrung von *Cl. perfringens* im Darmlumen, ohne Adhäsion an der Darmmukosa, zellige Infiltration der Propria mucosae, intraepitheliale Granulozytenansammlung und Kryptenabszesse unterschiedlichen Grades. Die elektronenoptischen Alterationen bestanden in Cristolyse der Mitochondrien, vesikulärer Fragmentation bis Schwund des Mikrovillisaumes, Verdichtung und Auflösung des Terminalgespinnstes, Dilatation des rauhen endoplasmatischen Retikulums sowie Auflösung einzelner Enterozytenverbände. *Cl. perfringens* wurde aus 94,7% der Darm- und 1,2% der Leberproben isoliert.

Kode. Huhn, *Cl. perfringens*-Typ A-Enterotoxämie, Pathomorphologie, Pathogenese.

Summary. Chickens were inoculated intraduodally with germs of *Cl. perfringens* Type A in 6 attempts (n = 146), spores (n = 6) and *Cl. perfringens* Type A toxin (n = 6). Birds, which had died spontaneously or had been killed respectively were examined pathomorphologically and bacteriologically. The pathological-anatomical observations included: prestatic hyperemia of the parenchymatous organs; heavy injection of the mesenteric vessels; watery contents of the small intestine mixed with gas bubbles; lungs oedema; swollen and pale kidneys. Necrosis or hemorrhage of the intestinal mucous membranes wasn't observed.

Histological investigations lead to the following findings: Colonisation and multiplication of *Cl. perfringens* in the intestinal lumen without adhesion onto the intestinal mucous membrane, cellular infiltration of the propria mucosae, intraepithelial accumulation of heterophiles, crypt abscesses of various degree; and occasionally desquamation of the epithel cells. The electron microscopical alterations concerned cristolyse of the mitochondria, destructions of the microvilli border, dissolving of the terminal web, and detachment of isolated enterocyte groups. *Cl. perfringens* was isolated in 95.4% of the intestine samples and 1.2% from the liver samples.

Die von Parish (1961a, b) erstmalig ausführlich als „necrotic enteritis of fowl“ beschriebene *Cl. perfringens*-Enterotoxämie des Huhnes wurde mehrfach sowohl bei Spontanfällen als auch nach experimentellen Untersuchungen beschrieben (Nairn u. Bamford 1967; Helmboldt u. Bryant

1971; Köhler et al. 1974a, b, c, 1983; Köhler 1974; Bernier et al. 1974, 1977; Long et al. 1974; Kwatra u. Chaudhury 1976; Balauca 1976; Eleazer u. Harrel 1976; Truscott u. Al-Sheikly 1977; Al-Sheikly u. Truscott 1977a, c; Cygan 1987; Fukata et al. 1988). Nach den genannten Autoren

besteht der pathomorphologische Darmbefund der Krankheit insbesondere in einer hämorrhagischen bis hämorrhagisch-nekrotisierenden Enteritis mit dünnflüssigem, blutig verfärbtem und unangenehm riechendem Darminhalt. Dabei wird die Mukosa, vor allem der zwei letzten Drittel des Jejunums, mitunter des vorderen Jejunums und Duodenums, von einer diffusen trockenen, grau-braunen bis gelb-grünen, diphtheroid-nekrotischen Pseudomembran bedeckt, so daß der Darm das Aussehen eines derben Stranges erhält. Über Abweichungen von diesem pathomorphologischen Bild liegen keine Berichte vor.

In der vorausgegangenen Arbeit (Vissiennon et al. 1994) wurde über die experimentelle Erzeugung der *Cl. perfringens*-Typ-A-Enterotoxämie des Huhnes und ihre klinischen Symptome sowie die erzielten Mortalitätsraten berichtet.

Zielstellung dieser Arbeit ist es, nach erfolgten intra-duodenalen Infektionen mit *Cl. perfringens*-Typ A (-Sporen- und Toxinapplikation, vegetative Keime) an Hühnerküken die pathomorphologischen Veränderungen zu untersuchen, insbesondere:

- die Kolonisation der Clostridien im Darm,
- ihre Wirkungsweise auf die Darmschleimhaut,
- die parenterale Wirkung
- sowie die pathologisch-histologischen Veränderungen der Leber und Nieren.

Material und Methoden

Versuchsansatz, -durchführung und Tiermaterial

(s. Vissiennon et al. 1994)

Pathologisch-anatomische Untersuchungen

Die verwendeten bzw. getöteten Versuchs- und Kontrolltiere (vegetative Form: n = 146, Sporen: n = 6, Toxin: n = 6, Kontrolltiere: n = 60) wurden sofort nach Verendung bzw. Tötung einer ordnungsgemäßen Sektion unterzogen und pathomorphologisch sowie bakteriologisch untersucht.

Histologische Untersuchungen

Nach der Sektion der verwendeten Versuchstiere bzw. Tötung der Kontrollküken wurden Organ- bzw. Gewebeteile entnommen und in 10%iger neutraler Formalinlösung fixiert. Zur histologischen Untersuchung gelangten Versuchstiergruppen:

- Infektion mit vegetativen Keimen: n = 90; Kontrolltiere n = 39.
- Infektion mit Sporen: n = 6, Kontrolltiere: n = 3.
- Toxinapplikation: n = 6, Kontrolltiere: n = 3.

