

Aus der Klinik für Vögel und Reptilien
und
dem Institut für Lebensmittelhygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

***Mycoplasma synoviae* - assoziierte Eischalenpoldefekte
bei Legehennen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Frederik Ranck
aus Neukirchen/Erzgebirge

Leipzig, 2011

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Uwe Truyen

Betreuer: Prof. Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns
Prof. Dr. Dr. h. c. Karsten Fehlhaber

Gutachter: Prof. Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns
Klinik für Vögel und Reptilien, Veterinärmedizinische Fakultät,
Universität Leipzig

Prof. Dr. Dr. h. c. Karsten Fehlhaber
Institut für Lebensmittelhygiene, Veterinärmedizinische Fakultät,
Universität Leipzig

Prof. Dr. Michael Lierz
Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische, Fachbereich 10 -
Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Giessen

Tag der Verteidigung: 31.05.2011

Widmung

meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
2	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	4
2.1	Eibildung und Eischalenbildung	4
2.1.1	Am Anfang war das Ei	4
2.1.2	Aufbau des Hühnereies	4
2.1.3	Eibildung	5
2.1.4	Das Grundmuster der Mineralisation der Eischale	7
2.1.5	Rolle der organischen Anteile der Eischalenmatrix, Lysozym	12
2.2	Qualitätsanforderungen an Eier	13
2.2.1	Bedeutung der Schalenstabilität	13
2.2.2	Anforderungen an die Lagerung von Eiern	13
2.2.3	Gütemerkmale	14
2.2.3.1	Äußere Merkmale	14
2.2.3.2	Innere Merkmale	15
2.2.4	Zusammensetzung des Eies	17
2.3	Legeleistung von LSL-Hybriden	18
2.4	Ursachen für Qualitätsmängel der Eischale	18
2.4.1	Infektiöse Ursachen für eine verminderte Eischalenqualität	18
2.4.1.1	Mykoplasmosen	19
2.4.1.2	Egg-Drop-Syndrom (Aviäre Adenovirus-Salpingitis), andere Adenoviren	25
2.4.1.3	Infektiöse Bronchitis des Huhnes	27
2.4.1.4	Newcastle Disease	28
2.4.1.5	Eileiter-Bauchfell-Entzündung	29
2.4.2	Nicht infektiöse Ursachen für eine verminderte Eischalenqualität	30
2.4.2.1	Nutritive und metabolische Faktoren	30
2.4.2.2	Mykotoxikosen	31
3	<u>TIERE, MATERIAL UND METHODEN</u>	33
3.1	Anamnese	33
3.2	Grunddaten zu den Legehennen	33
3.2.1	Aufzucht und Impfschema	33
3.2.2	Legephase und Impfschema	34
3.2.3	Farmgesundheit	34
3.3	Definition der Selektionskriterien „poldefektes Ei“ und „Polhenne/Polhühner“	35
3.4	Eiabnahme, Untersuchung der Herden und Selektionstiere	35
3.4.1	Eiabnahme und Legeleistung der Herden	35
3.4.2	Eiabnahme und Legeleistung der Selektionstiere	36
3.4.3	Einzeltierauswahl, klinische Untersuchung und Probenentnahme	36

3.4.3.1	Serologische Untersuchung der Selektionstiere	37
3.4.3.2	PCR-Untersuchung auf <i>Mycoplasma synoviae</i> und <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	37
3.4.3.3	Sektion von Selektionstieren	38
3.4.3.4	Probenlagerung und Probenversand	38
3.5	Gütemerkmale der Eier	39
3.5.1	Äußere Qualität	39
3.5.1.1	Gruppenauswahl und Analysekriterien	39
3.5.1.2	Schalenfarbe	39
3.5.1.3	Beschreibung der Messgeräte zur Bestimmung der äußeren Qualität der Eier	39
3.5.2	Innere Qualität	40
3.5.2.1	Gruppenauswahl und Analysekriterien	40
3.5.2.2	Beschreibung der Messgeräte zur Bestimmung der inneren Qualität der Eier	40
3.5.3	Spezielle Untersuchungen	41
3.5.3.1	Rohnährstoffanalysen	41
3.5.3.2	Differenzierung von Fettsäuren im Eidotter	41
3.5.3.3	Gelelektrophorese der Eischalenmatrixproteine	43
3.6	Ultrastrukturelle Untersuchung der Eischalen mittels REM	44
3.6.1	Gruppenauswahl und Analysekriterien	44
3.6.2	Präparation der Proben	44
3.7	Statistische Auswertung	45
4	<u>ERGEBNISSE</u>	46
4.1.1	Allgemeine Sektionsergebnisse	46
4.1.2	Spezielle Sektionsergebnisse	46
4.2	Legeleistung	47
4.2.1	Legeleistung, Sekunda und poldefekte Eier der untersuchten Herden	47
4.2.2	Korrelationen der Legeleistungsfractionen	51
4.3	Legeleistung der selektierten Polhennen	52
4.4	Serologische Untersuchungen	53
4.4.1	Serologische Untersuchung der Selektionstiere	53
4.4.2	Korrelationen zwischen den signifikant verschiedenen Antikörpertitern	54
4.4.3	MS-Antikörpertiter in Abhängigkeit zur Lokalisation der Hühner in der Halle	54
4.5	Nachweis des MS- und MG-Antigens mittels PCR	55
4.5.1	Nachweis des MS- und MG-Antigens in Tracheal- und Kloakentupfern	55
4.5.2	Nachweis des MS-Antigens in Abhängigkeit von der Lokalisation der Hühner	55
4.5.3	Nachweis des MS-Antigens in Eiern	56
4.6	Gütemerkmale der poldefekten Eier	56
4.6.1	Äußere Qualität	56
4.6.1.1	Helligkeit und Farbe	56
4.6.1.2	Schalenstabilität und Deformation	60
4.6.1.3	Eigewicht, Eiklarhöhe und Haugh-Unit	60
4.6.1.4	Fleischflecken	63
4.6.2	Innere Qualität	63
4.6.2.1	Eigewicht und Eischalengewicht	63

4.6.2.2	Eiklarhöhe, Haugh-Unit und Luftkammerhöhe	65
4.6.2.3	Korrelationen der Ergebnisse aus der Untersuchung der inneren Qualität	67
4.6.2.4	pH-Wert des Eiklars	68
4.6.2.5	Dotterfarbe, Dotterbreite, Dotterhöhe und Dotterindex	68
4.6.3	Spezielle Untersuchungen	71
4.6.3.1	Rohfettgehalt im Dotter und Rohproteingehalt im Eiklar der untersuchten Eier	71
4.6.3.2	Fettsäuremuster des Eidotters	72
4.6.3.3	Eischalenmatrixproteine	73
4.6.3.4	Ultrastrukturelle Analyse der Eischalen mittels Rasterelektronenmikroskopie	75
5	<u>DISKUSSION</u>	81
5.1	Auftreten poldefekter Eier in dem untersuchten Bestand	81
5.2	Nachweis von <i>MS</i> und <i>MG</i> in Legehennen und poldefekten Eiern	83
5.2.1	Weitere prädisponierende Faktoren für das Legen von poldefekten Eiern	85
5.2.2	Bedeutung der poldefekten Eier für den Produzenten	86
5.3	Gütemerkmale der poldefekten Eier	88
5.3.1	Äußere Qualität	88
5.3.2	Innere Qualität	90
5.3.3	Spezielle Untersuchungen	91
5.3.4	Ultrastrukturelle Untersuchung der Eischalen mittels REM	92
5.3.5	Bedeutung der poldefekten Eier für den Verbraucher	92
5.4	These zur formalen Pathogenese des Poldefektes	94
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY</u>	96
6.1	Zusammenfassung	96
6.2	Summary	98
7	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	C

LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN:

a-Wert	roter Farbwert der Eischale nach CIE
AAVS	Aviäre Adenovirus-Salpingitis
AE	<i>Aviäre Enzephalomyelitis</i>
aLL	absolute Legeleistung
b-Wert	gelber Farbwert der Eischale nach CIE
Bsp.	Beispiel
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca	Calcium
Ca ²⁺	Calciumionen (zweifach positiv geladen)
CIE	Commission internationale de l'éclairage
Co. KG	Compagnie Kommanditgesellschaft
CRD	Chronic respiratory disease
ct	(Euro-)cent
CYMK	Farbmodell (Cyan, Magenta, Yellow, Key)
d	Tag
EBE	Eileiterbauchfellentzündung
EDS	<i>Egg Drop Syndrom</i>
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
EP	Europäische Pharmacopoeia
EPS	Egg Pole Shelldefect
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
et al.	et alia (und andere)
FS	Fettsäure
DAV	<i>Duck Adenovirus</i>
DIN	Deutsche Industrienorm
DNA	Desoxyribonucleinacid
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FS	Fettsäure
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunden
HA	Herde A
HAH	Hämagglutinationshemmung
HB	Herde B
HC	Herde C
HDL	High Density Lipoprotein
HKL	Handelsklasse
IB	<i>Infektiöse Bronchitis</i>
IBD	<i>Infektiöse Bursitis (infectious Bursal Disease / Gumboro Disease)</i>

<i>IBV</i>	<i>Virus der infektiösen Bronchitis</i>
ICPI	Intracerebraler Pathogenitätsindex
IDL	Intermediate Density Lipoprotein
<i>ILT</i>	<i>Infektiöse Laryngotracheitis</i>
i. m.	intramuskulär
kDa	Kilodalton
Kor	Korrelationskoeffizient
L	Gewichtsklasse Large
L-Wert	Reflektionswert der Eischale nach CIE
LB	Lohmann Braun
LDL	Low Density Lipoprotein
LD ₅₀	für 50 Prozent der Tiere letale Dosis
LED	Lichtemittierende Diode
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
LH	Luteinisierendes Hormon
LL	Legeleistung
log	Logarithmus
LSL	Lohmann selected Leghorn
M	Gewichtsklasse Medium
mA	Milliampere
mbar	Millibar
<i>MD</i>	<i>Marek Disease</i>
<i>MG</i>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>
<i>MI</i>	<i>Mycoplasma iowae</i>
<i>MM</i>	<i>Mycoplasma meleagridis</i>
<i>MS</i>	<i>Mycoplasma synoviae</i>
n	Menge
N	Newton
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid
<i>ND</i>	<i>Newcastle Disease / atypische Geflügelpest</i>
<i>NDV</i>	<i>Virus der Newcastle Disease</i>
NL	Niederlande
Nr.	Nummer
OSA	Objektträgerschnellagglutination
P	Phosphat
P	Signifikanz
PC	Personal Computer
PCR	Polymerase Chain Reaction
pH-Wert	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
Prima	Ware der Güteklasse A
±	Standardabweichung
p. i.	post infectionem
®	Eingetragenes Warenzeichen

RGB	Farbmodell (Red, Green, Blue)
Rho	Korrelationskoeffizient
S	Gewichtsklasse Small
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis)
<i>SE</i>	<i>Salmonella</i> Enteritidis
Sekunda	Ware der Güteklasse B
VHDL	Very High Density lipoprotein
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
vLL	verwertbare Legeleistung
VO (EG)	Verordnung des Rats der europäischen Union
XL	Gewichtsklasse XL
ZNS	Zentralnervensystem

1 EINLEITUNG

Mycoplasma synoviae (MS) ist weltweit verbreitet und verursacht die infektiöse Sinusitis (Synonym: Synoviae-Mykoplasrose) der Hühner und Puten. Die Erkrankung verläuft als synoviale oder respiratorische Form. FEBERWEE et al. (2009) beschrieben neben diesen klassischen klinischen Ausprägungen eine weitere, den Legedarm betreffende Variante der Erkrankung. Im Infektionsversuch stellten sie bei intratracheal MS-infizierten Hühnern eine verringerte Legeleistung, vermehrt Eischalen(spitzen-)defekte und eine verringerte Schalenstärke post infectionem fest.

Bereits seit dem Jahr 2000 wurden in MS-positiven holländischen Legehennenbetrieben Eier mit einer rauen, dünnen Schale an der Eispitze, sogenannte egg-pole shelldefects (EPS), beobachtet (FEBERWEE und LANDMAN 2008), siehe Abbildung 1 und 2. Der Anteil poldefekter Eier in den Beständen variierte (FEBERWEE und LANDMAN 2008) von unter 1% bis zu 25% der gelegten Eier. Im Infektionsversuch konnte ein kausalpathogener Zusammenhang zwischen den Eischalenspitzendefekten und *Mycoplasma synoviae* (MS) hergestellt werden (FEBERWEE et al. 2009, FEBERWEE und LANDMAN 2010).

Berichte über die tatsächliche Bedeutung des Erregers sind selten und widersprüchlich. Auf der einen Seite stehen Veröffentlichungen, die dem Erreger bedeutende (wirtschaftliche) Verluste sowie klinische Symptome zuschreiben. Auf der anderen Seite jene Veröffentlichungen, die keinen Zusammenhang zwischen MS-positiven Herden und klinischen Symptomen bzw. wirtschaftlichen Verlusten feststellen.

So beträgt der beispielhafte Einkommensverlust über die gesamte Legeperiode bei durchschnittlichen 5% poldefekten Eiern schätzungsweise 3% (FEBERWEE und LANDMAN 2008). Weiterhin beschrieben LANDMAN und FEBERWEE (2003) bei natürlicher Infektion einen Legeleistungsverlust von 10%. In Zuchtherden reduzierte der Erreger die Legeleistung sowie die Schlupfrate, die Mortalität der Eintagsküken war erhöht (STIPKOVITS und KEMPF 1996). Es entstanden beträchtliche wirtschaftliche Verluste durch abgestorbene Embryonen, verminderte Gewichtszunahmen, erhöhten Futteraufwand, verminderte Legeleistung und verworfene Schlachtkörper (STIPKOVITS 1992). Ferner wird ein Zusammenhang zwischen der Amyloid-assoziierten Arthropathie und *Mycoplasma synoviae* beschrieben (TAYLOR und FRANCIS 2001). Virulente MS-Stämme zeigen einen partiellen Synergismus zu *Escherichia coli*, sie können als Sekundärerreger als erschwerender Faktor in Herden mit *Escherichia coli*-Peritonitis wirken (RAVIV et al. 2007). Andere Quellen beschrieben keinen signifikanten

Einfluss einer *MS*-Infektion auf die Legeleistung (DUFOUR-GESBERT et al. 2006) und Eiqualität (OPITZ 1983, MOHAMMED et al. 1987, BRANTON et al. 1997b). In Sachsen wurde bei Legehennen ein hoher Durchseuchungsgrad mit *MS* durch KÖHN et al. (2009) nachgewiesen, die Infektionsrate betrug demnach in 19 untersuchten Betrieben zum Zeitpunkt der Ausstellung ca. 90%. Auch in dieser Studie fiel kein Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen und *MS*-positiven Tieren auf (KÖHN et al. 2009). Es stellte sich die Frage, warum trotz einer hohen Erregerprävalenz von *MS* in Deutschland keine poldefekten Eier auftraten, wenn diese doch in Holland in *MS*-positiven Betrieben (FEBERWEE und LANDMAN 2008) bis zu 25% der gelegten Eier ausmachten. Beginnend im März 2008 traten in einem Legehennenbestand Schalenstabilitätsprobleme auf, eine frühere Herde des Betriebes war von KÖHN et al. (2009) in der Serologie und im PCR *MS*-positiv getestet worden. Im Rahmen dieser Dissertation sollte in einer klinisch-prospektiven Feldstudie in diesem Betrieb die Auswirkung einer *MS*-Infektion auf die Legeleistung sowie das Auftreten poldefekter Eier über die gesamte Legeperiode untersucht werden.

Der erste Schwerpunkt der Arbeit beschäftigte sich mit dem Einfluss des Auftretens poldefekter Eier auf die Legeleistungskurve, den Sekunda- und Brucheianteil sowie zusätzliche Verluste.

Der zweite Schwerpunkt der Arbeit lag im Nachweis von *Mycoplasma synoviae* in Zusammenhang mit dem Auftreten von poldefekten Eiern sowie in der Suche nach weiteren prädisponierenden Faktoren. Dazu wurden jene Hühner, die poldefekte Eier legten, mit Hühnern derselben Herde verglichen, die normale Eier legten. Die poldefekten Eier haben eine signifikant geringere Schalenstabilität sowie eine geringere Schalendicke als normale Eier (FEBERWEE und LANDMAN 2008, FEBERWEE et al. 2009). Es erschien daher fraglich, ob poldefekte Eier die qualitativen Anforderungen von Eiern der Güteklasse A erfüllen. Um eine eventuelle Benachteiligung des Verbrauchers durch den Verzehr von poldefekten Eiern abzuklären, wurde als dritter Schwerpunkt der Arbeit eine intensive vergleichende Untersuchung der inneren und äußeren Qualitätsmerkmale von poldefekten Eiern und Kontrolleiern durchgeführt. Ein besonderes Augenmerk lag hierbei auf dem veränderten Aufbau der Schale, der rasterelektronenmikroskopisch untersucht wurde.



Abbildung 1: Poldefektes Ei in der Packstelle



Abbildung 2: Poldefektes Ei, Durchleuchtung mit Schierlampe (Siepmann GmbH, Herdecke)

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Eibildung und Eischalenbildung

2.1.1 Am Anfang war das Ei

Das Hühnerei ist aufgrund seiner vollwertigen Zusammensetzung und seiner vielseitigen Verwendbarkeit ein beliebtes Nahrungsmittel auf der ganzen Welt. Die weltweite Produktion stieg während der letzten Jahre konstant an, von 41 Millionen Tonnen Eiern 1994 auf 58 Millionen Tonnen Eier 2004 (PATTISON 2004). Bei der Eiproduktion hat Asien mit über 60% den bedeutendsten Anteil an der Weltproduktion, dies spiegelt sich auch in der Anzahl der Legehennen weltweit wieder, von ca. 5,5 Milliarden Legehennen weltweit werden 3,3 Milliarden in Asien gehalten (PATTISON 2004).

In den USA nahm die Eierproduktion pro Person und Jahr durch den negativen Einfluss der Cholesterinkampagne zwischen 1975 (17,9 kg) und 1985 (17,1 kg) um 4,7% ab (SCHOLTYSSSEK 1987), dies bedeutet bei 60 g schweren Eiern einen Verzehr von „nur“ noch 285 Eiern pro Person im Jahr. Die Produktion stagnierte bis 1995 und zeigt seit dem ein erneutes ständiges jährliches Wachstum (PATTISON 2004). Im Gegensatz dazu steht die seit den siebziger Jahren ständig wachsende Pro-Kopf Produktion in Asien. Mit dem wachsenden Lebensstandard wird die hauptsächlich auf Getreide, Reis und Fett basierende Ernährung der Asiaten zunehmend mit proteinreicher Kost wie Eiern, Geflügel, Schweinefleisch und Fisch supplementiert (PATTISON 2004). Neben der nutritiven Rolle in zahlreichen rohen, gekochten, gebratenen und gebackenen Zubereitungen finden Eier und deren Bestandteile auch als natürliche Bindemittel, Emulgatoren und Schaumbildner in zahlreichen Lebensmitteln Verwendung.

2.1.2 Aufbau des Hühnereies

Das Ei kann in die drei Kompartimente Dotter, Eiklar und Eischale unterteilt werden. Das mittlere Eigewicht beträgt 60 g, wobei davon 58% auf die Eiklarmasse, 32% auf das Dotter und 10% auf die Schale entfallen (SCHOLTYSSSEK 1987). Die Keimscheibe ist mit dem Keimbläschen im Dotter nach Art eines Kreiselkompasses (SCHOLTYSSSEK 1987) generell an der oberen Dotterwölbung platziert. Sie wird vom Bildungsdotter und von konzentrischen Schichten von gelbem und weißem Dotter umgeben. Der Zusammenhalt des Dotters wird durch die Dottermembran gewährleistet. Um das Dotter legt sich eng die erste dicke Eiklarschicht, die in den Hagelschnüren ausläuft. Es folgt nach außen eine dünnflüssige, eine weitere dicke und

2. LITERATURÜBERSICHT

schließlich noch eine dünne Eiklarschicht. Die Eiklarmasse ist von der Schalenmembran umschlossen. Vor der Schale liegt noch die Schalenhaut, zwischen beiden Membranen bildet sich nach dem Legen am stumpfen Pol des Eies die Luftkammer. Die Kalkschale (Abbildung 3) ist mit der inneren Bildungs- oder Mammillarschicht fest mit der Schalenmembran verzahnt (*MF*). Die eher runden Mammillarkörper (*C*) gehen nach außen hin in lange, säulenartige Calcitkristalle über, daher wird diese Schicht auch als Palisadenschicht (*PA*) bezeichnet. Ihr folgt nach außen eine dünnere, vertikal verlaufende Schicht (*VCL*). Die Schale enthält pro Hühnerei etwa 7000 – 8000 Poren (*GP*) (HUMMEL 2000), das entspricht etwa 70-150 Stück pro cm^2 (SCHOLTYSSEK 1987). Sie ist außen mit einer dünnen Oberhaut (*CU*) versehen.

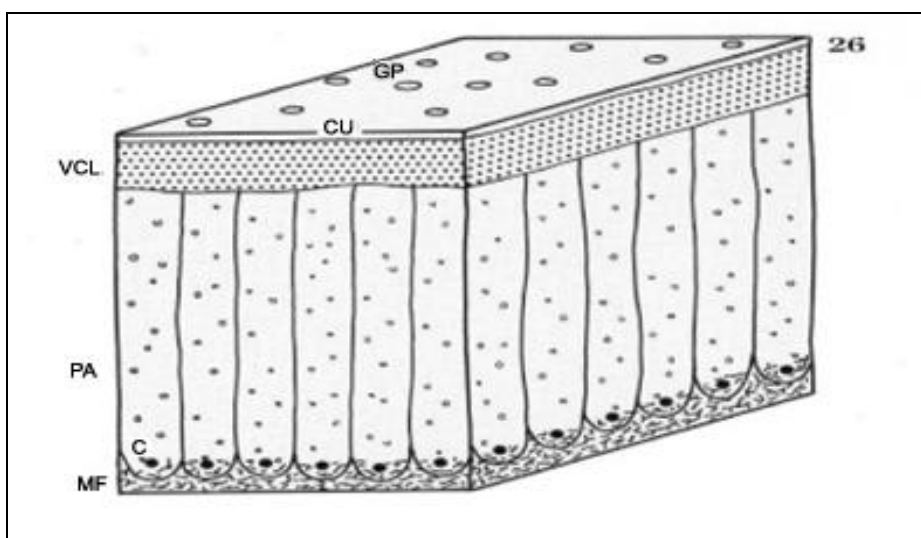


Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Eischale nach SOLOMON (1991)

2.1.3 Eibildung

Die Physiologie des Legedarms ist weitestgehend bekannt und soll an dieser Stelle nur kurz angesprochen werden. Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus dem Eierstock, dem Eileiter und der Scheide. Von den jeweils rechts und links angelegten Eierstöcken und Eileitern entwickeln sich nur die linksseitigen Organe. Beim Haushuhn nimmt das abgeflachte und längliche Ovarium vom Schlupf bis zum vierten Lebensmonat nur langsam an Größe zu. Anschließend wächst der Eierstock rasch und ist beim geschlechtsreifen Tier in der Legeperiode etwa 60g schwer (HUMMEL 2000). An seiner Oberfläche weist das aktive Ovar zahlreiche, zum Teil sehr große Follikel auf, dadurch erhält es ein traubenartiges Aussehen. Die großen Follikel sind mit einem Stiel an dem Ovarium befestigt, sie wachsen auf 3 bis 4 cm Größe an. Nach der Reifephase erfolgt der Eisprung am Stigma, einem weißen Streifen, der auf der Follikelwand meridional angelegt wurde. Er erfüllt den Zweck einer Sollbruchstelle. Die

2. LITERATURÜBERSICHT

Ovulation findet beim Haushuhn ungefähr eine halbe Stunde nach der Ablage des vorhergehenden Eies statt. Der linke Eileiter oder Ovidukt ist ein häutig-muskulöser Schlauch, der in darmähnlichen Schlingen im dorsalen linken Bereich der Leibeshöhle liegt und daher auch als Legedarm bezeichnet wird. Er produziert die Eihüllen, die Hagelschnüre und das Eiweiß. Das Ovidukt wird in die fünf Abschnitte Eileitertrichter (Infundibulum), Eiweißteil (Magnum), Eileiterenge (Isthmus), Eihälter (Uterus) und Vagina unterteilt (HUMMEL 2000). Propriadrüsen im Eileitertrichter produzieren Glykoproteine, die sich als Doppellamellen um die Eizelle legen, sowie die Vorstufe der Hagelschnüre. Im Eiweißteil wird der Hauptteil der Eiklarproteine angelegt, dieser ist stark gewunden. Die Schleimhaut in diesem Bereich trägt sehr hohe und breite Falten. Der Isthmus weist einen geringeren Durchmesser als Magnum und Uterus auf. Hier werden ca. 10% des Eiklarproteins sowie schwefelhaltige Proteine für die doppelblättrige Schalenhaut gebildet. Im distalen Isthmus, aufgrund seiner Schleimhautfarbe auch roter Isthmus genannt, werden auf der äußeren Schalenhaut organische Proteinaggregationen abgelagert (NYS et al. 2004). Diese Mammillarknöpfchen werden periodisch, aber zufällig auf der Membran platziert. Sie bilden die Keime der polykristallinen Kalziumkarbonataggregation (NYS et al. 2004). Im Eihälter bleibt das Ei mit 20 Stunden am längsten. In diesem Abschnitt findet die Kalzifizierung der Eischale statt. Der Eihälter trägt lange und schmale Schleimhautfalten und hat ein weites Lumen. Zunächst bekommt das Ei durch Flüssigkeitsaufnahme in das Eiklarprotein seine Legegröße und ovale Form. Schließlich folgt die Mineralisation, die entsprechend der variierenden Bestandteile des Uterussekrets (GAUTRON et al. 1997, NYS et al. 2004) in drei Phasen unterteilt werden kann. Die initiale Phase dauert circa fünf bis zehn Stunden, die Wachstumsphase circa zehn bis zwanzig Stunden, die terminale Phase dauert circa zwei Stunden (NYS et al. 2004). Durch die Mineralisation der Mammillarknöpfe als Basis der Calcitsäulen erfolgt die feste Verbindung der organischen, netzartigen Grundstruktur der Schalenmembran mit dem anorganischen Kalziummantel (SOLOMON 1991). Die Mammillarschicht verkalkt durch Kalziumkarbonat, welches von Becherzellen sezerniert wird. Im nächsten Schritt wird die äußere, etwa 0,2mm dicke Palisadenschicht aufgebaut, sie besteht aus säulenförmigen Kalziumkarbonatkristallen. Ihr folgt außen eine dünnere, vertikal verlaufende, 3 bis 8µm dicke Schicht (SOLOMON 1991). Sie ist genau senkrecht auf die unterschiedlich langen Calcitkristalle ausgerichtet (NYS et al. 2004) und gleicht die Oberfläche aus. Etwa 90 Minuten vor dem Legen stoppt die Mineralisation, obwohl die Uterusflüssigkeit weiterhin mit Kalziumkarbonat übersättigt ist. Nach NYS et al. (2004) wird die weitere Mineralisation in diesem Abschnitt von einer speziellen Komponente des Uterussekrets gehemmt. Auf die Kalkschale wird das Oberhäutchen, die Kutikula als

2. LITERATURÜBERSICHT

Produkt der Uterus- und Vaginalzellen aufgelagert. Sie ist eine schleimartige, etwa 12µm dicke Schicht (SOLOMON 1991) zusammengesetzt aus Proteinen, Polysacchariden und Lipiden. Sie erstarrt nach der Eiablage und bildet einen Schutz gegenüber Bakterien, indem sie die Poren verschließt. Die Vagina bildet den Endabschnitt des Eileiters, sie mündet in das Urodeum. Sie kann sich bei der Eiablage durch die Kloake nach außen stülpen, dies verhindert ein Verschmutzen des Eies.