Folgende Organe bzw. Gewebeteile wurden in Paraffin eingebettet: Duodenum (Du), vorderes (J₁), hinteres (J₃) Jejunum, Ileum (Il), Zäkum (Cae), Leber, Niere. Die etwa 6–10 µm dicken histologischen Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

Die Beurteilung der histologischen Darmschnitte erfolgte semiquantitativ nach folgenden Kriterien:

- Anwesenheit und Lokalisation von *Cl. perfringens* im Darmlumen (+ bis +++)
- Epithelzustand (Zotten- bzw. Oberflächen- und Kryptenepithel)
- intraepitheliale Granulozytenansammlung (+ bis +++)
- Anwesenheit von Entzündungszellen (Lymphozyten, Histiocyten, Granulozyten) im Zottenstroma (+ bis +++)
- Hyperämie im Bereich der terminalen Gefäße, insbesondere der Zottenkapillaren (+ bis +++)
- „Kryptenabszesse“ (= Ansammlung polymorphkerniger Leukozyten und amorpher Substanz in dilatierten Darmkrypten) (+ = geringgradig; ++ = mittelgradig; +++ = hochgradig)

Der Gesamtbefund wurde nach Art und Grad in folgenden Enteritis-Formen erfaßt:

- E₀ = Darmschleimhaut intakt: bis (++) zellige Infiltration der Propria mucosae, bis (++) intraepitheliale Granulozytenansammlung
- E₁ = Darmschleimhautarchitektur erhalten, (+++) zellige Infiltration der Propria mucosae, (+++) intraepitheliale Granulozytenansammlung mit/ohne kapilläre Hyperämie
- E₂ = akute katarrhalische Enteritis: Epithelzelldesquamation, sonst wie E₁
- E₃ = akute hämorrhagische Enteritis

Darüber hinaus wurden 75 Leberproben (60 Versuchs- und 15 Kontrolltiere) sowie 47 Nierenproben (32 Versuchs- und 15 Kontrolltiere) histologisch bearbeitet und untersucht (Einzelheiten s. Vissiennon 1991).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Sie erfaßten stichprobenmäßig folgende Darmabschnitte von 6 Tieren der Infektions- bzw. 4 der Toxingruppe: Duodenum, Jejunum (vorderes und hinteres) und Ileum. Die für die elektronenoptischen Untersuchungen (REM und TEM) vorgesehenen Gewebeproben wurden von klinisch kranken Tieren unmittelbar nach Betäubung (Halsdislokation) und Eröffnung der Bauchhöhle entnommen, lebensfrisch in Ringerlösung gespült, in 3%igem phosphatgepuffertem Glutaraldehyd bei pH 7,2 vorfixiert und in einem Chromosmiumgemisch nachfixiert. Anschließend wurden die Proben für die transmissions-elektronenmikroskopische Untersuchung über Ethanol entwässert und in Epon 812 eingebettet. Die Herstellung der Ultradünnschnitte erfolgte mit dem Ultracut/Reichert. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und im Elektronenmikroskop Tesla BS 500 untersucht.

Für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung wurden die Proben über eine aufsteigende Aceton-Reihe entwässert. Nach der Kritischpunkt-Trocknung und Metallbedampfung erfolgte die Untersuchung im Rasterelektronenmikroskop Tesla BS 300.

Bakteriologischer Untersuchungsgang

Zur bakteriologischen Untersuchung wurde von jedem verwendeten Tier eine Leber- und Darmprobe entnommen. Nach Beimpfung einer Preuss-Nährlösung (zum Salmo-

nellen-Nachweis) wurde von den genannten Organen eine Zeißler-Platte mit 150 µg Neomycin/ml Blutagar beimpft und 24 Stunden bei 37 °C nach dem Verfahren von Al-Khatib (1966) anaerob bebrütet. Von deutlich mit α - und β -Hämolyse umgebenen Kolonien wurde ein Ausstrich angefertigt, nach Gram gefärbt und nach der Anwesenheit Gram-positiver, plumper Stäbchen gesucht (Einzelheiten s. Vissiennon 1990).

Biostatistik

Die biostatistische Auswertung der Häufigkeit der semi-quantitativ ermittelten pathomorphologischen Befunde erfolgte mit Hilfe des chi-Quadrat-Testes.

Ergebnisse

• Pathologisch-anatomische Befunde

Die Befunde der postmortalen Untersuchungen der verendeten Tiere ergaben zusammenfassend folgendes Bild: Der ganze Tierkörper war stark kotbeschnitzelt. Der Ernährungszustand war mäßig. Leber, Milz und Lunge waren hyperämisch. Aufhellung und deutliche Läppchenzeichnung der Nieren sowie Lungenödem waren bei allen Tieren zu verzeichnen.

Der Drüsen- und Muskelmagen waren unauffällig. Bis 3 d nach Krankheitsausbruch verendete Tiere wiesen einen mit Gasblasen durchsetzten, gelbrötlichen bis grünlichen Dünndarminhalt auf

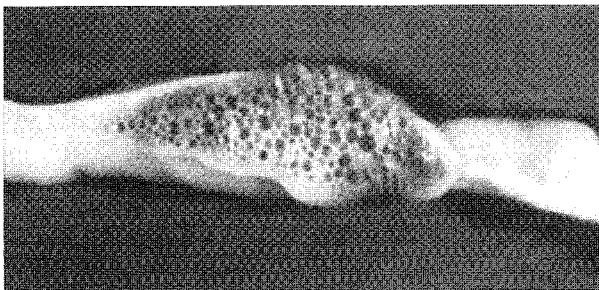


Abb. 1. Flüssiger, von Gasblasen durchsetzter Dünndarminhalt (1:1).

(Abb. 1). Bei später verendeten Tieren (d. h. 3–10 Tage nach den ersten Todesfällen) war der Dünndarm nur wenig gefüllt. Sein Inhalt war gelb bis gelbrötlich verfärbt. Die Schleimhaut war stellenweise leicht gerötet. Nekrosen der Schleimhaut bzw. Hämorrhagien waren bei keinem der Tiere nachzuweisen. Der Muskelmagen dieser Tiere war klein und enthielt wenig Futtermasse.

Die mesenterialen Blutgefäße waren stark injiziert. Der Dickdarm (Kolon und Zäkum) wies keine sinnfälligen Veränderungen auf. Bei 9 Tieren wurde Viszeralgicht festgestellt.

• Pathologisch-histologische Befunde

Die Befunde am Darm von insgesamt 147 Tieren, die im Rahmen der 8 Versuche histologisch untersucht worden waren, lassen sich wie folgt zusammenfassen (Tab. 1–7 und Abb. 2):

Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß die *Cl. perfringens*-Infektion bei insgesamt guter Erhaltung der Darmmukosa zu einer deutlich häufigeren, z. T. signifikanten ($\alpha = 0,1\%$) intraepithelialen Granulozytenansammlung, zelligen Infiltration und zu Kryptenabszessen führt. Die *Cl. perfringens*-Keime lagen sowohl frei im Chymus als auch in unmittelbarer Nachbarschaft der Zottenepithelien. Adhäsionsphänomene bzw. Hämorrhagien oder Nekrosen der Schleimhaut waren bei keinem Tier zu verzeichnen.

Im Semidünnschnitt waren eine Vesikulation der Krypten- und der basalen Zottenepithelien sowie Ödem der Zottenspitzen nachweisbar.

• Elektronenmikroskopische Befunde

Die Untersuchung von 6 Tieren der Infektionsgruppe bzw. 4 der Toxingruppe ergab folgende Befunde:

Fünf Tiere der Infektions- und alle Tiere der Toxingruppe wiesen auffällige Mitochondrienschädigungen (Schwellung und partielle bis vollständige Cristolyse sowie Aufhellung der Matrix) (Abb. 3) in den Enterozyten der Lieberkühn'schen Drüsen und der basalen Zottenhälfte auf, die lichtoptisch als Vesikulation zu beobachten waren.

Darüber hinaus wurden gelegentlich Enterozytenschädigungen beobachtet. Die Schädigungen betrafen einzelne Enterozyten innerhalb des sonst intakten Epithelzellverbandes und äußerten sich in weitgehendem bis vollständigem vesikulärem Zerfall der Mikrovilli, bleb formation und Verdichtung bzw. Auflösung des Terminalgespinnstes (Abb. 4). Die Mitochondrien veränderter Enterozyten wiesen z. T. Cristolyse und Aufhellung der Matrix auf. Das rauhe endoplasmatische Retikulum war erweitert. Vereinzelt waren desquamierende Enterozyten zu beobachten (Abb. 5). Die Zottenkapillaren waren stark mit Erythrozyten und vereinzelt mit Granulozyten gefüllt. Schädigungen an den Gefäßendothelien waren nicht nachweisbar. Im Lumen kamen einzelne desquamierte nekrobiotische Zellen vor, die von *Cl. perfringens* umgeben waren. *Cl. perfringens*-Keime wurden außerdem sowohl frei im Lumen als auch in unmittelbarer Nachbarschaft des meist intakten Mikrovillisaumes beobachtet (Abb. 6).

Die Veränderungen waren im Jejunum und Ileum stärker ausgeprägt als im Duodenum.

Rasterelektronenoptisch waren ganz vereinzelt Epitheldefekte zu erkennen, die auf einen

Tabelle 1. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde am Duodenum der experimentell intraduodenal mit vegetativer Form von *Cl. perfringens* Typ A infizierten Küken (n = 90).

Befund	Versuchs-Nr.						Total (%)	Kontr. n = 39)	α
	3	5B	6	7A	8	10			
<i>Cl. perfringens</i>	23	9	13	9	15	11	80 (88,8)	—	—
EP:-Desquamation	2	2	—	1	—	—	5 (5,5)	—	—
Hyperämie (ab ++)	22	9	9	9	12	10	71 (78,8)	5	0,1%
intraep. Granulo- lozyten (ab ++)	20	10	12	10	9	11	72 (80,0)	9	0,1%
zellige Infil- tration (ab ++)	14	13	5	9	3	10	54 (60,0)	9	0,1%
Kryptenabszeß	14	5	3	1	4	5	32 (35,5)	—	—
E ₁	2	1	—	—	—	—	3 (3,3)	—	—
E ₂	2	2	—	1	—	—	5	—	—

Tabelle 2. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde am vorderen Jejunum der experimentell intraduodenal mit vegetativer Form von *Cl. perfringens* Typ A infizierten Küken (n = 90).

Befund	Versuchs-Nr.						Total (%)	Kontr. (n = 39)	α
	3	5B	6	7A	8	10			
<i>Cl. perfringens</i>	21	11	14	10	14	3	73 (81,1)	—	—
EP:-Desquamation	2	1	—	—	—	1	4 (4,4)	—	—
Hyperämie (ab ++)	21	5	5	7	10	5	51 (56,6)	8	0,1%
intraep. Granulo- lozyten (ab ++)	21	12	5	10	11	1	60 (66,6)	11	0,1%
zellige Infil- tration (ab ++)	13	12	5	9	2	5	46 (51,1)	8	0,1%
Kryptenabszeß	10	5	3	—	2	4	24 (26,6)	—	—
E ₁	3	1	—	—	—	—	4 (4,4)	—	—
E ₂	2	1	—	—	—	1	4 (4,4)	—	—

umschriebenen Enterozytenverlust zurückzuführen waren (Abb. 7).

- Histologische Befunde der Leber und Nieren

Die histologische Untersuchung der 60 Leberproben ergab das Bild einer hochgradigen Hyperämie mit massiver Erythrozytenansammlung in den Zentralvenen und den Sinusoiden sowie einer geringgradigen Aktivierung der Kupffer-Zellen.

Die 32 Nierenproben wiesen eine hochgradige Hyperämie der glomerulären und intertubulären Gefäße auf. Darüber hinaus kamen vereinzelt und unregelmäßig Herdchen interstitieller lymphohistiozytärer Nephritis vor, die sowohl in der Nierenrinde als auch in der Zona intermedialis zu beobachten waren.

Derartige entzündliche Veränderungen wurden bei den Kontrolltieren nicht nachgewiesen.

- Bakteriologischer *Cl. perfringens*-Nachweis

Cl. perfringens wurde aus 94,7% (n = 161) der Darm- und 1,2% der Leberproben der Infektionstiere isoliert. Bei den Tieren der Toxinapplikation zeigte 1 Darmprobe eine *Cl. perfringens*-verdächtige Kolonie auf der Zeißler-Platte.