2.1.4 Das Grundmuster der Mineralisation der Eischale

Für die Stärke der Eischale ist nicht nur ihre Dicke verantwortlich, sondern auch ihre Dichte und vor allem die Anordnung der Kristallstruktur ist von Bedeutung (RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 2002). Die Mineralisation des Hühnereies ist einer der schnellsten bekannten natürlichen Mineralisationsprozesse, sie unterliegt dabei einer sehr präzisen zeitlichen und räumlichen Ablaufsteuerung (NYS et al. 2004). Die komplexe Zusammensetzung der Eischale wurde zuerst von SIMONS (1971) beschrieben. Sie ist demnach keine Hülle aus simplen Kalziumkarbonatlagen, sondern eine mineralische Kristallformation mit einer Proteinmatrix als Grundgerüst (SIMONS 1971). Die äußere Schicht aus langen Calcitkristallen wird von dünnen organischen Lagen umgeben, die die externe Krafteinwirkung effektiv abfangen und damit das Ausbreiten von Rissen unterbinden (NYS et al. 2004). Andererseits besteht die innerste Schicht aus sphärisch-konischen Kristallen, die die Ausbreitung von Rissen während des Pickens von innen erleichtern (NYS et al. 2004). Es gibt keinen Zweifel, dass diese komplexe Ausrichtung und Morphologie der Kristalle in einer bestimmten Art und Weise zugeschnitten wird (DOMINGUEZ-VERA et al. 2000). Abweichungen von diesem Grundmuster schwächen die Struktur und erhöhen das Risiko für einen Bruch der Eischale (SOLOMON 1991). Chemisch setzt sich die beim Legehuhn physiologisch etwa 320µm dicke Eischale zu 94% (GERSTBERGER und BARTH 1999) aus Kalziumkarbonat, zu 1,5% aus Magnesiumkarbonat, sowie zu 3% aus einer organischen Fraktion von Kollagenen, Glykoproteinen und Proteoglykanen zusammen (BURLEY und VADEHRA 1989, SOLOMON 1991, GERSTBERGER und BARTH 1999).

Kalziumkarbonat kommt in verschiedenen kristallinen Formen vor, die häufigsten sind Calcit, Aragonit und Vaterit (siehe Abbildung 4).

2. LITERATURÜBERSICHT

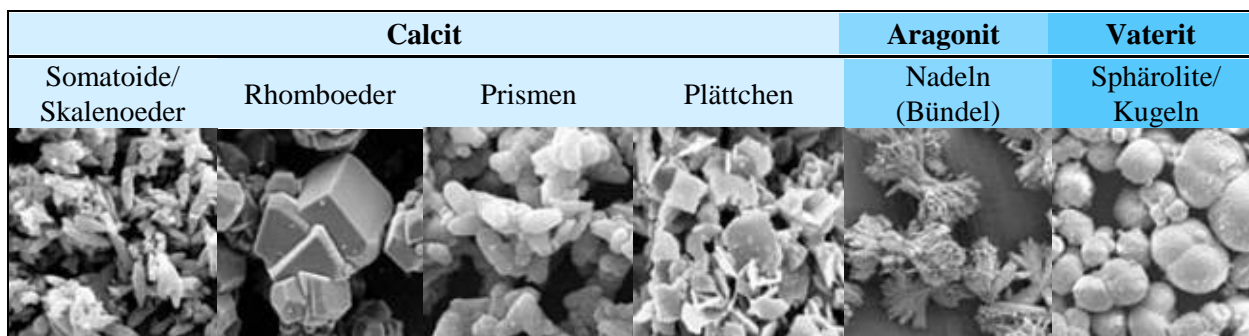


Abbildung 4: Verschiedene Kristallisationsformen von Kalziumkarbonat nach BÄUERLEIN (2006)

Calcit ist die stabilste Variante bei Raumtemperatur (NYS et al. 2004). Es macht den überwiegenden Teil des Kalziumkarbonats in der Schale aus. Die Struktur von Calcit leitet sich von der Natriumchloridkristallform ab, wobei die Kalziumionen die Plätze der einen Ionensorte, die Carbonat-Ionen die der Anderen besetzen (BÄUERLEIN 2006). Wie bei Natriumchlorid bilden sich auch bei Calcit elektrostatisch ausgeglichene, unreaktive Oberflächen aus, die Kationen und Anionen im Verhältnis von 1:1 aufweisen. Aragonit ist nach BÄUERLEIN (2006) die zweithäufigste und dichteste Kalziumcarbonat-Modifikation. Natürliche Vorkommen dieser schwach instabilen Form sind biogenen Ursprungs. Sie kommen als dominierende Form in den weichen Eiern von Reptilien vor (SOLOMON 1991), konnten allerdings auch in geringer Menge in Hühnereiern nachgewiesen werden. Im Labor lassen sich die typischen Aragonit-Nadeln durch Fällung in homogener Lösung herstellen, zum Beispiel durch Kalziumkarbonatbildung mit Hilfe von Harnstoff-Hydrolyse (BÄUERLEIN 2006). Vaterit ist metastabil und weist in seiner Struktur einen hohen Grad an Lagefehlordnung auf. Er ist die instabilste wasserfreie Kalziumcarbonat-Modifikation (BÄUERLEIN 2006). Vaterit ist viel weniger verbreitet als Aragonit und Calcit (SOLOMON 1991). Im Labor entsteht Vaterit durch schnelle Fällung bei starker Übersättigung, gezielter durch Additive zur Fälllösung wie zum Beispiel L-Aspartat (WOLF et al. 2007). Biogener Vaterit bildet in der Regel kugelförmige Kristallaggregate („Sphärolithe“), die aus faserigen, radial verlaufenden Kristallbündeln gebildet werden und deren Durchmesser typischerweise 10 µm beträgt (BÄUERLEIN 2006).

Das Uterussekret ist eine physiologisch zellfreie (DOMINGUEZ-VERA et al. 2000), proteinreiche, mit Kalzium- und Karbonationen angereicherte Lösung. Verschiedene organische und anorganische chemische Einflussfaktoren verändern die Ausfällung von Kalziumkarbonat in übersättigter Lösung (POMPE und LEHMANN 1983, WOLF et al. 2007), wobei die Form, Größe, Ausrichtung und Ausfällungsgeschwindigkeit in hohem Maße von der organischen Matrix kontrolliert wird (ADDADI und WEINER 1992). In der Eischale

2. LITERATURÜBERSICHT

intramineral eingeschlossene Schalenproteine veränderten *in vitro* die Kristallstruktur des ausfällenden Kalziumkarbonats (CARRINO et al. 1996, GAUTRON et al. 1997), während extraminerale Proteine keinen Einfluss auf die Kristallstruktur zeigten (GAUTRON et al. 1997). Ebenfalls beschleunigte sich die Ausfällung von Kalziumkarbonat proportional zur Konzentration von Uterussekretproteinen der initialen Phase der Schalenbildung (DOMINGUEZ-VERA et al. 2000). Der genaue Mechanismus der Beeinflussung der Kristallstruktur durch die organische Grundsubstanz ist noch nicht abschließend erforscht, weshalb der Blickwinkel auf die einzelnen organischen Bestandteile der Schalenmatrix fällt. In einer proteomischen Analyse aller säurelöslichen organischen Bestandteile der Eischale von Hühnereiern konnten 520 Proteine (MANN et al. 2006) und 39 Phosphoproteine (MANN et al. 2007) identifiziert werden. Sie lassen sich grob in drei Gruppen einteilen: Proteine, die unspezifisch in Körpergeweben vorkommen wie Osteopontin, eiklarspezifische Proteine wie Ovalbumin, Lysozym und Ovotransferrin und in rein uterin-eischalenspezifische Proteine wie Ovocleidine und Ovocalyxine (NYS et al. 2004).

Die Zusammensetzung der Proteine variiert tierartsspezifisch (PANHELEUX et al. 1999, LAKSHMINARAYANAN et al. 2004). HINCKE et al. (1995) identifizierten mit Ovocleidin 17 das erste nur in der Eischalenmatrix vorkommende Protein, was besonders angereichert in den Mammillarkörpern der Bildungszone vorkommt. Eine Rolle dieses Proteins in der Formation der Kalziumkristalle bei der Eibildung wurde zunächst von HINCKE et al. (1995) diskutiert, REYES-GRAJEDA et al. (2004) wiesen die Beeinflussung der Kristallstruktur und des Grundmusters des Kristallwachstums durch Ovocleidin-17 nach. Es war das erste bekannte Protein, was direkt in einen nicht pathologischen Prozess der Kristallisation eingreift. Seitdem konnten zahlreiche für die Matrix wichtige Proteine identifiziert werden (HINCKE et al. 2003, MANN et al. 2003a). Diese Proteine sind innerhalb der Schichten der Schale unterschiedlich verteilt (NYS et al. 2001), Abbildung 5. Als wichtige, in größeren Mengen vorhandene Proteine wurden in der Mammillarschicht Lysozym (HINCKE et al. 2000), Ovotransferrin (GAUTRON et al. 2000), Osteopontin (LAVELIN et al. 2000) und Ovalbumin (MIKSÍK et al. 2007) nachgewiesen. In der Palisadenschicht finden sich Clusterin (MANN et al. 2003b), Ovocleidin-17 und -116 sowie Ovocalyxin-21, -25 und -36 (GAUTRON et al. 2001, NYS et al. 2004), in der äußeren Palisadenschicht und der Vertikalschicht Ovocalyxin-32. Die Lokalisation der Proteine innerhalb der Schale entspricht der Phasenvarianz der Zusammensetzung des Uterussekrets im Laufe der Eibildung (GAUTRON et al. 1997), siehe auch Abbildung 6. In der initialen Phase dominieren Ovalbumin, Ovotransferrin, Lysozym und Ovocleidin-17 (DOMINGUEZ-VERA et al. 2000), diese Proteine dominieren auch in der zuerst gebildeten

2. LITERATURÜBERSICHT

Mammillarschicht. In der Wachstumsphase dominierten Lysozym, Ovocleidin-17, Ovocalyxin - 36 und -21 sowie Ovocleidin-116 (DOMINGUEZ-VERA et al. 2000). Diese Proteine dominieren ebenfalls in der Palisadenschicht. Ovocalyxin-32 findet sich besonders konzentriert in der terminalen Phase der Eischalenbildung im Uterussekret, analog kommt es vorrangig in den äußeren Schichten der Schale sowie der Kutikula vor (NYS et al. 2004).

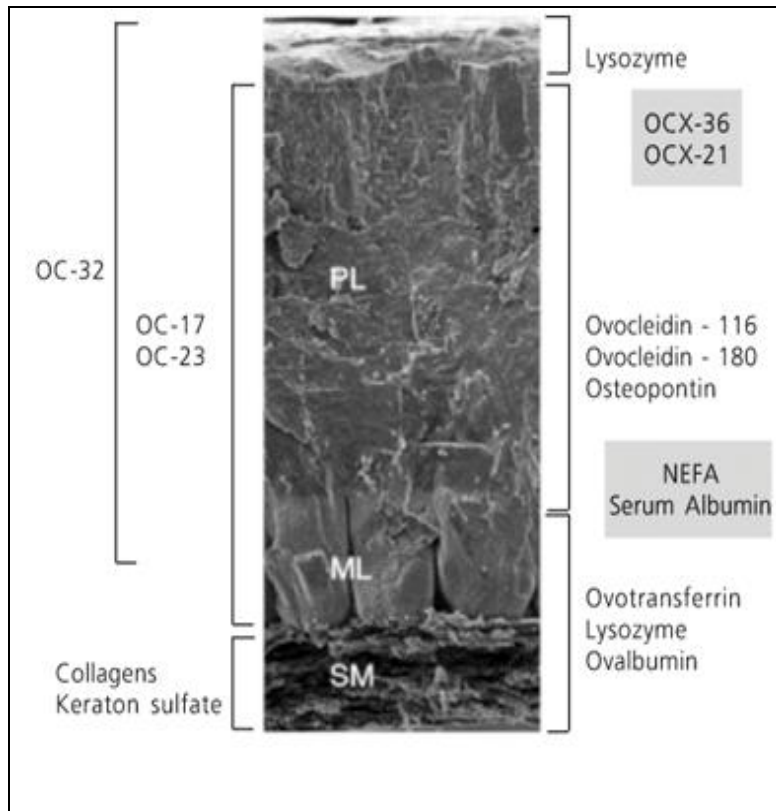


Abbildung 5: Lokalisation der Eischalenproteine in der Matrix nach NYS et al. (2004)

Abkürzungen:

- PL - Palisadenschicht
- ML - Mammillarschicht
- SM - Schalenmembran

2. LITERATURÜBERSICHT

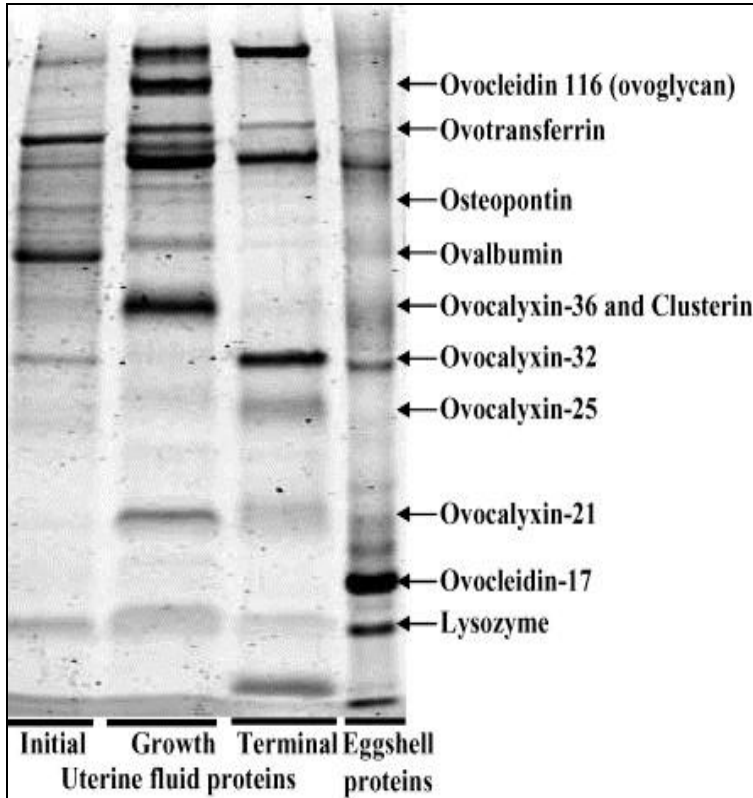


Abbildung 6:

Phasenvarianz des Uterussekrets
 nach GAUTRON et al. (1997)

Uterine fluid proteins =
 Uterussekreteproteine:
 Initial = Initialphase
 Growth = Wachstumsphase
 Terminal = abschließende Phase

Eggshell proteins =
 Eischalenproteine fertiges Ei

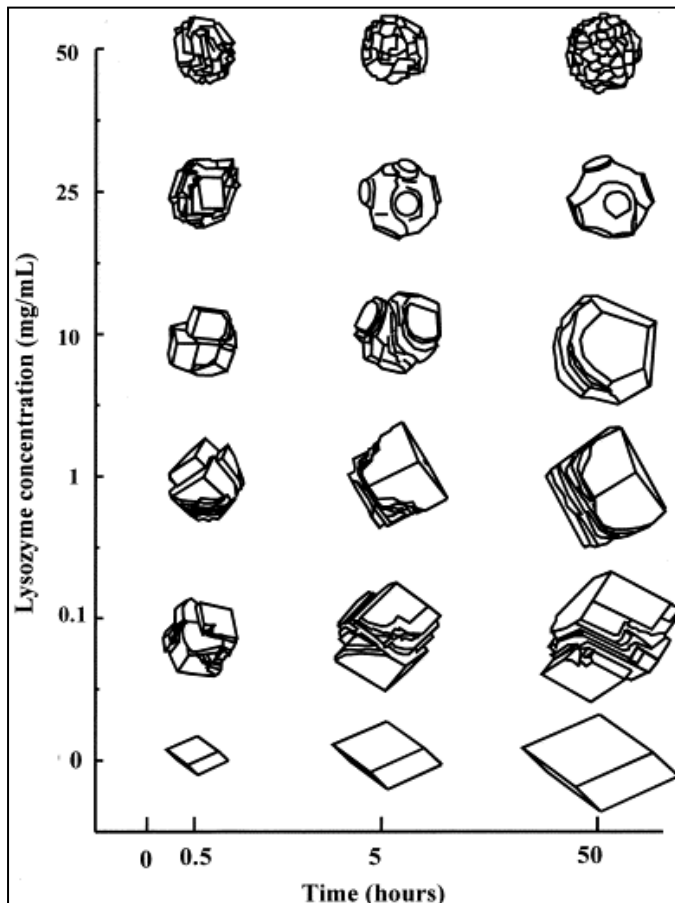


Abbildung 7:

Konzentrations-Wirkungs-Beziehung
 Lysozym und Kalziumpräzipitation nach
 JIMENEZ-LOPEZ et al. (2003)

2.1.5 Rolle der organischen Anteile der Eischalenmatrix, Lysozym

Die Zusammensetzung des Uterussekrets in der initialen Phase und in der Wachstumsphase der Eischalenbildung verkürzt deutlich die Induktionszeit für die Kalziumkarbonatpräzipitation (NYS et al. 2004). Demgegenüber steht, dass die vollständige, stärker mit Proteinen gesättigte Zusammensetzung des Uterussekrets gegen Ende der Eischalenbildung die Präzipitation hemmt (GAUTRON et al. 1997). HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al. (2003) gingen der Geschwindigkeit und Form der Kalziumkarbonatpräzipitation unter Nutzung von Modellproteinen wie Lysozym und Myoglobin nach. Sie wiesen besonders für Lysozym einen biphasischen Effekt auf die Kalziumkarbonatpräzipitation nach, wonach es zunächst in niedrigen Dosen die Präzipitation induziert und beschleunigt, in höheren Dosen aber hemmt. Eine biochemische Erklärung dafür liefert der sogenannte ionotropische Effekt (ADDADI und WEINER 1992). Einige negativ geladene, globuläre Proteine wie Lysozym haben eine starke elektrostatische Kalziumaffinität, sie erzeugen in Kalziumkarbonatlösung mittels Ionenbeziehung an ihren negativen Ladungsschwerpunkten eine lokal höhere Kalziumionenkonzentration. Diese induziert und beschleunigt im Sinne des Massewirkungsgesetzes durch eine lokale Übersättigung ein Ausfällen von Kalziumkarbonat, selbst in metastabile Zustände wie Vaterit (ADDADI und WEINER 1992). Höhere Konzentrationen des Proteins hingegen führt zu einem Ansteigen der negativen Ladungsschwerpunkte mit Affinität zu Kalziumionen, was bedeutet, dass bei konstanter intrauteriner Kalziumionenkonzentration deren lokale Konzentration an den negativen Ladungsschwerpunkten sinkt. Die Ionenbeziehung bindet das Kalzium und wirkt so als Inhibitor der Kalziumpräzipitation. Lysozym wird so vom Initiator und Promotor der Präzipitation in höheren Konzentrationen zum Inhibitor (ADDADI und WEINER 1992). Die Konzentrations-Wirkungs-Beziehung zwischen Lysozym und der Kalziumkarbonatpräzipitation wurde von JIMENEZ-LOPEZ et al. (2003) untersucht. Ohne Lysozym und mit niedrigen Spiegeln entstanden bei der Ausfällung perfekte rhomboedrische Calcitkristalle. Über 10mg Lysozym/ml beziehungsweise 25mg Lysozym/ml wurden die Ecken zunehmend abgerundet, über 50mg Lysozym/ml war die Bildung von Calcit gehemmt, es formierten sich sphärische, abgerundete Gebilde (JIMENEZ-LOPEZ et al. 2003, Abbildung 7). Lysozym ist im Körper weit verbreitet, es wird außer für die Eiklar- und Schalenfraktionen im Uterus unter Anderem auch in mononukleären Makrophagen und polymorphkernigen Granulozyten produziert (SALMON et al. 1974). Chemisch gehört es zu den N-Acetylmuramidasen. Es katalysiert die Hydrolyse von β -1,4-Bindungen zwischen N-Acetylmuraminsäuren und N-Acetylglucosaminen und wirkt damit lytisch auf das Mureingerüst grampositiver Bakterien (RUPP 2008).

2.2 Qualitätsanforderungen an Eier

2.2.1 Bedeutung der Schalenstabilität

Die Frage der Schalenstabilität und ihrer Beeinflussungsmöglichkeit innerhalb der Eierproduktion ist als Qualitätskriterium von großem Interesse. Für die Lebensmittelindustrie bietet die Eischale eine perfekte Verpackung für ein wichtiges Lebensmittel. Sie schützt vor externer Krafteinwirkung und dient dem Verbraucher als mikrobielle Barriere vor Bakterien, Viren und anderen pathogenen Keimen (HUNTON 2005). Eine verringerte Eischalendicke kann das Einwandern von Bakterien fördern (RUIZ und LUNAM 2000). Für die heranwachsenden Vögel definiert die Eischale die Grenze des embryonalen Wachstums (GERSTBERGER und BARTH 1999), dient dem sich entwickelnden Embryo zum Gas- und Wasseraustausch durch die Poren, als Kalziumspeicher und muss dabei von innen leicht genug zu zerbrechen sein um zu schlüpfen (NYS et al. 2004). Poldefekte Eier haben im Infektionsversuch mit 15,9N eine signifikant geringere Schalenstabilität als Vergleichseier mit 33,2N (FEBERWEE et al. 2009). Die durchschnittliche Schalendicke war bei den poldefekten Eiern mit 212 zu 311µm an der Spitze beziehungsweise 247 zu 287µm an der stumpfen Seite des Eies signifikant geringer (FEBERWEE et al. 2009). Der Erreger *Mycoplasma synoviae* konnte sowohl im Ovidukt infizierter Hühner als auch in den Eiern nachgewiesen werden. Das Bakterium verfügt über zahlreiche Enzyme und kann nach dem Legen bei Raumtemperatur bis zu zwei Wochen stoffwechselaktiv im Ei überleben (STIPKOVITS 1992). Es erschien daher fraglich, ob poldefekte Eier die qualitativen Anforderungen von Eiern der Güteklasse A erfüllen, sowie ob und inwiefern eine Benachteiligung der Verbraucher durch den Verzehr poldefekter Eier besteht.

2.2.2 Anforderungen an die Lagerung von Eiern

Es besteht keine Kühlpflicht für Eier. Laut VO (EG) Nr. 853/2004 und Tierische Lebensmittel-Hygiene-VO (2007) müssen Eier bei konstanter Temperatur aufbewahrt und befördert werden. Die Kühlpflicht beginnt am 18. Tag nach dem Legen (auf +5 °C bis +8°C nach: Tierische Lebensmittel-Hygiene VO 2007), die Abgabe an den Verbraucher ist bis zum 21. Tag nach dem Legen gestattet. Danach dürfen die Eier nur noch in der industriellen Verarbeitung Verwendung finden.

2.2.3 Gütemerkmale

Die Gütemerkmale des Eies umfassen viele Merkmale, die man zur Beurteilung der Eignung für die Erzeugung, Bearbeitung und Verwertung als frisches Ei, Trinkei oder Eiprodukt heranziehen kann. Entsprechend ihrer Beschaffenheit sind die Eier in die Güteklassen A oder B einzuordnen, die Kriterien sind durch die VO (EG) Nr. 1234/2007 und 589/2008 vorgegeben. Als Anforderungen an die Klasse A werden eine normale, saubere, unverletzte Schale und Kutikula, eine unbewegliche Luftkammer von maximal 6mm Höhe, ein klares Eiweiß von gallertiger Konsistenz und frei von fremden Einlagerungen, ein zentral liegendes, schattenhaft sichtbares und beim Drehen nicht wesentlich abweichendes Dotter, frei von Einlagerungen oder Auflagerungen, die Freiheit von fremden Geruch und die Freiheit von sichtbar entwickeltem Keim vorgeschrieben. Eier, die diesen Anforderungen nicht entsprechen, aber als Lebensmittel grundsätzlich geeignet sind, werden der Güteklasse B zugeordnet. Sie dürfen nicht als Konsumeier vermarktet werden, sondern müssen an die Lebensmittelindustrie oder die Non-Food-Industrie abgegeben werden (FEHLHABER 2007).