Diskussion

Im Gegensatz zu dem bisher bekannten „klassischen“ Bild der *Cl. perfringens*-Typ-A-Infektion (s. nekrotisierende Enteritis) mit trockener, grau-brauner bis gelb-grüner, kleieartiger, diphtheroid-nekrotischer Pseudomembran der Dünndarmmukosa (Parish 1961 a, b; Morch 1973; Köhler et al. 1974 a; Long u. Truscott 1976; Maxey u. Page 1977; Truscott u. Al-Sheikhly 1977; Al-Sheikhly u. Truscott 1977 a, b, c; Bernier et al. 1977; Prescott 1979;

Tabelle 3. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde am hinteren Jejunum der experimentell intraduodenal mit vegetativer Form von *Cl. perfringens* Typ A infizierten Küken (n = 90).

Befund	Versuchs-Nr.						Total (%)	Kontr. (n = 39)	α
	3	5B	6	7A	8	10			
<i>Cl. perfringens</i>	21	130	13	10	12	11	80 (88,9)	—	—
EP.-Desquamation	1	2	—	—	—	1	4 (4,4)	—	—
Hyperämie (ab ++)	20	3	6	8	10	11	58 (64,4)	4	0,1%
intraep. Granulo- zyten (ab ++)	20	11	10	10	8	11	70 (77,7)	7	0,1%
zellige Infil- tration (ab ++)	15	11	2	8	3	11	50 (53,3)	8	0,1%
Kryptenabszeß	5	4	3	—	3	5	20 (22,2)	—	—
E ₁	1	1	—	—	1	—	3 (3,3)	2	—
E ₂	1	2	—	—	—	1	5 (4,4)	—	—

Tabelle 4. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde am Ileum experimentell intraduodenal mit vegetativer Form von *Cl. perfringens* Typ A infizierten Küken (n = 90).

Befund	Versuchs-Nr.						Total (%)	Kontr. (= 39)	α
	3	5B	6	7A	8	10			
<i>Cl. perfringens</i>	20	11	13	10	11	5	70 (77,7)	—	—
EP.-Desquamation	1	1	—	—	—	1	3 (3,3)	—	—
Hyperämie (ab ++)	20	3	8	7	10	5	53 (58,9)	1	0,1%
intraep. Granulo- zyten (ab ++)	20	1	9	8	5	1	44 (48,9)	7	0,1%
zellige Infil- tration (ab ++)	13	10	2	5	6	5	41 (45,5)	9	0,1%
Kryptenabszeß	1	3	3	—	1	5	13 (14,4)	—	—
E ₁	1	—	—	—	1	—	3 (3,3)	—	—
E ₂	2	2	—	1	—	—	5	—	—

Tabelle 5. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde am Zäkum der experimentell intraduodenal mit vegetativer Form von *Cl. perfringens* Typ A infizierten Küken (n = 90).

Befund	Versuchs-Nr.						Total (%)	Kontr. (n = 39)	α
	3	5B	6	7A	8	10			
<i>Cl. perfringens</i>	10	6	13	10	8	11	58 (64,4)	—	—
EP.-Desquamation	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hyperämie (ab ++)	15	—	—	7	6	11	39 (43,3)	4	0,1%
intraep. Granulo- zyten (ab ++)	14	—	4	5	4	11	38 (42,2)	2	0,1%
zellige Infil- tration (ab ++)	13	—	—	2	1	11	27 (30,0)	4	0,1%
Kryptenabszeß	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E ₁	—	—	—	—	—	1	1 (1,1)	—	—

Tabelle 6. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde nach experimenteller, intraduodener *Cl. perfringens*-Typ-A-Sporen-Infektion (n=6).

	Du	J ₁	J ₃	I1	Cae	Kontr. (n=3)
<i>Cl. perfringens</i>	6	6	6	6	6	—
EP.-Desquamation	1	—	—	—	—	—
Hyperämie (ab ++)	5	4	3	4	3	1
intraep. Granulozyten (ab ++)	6	6	6	5	—	1
zell. Infiltration (ab ++)	6	6	6	6	4	1
Kryptenabszeß	2	1	—	—	—	—
E ₁	—	—	—	1	—	—
E ₂	1	—	—	—	—	—

Tabelle 7. Überblick über die pathologisch-histologischen Befunde nach experimenteller, intraduodener *Cl. perfringens*-Typ-A-Toxin-Applikation (n=6).

	Du	J ₁	J ₃	I1	Cae	Kontr. (n=3)
<i>Cl. perfringens</i>	—	—	—	—	—	—
EP.-Desquamation	—	—	—	—	—	—
Hyperämie (ab ++)	—	2	1	—	—	—
intraep. Granulozyten (ab ++)	6	6	5	5	2	1
zell. Infiltration (ab ++)	6	6	4	5	1	—
Kryptenabszeß	3	2	1	—	—	—
E ₁	3	11	1	—	—	—

Shane et al. 1985; Cowen et al. 1987; Branton et al. 1987) zeigt die vorliegende Untersuchung, daß die *Cl. perfringens*-Infektion des Huhnes ohne Nekrose der Darmschleimhaut letal verlaufen kann. Die Sektionsbefunde der experimentellen intraduodenen *Cl. perfringens*-Typ A-Infektion in Form eines Lungenödems und Schwellung sowie starker Hyperämie der Leber, der Nieren und der Milz sowie Kongestion der mesenterialen Blutgefäße weisen eindeutig auf die Folgen eines enterotoxischen Kreislauf-Versagens hin.

Die Vermehrung von *Cl. perfringens* erfolgt nach unseren Untersuchungen ausschließlich im Darmchymus. Eine Kolonisation des morphologisch intakten Darmepithels in Form einer Adhäsion im Bereich der Mikrovilli bzw. einer Invasion in die Darmmukosa war nicht nachweisbar.

Die histologischen Darmbefunde zeigen, daß die *Cl. perfringens*-Typ-A-Infektion zu Kreislaufstörungen an der terminalen Strombahn in Form von Hyperämie, mäßiger Leukozytenmigration in die Darmmukosa (ab ++ intraepitheliale Granulozyten, ++ zellige Infiltration des Zottenstromas) führt, was auf eine milde, vasotoxische und leukotakti-

sche Wirkung des von *Cl. perfringens* Typ A stammenden α -Toxins hindeutet.

Die „Kryptenabszesse“ sind als Ausdruck einer entzündlichen Reaktion des Darmes auf die Infektion zu werten, da sie bei den Kontrolltieren nicht zu beobachten waren.

Die *Cl. perfringens*-Typ A-Toxine, insbesondere das α -Toxin, führen zu ausgeprägten Mitochondrienschädigungen an sonst intakten Enterozyten der basalen Zottenhälfte und der Lieberkühn'schen Drüsen und darüber hinaus zu diskreten Alterationen an einzelnen Enterozyten, wie elektronenmikroskopisch belegt werden kann. Diese Veränderungen betreffen vor allem Mikrovilli (Fragmentation, Vesikulation und vollständiger Verlust) sowie Terminalgespinst (Verdichtung und Auflösung) und rauhes endoplasmatisches Retikulum. Schließlich werden einzelne Enterozyten aus dem Epithelverband herausgelöst.

Elektronenmikroskopische Darmuntersuchungen bei der *Cl. perfringens*-Enterotoxämie des Huhnes wurden bis jetzt noch nicht durchgeführt.

Durch die massiven Mitochondrienschädigungen der Enterozyten der basalen Zottenhälfte und der Krypten werden offenbar die energieabhängigen Resorptions- und Sekretionsvorgänge negativ beeinflusst. Dieses dürfte pathogenetisch bei dem beobachteten langanhaltenden, profusen wäßrigen Durchfall bei weitgehender Erhaltung des Oberflächen- und Drüsenepithels eine große Rolle spielen.

Offensichtlich sind die Störungen an der Darmschleimhaut der Tiere vorwiegend funktioneller Natur (Transudation, Hypersekretion, verminderte Resorption).

Die mit *Cl. perfringens*-Vermehrung im Darmlumen (Chymus) einhergehenden lokalen (Durchfall) und parenteralen Störungen (Allgemeinerkrankung) können bei negativer Adhärenz und Invasivität nur als Ergebnis der lokalen (enteralen) und — nach erfolgter Resorption — der allgemeinen (parenteralen) Wirkung des im Darmlumen freigesetzten *Cl. perfringens*-Toxins gewertet werden. Nach den Bedingungen des Experiments muß als eigentliches Wirkprinzip das α -Toxin angenommen werden. Eine Septikämie tritt den bakteriologischen und histologischen Befunden zufolge nicht auf.

Der tödliche Verlauf der Krankheit ohne Ausbildung einer nekrotisierenden Enteritis dürfte seine Erklärung in der besonders hohen Empfindlichkeit der Küken gegenüber parenteral angreifendem (i. v. appliziertem) α -Toxin finden, die weitaus größer ist als bei anderen Labor- und Nutztieren (Kölbach 1975). Unmittelbare Todesursache waren offenbar der infektiös-toxische Durchfall mit seinen Folgen sowie die α -Toxin-bedingte enterogene Toxämie mit Schock.

Die bei den kranken Küken weiterhin beobachtete



Abb. 2. Kryptenabszeß im Duodenum (HE-Färbung, 650fach).

spiegelt sich in der kurz ante mortem verstärkten Dyspnoe in Form einer Schnappatmung (Vissionon et al. 1994).

Die beobachtete interstitielle Nephritis sowie die bei 9 Tieren aufgetretene Viszeralgicht dürften auf eine nephrotoxische Wirkung des α -Toxins (Cato et al. 1986) zurückzuführen sein und bestätigen die Ergebnisse von Balauca (1976) und Bernier et al. (1977).

Schlußfolgerungen

- Das pathomorphologische Bild der durch experimentelle intraduodenale Infektion mit *Cl. perfringens* Typ A (vegetative Form) erzeugten Krankheit beim Huhn ist durch Zeichen schwerer Herz-Kreislauf-Störungen (prästatische Hyperämie der parenchymatösen Organe, Lungenödem), Ansammlung wäßrigen, z. T. von Gasbläschen durchsetzten Darminhalts bei nur geringgradigen Veränderungen der Darmschleimheit sowie Nierenschwellung und geringgradige interstitielle Nephritis charakterisiert.

- Die pathohistologischen Darmbefunde bestehen in gelegentlich nachweisbarer stärkerer zelliger Infiltration der Propria mucosae mit Lymphozyten, Histiozyten und pseudoeosinophilen Granulozyten,

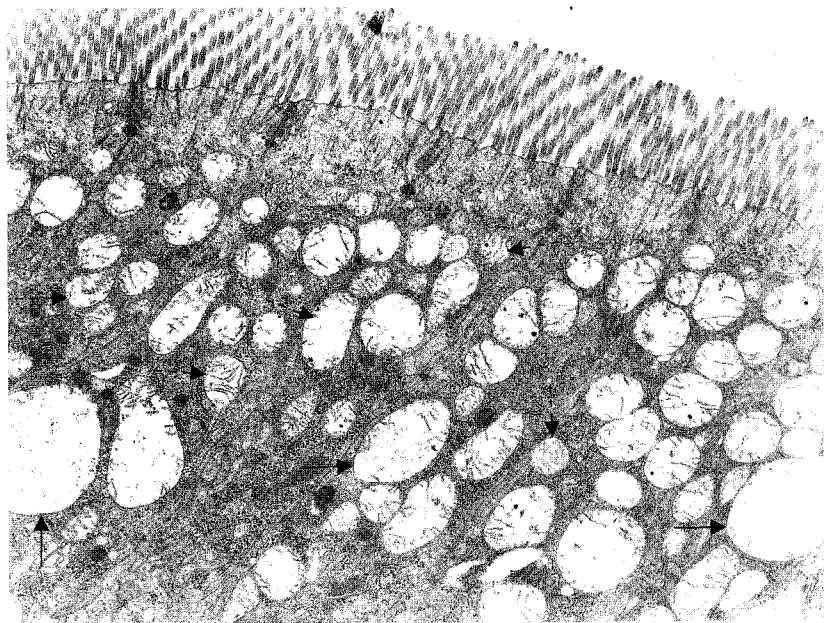


Abb. 3. Schwere Mitochondrienschädigungen (Schwellung, partielle bis vollständige Cristolyse, Matrixschwund) in den Epithelien der Lieberkühn'schen Drüsen (Ileum, Primärvergrößerung: 4000).