Die Gütemerkmale lassen sich in äußere und innere Beschaffenheitsmerkmale aufgliedern. Wichtige Qualitätsmerkmale für Eier sind unter anderem Frischegrad, Geruch, Geschmack, Farbe, die Eimasse, die Eiform, eine normale Schale frei von Deformationen oder Auflagerungen, das Freisein des Eiinhaltes von Mikroorganismen sowie die Sauberkeit und Verarbeitungsfähigkeit (FEHLHABER 2007).

2.2.3.1 Äußere Merkmale

Das Eigewicht hängt von Herkunft und Alter der Tiere ab. Moderne Legehybriden beginnen die Legeperiode mit 50g schweren Eiern und beenden sie mit 70g schweren Eiern (SCHOLTYSSSEK 1987). Das Gewicht nimmt im Verlauf der Legeperiode zu. Eier der Güteklasse A werden in Gewichtsklassen (S, M, L, XL) eingeordnet. Das Aussehen des Eies wird durch die Schalenfarbe geprägt. Je nach Herkunft und Rasse werden die üblichen Eier mit weißen oder braunen Schalen angeboten. Die Helligkeit und Farbe kann mittels kolorimetrischer Messungen bestimmt werden. Wichtiger Indikator für weiße Eier ist der Reflektionswert (L), der den Grad der Reflektion des Lichtes angibt. Dieser ist bei weißer Farbe 100 und bei schwarzer Farbe 0, er sollte bei weißen Eiern an die 100 und bei braunen Eiern zwischen 50 und 70 beziehungsweise bis 90 bei hellbraunen Eiern (ODABASI et al. 2007) betragen. Die Schalenfarbe der farbigen Eier setzt sich aus verschiedenen Pigmenten zusammen. Bei braunen Eiern sind a-Wert und b-Wert messbar. Der a-Wert repräsentiert im positiven Bereich einen überwiegend roten, im negativen Bereich einen überwiegend grünen

2. LITERATURÜBERSICHT

Farbanteil des Schalenpigments. Der *b*-Wert repräsentiert im positiven Bereich einen überwiegend gelben und im negativen Bereich einen überwiegend blauen Farbanteil. Bei braunen Eiern sollten der rote (*a*-Wert) und der gelbe (*b*-Wert) Farbanteil der Schale möglichst hoch sein. Mit steigendem Alter steigt bei braunen Legehennen der *L*-Wert an, rot- und gelb-Anteil sinken, die Eier werden heller (ODABASI et al. 2007). Ursächlich hierfür ist das steigende Eigewicht im Verlauf einer Legeperiode bei konstanter Pigmentproduktion. (ODABASI et al. 2007). Die Stabilität der Eier bestimmt die Wirtschaftlichkeit wesentlich mit. Bei der Messung der Schalenstabilität werden repräsentative Eier bis zum Bruch belastet. Präzise Messgeräte drücken am Pol oder am Äquator mit steigender Kraft auf die Schale, ein Sensor misst die Kraft bis zum Bersten der Schale (Bruchfestigkeit) in kg/cm^2 sowie die Deformation der Schale (SCHOLTYSSSEK 1987). Zwischen Schalenstabilität und Deformation gibt es eine negative Korrelation. Die Stabilität ist bei 7 Tage alten Eiern am höchsten (MONIRA et al. 2003). Sie nimmt mit steigendem Alter der Hühner bis auf die Hälfte ab (RODRIGUEZ-NAVARRO et al. 2002). Ferner kann man noch die Eiform (Formindex) und das spezifische Gewicht als äußere Qualitätsmerkmale bestimmen (SCHOLTYSSSEK 1987). Schalenstärke, Schalengewicht und Schalenanteil bezogen auf das Eigewicht sind Faktoren, die ebenfalls Rückschlüsse auf die Schalenstabilität zulassen (SCHOLTYSSSEK 1987).

2.2.3.2 Innere Merkmale

Der Frischegrad spielt als Beschaffenheitsmerkmal im Handel eine wesentliche Rolle. Der Gesetzgeber stuft nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 589/2008 die Eier in Güteklassen ein und gibt mit 6mm eine für die Handelsklasse A maximale Luftkammergröße vor. Die Höhe der Luftkammer lässt sich mittels Durchleuchtung sehr einfach bestimmen. Ihr Wachstum ist allerdings stark von der Raumtemperatur und Luftfeuchte abhängig (SCHOLTYSSSEK 1987). Sie sagt nur dann etwas über die Alterung aus wenn, die Lagerungsbedingungen definiert sind. Die Luftkammerhöhe ist daher nicht als alleiniges Aussagekriterium für die Frische geeignet. Der pH-Wert des Eiklars liegt nach dem Legen im basischen Bereich bei circa 7,6 bis 7,9. Durch biochemische Reifeprozesse steigt er bis zu einem Maximum in 48 Stunden nach dem Legen (ROMANOFF und ROMANOFF 1929) beziehungsweise sieben Tage nach dem Legen auf einen pH-Wert von über 9 (AHN et al. 1999) bzw. 9,4 (BURLEY und VADEHRA 1989) an, um dann langsam durch Abbauprozesse bis zu einem Alter von 28 Tagen in Richtung neutralen Bereich zu fallen (AHN et al. 1999). Der hohe pH-Wert wirkt keimhemmend (FEHLHABER 2003).

2. LITERATURÜBERSICHT

Die messbare Größe und Höhe von Eiklar und Dotter sind ebenfalls alterungsabhängig. Je älter das Ei ist umso breiter läuft das Eiklar aus und umso homogener werden die Fraktionen von dünnem und dickem Eiklar. Ursächlich hierfür ist die Proteolyse von Ovomucin, das für die Gelstruktur, besonders des dicken Eiklars, verantwortlich ist (SILVERSIDES und BUDGELL 2004). Bedeutend ist dies besonders für den Rückgang des Schaumbildungsvermögens des Eiklars in der industriellen Verwertung. Als erstes proteolytisches Enzym wurde die Leucin-Aminopeptidase von GÜNTHER und BURCKHART (1969) nachgewiesen, sie hat ihr Wirkungsoptimum bei einem pH-Wert von 7,2-8,2, also im älteren Ei. Die Dottermembran verliert bei der Lagerung ebenfalls an Stabilität, das Dotter läuft breiter aus und reißt leichter ein. Die Werte von Eiklarhöhe (circa einen cm vom Dotter entfernt), Dotterbreite und Dotterhöhe sind mittels einer Schiebelehre einfach messbar. Aus ihnen kann man den Dotterindex berechnen, der mit steigendem Alter sinkt (SCHOLTYSSSEK 1987). Der Dotterindex ist bei schweren Eiern höher, da mit steigender Eimasse die Dotterhöhe ebenfalls ansteigt (SEKEROGLU und ALTUNAS 2008). Die Eiklarhöhe ist bei schwereren Eiern in der Regel ebenfalls höher (SEKEROGLU und ALTUNAS 2008). Als Korrekturformel fasst die Haugh-Einheit (oder Haugh-Unit) Eiklarhöhe und Gewicht in eine Formel. Der Wert der Haugh-Unit sinkt mit zunehmendem Alter der Eier (HAUGH 1937).

$$\text{Dotterindex} = \text{Dotterhöhe} \times 100 / \text{Dotterbreite}$$
$$\text{Haugh-Unit} = 100 \log (\text{Eiklarhöhe} - 1,7 \times \text{Gewicht}^{0,37} + 7,6)$$

Die Haugh-Unit wird ebenfalls im Verlauf der Legeperiode niedriger, auch streut die Standardabweichung der Haugh-Unit bei braunen Legehybriden deutlich stärker als bei weißen Legehybriden (WILLIAMS 1992). In den USA gibt es konkrete Anforderungen bezüglich der Haugh-Unit an die Handelsklassen (STADELMANN und COTERILL 1995). Demnach müssen Eier der Handelsklasse AA eine Haugh-Unit von über 72 und Eier der Klasse A eine Haugh Unit von 60-72 haben. Eier unter 60 fallen unter die Handelsklasse B (STADELMANN und COTERILL 1995).

Ferner zählen auch Verwertungseigenschaften wie Viskosität, Emulsionsneigung, Schaumbildungsvermögen, Bindekraft und Schälbarkeit des gekochten Eis zu inneren Merkmalen. Sensorische Eigenschaften lassen sich auf das Ei bezogen in Geruch, Geschmack und Farbe unterteilen. Die Dotterfarbe lässt sich mittels Farbfächer und Photometer messen, sie ist den Werten 1 (hellgelb) bis 15 (dunkelorange) zugeordnet. Für die Farbgebung ist das gelb zu rot Verhältnis der Karotinoide im Futter ausschlaggebend (SCHOLTYSSSEK 1987).

2.2.4 Zusammensetzung des Eies

Das Ei besteht zu circa 58% aus Eiklar, zu 32% aus Eidotter und zu 10% aus Schale (SCHOLTYSSSEK 1987). Von den Rohnährstoffen her besteht das Eiklar zu 88% aus Wasser, zu 10% aus Rohprotein sowie zu 1,7% aus Kohlehydraten und Rohasche (BERGQUIST 1980). Die Aminosäurekombination des Eiklars gilt als ideal und wird bei keinem anderen Protein erreicht, seine biologische Wertigkeit wird mit 100 angegeben. Die Aminosäuren sind als große Moleküle vereinigt und lassen sich als Eiklarfraktionen elektrophoretisch analysieren (SCHOLTYSSSEK und EL-BOGDADY 1979). Den Hauptbestandteil des Eiklars machen dabei Ovalbumine mit über 55% (darin enthalten auch Ovotransferrin mit 12%), Conalbumin mit circa 21%, Ovoglobulin und Ovomucin mit zusammen circa 14% sowie Lysozym mit 3-4% aus, ferner kommt in geringer Menge Avidin mit 0,05% vor (SCHOLTYSSSEK und EL-BOGDADY 1979, SCHOLTYSSSEK und EL-BOGDADY 1980, STADELMANN und COTTERILL 1995). Die Proteine Lysozym, Ovotransferrin, Ovoglobulin, Ovomuroid und Avidin sind antimikrobiell wirksam (FEHLHABER 2003.)

Das Eigelb besteht nach BERGQUIST (1980) zu 49% aus Wasser, zu 16% aus Rohprotein, zu 33% aus Rohfett sowie zu 2% aus Rohasche und Kohlenhydraten. Die Lipoproteinverbindungen im Dotter lassen sich durch Ultrazentrifugieren und Elektrophorese genauer trennen, sie lassen sich in die flüssige Plasmafraktion (circa 78%) und die sedimentierte granulose Fraktion auftrennen (circa 22%). Nach ihren funktionellen und physikalischen Eigenschaften werden die Lipoproteine in fünf Klassen eingeteilt: VLDL, IDL, LDL, HDL, VHDL. Die Dotterlipide kann man in 63% Triglyceride, 30% Phospholipide, 5% freies Cholesterin, 1,3% Cholesterinester sowie 0,9% freie Fettsäuren aufteilen (BERGQUIST 1980). Der Cholesteringehalt im Blut spielt eine wichtige Rolle in der Ätiologie von Blutgefäßerkrankungen wie Atherosklerose und der koronaren Herzkrankheit des Menschen (GERTLER et al. 1950). Die Konzentration des Blutcholesterins und der auf die Blutlipoproteine unterschiedlicher Dichte entfallenden Cholesterinanteil werden von der Nahrungsfettzusammensetzung bestimmt (HOWELL et al. 2000). Gesättigte Fettsäuren wirken steigernd auf den Blutcholesterinspiegel, wogegen einfach und mehrfach ungesättigte Fettsäuren das Blutcholesterin senken oder cholesterinneutral sind (HOWELL et al. 2000). Eine wichtige Rolle bei Herz-Kreislaufkrankungen spielen auch die Stoffwechselprodukte der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die Eicosanoide. Während die Eicosanoide der Omega-3-Fettsäuren (zum Beispiel Alpha-Linolensäure, Eicosapentaensäure) vasodilatatorisch, gerinnungs- und entzündungshemmend wirken und somit den Blutdruck senken, wirken die Eicosanoide der Omega-6-Fettsäuren (zum Beispiel Linolsäure, Arachidonsäure)

vasokonstriktorisch, gerinnungs- und entzündungsfördernd und somit blutdrucksteigernd (BIESALSKI und GRIMM 2002). Die Zusammensetzung des Fettsäuremusters kann durch die Ernährung der Legehennen beeinflusst werden (BLANCH und GRASHORN 1996). Für eine Anreicherung des Dotters mit Omega-3-Fettsäuren kann man das Legehennenfutter mit Sojaöl (DÄNICKE et al. 2000), Leinöl (EDER et al. 2000), Meeresalgen (ABRIL et al. 2000), Rapsöl (JEROCH 2003) oder Fischöl (HUSVETH et al. 2003) versetzen.

2.3 Legeleistung von LSL-Hybriden

Die Legetätigkeit ist ein sehr empfindlicher Indikator für die Herdengesundheit. Die Legeleistung entspricht dabei dem täglichen Eieranfall bezogen auf die (Anfangs-)tierzahl in Prozent (=Anfangshennen). Über die Legeperiode lässt sich aus den Tagesleistungen die Legeleistungskurve ableiten. Die Hybriden der einzelnen Rassen unterliegen ständigen Legeleistungsprüfungen. Weiße Hybriden der Herkunft „Lohmann-Selected-Leghorn“ (*LSL*) erreichten in der letzten Legeleistungsprüfung die Legereife (=50% Legeleistung) am 154. Lebenstag (BUDDE et al. 2004). Die Legeleistung stieg etwa vier Wochen nach Legebeginn auf ihr Maximum von über 95% an (BUDDE et al. 2004). Über die Legeperiode von 364 Tagen legten die Hühner 325 Eier pro Durchschnittshenne, dies entsprach einer Legeleistung von 89,3% je Durchschnittshenne. Das Eigewicht betrug im Schnitt 65,5g (BUDDE et al. 2004).

2.4 Ursachen für Qualitätsmängel der Eischale

Qualitätsmängel der Eischale lassen sich grob in Formveränderungen, Schalendefekte (Stabilitätsmängel, Auflagerungen) und Farbveränderungen einteilen (KLACZINSKI 1992). Zu dünne Schalen führen zu Knickeiern mit intakter Schalenmembran, die beim Durchleuchten aussortiert und zum sofortigen Verbrauch bestimmt sind, aber auch zu nicht verkehrsfähigen Brucheiern, die häufig andere Eier verunreinigen oder zu Fließeiern, die keine Kalkschale besitzen und nicht verkehrsfähig sind (FEHLHABER 2007). Ursächlich hierfür können sowohl infektiöse als auch nicht infektiöse Faktoren sein.

2.4.1 Infektiöse Ursachen für eine verminderte Eischalenqualität

Im Mittelpunkt der Erkrankungen des Legeapparates stehen die Eileiter-Bauchfell-Entzündungen sowie akute und chronische Entzündungen des Eierstockes und der eiableitenden Organe. Vorwiegend handelt es sich um ascendierende Infektionen, ferner um hämatogene Infektionen. Vielfach treten sie im Gefolge von erregurbedingten Erkrankungen auf. Prädisponierend können Belastungssituationen durch klimatische Einflüsse, Futterimbalancen, Störungen der Wasserversorgung, starke Erregungszustände sowie genetische Faktoren und

2. LITERATURÜBERSICHT

hormonelle Imbalancen wirken. Die wichtigsten infektiösen Ursachen für eine Formveränderung der Eischale sind die Infektiöse Bronchitis (*IB*), die Newcastle Disease (*ND*), das Egg-Drop-Syndrom (*EDS*), Mykoplasmosen und andere bakteriell verursachte Eileiterentzündungen (KLACZINSKI 1992). Die *ND*, *EDS* und Mykotoxine können einen Stabilitätsmangel der Eischale verursachen, ferner können *IB*, *EDS*, Mykoplasmosen und andere bakterielle Infektionen zu Farbveränderungen der Eischale führen (KLACZINSKI 1992).

2.4.1.1 Mykoplasmosen

Mykoplasmen gehören zu den Prokaryonten, die sich von den Bakterien durch das Fehlen der Zellwand und das kleine Genom unterscheiden. Aufgrund dieser Besonderheiten sind sie einer eigenständigen Klasse (Mollicutes) zugeordnet worden. Arten, die bisher beim Hausgeflügel und anderen Vogelarten nachgewiesen worden sind, gehören in der Regel der Gattung *Mycoplasma*, seltener den Gattungen *Acholeplasma* und *Ureaplasma* an (HINZ und BEHR 2005). Mykoplasmen haben eine geringe Tenazität, ihre Virulenz variiert sehr stark. Sie verursachen in der Regel Faktorenerkrankungen, die in ihrem klinischen Erscheinungsbild je nach Abwehrlage des Wirtes variieren. Die hochfrequente phänotypische Varianz der Oberflächenantigene führt trotz einer starken Immunantwort oft zu chronischen oder subklinischen Infektionen (LEVISOHN und KLEVEN 2000). Klinisch manifeste Erkrankungen entwickeln sich gewöhnlich nach synergistischem Zusammenwirken mit anderen Erregern (z.B. attenuierten Impfstämmen), aber auch bei Stress, Immunsuppression, Mangelsituationen und Mycotoxicosen (HINZ und BEHR 2005). Wirtschaftlich bedeutsam als Verursacher von Schäden und Erkrankungen beim Wirtschaftsgeflügel sind die pathogenen Arten *Mycoplasma gallisepticum* (*MG*), *Mycoplasma synoviae* (*MS*), *Mycoplasma iowae* (*MI*) und *Mycoplasma meleagridis* (*MM*). *MM*- und *MI*-Mykoplasmosen kommen in der Regel nur bei Putenküken und Jungputen vor, sie sind für die Legehennenhaltung weitgehend unbedeutend.

2.4.1.1.1 *Mycoplasma gallisepticum*

In Unkenntnis der Ätiologie wurde die *MG* - Infektion der Hühner zunächst als „Nelson's coryza“ (NELSON 1936) und später von verschiedenen Autoren als chronische Atemwegserkrankung (chronic respiratory disease - *CRD*) der Hühner beschrieben. Der Erreger der *CRD* wurde als *Mycoplasma gallisepticum* identifiziert (MARKHAM und WONG 1952). Verschiedene Stämme variieren sehr stark in wichtigen biologischen Eigenschaften wie Pathogenität, Virulenz, Gewebstropismus und Übertragungsweg (LEVISOHN und KLEVEN 2000). Klinisch zeigt sich eine kontagiöse, subakut bis chronisch verlaufende

2. LITERATURÜBERSICHT

Infektionskrankheit, die vor allem durch exsudativ-entzündliche Prozesse des Respirationstraktes gekennzeichnet und durch Sekundärerreger kompliziert wird (HINZ und BEHR 2005). Neben leichter bis schwerer Dyspnoe und krächzenden respiratorischen Geräuschen zeigt sich häufig eine Anschwellung des Sinus infraorbitalis und der Augenhöhlen (besonders ausgeprägt bei den Puten als „Eulenkopf“) sowie Nasenausfluss (STIPKOVITS 1992). Die Übertragung kann horizontal und vertikal sowie im Ausnahmefall aerogen erfolgen, zum Beispiel aus einem benachbarten Stall oder dem Wildreservoir (LEVISOHN und KLEVEN 2000).

In Legehennenbeständen verursacht die Infektion eine um 10 bis 40% verringerte Legeleistung (STIPKOVITS 1992). Tritt die Erkrankung am Anfang der Legeperiode auf, wird die normale Legeleistung in der gesamten Legeperiode nicht erreicht. Die gelegten Eier sind oft form- und farbverändert, es treten jedoch kaum Stabilitätsmängel auf (KLACZINSKI 1992). Ursächlich hierfür ist eine Infektion des Eileiters, die sich in der Sektion mit serofibrinösen Ausscheidungen, Schichteiern und petechialen Blutungen darstellt (STIPKOVITS 1992). Histologisch zeigt sich eine lympho- und monozytäre Infiltration des stark hyperplastischen Eileiterepithels (STIPKOVITS 1992).

Prophylaktisch stehen sowohl inaktivierte als auch attenuierte Vakzinen zur Verfügung, wobei serologisch keine Abgrenzung zum Feldstamm möglich ist. Als Schnellnachweisverfahren kann mit einem kommerziellen Antigen eine Objektträgerschnellagglutination (OSA) durchgeführt werden. Die Eradikation von *MG* in der Elterntierzucht wird seit Jahren praktiziert und hat die Infektion in kommerziellen Betrieben weitgehend zurückgedrängt, aber nicht eliminiert. In sächsischen Legehennenbetrieben konnten in einer epidemiologischen Studie bei 11% der untersuchten Tiere mittels ELISA Antikörper gegen *MG* nachgewiesen werden (KÖHN et al. 2009), wobei es sich auch um eine falsch positive Reaktion oder um Impfantikörper handeln könnte.

2.4.1.1.2 *Mycoplasma synoviae*

Mycoplasma synoviae (*MS*) verursacht die infektiöse Sinusitis (Synonym: Synoviae-Mykoplasmosen) der Hühner und Puten. Die Erkrankung verläuft als synoviale oder respiratorische Form. Analog zu *MG* sind wesentliche Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen hinsichtlich Virulenz und Organotropismus zu beobachten (STIPKOVITS 1992).

Hühner im Alter von 4-16 Wochen sind am stärksten von klinischen Symptomen betroffen, subklinische Infektionen mit Erregerpersistenz treten aber in jedem Alter auf (SAIF 2003). Die synoviale Form betrifft besonders Küken in einem Alter bis zu 4 Monaten, sowie Legehennen und Puten (HINZ und BEHR 2005). Klinisch zeigt sich eine Synovitis der Knie-, Mittelfuß-

2. LITERATURÜBERSICHT

und Fußgelenke, der Sehnenscheiden und Schleimbeutel. Die betroffenen Tiere bleiben im Wachstum zurück, haben Befiederungsstörungen und blasse Kämmen (KAWAKUBO et al. 1980, LANDMAN und FEBERWEE 2003). In infizierten Stämmen können 20-30% der Tiere in ihrer Entwicklung zurückbleiben. Die respiratorische Form kommt bei jungen und älteren Tieren gleichermaßen vor, wobei besonders bei Masthähnchen eine verringerte Gewichtszunahme und schlechtere Futtermittelverwertung auffällt (LANDMAN und FEBERWEE 2003). Es treten häufig Sekundärerreger auf, das klinische Bild entspricht im Wesentlichen dem der CRD. Weitere wirtschaftliche Verluste entstehen durch einen erhöhten Anteil verworfener Schlachtkörper und als Güteklasse B deklarierten Schlachtkörper durch die makroskopisch auffälligen Luftsackläsionen (LANDMAN und FEBERWEE 2003). Es wird ebenfalls ein Zusammenhang zwischen der Amyloid-assoziierten Arthropathie und *Mycoplasma synoviae* beschrieben (TAYLOR und FRANCIS 2001). Virulente MS-Stämme zeigen einen partiellen Synergismus zu *Escherichia coli*, sie können sekundär als erschwerender Faktor in Herden mit *Escherichia coli*-Peritonitis wirken (RAVIV et al. 2007).

Die Übertragung von MS erfolgt über alle Körpersekrete, aber besonders über die respiratorische Schleimhaut. Infektionsquellen sind infizierte Bestände und von diesen stammende Gerätschaften und (Brut-)eier. Marginal können blutsaugende Insekten eine Rolle in der Verbreitung von MS spielen (STIPKOVITS 1992). Innerhalb eines Bestandes verläuft die Verbreitung hauptsächlich aerogen, die Verbreitungsgeschwindigkeit ist dabei langsam (STIPKOVITS 1992). Stresssituationen durch Managementfehler, Krankheiten oder Mangelerscheinungen fördern die klinische Manifestation latenter Infektionen. Eintrittspforte für den Erreger ist der Respirationstrakt, wobei die Adhäsionsfähigkeit ein wesentlicher Virulenzfaktor ist. Analog zu MG, der zur Zellinvasion und damit zur Translokation in die respiratorische Schleimhaut und damit in das Blutgefäßsystem hinein fähig ist (HINZ und BEHR 2005), wird die weitere Verbreitung von MS im Körper angenommen. Nach aerogener Aufnahme dringen die Mykoplasmen mittels Neuramidase in Zellen ein (HINZ und BEHR 2005). Sie können sowohl passiv in phagozytierende als auch aktiv in nicht phagozytierende Zellen eindringen (DUSANIĆA et al. 2009). Im Blut können sie Erythrozyten agglutinieren (KAWAKUBO et al. 1980). Sie gelangen schließlich in Zielorgane mit möglichst geringer zellulärer Erregerabwehr, zum Beispiel Sehnenscheiden, Gelenkhöhlen, sowie Organe mit zilienträgenden Epithelien wie Lunge und Ovidukt. Dort siedeln sie sich fakultativ intrazellulär an. DUSANIĆA et al. (2009) wiesen in vitro das Eindringen verschiedener MS-Stämme innerhalb von 24 Stunden in Hühnererythrozyten nach. Der Erreger bleibt durch seine Fähigkeit zur Mimikry (Adsorption wirtseigener Proteine und Präsentation auf der Membran) und eine

2. LITERATURÜBERSICHT

ständige antigenetische Phasenvariation ihrer Oberfläche vom Immunsystem weitgehend verschont (HINZ und BEHR 2005).

Berichte über die wirtschaftliche Bedeutung des Erregers sind selten und widersprüchlich. Bei natürlicher Infektion wurde ein Legeleistungsverlust von 10% festgestellt (LANDMAN und FEBERWEE 2003, FEBERWEE et al. 2009). Es entstanden beträchtliche wirtschaftliche Verluste durch abgestorbene Embryonen, verminderte Gewichtszunahmen, erhöhten Futteraufwand, verminderte Legeleistung und verworfene Schlachtkörper (STIPKOVITS 1992). Einige Autoren beschrieben aber keinen signifikanten Einfluss auf die Legeleistung (DUFOUR-GESBERT et al. 2006) und Eiqualität (OPITZ 1983, MOHAMMED et al. 1987). In Zuchtherden reduzierte der Erreger die Legeleistung um 5 bis 10%, die Schlupfrate sank um 5 bis 7% und die Mortalität der Eintagsküken war um 5% erhöht (STIPKOVITS und KEMPF 1996). Nach experimenteller Infektion von Legehennen mit *MS*, *MG* und Infektion mit beiden Erregern zusammen konnten keine Unterschiede im Bezug auf Eigewicht und Eischalenstärke im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden (BRANTON et al. 1997b).

Andererseits stellten FEBERWEE et al. (2009) im Infektionsversuch eine signifikant verringerte Legeleistung der intratracheal mit *MS* infizierten Legehennen fest ($0,49 \pm 0,02$ Eier pro Tag im Vergleich zu $0,75 \pm 0,02$ Eiern der Kontrollgruppe pro Tag). Die gelegten Eier zeigten Schalendefekte und verringerten bis zur 4. Woche post infectionem ihre Schalenstärke signifikant ($16,8 \pm 0,9N$ bei Schalendefekten im Vergleich zu $37,7 \pm 15N$ der Kontrollgruppe). Betroffene Eier hatten eine raue, dünne Schale an der Eispitze. Die Defekte zeigten sich in Form von Mikroläsionen, Verfärbungen und Verkalkungsstörungen (FEBERWEE und LANDMAN 2008). Das veränderte Areal erschien durch die verminderte Schalendicke transparent, daher stammt die umgangssprachliche Bezeichnung als „gefenstertes Ei“ („windowed pole egg“ nach FEBERWEE und LANDMAN 2008). Elektronenmikroskopische Aufnahmen lokalisierten den Defekt hauptsächlich in der Mammillarschicht der Eischale (FEBERWEE und LANDMAN 2008). Der Anteil an poldefekten Eiern in den Beständen variierte von unter einem bis zu 25% der Legeleistung (FEBERWEE und LANDMAN 2008). Die poldefekten Eier verursachten aufgrund ihrer geringeren Schalenstabilität einen signifikanten wirtschaftlichen Schaden, indem sie die Leistung und den Primaanteil der Legeleistung senkten sowie die Arbeits- und Reinigungskosten erhöhten (FEBERWEE und LANDMAN 2008). So betrug nach FEBERWEE und LANDMAN (2008) der beispielhafte Einkommensverlust über die gesamte Legeperiode (von der 30. bis zur 75. Lebenswoche) bei durchschnittlichen 5% poldefekten Eiern schätzungsweise 3%. Ein Infektionsversuch mit *MS*

2. LITERATURÜBERSICHT

an Broiler-Elterntieren induzierte ebenfalls poldefekte Eier. Im Versuch zeigte sich eine verringerte Schalenstärke und Legeleistung (FEBERWEE und LANDMAN 2010).

Pathologisch zeigt sich nach HINZ und BEHR (2005) bei der respiratorischen Form eine fibrinöse Aerosacculitis, seltener verbunden mit einer serofibrinösen Peri- und Myokarditis. Bei der synovialen Form zeigt sich in der akuten Phase eine Schwellung von Milz, Nieren und Leber, herdförmige Lebernekrosen, eine Atrophie von Bursa Fabricii und Thymus und graugelbes bis rötliches, viskös bis eingedicktes Exsudat in den Synovialräumen (HINZ und BEHR 2005). Chronisch fällt neben der Abmagerung eine fibrös indurierende und ankylosierende Entzündung der Gelenke und Sehnenscheiden mit orangefarbenen (Amyloid-)ablagerungen auf (TAYLOR und FRANCIS 2001). Bei der Poldefektform treten kaum makroskopische Veränderungen auf, es zeigte sich bei einigen Hennen eine zystische Degeneration des Ovars. Pathohistologisch weisen die betroffenen Organe demarkierte, entzündlich-nekrotisierende Veränderungen auf (HINZ und BEHR 2005) sowie mononukleär-lymphozytäre Infiltrate in Milz, Leber, Nieren und Knochenmark (BRANTON et al. 1997a). *MS*-Stämme können sich im Ovidukt von Legehennen ansiedeln, sie verursachten sowohl im Feld- als auch im Infektionsversuch Eischalenspitzendefekte (FEBERWEE und LANDMAN 2008, FEBERWEE et al. 2009). Trotz Erregernachweis im Ovidukt und Eischalenveränderungen konnten in der pathohistologischen Untersuchung keine Veränderungen des Legedarms festgestellt werden (FEBERWEE et al. 2009).

Diagnostisch können Erkrankungen des oberen Respirationstraktes in Verbindung mit entzündlichen Schwellungen der Gelenke auf eine Infektion mit *MS* hinweisen. Latent infizierte Tiere, oder Tiere, die an der Poldefektform erkrankt sind (FEBERWEE et al. 2009), zeigen in der Regel keine Symptome. Zur serologischen Diagnostik sind Objektträgerschnellagglutinationstests kommerziell erhältlich. Diese sind allerdings ungenau und zeigen Kreuzreaktionen mit anderen Mykoplasmen-Antikörpern im Serum (STIPKOVITS 1992). Diese Kreuzreaktionen treten im Hämagglutinationshemmungstest nicht auf (STIPKOVITS 1992). ELISA-Testkits auf Mykoplasmenantikörper sind sensitiver als der Hämagglutinationshemmungstest (ANSARI et al. 1982, OPITZ und CYR 1983, AVAKIAN et al. 1988, PANANGALA et al. 1990), diese zeigen allerdings auch Kreuzreaktionen mit anderen Mykoplasmenantikörpern (ANSARI et al. 1982, YAMAMOTO 1983, OLSON et al. 1984, PATTEN et al. 1984, HIGGINS et al. 1986). Kommerziell erhältliche ELISA Testkits zeigten in einem Versuch bis zu 37% falsch positive Ergebnisse bei der Untersuchung spezifisch

2. LITERATURÜBERSICHT

pathogenfreier Hühner (FEBERWEE et al. 2005). Die PCR ist eine schnelle, sehr sensitive und spezifische Methode, um Mykoplasmen nachzuweisen (MOALIC 2002, FEBERWEE et al. 2005). Die Anzucht des Erregers stellt relativ hohe Ansprüche, ist aber mittels spezieller Kulturmedien möglich (ROSENGARTEN und YOGEV 1996).

KLEVEN (2008) beschreibt drei wichtige Ansätze zur Kontrolle der aviären Mykoplasmosen. Der sicherste Weg zu Bekämpfung von Mykoplasmen ist der Aufbau erregerefreier, ungeimpfter und unbehandelter (gegen Mykoplasmen) Bestände. Dies bedingt den Zukauf erregerefreier Küken sowie eine effektive „all-in, all-out“-Haltung mit strikt getrennten Altersgruppen (KLEVEN 2008). Eine (antibiotische) Therapie kann nur die klinischen Zeichen der Infektion bekämpfen und die wirtschaftlichen Schäden begrenzen, ist aber ungeeignet, eine Infektion durch *MS* oder *MG* aus einem Bestand zu eliminieren (KLEVEN 2008). Alle *MS*-Isolate der epidemiologischen Studie von DUFOUR-GESBERT et al. (2006) waren sensibel auf Tetracycline, Macrolide, Spectinomycin und Fluorchinolone. Eine Behandlung mit Antibiotika kann experimentell die Schalenqualität verbessern, einige Wochen nach dem Absetzen stellen sich jedoch wieder Schalendefekte ein (FEBERWEE et al. 2009). Beginnt ein Huhn einmal, poldefekte Eier zu legen, kann es nicht geheilt werden (FEBERWEE et al. 2009). Eine Impfung aller Hennen gegen *MS* und/oder *MG* kann eine sinnvolle Alternative für Farmen sein, die keine Erregerefreiheit erreichen können, wie zum Beispiel Legehennenbetriebe mit mehreren Altersgruppen auf kleinem Raum. Aktuell gibt es in Deutschland keinen zugelassenen Impfstoff gegen *MS* (Stand Juli 2010). Der Impfschutz international erhältlicher Vakzine besteht gegen die respiratorische und synoviale Form (JONES et al. 2005). Ein Impfschutz gegen die Poldefektform der *MS*-Infektion wird von OUCHI et al. (2008) beschrieben. Ein staatliches Eradikationsprogramm von *MS* in der Elterntierzucht wird in Holland seit der Jahrtausendwende durchgeführt. Während die Großelterneneration nur zu 0,1% seropositiv auf *MS*-Antikörper ist, sind die Elterntiere schon zu 10,9% seropositiv und die Hennen in den Legehennenbetrieben bis zu 73% (FEBERWEE et al. 2008). Die Prävalenz von *MS* ist weltweit sehr hoch (DUFOUR-GESBERT et al. 2006). In einer epidemiologischen Studie betrug die Infektionsrate in sächsischen Legehennenbeständen (in 19 untersuchten Betrieben) zum Zeitpunkt der Einstallung etwa 58% und zum Zeitpunkt der Ausstallung circa 90%, es fiel kein Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen in der Einzeltier- beziehungsweise Herdenuntersuchung und *MS*-positiven Tieren auf (KÖHN et al. 2009). Andere Erkrankungen, die das Ovidukt betreffen, erhöhen das Risiko poldefekte Eier zu produzieren. Im

2. LITERATURÜBERSICHT

Infektionsversuch legte die *IBV* und *MS* infizierte Gruppe signifikant weniger Eier sowie Eier in schlechterer Qualität als die Referenzgruppen (FEBERWEE et al. 2009).

2.4.1.2 Egg-Drop-Syndrom (Aviäre Adenovirus-Salpingitis), andere Adenoviren

Unter der Bezeichnung Egg-Drop-Syndrom 1976 (*EDS*) versteht man eine durch ein hämagglutinierendes aviäres Adenovirus bedingte Infektion der Hühner, die meist ohne erkennbare Krankheitssymptome abläuft, aber mit einem vorübergehenden Rückgang der Legeleistung und Störung der Eischalenbildung einher geht. Die Krankheit ist weltweit verbreitet und wird durch die Bezeichnung Aviäre Adenovirus-Salpingitis (*AAVS*) am Besten charakterisiert (MONREAL 1992). Die Aviadenoviren lassen sich aufgrund ihrer Gruppenantigene unterteilen. Der Erreger des *EDS* ist ein ursprünglich von der Ente kommendes Adenovirus, daher stammt die offizielle Bezeichnung *Duck Adenovirus-1 (DAV 1)*, es hat nur einen Serotyp. Das Viruspartikel besitzt eine hohe Tenazität. Die wichtigste Übertragung erfolgt beim Huhn vertikal über die Bruteier mit anschließender horizontaler Ausbreitung des Virus (VAN ECK et al. 1976). Für die horizontale Ausbreitung sind die Virusausscheidung und deren Dauer von entscheidender Bedeutung. Der Nachweis des Virus gelang nach experimenteller Infektion im Eileiter, im Respirationstrakt und im Kot (MCFERRAN et al. 1978). Die Aufnahme infektiöser Partikel bei der horizontalen Infektion erfolgt vorwiegend oral, die Ausbreitung innerhalb einer Herde verläuft dabei nicht sehr schnell (MONREAL 1992). Pathogenetisch kommt es nach MONREAL (1992) bei früh infizierten Tieren nach Persistenz des Virus während der Aufzuchtphase zu einer Reaktivierung durch den Stress der Legeleistung im Zusammenhang mit der hormonellen Umstellung. Infolge einer erneut einsetzenden Virusvermehrung kommt es zu Schäden im Legedarm. Pathologische Untersuchungen infizierter Hühner zeigten eine ödematöse Schwellung der Mucosa im Uterus, bedeckt mit weißlichem Exsudat sowie atrophische Follikel am Ovar (VAN ECK et al. 1976, TANIGUCHI et al. 1981). Pathohistologisch war eine Infiltration der Uterusschleimhaut mit Plasmazellen und Lymphozyten sowie eine Atrophie des Drüsengewebes (VAN ECK et al. 1976, TANIGUCHI et al. 1981) nachweisbar. Virusspezifische intranukleäre Einschlüsse ließen sich im Uterusepithel, im Isthmus, aber auch in der Vagina nachweisen, der Antigennachweis gelang in allen Teilen des Legeapparates (MONREAL 1992).

Die klinischen Erscheinungen beschränken sich bei natürlicher Infektion in der Regel auf Braunleger (HESS 2005). Experimentelle Infektion mit dem H-162 Typ des *EDS* 1976 Virus zeigten aber eine ähnliche Klinik auch bei weißen Leghorn Legehennen. Im Vergleich mit zwei braunen Legehennenrassen zeigten die weißen Hybriden eine deutlichere Legedepression,

2. LITERATURÜBERSICHT

legten aber weniger abnormale Eier (HIGASHIHARA et al. 1987). Vereinzelt waren die Tiere matt und hatten Durchfall, in der Regel verlief die Infektion aber ohne klinische Krankheitsanzeichen (HIGASHIHARA et al. 1987). Nach der Infektion von Hühnern im Legealter (MCFERRAN et al. 1978) kam es am 7. Tag p. i. zu ersten Verfärbungen der Eischale, die ab dem 12. bzw. 17. Tag p. i. wieder zurückgingen und ab dem 25. Tag wieder völlig normal erschienen. Dünnschalige Eier traten ab dem 8. Tag p. i. auf, schalenlose und weichschalige Eier ab dem 9. Tag p. i., das Maximum der Schalenveränderungen wurde um den 14. Tag p. i. beobachtet (MCFERRAN et al. 1978). Dabei werden sowohl schalenlose (Wind-)eier als auch Eier mit dünnen, pergamentartigen Auflagerungen auf der inneren Schalenhaut sowie raue, sandpapierartige Eier und glatte, optisch normale Eier mit einer geringen Schalenstabilität beschrieben. Die innere Eiqualität ist kaum oder nicht verändert (VAN ECK et al. 1976, MCFERRAN et al. 1978). Der Anfall der veränderten Eier kann abhängig von der Stärke der Infektion bis zu 20% der gelegten Eier betragen, in den meisten Fällen geht mit den Veränderungen der Schalenbeschaffenheit eine Verringerung der Legeleistung einher (MONREAL 1992).

Verlauf und Dauer der Erkrankung variieren stark, abhängig vom Alter der Herde, dem Zeitpunkt der Infektion und der Möglichkeit der Ausbreitung innerhalb einer Herde. Nach vertikaler Infektion und Ausbreitung des Virus im Verlauf der Aufzuchtperiode treten die Symptome meist kurz nach dem Beginn der Legetätigkeit auf und erstrecken sich über mehrere Wochen während der Zeit, in der die Tiere die Produktionsspitze erreichen sollten (MONREAL 1992). Die eigentliche Dauer der Legedepression beträgt zwei bis drei Wochen (MCFERRAN et al. 1978), die Schäden der Eischalen und damit die Leistungsminderung können sich darüber hinaus noch über Wochen erstrecken (YAMAGUCHI et al. 1981). Der Nachweis der Viruspartikel kann mittels PCR direkt aus dem Eileiter erfolgen. Zum Zeitpunkt der Legedepression sind auch spezifische Hämagglutinationshemmungs-Antikörper nachweisbar (MONREAL 1992). Prophylaktisch werden braune Junghennen in der Regel zwischen der 14. und der 20. Lebenswoche mit einer inaktivierten Adsorbatvakzine geimpft, dies verhindert nicht die Infektion, aber das klinische Bild der Leistungsdepression und der Schalendefekte.

Andere aviäre Adenoviren, wie die Erreger der Einschlusskörperchenhepatitis (Fowl adenovirus 1-12) und des Hydroperikardsyndroms (Fowl adenovirus 4) sind ebenfalls bedeutende Krankheitserreger, führen aber nicht zu Eischalenveränderungen (HEFFELS-REDMANN und KALETA 2005). Weitere Aviadenoviren sind nicht als primäre Ursache für Leistungsstörungen anzusehen, da sie sowohl aus klinisch unauffälligen als auch aus Hühnern mit Legeleistungsdepression isoliert werden können. Bei der experimentellen Infektion von

2. LITERATURÜBERSICHT

Legehennen mit vier „verdächtigen“ Adenovirus-Isolaten (*Indiana C*, *DPI-2*, *IBH-2*, *B-3*) wurden kein Einfluss auf die Schalenqualität sowie keinerlei klinische Symptomatik bei den Hennen festgestellt (COWEN et al. 1978).

2.4.1.3 Infektiöse Bronchitis des Huhnes

Das Virus der Infektiösen Bronchitis (*IBV*) ist ein Coronavirus mit einer geringen Tenazität. Die Übertragung erfolgt aerogen über virushaltige Staubpartikel oder Tröpfchen, mit dem Wind auch über große Entfernungen. Weltweit ist in allen Bereichen der Geflügelhaltung ein hoher Durchseuchungsgrad nachgewiesen worden (MAYR 2006). Die Infektiöse Bronchitis ist eine zyklisch verlaufende Allgemeinerkrankung, die sich bevorzugt im Respirationstrakt manifestiert. Daneben können auch der Urogenitaltrakt sowie der Legeapparat geschädigt werden.

Klinisch-respiratorische Symptome dauern in der Regel ein bis zwei Wochen, bei Legehennen kann die Infektion aber auch ganz ohne klinische Symptome verlaufen. Am Legeapparat bilden sich Eierstock und Eileiter zurück und treten frühestens nach drei Wochen wieder in Tätigkeit (WOERNLE und HAFEZ 1992). Die Störungen äußern sich in einem langdauernden Rückgang der Legetätigkeit von bis zu 55% sowie schlechter Eiqualität (BISGAARD 1976). Die Eischale zeigt sich aufgrund der Schädigung des Legeapparats deformiert, missgestaltet, hat eine raue Oberfläche und ist oft brüchig. Die Eier sind häufig durch gröbere Kalkauflagerungen gekennzeichnet. Teilweise kann die Schale sehr dick sein, braune Eier verlieren die Färbung und die Konsistenz des Eiklars kann flüssiger als normal sein (WOERNLE und HAFEZ 1992). Pathologisch kann es am Legeapparat zu einer Atrophie der Ovarien, zu Entzündungen der Eifollikel und Rückbildung des Ovidukts sowie zu einem Verschluss des Infundibulums kommen (RANDALL 1985, MAYR 2006). Histologisch tritt im Ovidukt zwischen dem 7. und 21. Tag nach der Infektion eine Veränderung des Zylinderepithels mit einer lymphoplasmazytären Infiltration auf (MAYR 2006). Bei Legehennen tritt ein abgeflachtes Zylinderepithel der Eileiterschleimhaut auf, die Zilien sind teilweise verschwunden, weiterhin sind die tubulären Drüsen dilatiert und zahlreiche aktivierte Lymphfollikel in die Lamina propria eingelagert (WOERNLE und HAFEZ 1992).

Aufgrund des hohen Durchseuchungsgrades wird in Deutschland ein systematisches Immunisierungsprogramm durchgeführt. Eine Grundimmunisierung gegen *IB* erfolgt als Massenimpfung mit einem vermehrungsfähigen Impfvirus durch Spray- oder Aerosolverfahren bei Küken (dritte Lebenswoche) oder Junghennen, bei Legehennen in der Regel als Trinkwasservakzinierung. Etwa 12 Wochen nach der Grundimmunisierung führt die Zweitimpfung mit einer inaktivierten Vakzine zu einer guten Boosterung des Impfschutzes

2. LITERATURÜBERSICHT

(WOERNLE und HAFEZ 1992). Sowohl der Hämagglutinationshemmungstest (HAH-Test) als auch der indirekte Enzyme Linked Immunsorbent Assay (ELISA) sind als empfindliche Nachweisverfahren zur Feststellung des Antikörperspiegels nach Impfungen geeignet (WOERNLE und HAFEZ 1992).

2.4.1.4 Newcastle Disease

Die Newcastle Disease (*ND*) oder atypische Geflügelpest ist eine hochkontagiöse Allgemeininfektion, die unter natürlichen Bedingungen vor allem bei Hühnervögeln zu schweren Verlusten führt. Die Erkrankung ist anzeigepflichtig. Die Krankheit ist nach Richtlinie 92/66 EWG eine durch den Paramyxovirusstamm 1 bedingte Geflügelinfektionskrankheit mit einem intrazerebralen Pathogenitätsindex (*ICPI*) von über 0,7. Das *ND*-Virus hat eine relativ hohe Tenazität. In verseuchten Ställen bleibt es je nach Umgebungstemperatur 30 – 35 Tage infektiös, durch Eintrocknung kann die Infektiosität über Jahre konserviert werden (MAYR 2006). Die einzelnen Virusstämme variieren stark in der Virulenz. Unterschieden werden lentogene (schwach bis avirulente), mesogene (mittelgradig virulente) und velogene (stark virulente) Stämme. Die Übertragung des *ND*-Virus erfolgt aerogen und direkt durch Kontakt im Stall, auf Märkten oder Transporten. Für die Verbreitung der Seuche spielt die indirekte Übertragung über den Handel mit lebendem und geschlachtetem Geflügel eine dominierende Rolle, die epidemiologische Bedeutung lebender Vektoren ist gering. Als Überträger aus dem Naturherd kommen Wildvögel und Hühnermilben in Betracht, die als Erregerreservoir oft Ausgangspunkt von Epidemien sind (MAYR 2006).

Klinisch zeigt der velogene Verlauf nach KALETA (1992) eine akute, letal verlaufende Infektion aller Alters- und Nutzungsrichtungen des Huhnes, oft ohne vorher wahrnehmbare klinische Symptome. Die Legeleistung geht drastisch zurück, die Eischalen sind dünn bis fehlend, das Eiklar wässrig. Subakut stellen sich unter anderem hochgradige Apathie, sistierende Futter- und Wasseraufnahme, Atemnot und hohes Fieber bis 44°C ein. Ab der zweiten Woche nach der Infektion zeigen die überlebenden Hühner zentralnervöse Symptome. Der mesogene Verlauf (KALETA 1992) äußert sich in der ersten Krankheitsphase unspezifisch in einem Rückgang der Futteraufnahme und teilweise respiratorischen Symptomen, eventuell grünlich-dünnem Kot (LANCESTER 1966). Die Legeleistung sinkt und die Eier haben Form- und Farbfehler, die Schale ist dünn und kann fehlen (KALETA 1992). Die innere Eiqualität ist ebenfalls vermindert, neben dünnflüssigem Eiklar mit Luftblasen findet sich ein oft asymmetrisch liegendes Dotter (KALETA 1992). Nach etwa zwei Wochen treten zentralnervöse Symptome auf. Der lentogene Verlauf zeigt nur bei Hühnerküken respiratorische Symptome, bei

2. LITERATURÜBERSICHT

Legehennen können Futteraufnahme und Legetätigkeit kurzfristig rückläufig sein (KALETA 1992).

Pathologisch unterliegen die makroskopisch erkennbaren Veränderungen an den Organen starken verlaufsabhängigen, individuellen und herdenabhängigen Schwankungen (KALETA 1992). Bei keiner Verlaufsform und keiner Wirtschaftsgeflügelart sind regelmäßige pathognomonische Veränderungen festzustellen. Es werden verschiedene Manifestationen der Erkrankung, unter anderem im Darm, der Lunge und im ZNS beobachtet. Im perakuten Fall kann der Sektionsbefund negativ sein (KALETA 1992). Akut treten Befunde auf, die einen Hinweis auf das Vorliegen einer akuten septikämischen Krankheit geben können, zum Beispiel Ödeme, Petechien und Ekchymosen im Larynx, Trachea, Ösophagus und Drüsenmagen, sowie lokalisierte Hämorrhagien in Duodenum, Blind- und Enddärmen (RANDALL 1985). Beim lentogenen und asymptomatischen Verlauf finden sich nahezu keine diagnostisch verwertbaren Organveränderungen.

Die *ND* unterliegt in Deutschland der staatlichen Tierseuchenbekämpfung, eine Vakzinierung aller Hühner- und Truthühnerbestände ist vorgeschrieben. Es stehen Impfstoffe aus inaktivierten Erregern und Lebendvakzinen zur Verfügung. Für Lebendvakzine eignen sich lentogene Stämme mit einem neuropathischen Index von unter 0,2 (MAYR 2006). Diese verursachen keinen Abfall der Legeleistung, induzieren aber eine gute Immunität für zwei bis sechs Monate (MAYR 2006). Die Erstimpfung erfolgt in der Regel ab dem vierten Lebenstag per Aerosol, die Folgeimpfungen erfolgen per Trinkwasser. Inaktivatvakzine sind ebenfalls kommerziell erhältlich. Mit Lebendimpfstoff geimpfte Tiere können bei einer Infektion 40 Tage lang infektiöse Viruspartikel ausscheiden (KALETA 1992). Nach Infektion oder Impfung lassen sich verschiedene Antikörper mittel kommerziell erhältlicher Verfahren nachweisen. Zwischen dem Titer der Hämagglutinationshemmungs-Antikörper und dem Schutz vor der klinischen Erkrankung besteht eine gewisse Parallelität, er ist daher ein wichtiger Nachweisfaktor in der serologischen Kontrolle des Impferfolgs (KALETA und WERNER 2005).