Atmungsstörung findet ihre Erklärung vermutlich in der prästatischen Hyperämie der Lungen und dem Lungenödem. Die daraus resultierende herabgesetzte Oxygenierung des zirkulierenden Blutes verstärkt die Gewebshypoxie. Dies wider

intraepitheliales Granulozytenvorkommen, Auftreten von sog. Kryptenabszessen in den Lieberkühn'schen Drüsen bei ansonsten weitgehender Erhaltung der Schleimhautarchitektur, insbesondere des Oberflächen- und Drüsenepithels.

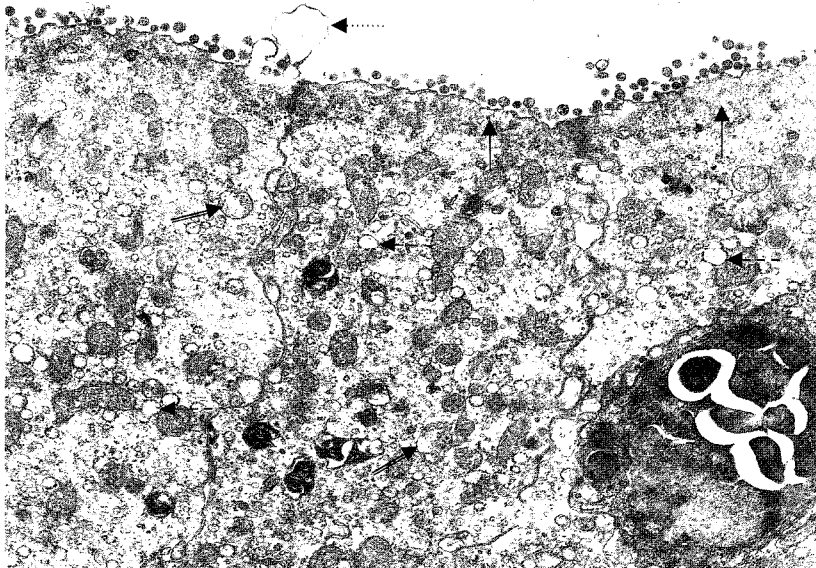


Abb. 4. Vesikulärer Zerfall der Mikrovilli, Bildung von „bleb formation“ (<.....), Auflösung des Terminalgespinnstes (↑), Mitochondrien mit beginnender Cristolyse (⇒) und Vesikulation des endoplasmatischen Retikulums (<---) (Vorderes Jejunum, Primärvergrößerung: 6000).

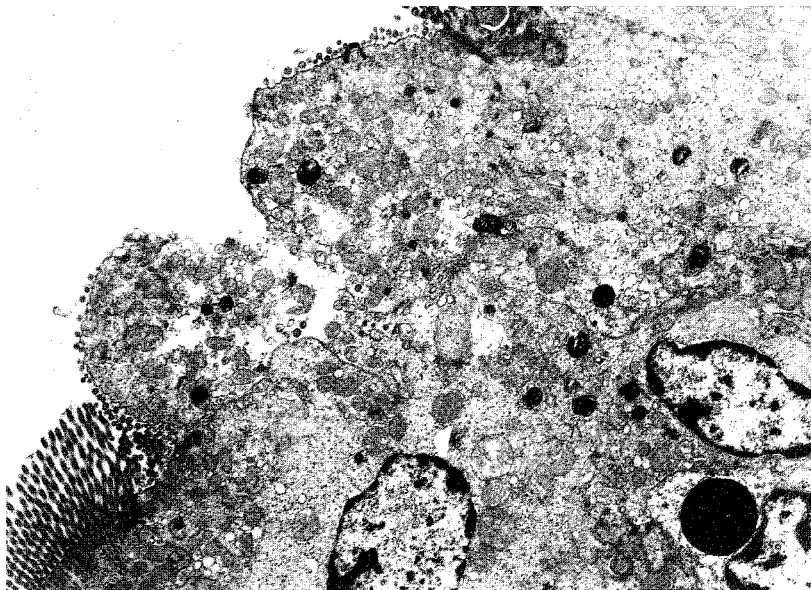


Abb. 5. Schwer geschädigter, desquamierender Enterozyt (Duodenum, Primärvergrößerung: 4000).

- Die beobachtete *Cl. perfringens*-Typ A-Enterotoxämie entspricht damit nicht dem „klassischen“ Bild der nekrotisierenden Enteritis des Huhnes. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen weisen darauf hin, daß die *Cl. perfringens*-Typ A-Infektion des Huhnes auch ohne Ausbildung einer nekrotisierenden Enteritis zu schweren letalen Durchfallerkrankungen mit toxämischen Symptomen bzw. Störungen führen kann.

- Nach den histologischen Befunden am Darm erfolgt die Vermehrung von *Cl. perfringens* im Darmchymus. Eine Adhäsion der Erreger an intaktes Zotten- bzw. Oberflächenepithel bzw. eine Invasion in die Propria mucosae ist nicht

erkennbar. Nach den bakteriologischen Untersuchungsbefunden erweist sich die erzeugte Krankheit als Darminfektion ohne Septikämie.