2.4.1.5 Eileiter-Bauchfell-Entzündung

Die Eileiter-Bauchfell-Entzündung ist eine multifaktoriell verursachte Erkrankung, die ausschließlich beim legenden Geflügel vorkommt. Sie kann enzootisch auftreten und wird als die „Berufskrankheit“ der Legehennen bezeichnet (KLACZINSKI 1992). Als Hauptursache wirken Infektionserreger, die über die Kloake oder auf hämatogenem Weg den Eileiter besiedeln. Bei der mikrobiologischen Untersuchung findet man häufig einen polybakteriellen Mix von Streptokokken, Staphylokokken, Pasteurellen sowie diverse Enterobakterien wie

2. LITERATURÜBERSICHT

Escherichia coli, *Salmonella sp.* und *Proteus sp.* (KLACZINSKI 1992). Klinisch verläuft die Erkrankung nach KLACZINSKI (1992) von akut bis chronisch, bei der akuten Form fehlen meistens Krankheitserscheinungen und der Tod tritt innerhalb weniger Stunden ein. Die chronische Form führt zu einem Verenden nach etwa einer Woche Krankheitsdauer. Klinisch zeigen sich hier zunächst Inappetenz, Dyspnoe und eine grau-grüne bis schokoladenfarbene Diarrhoe, der Kamm wird blau und welk (RANDALL 1985). Die Tiere legen anfangs noch Eier mit Kalkauflagerungen, später Fließ- und Windeier. Es werden Anzeichen von Legenot, übelriechender Kloakenausfluß, eine Aszites sowie eine Pinguinstellung der Tiere beobachtet. Pathologisch zeigt sich das Bild einer chronischen Salpingitis und Peritonitis. Der Eileiter ist vergrößert und enthält ein Gemisch von Schalenteilen, Eidottern und Entzündungsprodukten wie Schichteiern (RANDALL 1985). Oft gelangen Eiteile in die Bauchhöhle, es kommt dann zur fibrinösen Eiperitonitis oder schlimmstenfalls zu einer jauchigen Peritonitis (RANDALL 1985).

Pathohistologisch findet man neben einem Zilienverlust der Eileiterschleimhaut lymphozytäre Infiltrationen, Anhäufungen von Plasmazellen und Monozyten sowie bindegewebige Umbauprozesse, im Epithel finden sich Zysten mit fibrinösem bis käsigem Inhalt (BOCK et al. 1986). Die Diagnose kann anhand des klinischen Bildes und der Sektion erfolgen. Prophylaktisch sind besonders die Hygieneverhältnisse in den Stallanlagen, besonders Legenester und Sitzstangen von Bedeutung (KLACZINSKI 1992).

2.4.2 Nicht infektiöse Ursachen für eine verminderte Eischalenqualität

Wichtigste nicht infektiöse Ursachen für eine Qualitätsminderung der Eischale sind Stoffwechselstörungen, besonders durch Kalzium-, Phosphat- und Natriumchlorid-Imbalanzen. Ebenfalls können Vitamin D₃-Mangel, Hitzestress, zu hohe Lichtintensität, Intoxikationen und viele andere Faktoren zu Schalenveränderungen führen (KLACZINSKI 1992). Im Folgenden soll besonders auf nutritive und metabolische Faktoren sowie auf Mykotoxikosen als Ursachen für eine verminderte Schalenstabilität eingegangen werden.

2.4.2.1 Nutritive und metabolische Faktoren

Vitaminmangelerkrankungen sind durch eine bedarfsgerechte Verabreichung von Mischfuttermitteln in der intensiven Geflügelhaltung seltener geworden. Vitamin D ist für das Wachstum, die Eiproduktion und die Gesundheit des Geflügels von großer Bedeutung. Es fördert die Resorption von Kalzium und Phosphat im Darm. Das Vitamin D₃ hat wegen der besseren Resorption im Darm bei Hühnern eine etwa 20fach größere Wirksamkeit als Vitamin D₂ und hat auch den Vorteil, dass eine gewisse Speicherung in der Leber und im Fettgewebe

2. LITERATURÜBERSICHT

erfolgt (KOLB 1992). Die Auswirkungen eines Mangels bei Legehennen sind vom Gehalt des Futters an Kalzium und Phosphat abhängig. Da bei Legehennen auch unabhängig von Vitamin D eine hohe Kalziumresorption erfolgt, wirkt sich ein Mangel erst nach längerer Zeit auf die Legetätigkeit aus. Die Differenz der Legeleistung betrug im Fütterungsversuch bei Legehennen ohne Vitamin D₃ beziehungsweise mit einer bedarfsgerechten Vitamin D₃-Zulage in der zwölften Woche nur rund 9%, in der zwanzigsten Woche schon 32% (TURK und MCGINNIS 1964). Klinisch zeigte sich bei einem chronischen Mangel an Vitamin D bei adulten Hühnern eine Osteomalazie (TURK und MCGINNIS 1964). Es traten Verkrümmungen des Brustbeins und der Skelettknochen auf, die Schnäbel wurden weich (TURK und MCGINNIS 1964). Die Verkalkung der Eischale nahm ab, die Schalendicke wurde geringer, die Legeleistung sank und der Anteil an angebrochenen oder schalenlosen Eier stieg (TURK und MCGINNIS 1964). Die Resorption von Kalzium und Phosphat ist von zahlreichen Faktoren, wie dem Gehalt und der Verfügbarkeit im Futter, dem Bedarf des Tieres, dem Ca:P Verhältnis und der Versorgung mit Vitamin D abhängig. Während der Legeperiode sind je Huhn etwa 2,5g verfügbares Kalzium und 0,7g verfügbares Phosphor am Tag notwendig (KOLB 1992). Eine ungenügende Versorgung mit Kalzium schränkt bei Legehennen die Eierproduktion ein, bei einem ausgeprägtem Mangel wird die Sekretion von FSH und LH binnen 24 Stunden reduziert, so dass nach etwa drei Tagen keine Eier mehr gelegt werden (ANTILLON et al. 1977, LUCK und SCANES 1979). Bei vergleichenden Diäten war bei kalziumarmer Ernährung von 1,5% Kalzium im Futter die Bildung der Kalkschale bereits nach 24 Stunden gestört (KESHAVARZ 1986). Eine Hyperkalzämie hemmt erstaunlicherweise ebenfalls die Kalzifizierung von Knochen und Eischalen. Ein permanent zu hoher Kalziumgehalt im Futter senkt die Produktion von Vitamin D und schränkt dadurch die Resorption von Kalzium und Phosphat ein. Folglich nimmt die Calcitoninsekretion zu, die Sekretion von Parathormon ab (OGURO 1981). Dadurch vermindert sich der Austausch von Kalzium und Phosphat zwischen Blut und Knochen, das Wachstum wird gehemmt und es kommt zu Knochenverkrümmungen (OGURO 1981), die Dicke der Eischale nimmt ebenfalls ab (KOLB 1979).

2.4.2.2 Mykotoxikosen

Mykotoxikosen sind häufige, akute bis chronische Erkrankungen, die nach oraler Aufnahme von toxisch wirkenden Stoffwechselprodukten verschiedener Pilzarten entstehen und nicht durch ein pilzbedingtes Infektionsgeschehen verursacht werden (KRAUTWALD-JUNGHANNS und HINZ 2005). Bedeutende Mykotoxine im Geflügelfutter stammen von Fusarienarten sowie Aspergillus- und Peniciliumarten. Die klinischen Symptome sind variabel und abhängig von Art, Menge und Dauer der Aufnahme sowie von der Empfindlichkeit des

2. LITERATURÜBERSICHT

aufnehmenden Tieres. Die Mykotoxine wirken sich schädlich auf Verdauungsorgane, Leber, Nieren und Fortpflanzungsorgane aus. Mykotoxine vermindern des Weiteren die natürliche Resistenz und beeinträchtigen das Immunsystem (PALYUSIK und BITAY 1992). Besonders relevante Toxine für Legeleistung und Schalenstabilität sind Aflatoxine, Ochratoxin A sowie Fusarientoxine. Die Aflatoxikose wird durch Aflatoxine verursacht, welche in erster Linie vom Pilz *Aspergillus flavus* produziert werden. Der experimentell ermittelte LD₅₀-Wert war bei Enten 0,36 mg/kg Körpermasse und bei Haushühnern 6,5 mg/kg Körpermasse (PALYUSIK und BITAY 1992). Legehennen sind damit relativ unempfindlich und neigen im Gegensatz zur Ente zu chronischen Krankheitsverläufen (PALYUSIK und BITAY 1992). Aflatoxine hemmen unter anderem die Kalziumresorption im Darmtrakt, in dem sie die Tätigkeit des Vitamins D₃ blockieren. Sie verschlechtern dadurch sowohl die Ossifikation als auch die Bildung der Kalkschale im Eihälter, die Folgen sind je nach Alter der Tiere Rachitis oder Osteomalazie beziehungsweise Dünnschaligkeit der Eier bei Legehennen (PALYUSIK und BITAY 1992). Pathologisch zeigen sich eine fettige Leberdegeneration, eine Follikelatresie im Eierstock, eine Knochenweiche sowie eine Atrophie von Thymus und Bursa fabricii (PALYUSIK und BITAY 1992). Ochratoxin A wird von den als Lagerpilzen bekannten Arten *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* und *Penicillium cyclopium* synthetisiert (DWIVEDI und BURNS 1986). Ochratoxin A hat eine sehr stark nephrotoxische Wirkung und wirkt hemmend auf Wachstum und Entwicklung. Neben zahlreichen pathologischen Wirkungsweisen wie Proteinsynthesehemmung, Immunsuppression und Neurotoxizität wirkt es sich über seinen nephrotoxischen Einfluß besonders negativ auf den Vitamin D₃-Metabolismus und damit negativ auf Ossifikation und Calcifikation der Eischale aus (DWIVEDI und BURNS 1986). Die Legeleistung sinkt, die Schalenqualität nimmt ab (KRAUTWALD-JUNGHANNS und HINZ 2005) und bei Weißlegern verfärbt sich die Eischale gelb (PALYUSIK und BITAY 1992). Klinisch zeigen sich unspezifische Symptome wie Kümern und Leistungsrückgang. Pathohistologisch verursacht die Ochratoxikose Entartungen der Zellen in den proximalen und distalen Nierenkanälchen sowie eine interstitielle Fibrose der Niere (PALYUSIK und BITAY 1992). Als Ursache für eine Salpingitis und Peritonitis, verbunden mit einer zystischen Entartung des Eileiters konnte auch Zearalenon, ein estrogen wirkendes Mykotoxin von Fusarium-Spezies im Futter nachgewiesen werden (BOCK et al. 1986). Therapieversuche bei Mykotoxikosen sind in der Regel erfolglos, bei Futterwechsel ist eine spontane Remission aufgrund der Regenerationsfähigkeiten von Niere und Leber möglich (KRAUTWALD-JUNGHANNS und HINZ 2005).

3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN

3.1 Anamnese

In einem Legehennenbestand mit Käfighaltung wurde ab der 30. Lebenswoche bei weißen und braunen Legehennen ein zu hoher Sekundaanteil von über 5% der Legeleistung festgestellt (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008). Die Eier zeigten vereinzelt eine transparente, dünne Schale am spitzen Eipol und waren in diesem Bereich sehr brüchig. Dieses Phänomen trat bereits in einer anderen Herde des Betriebs im Jahr 2007 auf (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008). Die weißen Eier wurden zum Zweck der Herstellung von gefärbten, gekochten „Ostereiern“ teilweise in der verarbeitenden Industrie verwendet. Sie wiesen beim Kochen besonders im Polbereich vermehrt Schalendefekte auf (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008). Sie konnten im Polbereich nur mangelhaft angefärbt werden, weswegen in der Packstelle eine intensivere Vorsortierung erfolgte (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008).

Eine frühere Herde des Betriebes war von KÖHN et al. (2009) serologisch und mittels PCR *MS*-positiv getestet worden. Das Auftreten der poldefekten Eier sollte im Rahmen dieser Dissertation näher untersucht werden.

3.2 Grunddaten zu den Legehennen

3.2.1 Aufzucht und Impfschema

Die Küken stammen von der Firma LSL-Rhein-Main Geflügelvermehrung GmbH. Sie wurden als Eintagsküken an die eigene Aufzucht des untersuchten Betriebes geliefert. Von der Rasse her sind die Hühner der Herden A, B, X und Y Lohmann selected Leghorn (LSL)-Hybriden und damit Weißleger. In Herde C wurden neben 24.000 LSL-Hybriden einen Monat nach der Einstallung zusätzlich 1.840 LB-Hybriden (Braunleger) eingestallt.

Die Küken und Junghennen wurden am ersten Lebenstag gegen die *Mareksche Krankheit (MD)*, in der Aufzucht mittels Spray-, Aerosol-, Trinkwasser- und Nadelimpfung gegen *Salmonella Enteritidis (SE)*, *Infektiöse Bronchitis (IB)*, *Infektiöse Bursitis (IBD)*, *Newcastle Disease (ND)*, *Infektiöse Laryngotracheitis (ILT)* und *Aviäre Enzephalomyelitis (AE)* geimpft. Die braunen Junghennen (Herde C) wurden bei der Ausstallung zusätzlich mit einer inaktivierten Adsorbatvakzine gegen das *Egg-drop-Syndrom (EDS)* geimpft. Die Herden wurden nicht gegen *Mycoplasma synoviae (MS)* und *Mycoplasma gallisepticum (MG)* geimpft.

3.2.2 Legephase und Impfschema

Die Einnistung in die Legekäfige erfolgte bei den Herden A, B, X und Y (je 25.840 Junghennen) in der 17. Lebenswoche im Dezember 2007, bei der Herde C wurden neben 24.000 LSL-Junghennen in der 17. Lebenswoche im Dezember 2007 zusätzlich 1.840 LB-Junghennen in der 17. Lebenswoche im Januar 2008 eingestallt. Sie werden in der Legeleistung der Herde C zugerechnet. Sie hatten Luftkontakt (circa 250 Meter Entfernung) zu den Herden A, B, X und Y sowie Luft-, Futter- und Kotkontakt zu den restlichen LSL-Hybriden der Herde C. Nach der Einnistung wurden die Tiere serologisch auf die Impftiter der Serumantikörper gegen *IBV* und *ND* untersucht. Die Titergruppen der Antikörper gegen *IBV* lagen bei den 50 untersuchten Tieren durchschnittlich bei 1,6 und damit im Vergleich zu anderen LSL-Farmen sehr niedrig (persönliche Mitteilung, VOLKER RANCK, Neukirchen, 2008). Die Titergruppen der Antikörper gegen *ND* lagen im Durchschnitt bei 3,1 und damit im Vergleich zu Tieren anderer vergleichbarer LSL-Farmen im Durchschnitt (persönliche Mitteilung, VOLKER RANCK, Neukirchen, 2008). Die Legehennen wurden über die gesamte Legeperiode im Abstand von circa 8 Wochen mittels Trinkwasserimpfung gegen *IBV* und *ND* geimpft. Den Legehennen wurde bei jeder *IBV*-Impfung Vitamin AD₃EC verabreicht. Zur Verbesserung der Eischalenbildung und Stressprophylaxe wurden den Herden A und C im April 2008 Vitamin C verabreicht. Im Juli 2008 wurde allen fünf Herden aufgrund des hohen Anteils der an Knochenweiche erkrankten Tiere sowie der schlechten Schalenstabilität Vitamin D₃ verabreicht.

3.2.3 Farmgesundheit

Die Untersuchungen auf Impfwürdigkeit erfolgten im Rahmen der regelmäßigen *IBV* und *ND*-Impfungen, die Tiergesundheit war jeweils ohne besonderen Befund, Verhalten, Leistung, Futtermittelverwertung und Wasserverbrauch waren normal (persönliche Mitteilung, VOLKER RANCK, Neukirchen, 2008). Die Stalltemperatur lag über die Legeperiode verteilt zwischen 15°C und 31°C, die Luftfeuchtigkeit zwischen 50% und 80% (persönliche Mitteilung, VOLKER RANCK, Neukirchen, 2008). Die kumulative Mortalität der Herden A, B, C, X und Y lag über die gesamte Legeperiode (Ende der 66. Lebenswoche) bei 4,71%, dies entspricht in etwa der durchschnittlichen Mortalität der LSL-Herden des Betriebes (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008). Die wöchentliche Mortalität lag zwischen 0 und 0,18%. Sie stieg über die gesamte Legeperiode leicht an. Die Mortalitätskurve ist als Anhang 5 angefügt.

3.3 Definition der Selektionskriterien „poldefektes Ei“ und „Polhenne/Polhühner“

Ein „poldefektes Ei“ ist ein Ei, an dessen spitzem Eipol ein deutlich abgegrenzter, rauer, ebener, durchscheinender Bereich sichtbar ist. Das Ei ist in diesem Bereich brüchig. Es erscheint beim Durchleuchten im Bereich der Eispitze transparenter als der Rest der Schale. Poldefekte Eier zeigen häufig Mikroläsionen im Bereich des spitzen Eipols sowie eine Minderpigmentierung der Schale im Falle von braunen Eiern, siehe Abbildung 1 und 2. Als selektierte „Polhenne“ beziehungsweise „Polhühner“ waren in der Untersuchung jene Legehennen definiert, die im Selektionskäfig nachweislich mindestens ein poldefektes Ei gelegt haben. Die Polhennen wurden nach dem Legen mindestens eines poldefekten Eies in kleine Gruppen á zwei bis vier Tiere neu zusammengeführt.

3.4 Eiabnahme, Untersuchung der Herden und Selektionstiere

3.4.1 Eiabnahme und Legeleistung der Herden

Die Legeleistung der fünf Herden wurde zwischen der 30. und 70. Lebenswoche im circa dreitägigen Abstand bewertet (n=117 Bewertungstage). Die Eiabnahme der untersuchten Herden erfolgte durch ein Eisammelsystem von Big Dutchman® (Vechta), bei dem die gelegten Eier mittels Eierbändern und Elevatoren auf einem Fließband zusammentreffen. Das Fließband verbindet die fünf Hallen der Herden mit der Farmpackstelle. Zunächst wurden die Eier auf den Kontrolltisch (Big Dutchman®, Vechta) befördert und adspektorisch sortiert. Hier erfolgte die manuelle Aussortierung der Sekundafractionen in verschmutzte Eier, poldefekte Eier und deformierte Eier auf handelsübliche 30er Papphorden sowie die Aussortierung des Fließ- und Bruchanteils zur Entsorgung. Das Standardprotokoll dieser Sortierung ist als Anhang 1 beigelegt. Die übrigen Eier wurden durch eine Big Dutchman®-Packanlage gewichtsunspezifisch auf handelsübliche 30er Papphorden (Eifrisch-Vermarktung, Lohne/Rießel) gestapelt. Die Eier wurden täglich mit Lastwagen in Rollcontainern zu der drei km entfernten zentralen Packstelle transportiert. Hier wurden die Eier mit einer Pack- und Sortieranlage (Big Dutchman®, Vechta) zunächst erneut auf ein Eierband aufgebracht. An einem verspiegelten Leuchttisch erfolgte die manuelle Aussortierung. Ein Rissdetektor (Big Dutchman®, Vechta) sortierte im Anschluss Eier mit stabilitätsrelevanten Schalenveränderungen aus. Die in der Packstelle aussortierten Eier werden im Folgenden als Packstellensekunda bezeichnet, die restlichen Eier entsprechen der Packstellenprima oder Ware der Güteklasse A. Sie wurden gestempelt, in Gewichtsklassen sortiert und in handelsübliche 6er-, 10er- und 12er Kleinverpackungen abgepackt (Eifrisch-Vermarktung, Lohne/Rießel). Der

aussortierte Sekundaanteil wurde auf handelsübliche 30er Papphorden (Eifrisch-Vermarktung, Lohne/Rießel) gestapelt und in Rollcontainern der Eiproduktindustrie zugeführt.

3.4.2 Eiabnahme und Legeleistung der Selektionstiere

Die Eierabnahme von den selektierten Polhennen erfolgte manuell am Legekäfig. Die Durchleuchtung der Eier wurde mit einer LED-Schierlampe (Siepmann GmbH, Herdecke) durchgeführt. Die absolute Legeleistung der selektierten Polhennen aus den Herden A (n=44 Polhennen, *LSL*), B (n=27 Polhennen, *LSL*) und C (n=25 Polhennen, *LB*) wurde an mindestens 21 aufeinanderfolgenden Tagen bewertet. Die selektierten Polhennen wurden nach der Untersuchung und Probenentnahme innerhalb ihrer Herden in abgetrennte Käfige von je vier Hühnern umgruppiert, die absolute Legeleistung dieser Käfige, aufgegliedert in A-Ware, Poleier und Brucheier, wurde gezählt. Die durchschnittliche absolute Legeleistung der Polhennen aus der Herde A wurde zwischen der 48. und 54. Lebenswoche (n=29 Tage) gemessen. Die durchschnittliche absolute Legeleistung der Polhennen aus der Herde B wurde zwischen der 54. und 57. Lebenswoche ermittelt (n=21 Tage), die durchschnittliche absolute Legeleistung der Polhennen aus Herde C wurde zwischen der 49. und 52. Lebenswoche (n=25 Tage) gemessen.

3.4.3 Einzeltierauswahl, klinische Untersuchung und Probenentnahme

Während der Aufzucht wurden 25 Junghennen in der 16. Lebenswoche (zufällig gewählt 5 Tiere aus jeder Herde) zur Untersuchung ausgewählt. In der Legeperiode wurden die Legehennen zwischen der 48. und der 54. Lebenswoche untersucht. Aus der Herde A konnten 64 Hühner selektiert und untersucht (34 Polhühner, 30 zufällig gewählte Kontrollhühner) werden, aus der Herde B 48 Hühner (27 Polhühner, 21 zufällig gewählte Kontrollhühner) und aus der Herde C 46 Hühner (25 Polhühner, 21 zufällig gewählte Kontrollhühner). Die Infektion mit *MS* und *MG* erfolgt in der Regel mittels Tröpfcheninfektion, prädisponierend wirken andere Erkrankungen oder Schädigungen des Respirationstrakts (HINZ und BEHR 2005). Aufgrund der unterschiedlichen Luftführung in der Halle erschien es sinnvoll, die selektierten Tiere auch nach ihrer ursprünglichen Lokalisation in der Halle zu untersuchen. Alle selektierten Legehennen und Kontrolltiere wurden demnach zusätzlich in die Gruppen „Zuluft“ (nahe an der Luftzuführung, Außengang), „Abluft“ (direkt im Mittelgang), sowie „Gang“ (zwischen Zuluft und Abluft) eingeordnet.

Die Hühner wurden zunächst einer klinischen Untersuchung nach SIEGMANN und NEUMANN (2005) unterzogen. Allen untersuchten Hühnern wurde bei der Untersuchung je 1,5ml Blut aus der *Vena axillaris* entnommen (in Safe-Lock Eppendorf Tubes, Eppendorf AG,

3. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Hamburg), darüber hinaus konnten von diesen Tieren Tracheal- und Kloakenabstriche für eine PCR entnommen werden.

3.4.3.1 Serologische Untersuchung der Selektionstiere

Das Serum wurde unmittelbar nach der Blutentnahme mittels einer Zentrifuge gewonnen und bei 5°C bis zur serologischen Untersuchung am nächsten Tag gelagert. Die serologischen Untersuchungen wurden im Veterinärlabor der Lohmann Tierzucht GmbH in Cuxhaven durchgeführt. Die Untersuchung des Serums erfolgte mittels FlockChek® (Idexx, Westbrook, Maine) nach dem Protokoll des Herstellers auf Antikörpertiter gegen *MS*, *MG*, *ND*, *IB*, *IBD* und *AE*. Extinktionswerte wurden bei 650nm gemessen. Antikörpertiter gegen *ILT*, *EDS* wurden mittels jeweils spezifischer Test-Kits (BioCheck, Gouda) entsprechend dem Protokoll des Herstellers detektiert. Extinktionswerte wurden bei 405nm untersucht.

3.4.3.2 PCR-Untersuchung auf *Mycoplasma synoviae* und *Mycoplasma gallisepticum*

Abstriche mittels einzeln steril verpackter trockener Watteträger (Applimed SA, Châtel-Saint-Denis) von Trachea und Kloake wurden von allen Tieren im Rahmen der klinischen Untersuchung entnommen. Die Untersuchung auf *MS* und *MG* wurde im Veterinärlabor der Lohmann Tierzucht GmbH in Cuxhaven durchgeführt. Der Erregernachweis wurde mit Tracheal- und Kloakenabstrichen bei 86 Polhühnern, 72 Legehennen und 25 Junghennen mittels PCR durchgeführt (n=158 Legehennen, 25 Junghennen). 49 Eier mit Poldefekten und 43 unauffällige Primaeier (Kontrollgruppe) von weißen und braunen Legehennen wurden auf *MS*-DNA untersucht. Aus jedem Ei wurden Proben mittels einzeln steril verpackter Watteträger (Applimed SA, Châtel-Saint-Denis) vom Eiklar entnommen. Aus den Eidottern wurde mittels steril verpackter Watteträger (Applimed SA, Châtel-Saint-Denis) von 20 poldefekten Eiern und 18 unauffälligen Primaeiern (Kontrollgruppe) Proben entnommen. Die Abstriche wurden zunächst stichprobenartig und dann als Pools mittels Real-time PCR auf *MS*-DNA und *MG*-DNA modifiziert nach STANLEY et al. (2001) untersucht. Die DNA-Extraktion erfolgte nach Herstellerangaben mit NucleoSpin Tissue® (Macherey-Nagel, Düren). Die Real-time PCR wurde mittels 7300 Real time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA) und Sybr® Green amplification kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) durchgeführt. Die Anzüchtung von *MS* erfolgte aus den Proben der Trachea, des Ovars und des Legedarms der fünf seziierten Polhennen in Frey-Bouillon nach EP 5.8 (heipha Dr. Müller GmbH) und Frey-Agar nach EP 5.8 (heipha Dr. Müller GmbH). Die Proben wurden in Reagenzgläser mit je 10ml Frey-Bouillon nach EP 5.8 (heipha Dr. Müller GmbH) gegeben und über 21 Tage aerob bei 37°C inkubiert. Die Flüssigkulturen wurden täglich auf Farbumschlag überprüft. Positive Kulturen wurden

3. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

mittels einzeln steril verpackter Watteträger (Applimed SA) für einen *MS*-DNA Nachweis mittels PCR beprobt.

3.4.3.3 Sektion von Selektionstieren

Die routinemäßige pathologisch-anatomische Untersuchung von selektierten oder anfallenden verendeten Legehennen erfolgte in einem 8-wöchigen Rhythmus über die Legeperiode verteilt in einem Sektionsraum in Neukirchen. Die Hühner wurden nach dem Untersuchungsgang von POTEL und SEFFNER (1970) seziiert.

Zusätzlich wurden drei selektierte Polhennen der Herde A und zwei selektierte Polhennen der Herde C in der 55. Lebenswoche euthanasiert und weitergehend untersucht. Die Tiere wurden zunächst mit Ketamin (Ketamin 100[®], Pharmanovo GmbH, Hannover, 100mg/kg Körpermasse intramuskulär)/ Diazepam (Faustan[®], Temmler Pharma GmbH & Co. KG, Marburg, 10mg/kg Körpermasse intramuskulär) anästhesiert und mittels Dekapitation euthanasiert. Die Hühner wurden einer pathologischen Untersuchung unterzogen (POTEL und SEFFNER 1970). Für eine pathologisch-histologische Untersuchung wurden Organproben der parenchymatösen Organe sowie des Genitaltraktes entnommen, in 4,5 prozentigem gepuffertem Formalin für 24 Stunden fixiert, anschließend in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin und Eosin gefärbte histologische Schnitte angefertigt. Aus Trachea, Ovar und Legedarm wurden Abstriche mittels einzeln steril verpackter Watteträger (Applimed SA, Châtel-Saint-Denis) für eine Untersuchung auf *MS* entnommen, in je 1,5ml Frey-Bouillon verbracht (Safe-Lock Eppendorf Tubes, Eppendorf AG, Hamburg) und bei +5°C bis zur Untersuchung am nächsten Tag gelagert.

3.4.3.4 Probenlagerung und Probenversand

Die Proben wurden nach der Entnahme nummeriert, das Blut zum Zweck der Serumgewinnung zentrifugiert und im Kühlschrank bei 5°C maximal einen Tag zwischengelagert. Die sterilen Wattestäbchen (Applimed SA[®], Châtel-Saint-Denis) für den Erregernachweis mittels PCR wurden nach der Entnahme in die Ausgangsverpackung zurückgesteckt und unbearbeitet durch die Firma DHL nach Cuxhaven versandt. Die Eier wurden für die Untersuchung der Qualitätsmerkmale nach dem Legen bei Raumtemperatur gelagert und in handelsüblichen Eierkartons á 10 Eiern und Eierpappen á 30 Eiern transportiert.

3.5 Güteigenschaften der Eier

3.5.1 Äußere Qualität

3.5.1.1 Gruppenauswahl und Analysestandards

Insgesamt wurden 270 Eier in neun Gruppen mit je 30 Eiern vergleichend auf ihre äußeren Qualitätsmerkmale untersucht. Die Untersuchung umfasste 120 braune Eier, davon 30 braune poldefekte Eier der Herde C (Gruppe Pol C), 30 hellbraune Eier von Polhennen der Herde C (Gruppe helle Pol C), 30 braune Kontrolleier der Herde C (Gruppe Kontrolle C) und 30 Kontrolleier einer ortsfremden vergleichbaren Herde (Gruppe Kontrolle Fremd). Die Kontrolleier wurden jeweils zufällig vom Eitransportband am Legekäfig entnommen. Die Untersuchung umfasste weiterhin 150 weiße Eier, davon 30 poldefekte Eier der Herde A (Gruppe Pol A), 30 poldefekte Eier der Herde B (Gruppe Pol B), 30 poldefekte Eier einer mit Antibiotika behandelten Gruppe der Herde A (Gruppe Pol Antibiotika) sowie 30 Kontrolleier der Herde Y (Gruppe Kontrolle Y) und 30 Kontrolleier der Herden A und B (Gruppe Kontrolle AB). Alle Eier wurden kolorimetrisch auf L-Wert, a-Wert und b-Wert untersucht, daraus errechnet sich der L-a-b-Wert. Von allen Eiern wurde das Gewicht, die Schalenstabilität und Schalendeformation ermittelt. Alle Eier wurden nach der Belastung bis zum Bruch aufgeschlagen und danach wurde die Eiklarhöhe gemessen. Aus Eiklarhöhe und Gewicht wurden die Haugh-Units ermittelt.

3.5.1.2 Schalenfarbe

Alle Eier wurden hinsichtlich ihrer Schalenfarbe nach dem CIE-Modell untersucht. Das von der Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) entwickelte Farbmodell basiert auf den Parametern Helligkeit (L-Wert), dem Farbsättigungsbereich a (a-Wert, Farbe grün zu rot) und b (b-Wert, Farbe blau zu gelb). Das quadratische, zweidimensionale visuelle Auswahlfeld definiert die Koordinaten des a-Wertes und des b-Wertes jeweils von -60 bis 60. Das vertikale visuelle Auswahlfeld definiert den L-Wert von 0 bis 100. Dieses Modell ist geräteunabhängig und umfasst das Farbspektrum des CYMK-Farbmodells (Cyan, Magenta, Yellow und Key nach DIN 2846-1) und des RGB-Farbmodells (Red, Green und Blue nach CIE).

3.5.1.3 Beschreibung der Messgeräte zur Bestimmung der äußeren Qualität der Eier

Hauptbestandteil zur Steuerung der Messgeräte war ein IBM-kompatibler Pentium IV PC, welcher mit einem TSS QCM Plus Datensammler (TSS - Technical Service and Supplies, York) verbunden war. Die Steuerung der Messgeräte erfolgte über das Softwarepaket Eggware

(TSS, York). Der Datensammler ermöglichte es, beliebige Messgeräte mit seriellen beziehungsweise analogen Datenausgängen zu verbinden. Als Messgeräte waren im Einsatz: eine digitale Waage Modell QCBi (TSS, York), ein Eiklarhöhenmessgerät Modell QCH (TSS, York), ein Eischalen-Farbdifferenzmeßgerät Typ Colorimeter CR-400 (Konica Minolta Sensing, Langenhagen) sowie ein Eischalenbruchfestigkeits- und Deformationsmessgerät vom Typ QC-SPA (TSS, York). Die Blut- und Fleischflecken wurden visuell nach dem Aufschlagen ausgezählt.

3.5.2 Innere Qualität

3.5.2.1 Gruppenauswahl und Analysekriterien

Poldefekte Eier und Kontrolleier wurden vergleichend einer Alterungsstudie über 29 Tage unterzogen. Die Eier wurden vom ersten Tag nach dem Legen an bei Raumtemperatur gelagert, ab dem 18. Tag nach dem Legen in der Kühlzelle bei +5°C gelagert. Die Untersuchung umfasste 208 weiße Eier der Herde A aus der 65. Lebenswoche. Anteilig darin waren 105 poldefekte Eier (Gruppe Pol) und 103 Kontrolleier (Gruppe Kontrolle). Je zwanzig Eier jeder Gruppe wurden am 1., 8., 15., 22. und 29. Tag nach dem Legen auf ihre innere Qualität untersucht. Als Gütemerkmale wurden die Eimasse, die feuchte und trockene Masse der Schale, die Luftkammerhöhe, die Eiklarhöhe, die Dotterbreite und Dotterhöhe, der pH-Wert des Eiklars sowie die Dotterfarbe gemessen. Rechnerisch ergaben sich daraus die Haugh-Unit, der Dotterindex sowie das anteilige Verhältnis der trockenen Eischale zum Gesamtgewicht des Eies. Das Standardprotokoll für die Untersuchung der inneren Qualität ist als Anhang 2 beigefügt.

3.5.2.2 Beschreibung der Messgeräte zur Bestimmung der inneren Qualität der Eier

Das Eigewicht und das feuchte Eischalengewicht wurden mittels einer digitalen Waage Typ Sartorius BP 410S (Sartorius, Göttingen) gemessen. Die Trocknung der feuchten Schalen erfolgte über 24 Stunden im Wärmeschrank Typ Binder FD 240 (Binder, Tuttlingen) bis zur Gewichtskonstanz bei 30°C. Die Luftkammerhöhe wurde mittels Durchleuchtung des Eies mit einer Schierlampe (Siepmann GmbH, Herdecke) und Ablesen an einem Luftkammermesser (Pfenningstorff, Berlin) bestimmt. Das Aufschlagen der Eier erfolgte über einer Glasplatte. Eiklar- und Dotterhöhe wurden mittels Einstechen eines spitzen Metallstichels und Ablesen an einem Nonius Präzisionsmessschieber (nach DIN 862) ermittelt, die Dotterbreite wurde durch Anhalten des Nonius Präzisionsmessschiebers (nach DIN 862) gemessen. Der pH-Wert des Eiklars wurde mit einem digitalen pH-Wertmesser Typ Symphony SB 70 P (VWR

3. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

International, West Chester PA) gemessen. Die Haugh-Unit konnte aus Masse und Eiklarhöhe berechnet werden, der Dotterindex aus Dotterhöhe und Dotterbreite (Formeln siehe Literaturteil). Die Dotterfarbe wurde mit einem Roche Dotterfarbfächer nach CIE 1931 (Roche Diagnostics, Mannheim) bestimmt.

3.5.3 Spezielle Untersuchungen

3.5.3.1 Rohnährstoffanalysen

Die Rohnährstoffanalysen wurden im Labor des Instituts für Lebensmittelhygiene der veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig durchgeführt. Aus den Proben zur Untersuchung der inneren Qualität wurden an jedem Untersuchungstag je zehn Eiklar- und Eidotterproben mittels einer Spezialpipette für hochvisköse Flüssigkeiten Typ Pipetman (Gilson, Middleton) mit aufgesetzten 2ml Einweg-Universalspitzen (Roth, Karlsruhe) für eine Rohprotein- und Rohfettbestimmung entnommen. Die Proben wurden in verschließbaren 10ml (Eidotter) beziehungsweise 50ml (Eiklar) Röhrchen vom Typ conical test tube (np nerbe plus, Villiers-le-Bel) bis zur Untersuchung bei -25°C gelagert. Es wurden je fünf Proben der Gruppe „Pol“ und fünf Proben der Gruppe „Kontrolle“ entnommen. Der Probenaufschluss des Eiklarproteins erfolgte mit der Blockaufschlusseinheit Kjeldatherm (Gerhardt, Königswinter). Die Destillation erfolgte mit integrierter Titration automatisch im Vapodest Typ 50S (Gerhardt, Königswinter). Die Analyse des Rohproteins erfolgte als Stickstoffbestimmung nach Kjeldal unter Multiplikation mit dem Faktor 6,25. Die Analyse erfolgte nach der amtlichen Methode für die Untersuchung von Lebensmitteln auf den Rohproteingehalt gemäß §64 LFGB, Band I (L), L05.00-15. Die Rohfettbestimmung wurde mittels Extraktion nach Soxhlet durchgeführt. Die Heißextraktion erfolgte mit einem Gemisch aus Cyclohexan und Ethanol (Volumenverhältnis 1:1) als Lösungsmittel automatisch im Soxtherm 406 (Gerhardt, Königswinter). Die Analyse erfolgte nach der amtlichen Methode für die Untersuchung von Lebensmitteln auf den Rohfettgehalt gemäß §64 LFGB, Band I (L), L05.00-14.

3.5.3.2 Differenzierung von Fettsäuren im Eidotter

Die Fettsäuredifferenzierung wurde im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig durchgeführt. Aus den Proben wurden an jedem Untersuchungstag je zehn Eidotterproben mittels einer Spezialpipette für hochvisköse Flüssigkeiten Typ Pipetman (Gilson, Middleton) mit aufgesetzten 2ml Einweg-Universalspitzen (Roth, Karlsruhe) für eine gaschromatographische Fettsäuredifferenzierung entnommen. Die

3. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Proben wurden in verschließbaren 10ml Röhrchen vom Typ conical test tube (np nerbe plus, Villiers-le-Bel) bis zur Untersuchung am selben Tag bei 5°C gelagert. Es wurden je fünf Proben der Gruppe „Pol“ und fünf Proben der Gruppe „Kontrolle“ entnommen, die Proben vom ersten und 15. Tag nach dem Legen wurden analysiert. Das Eidotter musste zur besseren Verarbeitung und Lagerung unter Verwendung von Dounce-Homogenisatoren (Kleinfeld Labortechnik, Gehrden) homogenisiert und mit Kochsalzlösung einer Konzentration von 0,9% im Verhältnis von 1:10 verdünnt werden. Daraufhin erfolgte eine portionsweise Abfüllung in Kryogefäße (Greiner Bio One, Solingen). Diese Proben wurden bis zu Ihrer Verwendung bei -25°C gelagert. Die Lipide aus 0,8ml Eidotterhomogenat wurden durch Zugabe von 1ml Chloroform und 2ml Methanol (mit 0,2% Butylhydroxytoluol als Antioxidans) extrahiert. Die Phasentrennung erfolgte mit 1ml destilliertem Wasser. Nach 60 Sekunden im Schüttler S421 (VEB MLW Laborgeräte, Ilmenau) und 10 Minuten Zentrifugation (Labofuge 400R bei 3112g, Heraeus, Hanau) wurde die untere Phase mit einer Präzisionspritze Serie 600 nach Hamilton (Medchrom, Flörsheim-Dalsheim) abgenommen. Danach erfolgte das Eindampfen des Extrakts unter Stickstoff. Der Rückstand wurde zur Umesterung mit 500µl methanolischer Salzsäure, 250µl n-Hexan und 500µl Interner Standardlösung (IS) versetzt und mit dem Schüttler S421 (VEB MLW Laborgeräte, Ilmenau) 60 Sekunden lang geschüttelt und so vollständig vermischt. Für den internen Standard wurden 0,8mg L- α -Phosphatidylcholin-C:17 (Matreya, Pennsylvania) in 1ml Methanol gelöst, dem 0,2% Butylhydroxytoluol als Antioxidans zugesetzt waren. Für den Umesterungsprozess wurden die Proben in Glasröhrchen in ein 80°C warmes Wasserbad gesetzt. Die auf Raumtemperatur abgekühlten Proben wurden mit 500µl n-Hexan zur Extraktion und 1ml destilliertem Wasser zur Phasentrennung versetzt. Anschließendes Schütteln (S421, VEB MLW Laborgeräte Ilmenau) und 10-minütiges Zentrifugieren bei 3112g (Labofuge 400R, HERAEUS GmbH) ließen eine Überstand von 500µl entstehen, der mit der Präzisionspritze nach Hamilton (Medchrom, Flörsheim-Dalsheim) in Gaschromatographie-Messgläschen überführt wurde. Die Messröhrchen wurden bis zur Messung bei -25°C aufbewahrt. Die Messung und Quantifizierung der Fettsäuremethylester erfolgte am Gaschromatographen CP 3800 (Varian, Darmstadt) unter folgenden Bedingungen:

Säule: Omegawax TM 320 (30m x 0,32mm Durchmesser, 0,25µm Film)

Injektion: 250°C, 1µl Probe im Sandwich-Verfahren (Luft-Probe-Luft)

Trägergas: Helium; 1,5ml pro Minute

Ofentemperatur: 200°C

Detektion: Flammenionisationsdetektor bei 250°C

Make-up-Gas: Stickstoff

3. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Die Chromatogramme wurden mit dem Programm Star 5.0[®] (Varian, Darmstadt) unter Verwendung der internen Standardlösung (=IS) als Referenzwert aufgezeichnet und ausgewertet. Unter Nutzung des FIM-FAME 6 Mix (enthält 95% n-Heptan, 5% variable Fettsäuremethylester, Matreya, Pleasant Gap) als Responsefaktor konnten die einzelnen Fettsäuren nach der Methode von SEIDEL (2004) identifiziert werden. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Star 5.0[®] von (Varian, Darmstadt) nach der Methode von SEIDEL (2004). C17:0 diente als Standardpeak. Anhand der Peakflächen konnte unter Zuhilfenahme des Peaks der internen Standardlösung und der Response-Faktoren nach der Integration über das Computerprogramm die Konzentration der Fettsäuremethylester pro Probe ermittelt werden. Dabei wurde automatisch der prozentuale Anteil der einzelnen Fettsäuren am Gesamtgehalt errechnet, um einen besseren Vergleich zwischen den Versuchsreihen zu haben.

3.5.3.3 Gelelektrophorese der Eischalenmatrixproteine

Die chemischen Versuche zur Bestimmung der Eischalenmatrixproteine wurden im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig durchgeführt. Die Bestimmung der Molekularmassebanden der Eischalenmatrixproteine erfolgte stichprobenartig aus den Proben der Untersuchungen auf innere Qualität vom ersten und 15. Tag nach dem Legen. Es wurden je Untersuchungstag acht Eier untersucht, davon vier poldefekte Eier und vier Kontrolleier.

Die Schalen wurden zunächst mit isotoner Natriumchloridlösung gewaschen. Die innere Membran wurde per Hand entfernt. Die Eischalen wurden dann mit Mörser und Pistill in flüssigem Stickstoff pulverisiert. Die Demineralisierung erfolgte nach PANHELEUX et al. (2000) mit je 5ml 20%iger Essigsäure unter konstantem Schütteln über Nacht (Schüttler S421, VEB MLW Laborgeräte Ilmenau).

Die quantitative Proteinbestimmung erfolgte nach BRADFORD (1976) mit dem Protein Assay der Firma Bio-Rad (München) nach Herstellerangaben. Die Extraktion der Schalenproteine wurde nach dem Protokoll von PANHELEUX et al. (2000) durchgeführt (Anhang 3). Die Proben wurden nach PANHELEUX et al. (2000) auf 80-120µg/ml aufkonzentriert.

Zur colorimetrischen Bestimmung der Proteinkonzentration wurde Roti-Quant Reagenz (Roth, Karlsruhe) verwendet. Die photometrischen Messungen dazu erfolgten mit dem Victor-Lumineszenzzähler (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA) bei 595nm mit Hilfe des Computerprogramms WorkOut 2.5 Data Analysis Software (Perkin-Elmer, Waltham, MA). Die Auftrennung der Proteine in ihre Molekulargewichte mittels diskontinuierlicher SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (6% Sammelgel, 12% Trenngel) erfolgte nach LÄMMLI (1970). Die Proteine wurden 30 Minuten bei 50V gesammelt und 60 Minuten bei 100V

aufgetrennt. Im Anschluss an die Elektrophorese wurden die Gele nach Herstellerangaben für 30 Minuten mit Coomassie-Brilliant-Blau (Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) unter Schütteln (Schüttler S421, VEB MLW Laborgeräte Ilmenau) gefärbt. Die Gele wurden danach je 3x30 Minuten unter Schütteln (Schüttler S421, VEB MLW Laborgeräte Ilmenau) mit destilliertem Wasser entfärbt. Die photometrischen Messungen dazu erfolgten nach Herstellerangaben mit dem Gene-Genius-Fluoreszenzmarker (Bio-Imagine-System) der Firma Syngene (Cambridge, UK). Die Daten wurden mit Hilfe des Computerprogramms GenTools (Syngene, Cambridge, UK) ausgewertet.

3.6 Ultrastrukturelle Untersuchung der Eischalen mittels REM

3.6.1 Gruppenauswahl und Analysekriterien

Die ultrastrukturelle Untersuchung der Eischalen wurde im Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Leipzig durchgeführt. In der 65. Lebenswoche wurden aus der beobachteten Herde A zufällig zwei makroskopisch unauffällige Eier der Handelsklasse A sowie zwei poldefekte Eier entnommen, präpariert und vergleichend untersucht. Die Untersuchung umfasste die ultrastrukturelle Analyse der Bruchflächen der Schalen, sowie deren Außen- und Innenseiten. Kriterien waren hierbei die Dicke der Kalkschale an drei Stellen, die Dicke der Schalenmembran, die Erkennbarkeit der Schichtung der Eischale, die Beschreibung der einzelnen Schichten, genauer der die Beschreibung der Mammillarkörper, Palisadenschicht und Vertikalschicht sowie der Erhalt einer geschlossenen Kutikula. Das Standardprotokoll dieser Untersuchung ist in Anhang 4 beigefügt.

3.6.2 Präparation der Proben

Die Eier wurden zunächst aufgeschlagen. Aus der Region des Eipols wurde ein 2cm x 1cm breiter, jeweils an der Stelle des Übergangs vom transparenten in den normalen Bereich liegender Streifen entnommen. Die inneren Membranen wurden am Ei belassen. Die Proben wurden zunächst bei Raumtemperatur getrocknet, erneut in der Mitte gebrochen und mit Hilfe von doppelseitigem adhäsiven Kohlenstoff-Tape senkrecht stehend auf Probenträger (stubs) montiert. Zur besseren Fixierung und Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit wurden die Eischalen im Kontaktbereich zum stub zusätzlich mit Leitsilber eingefasst. Anschließend erfolgte für 24 Stunden eine Vakuumtrocknung bei 5×10^{-3} mbar. Danach wurden die Proben in einer Beschichtungsanlage (MED 020, Bal-Tec) in einem Argonplasma (40mA) bei $2,5 \times 10^{-2}$ mbar und einem Target-Probenabstand von 50mm für 60 Sekunden mit Gold-Iridium (90/10) beschichtet. Bis zur REM-Untersuchung verblieben die Probenträger entweder in der

Beschichtungsanlage oder wurden in dicht verschlossenen Behältern auf Silika-Perlen gelagert. Die REM-Untersuchung erfolgte in einem LEO 1430 vp (Zeiss NTS, Oberkochen).

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS 11.5 (SPSS GmbH Software, München). Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Es wurden die Medianwerte und 1. bis 3. Quartile berechnet. Die grafische Darstellung im Ergebnisteil erfolgte zum überwiegenden Teil mit Box-Plots. Die Prüfung der Daten auf statistisch signifikante Unterschiede wurde auf Grund der Abweichungen von der Normalverteilung mit dem nichtparametrischen U-Test nach Mann-Whitney durchgeführt. Als statistisch signifikant wurde $p < 0,05$ interpretiert. Die Prüfung auf Zusammenhang erfolgte mittels der Rangkorrelation nach Spearman. Die Positiv- und Negativbefunde in der PCR wurden mit dem exakten Test nach Fisher und dem χ^2 -Test nach Pearson geprüft.

4 ERGEBNISSE

4.1.1 Allgemeine Sektionsergebnisse

Die routinemäßige pathologisch-anatomische Untersuchung von selektierten oder anfallenden verendeten Legehennen erfolgte in einem circa vierwöchigen Rhythmus über die Legeperiode verteilt. Bei jeder Sektion wurden mindestens 3 Hühner jeder Herde seziert, insgesamt wurden 242 Hühner seziert. Es gab in den einzelnen Herden keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich Mortalität oder Häufigkeit des Auftretens verschiedener Sektionsbefunde, diese werden daher für den Gesamtbestand erläutert. Als häufigster Befund trat über die gesamte Legeperiode bei 85 seziierten Legehennen Kannibalismus auf, besonders häufig zwischen der 25. und 45. Lebenswoche. Als zweithäufigster Befund war bei 71 seziierten Legehennen Legenot festzustellen, oft in Zusammenhang mit Legedarmvorfall und Kannibalismus. Weniger häufig waren Kachexie (15 seziierte Legehennen), Knochenweiche (13 seziierte Legehennen), Nephropathie und Leberruptur nach Fettlebersyndrom (beide je acht seziierte Legehennen). Seltene Sektionsbefunde waren Festlieger (sechs seziierte Legehennen), Serositis (vier seziierte Legehennen), Gicht (zwei seziierte Legehennen), Technopathien (zwei seziierte Legehennen) sowie (Blinddarm-)Kokzidiose (eine seziierte Legehennen). Eine Übersicht der Sektionsbefunde stellt Anhang 6 dar.

4.1.2 Spezielle Sektionsergebnisse

Fünf Legehennen wurden einer speziellen pathologisch-anatomischen und pathologisch-histologischen Untersuchung unterzogen. Die drei *LSL*-Hybriden waren 58 Wochen alt, die *LB*-Hybriden waren 54 Wochen alt. Der Ernährungszustand der Hühner war sehr gut. Bei allen Hühnern wurden Veränderungen am Legedarm festgestellt. Makroskopisch zeigten zwei der Hennen eine circa 5x5mm große Eileiterzyste mit flüssigem, flockig-weißem Inhalt. Eine Henne zeigte eine circa 2x8mm große, weiß-speckige Umfangsvermehrung am Ovar. Eine der Hennen hatte eine Eileiterbauchfellentzündung, mit Schichteibildung, eine andere Henne belegte Luftsäcke. Pathologisch-histologisch zeigte sich bei allen fünf Hühnern das Bild einer katarrhalischen bis katarrhalisch-eitrigen Salpingitis. Das *BALT* (bronchial assoziiertes Lymphgewebe) war bei drei der fünf Hühner aktiviert, bei zwei dieser Hühner wurde eine katarrhalische Tracheitis festgestellt. Zwei der Hühner litten zudem an einer Dotterembolie. Die ausführlichen Sektionsbefunde der fünf Legehennen mit Ringnummern sind im Anhang 7 aufgelistet.

Für eine bakteriologische Untersuchung wurden den Legehennen je fünf sterile Schleimhauttupfer entnommen (je 1x Trachea und 4x Ovidukt), in sterilen Eppendorf-Röhrchen mit Frey-Medium transportiert. Die Proben wurden in Reagenzgläser mit je 10ml Frey-Bouillon nach EP 5.8 (heipha Dr. Müller GmbH) gegeben und über 21 Tage aerob bei 37°C inkubiert. Die Trachealtupfer waren in der Anzucht jeweils nicht auswertbar.

In den verschiedenen Abschnitten des Ovidukts (Legedarms) konnte aus 18 von 20 Schleimhauttupfern *Mycoplasma spp.* isoliert und angezüchtet werden. Die positiv umgeschlagenen Kulturen wurden mittels PCR auf *MS-DNA* untersucht, der Nachweis war jeweils positiv. Damit konnte bei allen fünf selektierten Hühnern *Mycoplasma synoviae* aus dem Ovidukt isoliert und angezüchtet werden.