- Das bei der *Cl. perfringens*-Vermehrung gebildete α -Toxin ist, wie die elektronenmikroskopischen Befunden belegen, mitochondrienschädigend und epitheliotoxisch. Einzelne schwer geschädigte Enterozyten lösen sich vom Zellverband ab.

- Dieses eigenständige, bisher noch nicht beschriebene, von der nekrotisierenden Enteritis abweichende Krankheitsbild, ist in der Diagnostik der *Cl. perfringens*-Enterotoxämie des Huhnes zukünftig zu berücksichtigen.

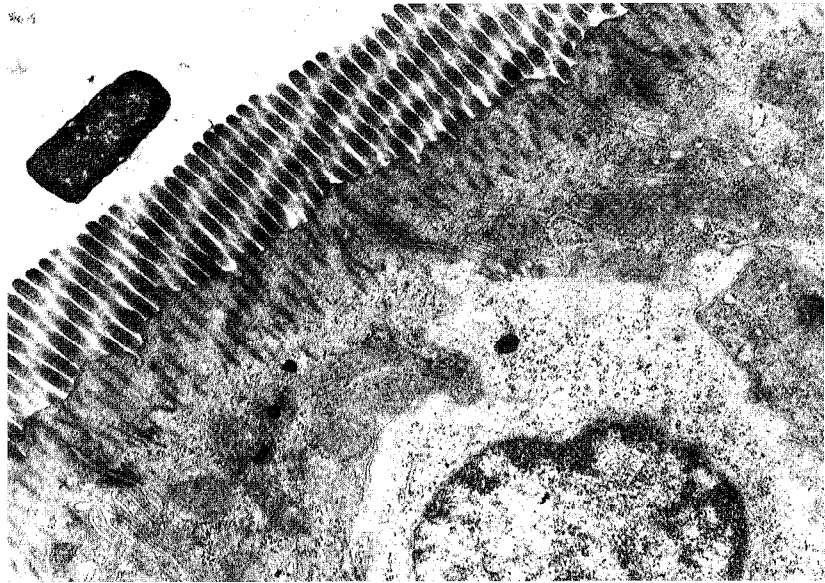


Abb. 6. *Cl. perfringens* und völlig intakter Mikrovillisaum eines Enterozyten (Ileum, Primärvergrößerung: 8000).

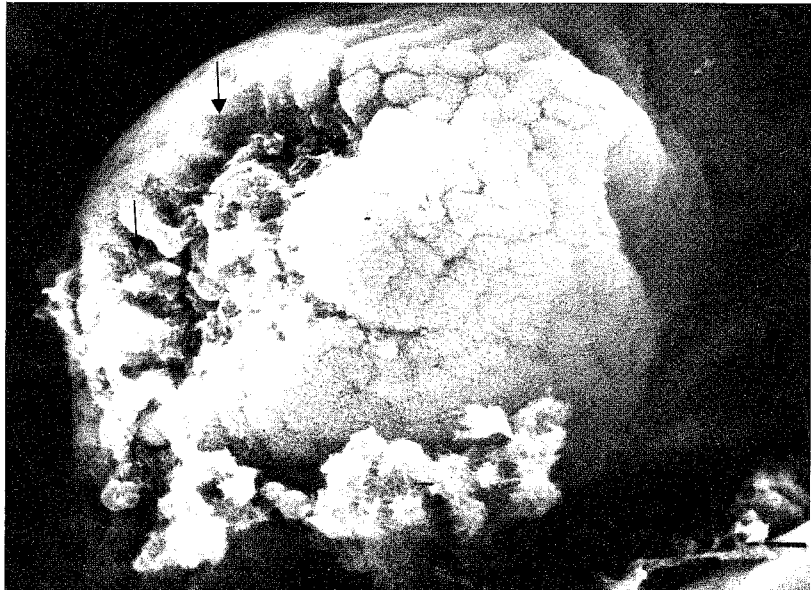


Abb. 7. Ablösung mehrerer Enterozyten (Pfeil) vom Enterozytenverband (Ileum, Primärvergrößerung: 2300).

Den Mitarbeitern des damal. Lehrstuhls Bakteriologie der Vet.- Med. Fakultät Leipzig (damal. Leiter: Prof. Dr. H.-J. Selbitz) sei für die freundliche Unterstützung ganz herzlich gedankt.

Literatur

- Al-Khatib, G.: Mh. Vet.-Med. 21 (1968): 349–352.
- Al-Sheikhly, F., and Truscott, R. B.: Avian Dis. 21 (1977a): 230–240.
- Al-Sheikhly, F., and Truscott, R. B.: Avian Dis. 21 (1977b): 241–255.
- Al-Sheikhly, F., and Truscott, R. B.: Avian Dis. 21 (1977c): 256–263.
- Balauca, N. T.: Experimentelle Untersuchungen zur *Clostridium perfringens*-Infektion und -Intoxikation des Huhnes unter Berücksichtigung der Kokzidien-Infektion. Inaug. Diss. A (1976) Berlin.
- Bernier, G., Phaneuf, J. B., Filon, R.: Can. J. Comp. 38 (1974): 280–285.
- Bernier, G., Phaneuf, J. B., Filon, R.: Can. J. Comp. Med. 41 (1977): 112–116.
- Branton, S. L., Reece, F. N., Hedges, W. M.: Poultry Sci. 66 (1987): 1326–1330.
- Cato, Elizabeth, George, O. W. L., Finegold, S. M.: Genus *Clostridium* Prazmowski 1180: 23th in Bergey's Manual Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney (1986). Vol. 2 (1986): 1141–1199.
- Cowen, B. S., Schwartz, L. D., Wilson, R. A., Ambrus, S. T.: Avian Dis. 31 (1987): 904–906.
- Cygan, Z.: Med. Vet. 43 (1987): 391–394.
- Eleazer, T. H., and Harrel, J. S.: Avian Dis. 20 (1976): 774–776.
- Fukata, T., Hadab, E., Baba, T., Wemusa, T., Arakawa, A.: Res. Vet. Sci. 44 (1988): 68–70.
- Helmboldt, D. V., and Bryant, E.: Avian Dis. 15 (1971): 775–780.

- Köhler, B., Marx, G., Kölbach, Sigrid, Böttcher, E.: Mh. Vet.-Med. 29 (1974a): 380–384.
- Köhler, B., Kölbach, Sigrid, Meine, J.: Mh. Vet.-Med. 29 (1974b): 385–391.
- Köhler, B., Kölbach, Sigrid, Meine, J.: Mh. Vet.-Med. 29 (1974c): 385–391.
- Köhler, B., Kölbach, Sigrid, Baumann, G., Wodarra, Ursula: Mh. Vet.-Med. 29 (1974c): 420–425.
- Köhler, B., Vogel, K., Witte, W., Kühn, H.: Vergleich der Ursachen von Hospitalismus durch *Cl. perfringens*, *Staphylococcus aureus* und Salmonellen unter den Bedingungen der industriemäßigen Geflügelproduktion und Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. V. Intern. Tierhyg. Symposium, Sammelband der Vorträge, 25. u. 26. 5. 1983, S. 226–242.
- Köhlert, Renate: Zur Pathologie der Clostridium-Infektion des Geflügels. Fachtierarzt-Abschlußarbeit HU Berlin 1974.
- Kölbach, Sigrid: Empfindlichkeit verschiedener Labor- und Nutztierarten gegenüber *Clostridium perfringens*-Intoxikation (Maus, Meerschweinchen, Kaninchen, Küken, Ferkel, Lamm). Vet.-med. Diss. A (1975) HU Berlin.
- Kwatra, H. S., and Chadhury, B.: Avian Dis. 20 (1976): 404–406.
- Long, J. R., Petit, R. R., Barnum, D. A.: Can. J. Comp. Med. 38 (1974): 467–474.
- Long, J. R., and Truscott, R. B.: Can. J. Comp. Med. 40 (1976): 53–59.
- Maxey, B. W., and Page, R. K.: Poultry Sci. 56 (1977): 1909–1913.
- Morch, J.: Steartryk of Nordisk. Vet. Med. 25 (1973): 300–307.
- Nairn, M. E., and Bamford, V. N.: Austr. Vet. J. 44 (1967): 633–640.
- Parish, W. E.: J. Comp. Path. 71 (1961a): 377–393.
- Parish, W. E.: J. Comp. Path. 71 (1961b): 394–404.
- Prescott, R. B.: Avian Dis. 23 (1979): 1072–1074.
- Shane, S. M., Gyrmah, J. E., Harrington, K. S., Smider, T. G.: Vet. Res. Communic. 9 (4) (1985): 269–287.
- Truscott, R. B., and Al-Sheikhly, F.: Am. J. Vet. Res. 38 (1977): 857–861.
- Vissiennon, Th.: Experimentelle Untersuchungen zu Pathologie und Pathogenese der *Cl. perfringens*-Typ-A-Enterotoxämie des Huhnes. Vet.-med. Diss. Leipzig 1991.
- Vissiennon, Th., Johannsen, U., Köhler, B.: Mh. Vet.-Med. 49(1994): 23–28.

Angenommen am 22. Oktober 1992

Verfasser: Dr. Th. Vissiennon, Prof. Dr. U. Johannsen, Dr. Solveig Menger, Institut für Veterinär-Pathologie, Universität Leipzig, M.-Blank-Str. 4, 04103 Leipzig
 Dr. habil. B. Köhler, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Potsdam, Pappelallee 2, 14469 Potsdam

Hochschulnachrichten

Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Personalien

Für die Amtszeit 1993/95 sind Professor Dr. Holger Martens zum Dekan und Professor Dr. Horst Gängel zum Prodekan des Fachbereichs gewählt worden.

Privatdozent Dr. Klaus Männer hat den an ihn ergangenen Ruf auf die C3-Professur im Institut für Tierernährung der Tierärztlichen Hochschule Hannover angenommen.

Professor Dr. Bodo-Wolfhard Hertsch hat einen ehrenvollen Ruf auf die C4-Professur für das Fachgebiet chirurgische und innere Krankheiten des Pferdes, einschließlich allgemeine Chirurgie der Haustiere an der Klinik für Pferde, allgemeine Chirurgie und Radiologie, erhalten.

Promotionen

Melfsen, Johann Redlef

Die Trichophytievakzine vom Impfstamm TV-M-310 im therapeutischen Einsatz am Rind

Hauschild, Christine

Energetische Untersuchungen zum Erhaltungsbedarf von adulten Katzen

Sommerer, Manfred

Oberflächenaktive Wirkstoffe in Desinfektionsmitteln für den Einsatz im Bereich der Lebensmittel tierischer Herkunft – Stoffcharakterisierung und Nachweisverfahren

Frölich, Kai

Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD) bei Cerviden in unterschiedlichen Freiland- und Gehegepopulationen: Seroepizootiologie und Virusisolierung

Havenith, Ute

Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung von Influenza-A-Virusinfektionen bei Mastschweinen im nördlichen Schleswig-Holstein

Kimpfel, Kornelia

Untersuchungen zur Hygiene bei der Speiseeisherstellung im kleingewerblichen Betrieb

Teutenberg, Ute

Fimbrien und Adhäsion bei *Salmonella typhimurium* (Volltyp)

Nothelfer, Hans-Benno

Vergleichende pathologisch-anatomische, histologische und immunzytochemische Untersuchungen insbesondere der Hypophysen bei Hunden mit spontanem Hyperkortizismus mit und ohne Lysodren®-Medikation

Erdmann, Eva

Untersuchungen zur Epidemiologie der Varroatose in Berlin unter besonderer Berücksichtigung des Berliner Varroatose-Vorsorge- und Bekämpfungsprogramms

Ratzelb, Ralf

Untersuchungen zur Epidemiologie, Pathogenese und Therapie der Gigantocotylose bei Wasserbüffeln (*Bubalus bubalis*) im Punjab/Pakistan