4.2 Legeleistung

4.2.1 Legeleistung, Sekunda und poldefekte Eier der untersuchten Herden

Die Legeleistung der fünf Herden wurde zwischen der 30. und 70. Lebenswoche im dreitägigen Abstand bewertet (n=117 Bewertungstage). Alle Herden zeigten in diesem Zeitraum eine gute Legeleistung. Die durchschnittliche Legeleistung der einzelnen Herden je Anfangshenne lag im Untersuchungszeitraum zwischen 86,7±6,2% (Herde B) und 93,7±4,7% (Herde Y) und damit im Rahmen der *LSL*-Referenzherde (BUDDE et al. 2004) mit circa 96,4% in der 30. Lebenswoche bis 81,8% in der 70. Lebenswoche. Der Kurvenverlauf entspricht im Wesentlichen dem Sollwert der Referenzherde (Abbildung 8). Der Sekundaanteil an der Legeleistung lag über die Legeperiode im Durchschnitt zwischen 8,6±2,3% (Herde X) und 11±2,4% (Herde A) der Legeleistung und damit deutlich höher als der Referenzwert von 5% (Interner Standard, persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2008). Der Kurvenverlauf der Sekunda (Abbildung 9) zeigte einen zwischen 6 und 13% schwankenden, über die Legeperiode langsam ansteigenden Verlauf. Es zeigten sich drei stärkere Anstiege mit Höhepunkten je in der 38. und in der 46. Lebenswoche sowie 70. Lebenswoche (jahreszeitlich Anfang Mai, Ende Juni und Ende Dezember 2008). Bei den einzelnen Sekundafraktionen machten die verschmutzten Eier den größten Anteil aus. Der durchschnittliche Anteil der Schmutzeier an der Legeleistung lag zwischen 5,5±1,5% (Herde X) und 6,5 ±1,5 (Herde A). Der Kurvenverlauf (Abbildung 10) der verschmutzten Eier lag zwischen 5 und 9%. Er schwankte analog der Gesamtsekunda mit Höhepunkten in der 38., 46. und 70. Lebenswoche. Die zweitgrößte Sekundafraktion machte die Packstellensekunda aus. Der durchschnittliche Anteil an der Legeleistung betrug 3±1,1%. Sie wurde aufsummiert für die gesamten fünf Herden der Farm ermittelt und daher anteilig auf die Herden angerechnet. Der Kurvenverlauf

4 ERGEBNISSE

der Packstellensekunda (Abbildung 12) lag zwischen 2 und 5% und schwankte analog der Gesamtsekunda mit Höhepunkten in der 38., 46. und 70. Lebenswoche.

Die anteilig drittgrößte Sekundafraktion machten die poldefekten Eier aus. Der durchschnittliche Anteil an der Legeleistung variierte deutlich zwischen $1,6 \pm 0,4\%$ (Herde A), $1,1 \pm 0,4\%$ (Herde C), $0,9 \pm 0,4\%$ (Herde B) und den $0,2 \pm 0,1$ beziehungsweise $0,2\%$ bei den Herden X und Y (Abbildung 11). Der Kurvenverlauf der poldefekten Eier stieg in Herde A von anfänglich $0,8\%$ der Legeleistung bis zu einem Höhepunkt in der 46. Lebenswoche auf über 2% der Legeleistung an. Der Wert pendelte sich bis zur 70. Lebenswoche zwischen $1,5$ und 2% ein. Die Herde C zeigte einen über die gesamte Legeperiode steigenden Anteil poldefekter Eier. Der Wert stieg leicht schwankend von $0,5\%$ der Legeleistung in der 30. Lebenswoche auf $1,8\%$ in der 70. Lebenswoche. Es zeigten sich in Herde C drei stärkere Anstiege mit ihren Höhepunkten jeweils in der 34., 40. und 70. Lebenswoche.

Die Herde B zeigte ebenfalls einen über die gesamte Legeperiode steigenden Anteil poldefekter Eier. Der Wert stieg leicht schwankend von $0,5\%$ der Legeleistung in der 30. Lebenswoche auf $1,4\%$ in der 70. Lebenswoche. Es zeigten sich in Herde B vier stärkere Anstiege mit ihren Höhepunkten jeweils in der 34., 39., 43. und 70. Lebenswoche. Die Herden X und Y hatten einen bis zur 55. Lebenswoche konstanten Anteil poldefekter Eier von unter $0,2\%$ der Legeleistung. Er stieg dann bei beiden Herden bis zur 70. Lebenswoche auf über $0,5\%$ an. Eine tabellarische Übersicht über die Mittelwerte aller Legeleistungsfraktionen über die gesamte Legeperiode ist in Tabelle 1 aufgeführt. Die Bruch- und Fließeier wurden bei der Sortierung entsorgt und nicht der Legeleistung zugerechnet. Der Anteil an Bruch- und Fließeiern stieg bei allen Herden bis zur 63. Lebenswoche langsam auf über 1% der Legeleistung an. Ab diesem Zeitpunkt stieg die Kurve stärker bis zu einem Maximum von über $1,2\%$ im Vergleich zur Legeleistung in der 70. Lebenswoche an (Abbildung 11).

Tabelle 1: Mittelwerte der Legeleistungsfraktionen 30.-70. Lebenswoche

Herde	Legeleistung %	Sekunda %	Poldefekte Eier %	Schmutz %	Deformierte Eier %	Packstellen-Sekunda %
A	93,4 ($\pm 6,2$)	11 ($\pm 2,4$)	1,6 ($\pm 0,4$)	6,5 ($\pm 1,5$)	0,9 ($\pm 0,06$)	3 ($\pm 1,1$)
B	86,7 ($\pm 7,4$)	9,9 ($\pm 2,2$)	0,9 ($\pm 0,4$)	6,1 ($\pm 1,3$)	0,95 ($\pm 0,07$)	3 ($\pm 1,1$)
C	91,5 ($\pm 4,4$)	10 ($\pm 2,4$)	1,1 ($\pm 0,4$)	6,1 ($\pm 1,4$)	0,91 ($\pm 0,06$)	3 ($\pm 1,1$)
X	92,5 ($\pm 4,3$)	8,6 ($\pm 2,3$)	0,2 ($\pm 0,2$)	5,5 ($\pm 1,5$)	0,1 ($\pm 0,07$)	3 ($\pm 1,1$)
Y	93,7 ($\pm 4,7$)	8,8 ($\pm 2,4$)	0,2 ($\pm 0,1$)	5,7 ($\pm 1,6$)	0,08 ($\pm 0,06$)	3 ($\pm 1,1$)

(\pm Standardabweichung)

4 ERGEBNISSE

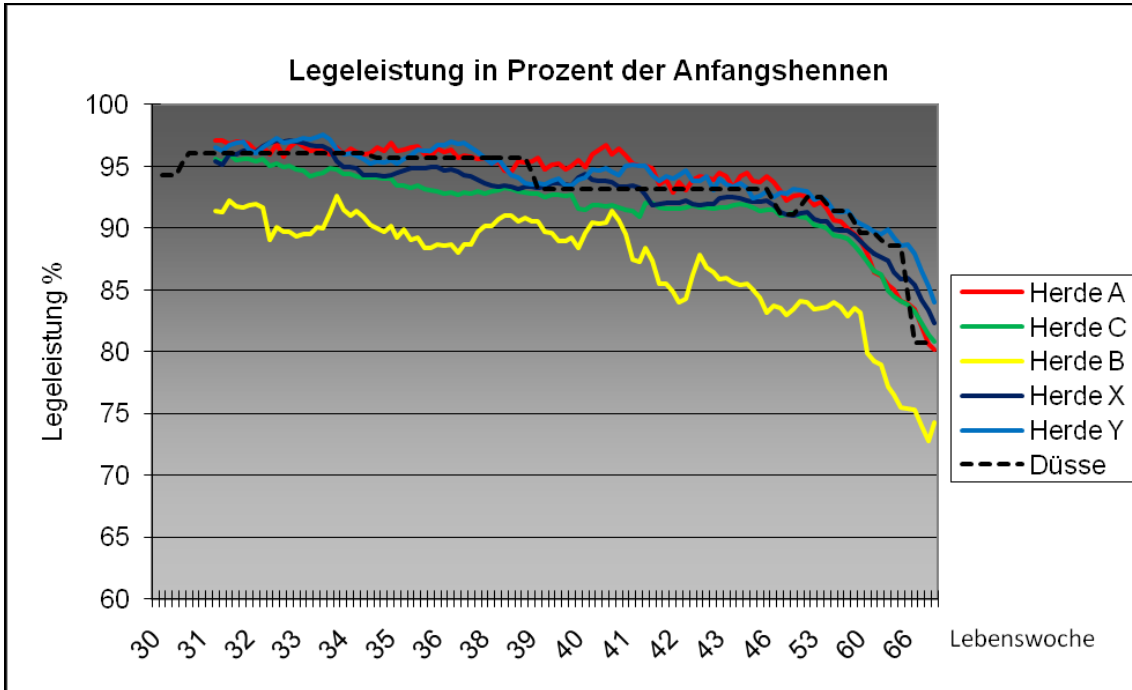


Abbildung 8: Legeleistung (in% der Anfangshennen)

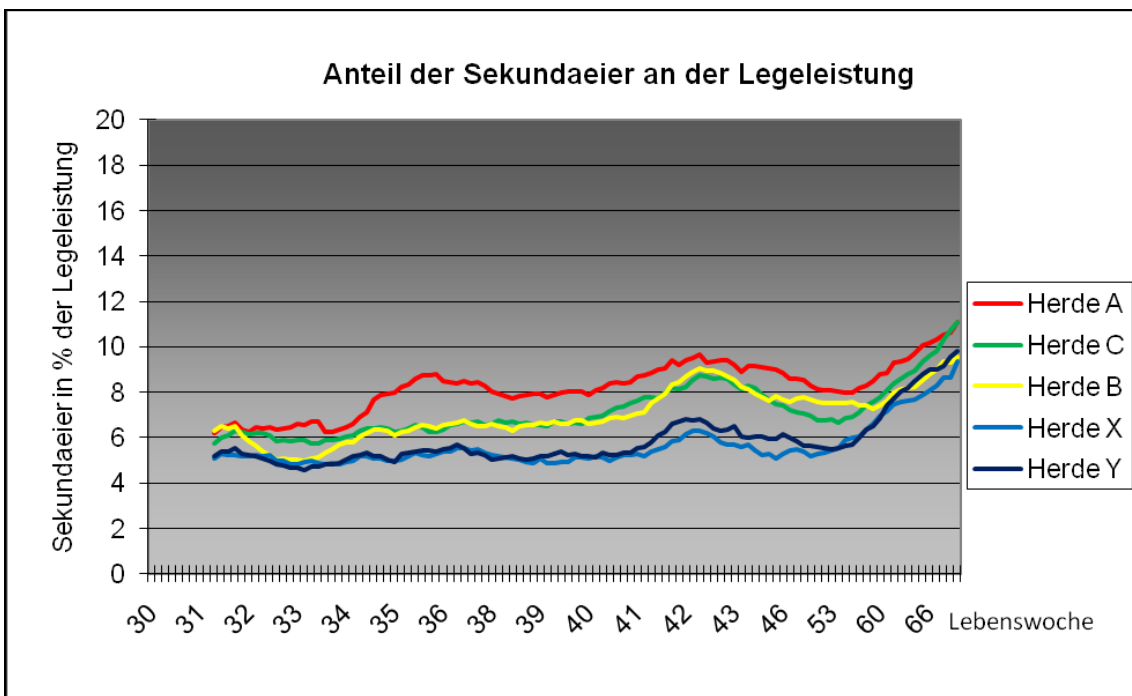


Abbildung 9: Anteil der Sekundaeier (Güteklasse B) an der Legeleistung

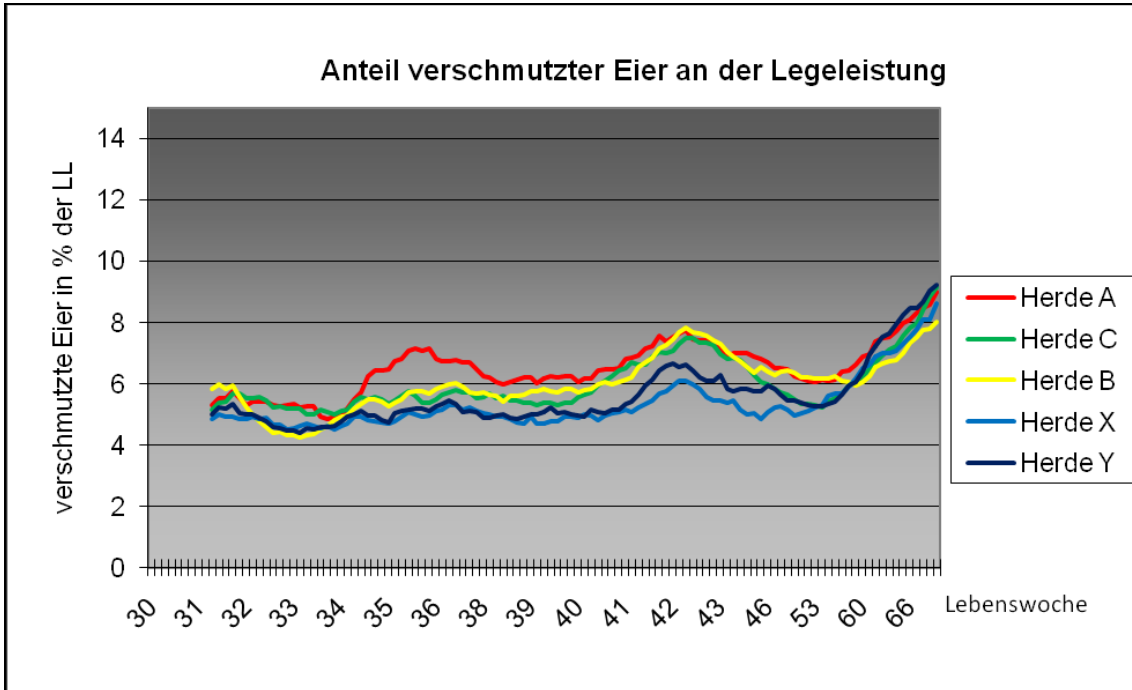


Abbildung 10: Anteil verschmutzter Eier an der Legeleistung (LL)

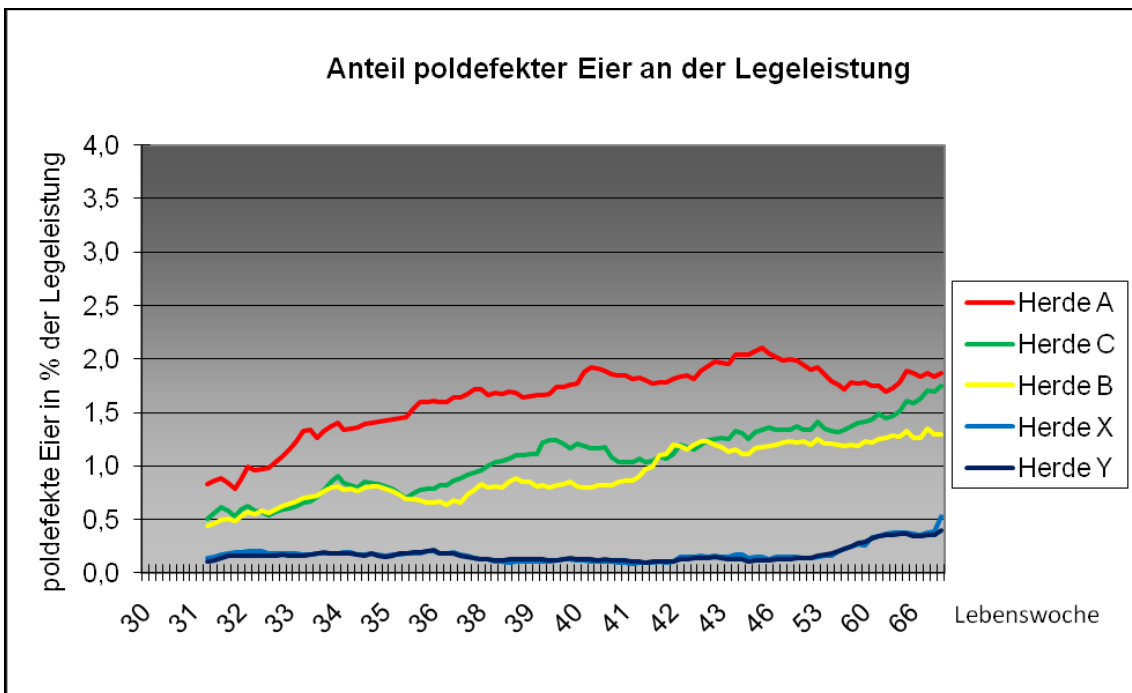


Abbildung 11: Anteil poldefekter Eier an der Legeleistung

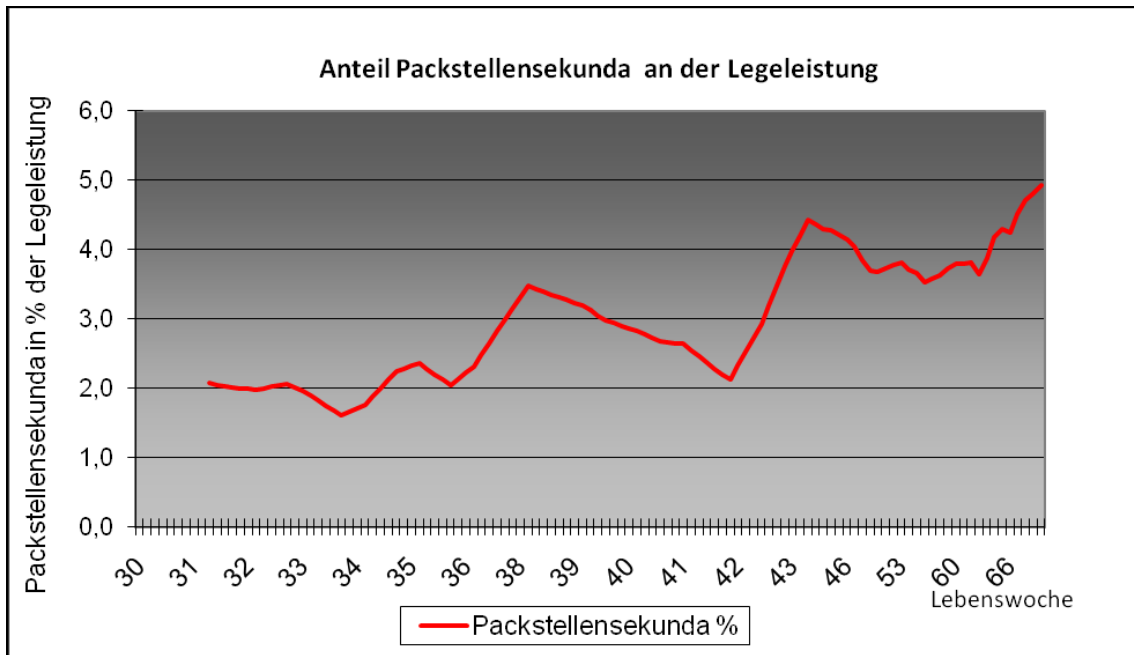


Abbildung 12: Anteil der Packstellensekunda an der Legeleistung

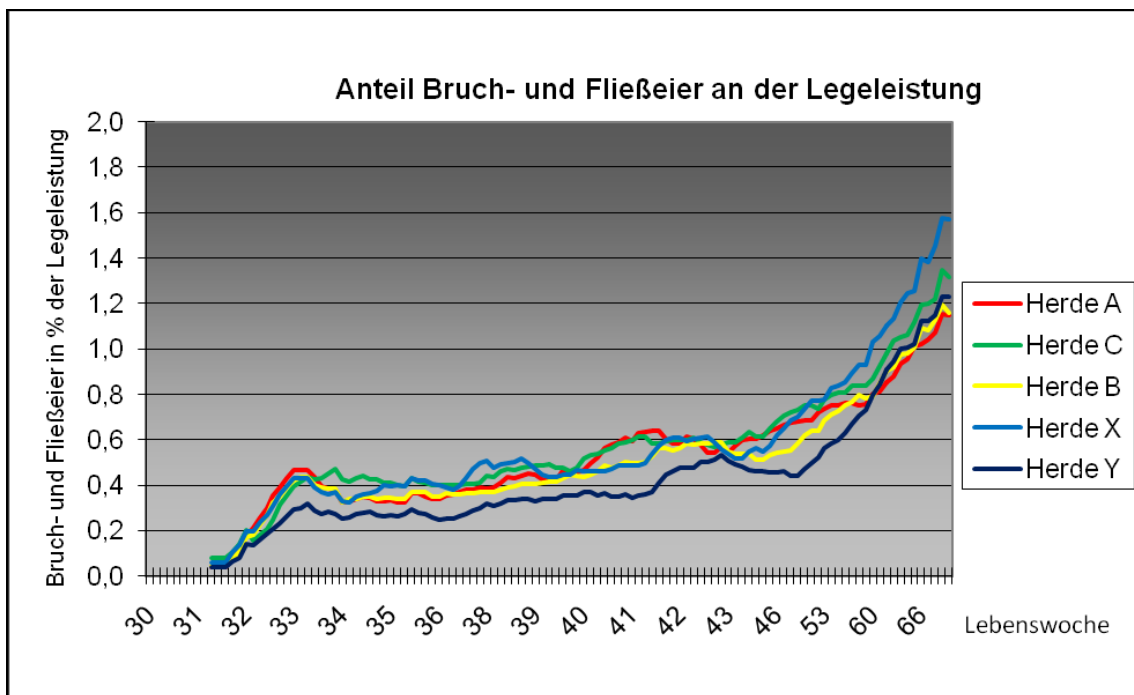


Abbildung 13: Anteil der Bruch- und Fließeier an der Legeleistung

4.2.2 Korrelationen der Legeleistungsfractionen

Es bestand eine hoch signifikante negative Korrelation zwischen der Lebenswoche und der Legeleistung ($Kor=-0,678$, $P=0,0001$). Es war eine hochsignifikante Korrelation ($Kor=0,83$, $P=0,0001$) zwischen Lebensalter und dem Auftreten von Bruch- und Fließeiern feststellbar. Es

gab eine hoch signifikante Korrelation (Kor=0,765, P=0,0001) zwischen der Größe der gesamten Sekundafraktion und der Lebenswoche. Drei der Einzelfractionen korrelierten weiterhin hochsignifikant mit der Lebenswoche: verschmutzte Eier (Kor=0,629, P=0,0001), Packstellensekunda (Kor=0,729, P=0,0001) und deformierte Eier (Kor=0,683, P=0,0001). Der Anteil poldefekter Eier korrelierte signifikant mit der Lebenswoche (Kor=0,298, P=0,0001), sowie hoch signifikant mit dem Schmutzeanteil (Kor=0,448, P=0,0001). Der Anteil poldefekter Eier korrelierte signifikant mit dem Brucheanteil (Kor=0,261, P=0,0001).

4.3 Legeleistung der selektierten Polhennen

Die absolute Legeleistung in der Gruppe „Selektion A“ lag mit 93±9,6% im Rahmen der LSL-Referenzherde (BUDDE et al. 2004) mit 92,9% im entsprechenden Lebensalter. Die Gruppe „Selektion B“ lag mit 68,8±14% deutlich unter dem Wert der Referenzherde. Die Gruppe „Selektion C“ lag mit 81,2±9,3% etwas unter der LB-Referenzherde (BUDDE et al. 2004) mit 91,1%. Die poldefekten Eier machten mit 60±13,6% (Selektion A), 46,4±21,6% (Selektion B) und 64,8±13,2% (Selektion C) den größten Anteil an der absoluten Legeleistung aus. Bei den braunen Selektionshennen (Selektion C) war innerhalb der Poleifraktion ein hoher Anteil an sehr hell pigmentierten poldefekten Eiern von 32,9±13Prozent der absoluten Legeleistung festzustellen. Die zweitgrößte Fraktion machten die Bruch- und Fließeier aus, der Anteil betrug 36,7±12,7% (Selektion A), 38,1±15,6% (Selektion B) und 27,4±10,7% (Selektion C). Der Anteil von Primaieiern (Handelsklasse A) an der absoluten Legeleistung war mit 3,3±3,5% (Selektion A), 15,6±11,5% (Selektion B) und 8,1±6,2% (Selektion C) gering.

Die selektierten Polhennen legten damit quantitativ (absolute Legeleistung) annähernd so viele Eier wie die gesamte Herde, allerdings fast keine Primaieier, sondern nur poldefekte Eier und Fließeier. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Legeleistung der selektierten Polhennen

	Selektion A	Selektion B	Selektion C
absolute Legeleistung (aLL)	93±9,6%	68,8±14%	81,2±9,3%
<u>Anteile an der Legeleistung</u>			
Güteklasse A (Prima)	3,3±3,5%	15,6±11,5%	8,1±6,2%
poldefekte Eier	60±13,6%	46,4±21,6%	31,9±19,7%
helle poldefekte Eier	-	-	32,9±13%
Bruch- und Fließeier	36,8±12,7%	38,1±15,6%	27,4±10,7%

(±Standardabweichung)

4.4 Serologische Untersuchungen

4.4.1 Serologische Untersuchung der Selektionstiere

In der serologischen Untersuchung auf Antikörper von Infektionserregern waren 12% der Junghennen während der Aufzucht positiv für *EDS*-Antikörper. *MS*-Antikörper waren bei 84% der Junghennen positiv und 48% der Jungtiere waren positiv für *MG*-Antikörper.

Alle untersuchten Legehennen waren stark positiv für *MS*-Antikörper, die Kontrollhühner zu 99%, die Polhühner waren alle positiv für *MS*-Antikörper. Die *MS*-Antikörpertiter waren bei den Polhühnern aller drei Herden signifikant höher ($P < 0,05$) als bei den Kontrollhühnern (Abbildung 14). Bei den Kontrolltieren waren die Herde A zu 27%, die Herde B zu 10% und die Herde C zu 81% positiv für *MG*-Antikörper. Die Polhühner reagierten zu 94% (Herde A), zu 63% (Herde B) und zu 100% (Herde C) positiv für *MG*-Antikörper. Die medianen Titer der *MG*-Antikörper waren bei den Polhühnern signifikant höher ($P < 0,05$) als bei den Kontrollhühnern.

Bei der serologischen Untersuchung auf Impfantikörper waren die Junghennen in der Aufzucht jeweils zu 100% positiv für *IBV*-, *IBD*- und *ND*-Antikörper, zu 88% positiv für *ILT*-Antikörper und zu 64% positiv für *AE*-Antikörper.

Bei den Legehennen waren alle Kontrollhühner positiv für *IBV*-Antikörper, die Polhühner waren mit signifikant niedrigeren Titern ($P < 0,05$) zu 95% positiv für *IBV*-Antikörper. Die Kontrollhühner waren zu 99% positiv für *ND*-Antikörper, die Polhühner waren alle positiv für *ND*-Antikörper, allerdings mit signifikant niedrigeren ($P < 0,05$) Antikörpertitern. Die ungeimpften Kontrollhühner der Herden A und B waren zu 16% positiv für *EDS*-Antikörper, die Kontrollhühner der Herde C (geimpft) zu 76%. Die Polhühner waren bei den Herden A und B auch zu 16% positiv auf *EDS*-Antikörper, die geimpfte Herde C war bei den Polhühnern zu 84% positiv für *EDS*-Antikörper. Der Unterschied zwischen Pol- und Kontrollgruppe war bei den *EDS*-Antikörpern nicht signifikant. Beide Gruppen waren zu 100% positiv für *IBD*-Antikörper, zu 97% (Kontrollhühner) und 98% (Polhühner) positiv für *AE*-Antikörper, zu 64% (Kontrollhühner) und 60% (Polhühner) positiv für *ILT*-Antikörper. Bei diesen Titern gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe. Die Boxplots der Antikörpertiter von *ND* und *IBV* sind im Anhang 8 einzeln aufgeführt.

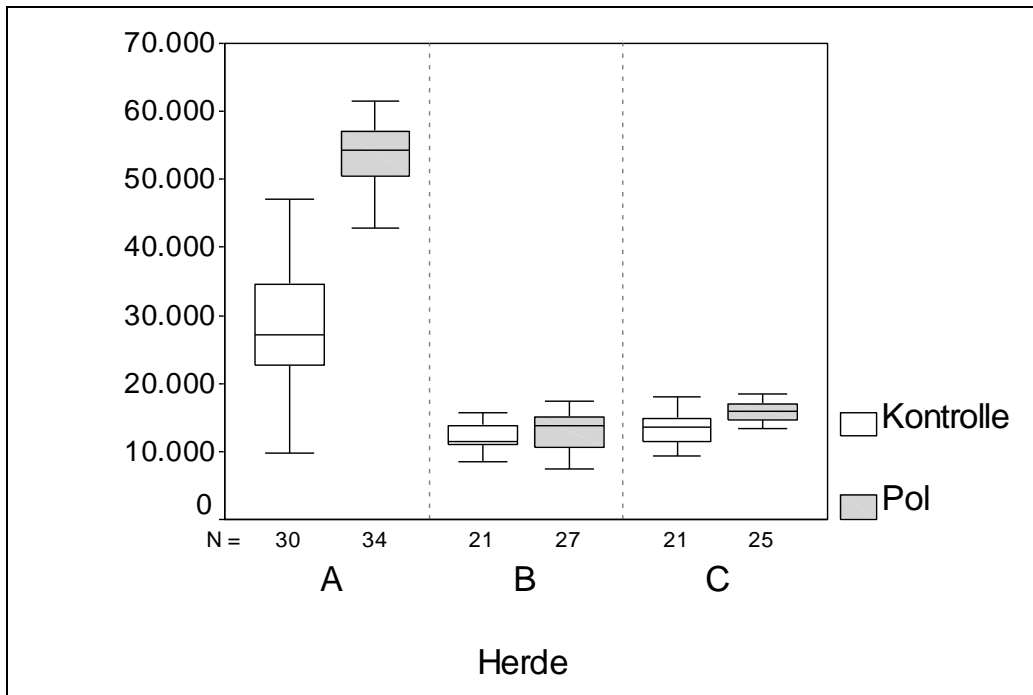


Abbildung 14: *MS*-Antikörpertiter der Selektionstiere im Vergleich zu Kontrolltieren

4.4.2 Korrelationen zwischen den signifikant verschiedenen Antikörpertitern

Bei den Selektionstieren aller Legehennen ($n=158$) zeigte sich vergleichend eine stark signifikante Korrelation zwischen den *MS*- und *MG* Antikörpertitern (Spearman-Rho=0,254; $P=0,001$). Je höher die *MS*-Antikörpertiter sind, umso höher werden demnach auch die *MG*-Antikörpertiter. Eine signifikante negative Korrelation zeigte sich zwischen den Antikörpertitern von *MS* und *IBV* (Spearman-Rho=-0,190; $P=0,017$). Die *ND*- und *IBV*-Antikörpertiter zeigen eine stark signifikante Korrelation zueinander (Spearman-Rho=0,429; $P=0,0001$). Es gab weder bei braunen noch bei den weißen Herden eine signifikante Korrelation zwischen *EDS*-Antikörpertitern und anderen Antikörpertitern.

4.4.3 *MS*-Antikörpertiter in Abhängigkeit zur Lokalisation der Hühner in der Halle

In Herde A ($n=64$ Hühner) waren die *MS*-Antikörpertiter der Gruppe „Abluft“ und „Gang“ signifikant höher ($P<0,05$) als die der Gruppe „Zuluft“ (mediane Titer: Abluft=48177, Gang=51945, Zuluft=31848). In Herde B ($n=48$ Hühner) waren die *MS*-Antikörpertiter der Gruppe „Gang“ signifikant höher ($P<0,05$) als die Titer der Gruppen „Abluft“ und „Zuluft“ (mediane Titer: Abluft=11344, Gang=14227, Zuluft=12128). In Herde C ($n=46$ Hühner) konnten keine signifikanten Unterschiede der *MS*-Antikörpertiter festgestellt werden (mediane Titer: Abluft=15220, Gang=14779, Zuluft=14569). Die Boxplots der *MS*-Antikörpertiter nach der Lokalisation der Hühner in der Halle sind in Anhang 9 aufgeführt.

4.5 Nachweis des MS- und MG-Antigens mittels PCR

4.5.1 Nachweis des MS- und MG-Antigens in Tracheal- und Kloakentupfern

Die Junghennen waren zu 100% positiv auf MS-DNA im Trachealtupfer, allerdings konnte keine MS-DNA in der Kloake nachgewiesen werden. Kontrollhühner und Polhühner wurden zu 100% positiv auf MS-DNA im Trachealtupfer getestet. Junghennen, Kontrollhühner und Polhühner wurden zu 100% negativ auf MG-DNA im Trachealtupfer getestet. In den Kloakentupfern der Polhühner konnte zu 87% MS-DNA nachgewiesen werden, bei den Kontrollhühnern waren mit 13% signifikant weniger Tiere (P=0,0001) positiv auf MS-DNA (Abbildung 15).

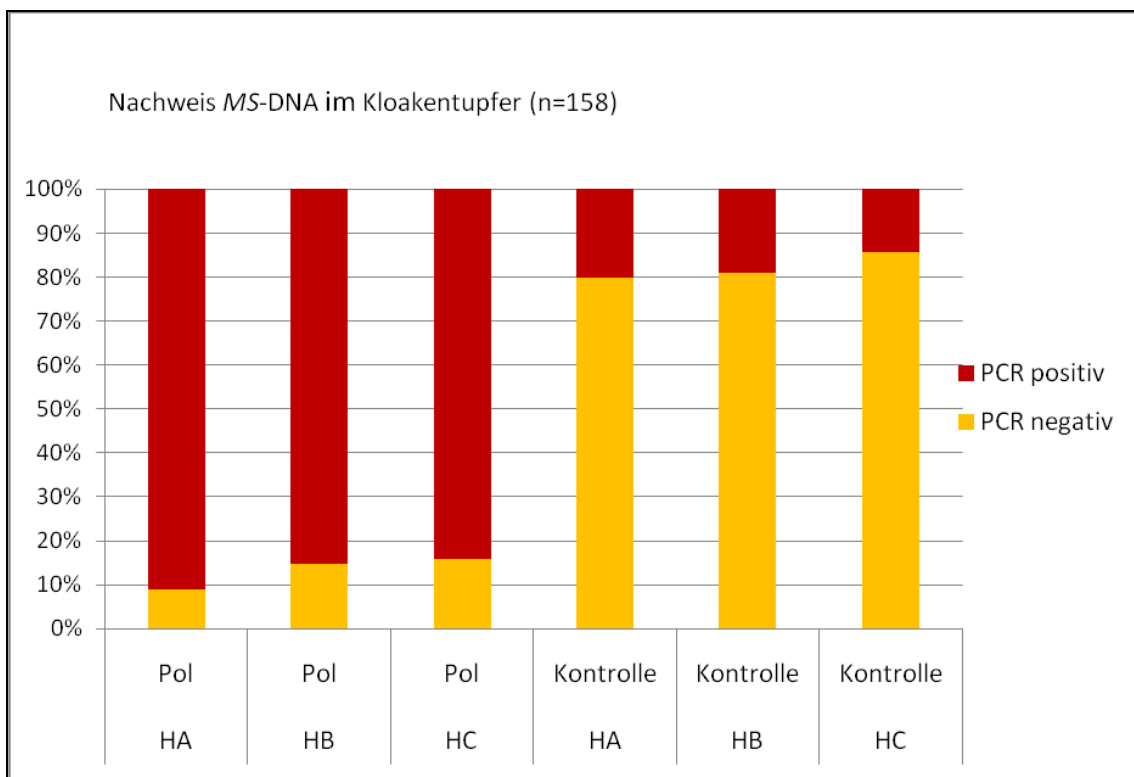


Abbildung 15: Nachweis MS-DNA im Kloakentupfer in den Herden A (=HA), B (=HB) und C (=HC). Vergleich zwischen Hühnern die poldefekte Eier legen (=Pol) und Kontrolltieren (Kontrolle)

4.5.2 Nachweis des MS-Antigens in Abhängigkeit von der Lokalisation der Hühner

Die Legehennen (n=158) wurden nach ihrer Lokalisation in der Halle in die Gruppen „Abluft“, „Gang“ und „Zuluft“ unterteilt. In den Gruppen „Abluft“ und „Gang“ war die MS-DNA im Kloakentupfer signifikant (P<0,05) häufiger nachweisbar. In der „Abluft“ waren rund 58% der Legehennen positiv auf MS-DNA, im „Gang“ 65% positiv, während im Bereich der „Zuluft“ nur rund 34% positiv waren (Abbildung 16).

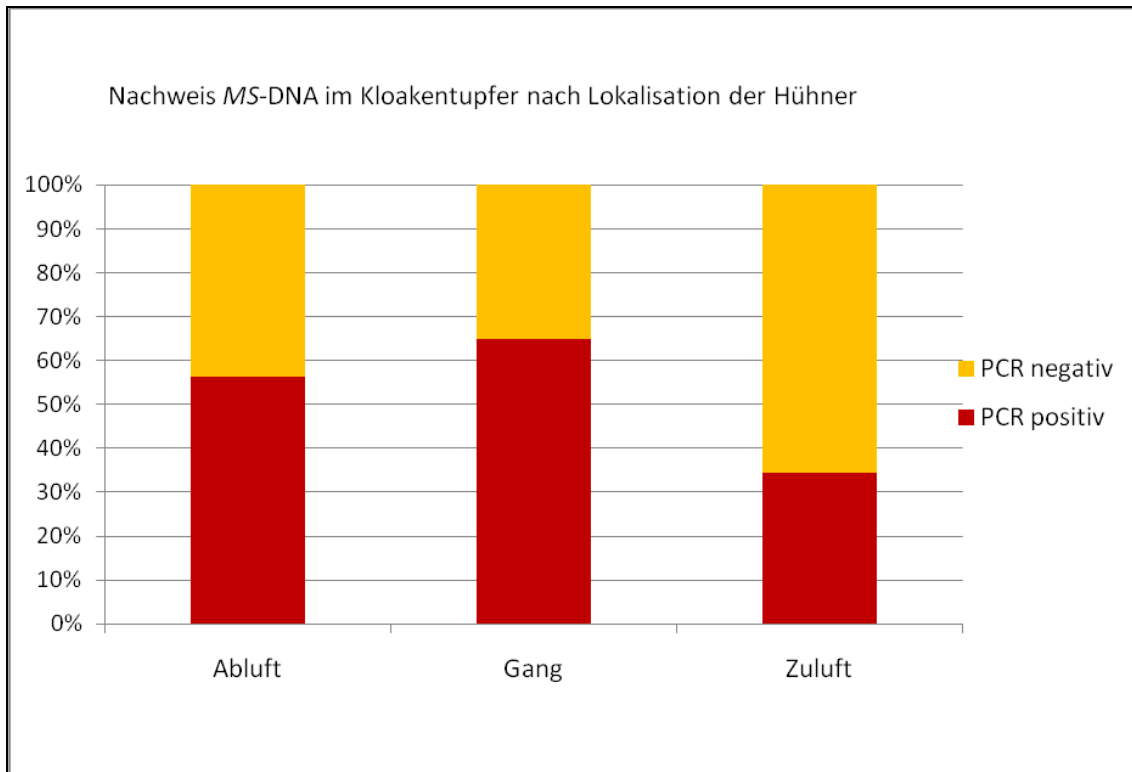


Abbildung 16: Nachweis *MS*-DNA im Kloakentupfer nach Lokalisation der Hühner in der Halle (n=158)

4.5.3 Nachweis des *MS*-Antigens in Eiern

Der Erregernachweis wurde mittels PCR an 49 poldefekten Eiern (Gruppe Pol) und 43 normalen Primaeiern (Gruppe Kontrolle) von weißen *LSL*- und braunen *LB*-Legehennenhybriden der Herden A, B und C durchgeführt (n=92 Eier). Insgesamt ließ sich in 64% der Eier *MS*-DNA nachweisen. Mit 98% ließ sich in den poldefekten Eiern der Erreger signifikant häufiger ($P=0,0001$) nachweisen als in den Kontrolleiern, die zu 26% positiv waren. Bei allen *MS*-positiven Eiern (n=34) ließ sich der Erreger im Eiklar signifikant häufiger ($P=0,02$) nachweisen als im Eidotter (n=22).

4.6 Güte Merkmale der poldefekten Eier

4.6.1 Äußere Qualität

Die durchschnittlichen Ergebnisse der Untersuchung der äußeren Qualität sind in Anhang 10 aufgelistet.

4.6.1.1 Helligkeit und Farbe

Der Reflektionswert oder L-Wert der weißen Eier lag zwischen $89,6 \pm 4,3$ in der Gruppe „Pol A“ und $92,9 \pm 1,4$ in der Gruppe „Pol B“. Der Reflektionswert der braunen Eier lag in der Gruppe

„helle Pol C“ bei $71,9 \pm 5,5$ und damit signifikant höher ($P=0,0001$) als die Werte der drei anderen Gruppen, die zwischen $59,6 \pm 3,5$ in der Gruppe „Kontrolle C“ und $62,8 \pm 4,1$ der Gruppe „Pol C“ lagen. Dieser Wert lag deutlich über dem Referenzwert der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LB*-Hybriden von 60,7. Der Reflektionswert der Gruppe „Pol C“ war signifikant höher ($P=0,012$) als der Reflektionswert der Gruppe „Kontrolle C“. Eine Übersicht ist in Abbildung 17 aufgeführt. Der a-Wert der braunen Eier lag bei den „hellen poldefekten Eiern“ der Herde C bei $7,6 \pm 3,5$ und damit signifikant niedriger ($P=0,0001$) als bei den anderen drei Gruppen. Der Wert lag deutlich unter dem Referenzwert der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LB*-Hybriden von 15,2.

Der a-Wert lag bei den anderen drei Gruppen zwischen $16,4 \pm 2,9$ (Pol C) und $19,1 \pm 1,8$ (Kontrolle C). Der a-Wert der Gruppe „Pol C“ war signifikant niedriger ($P=0,0001$) als der a-Wert der Gruppe „Kontrolle C“ und der a-Wert der Gruppe „Kontrolle fremd“ ($P=0,001$). Eine Übersicht ist in Abbildung 18 aufgeführt. Der b-Wert der braunen Eier lag bei den „hellen poldefekten Eiern“ der Herde C bei $19,3 \pm 5,1$ und damit signifikant niedriger ($P=0,0001$) als bei den anderen drei Gruppen. Der Wert lag deutlich unter dem Referenzwert der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LB*-Hybriden von 26,7.

Der b-Wert lag bei den anderen drei Gruppen zwischen $28,1 \pm 2,6$ (Pol C) und $29,8 \pm 1,6$ (Kontrolle fremd). Eine Übersicht ist in Abbildung 19 aufgeführt. Der L-a-b-Wert der braunen Eier lag bei den „hellen poldefekten Eiern“ der Herde C bei $45,3 \pm 13$ und damit signifikant höher ($P < 0,05$) als bei den anderen drei Gruppen. Der Wert lag deutlich über dem Referenzwert der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LB*-Hybriden von 18,8.

Der L-a-b-Wert lag bei den anderen drei Gruppen zwischen $11,3 \pm 5,4$ (Kontrolle C) und $18,3 \pm 8$ (Pol C). Der L-a-b Wert der Gruppe „Pol C“ war signifikant niedriger ($P=0,01$) als der a-Wert der Gruppe „Kontrolle C“. Eine Übersicht ist in Abbildung 20 aufgeführt.

4 ERGEBNISSE

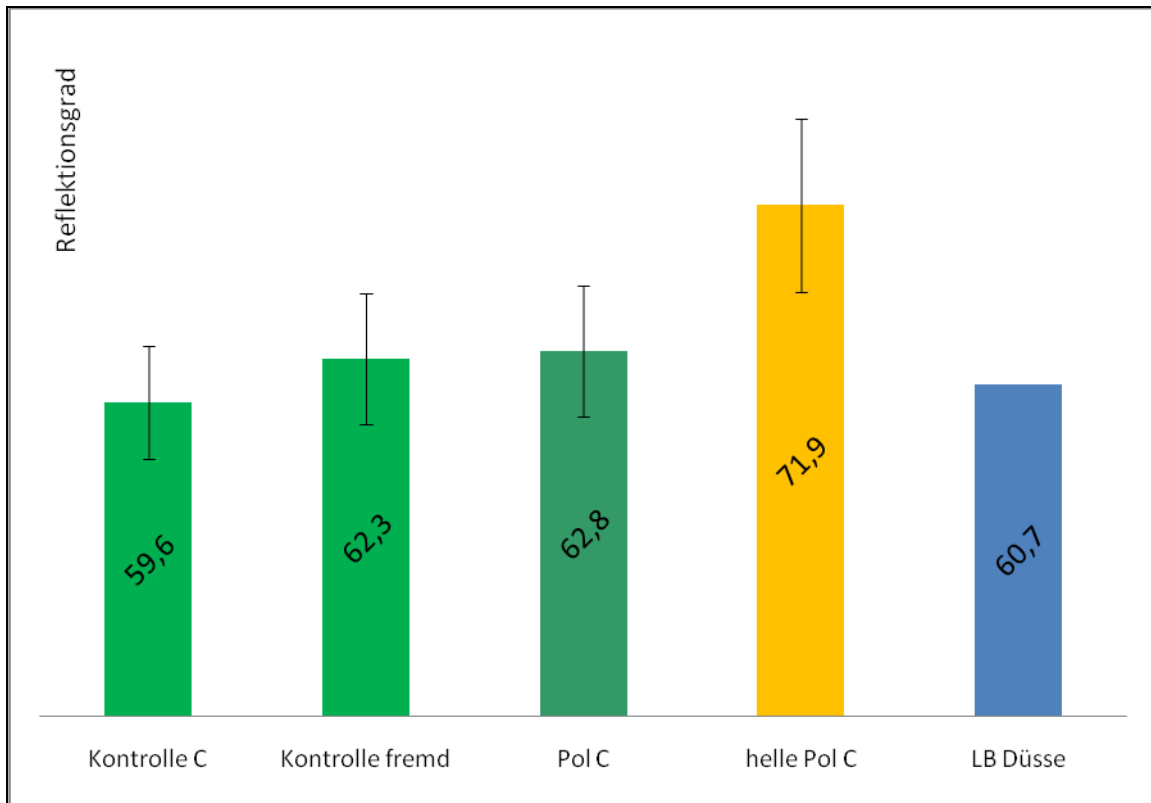


Abbildung 17: Reflektionsgrad der braunen Eier im Versuch, (n=270), LB Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden

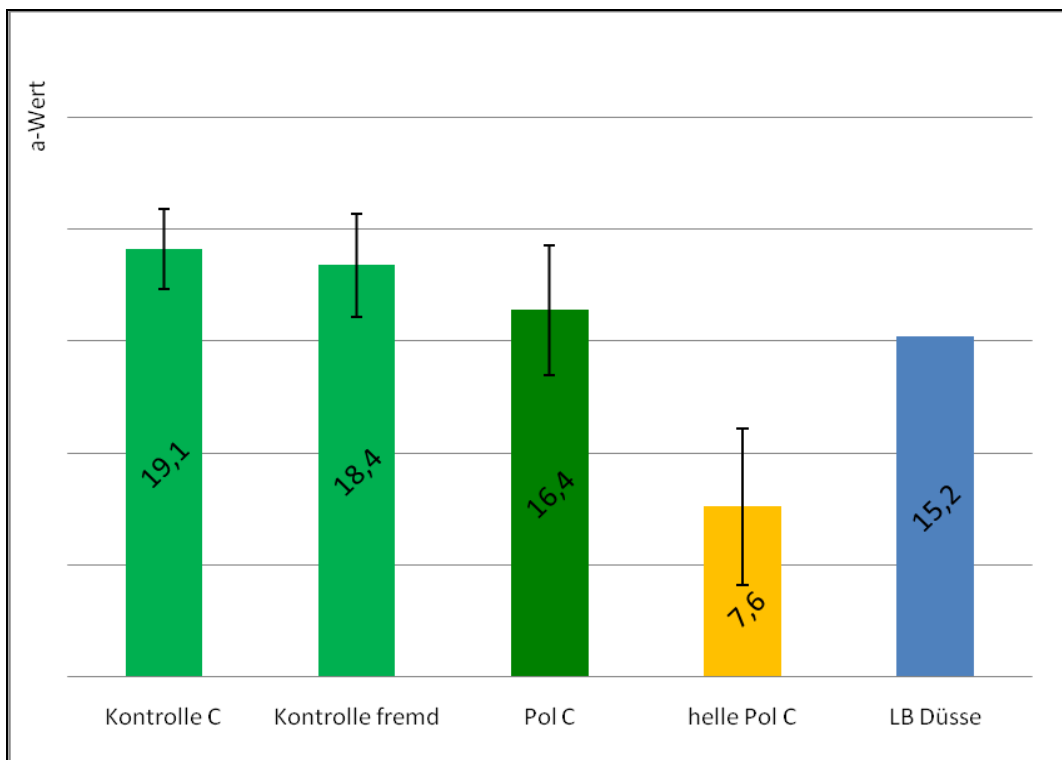


Abbildung 18: a-Werte der braunen Eier (n=270) LB Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden

4 ERGEBNISSE

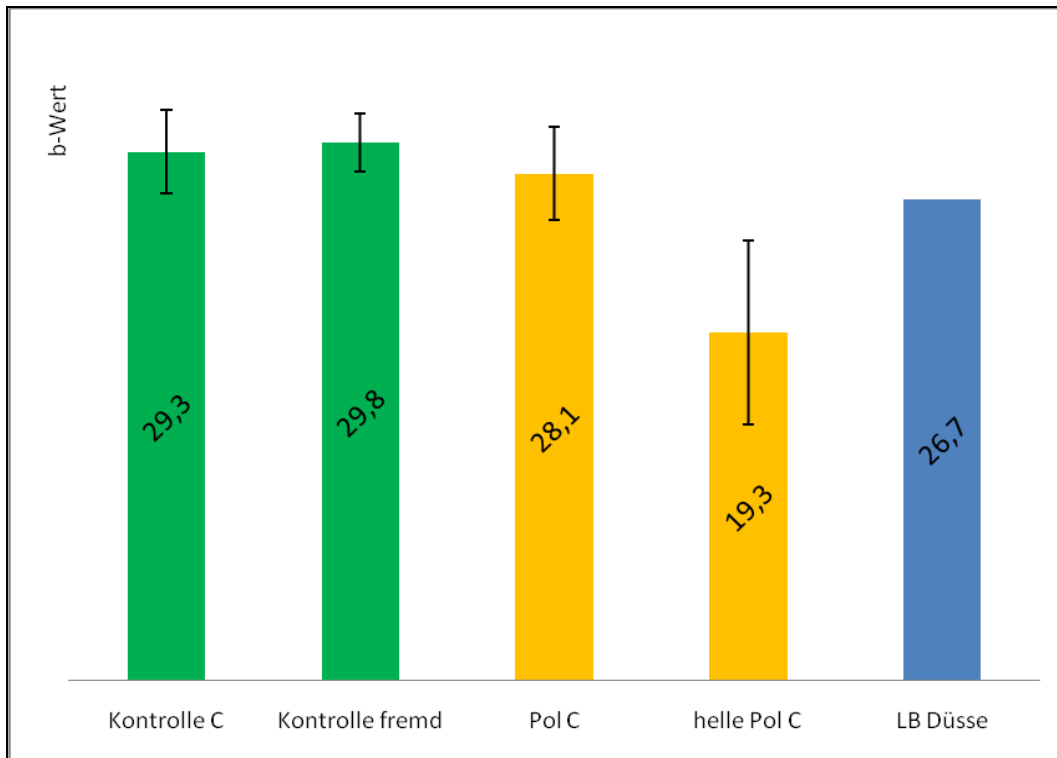


Abbildung 19: b-Werte der braunen Eier (n=270), LB Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden

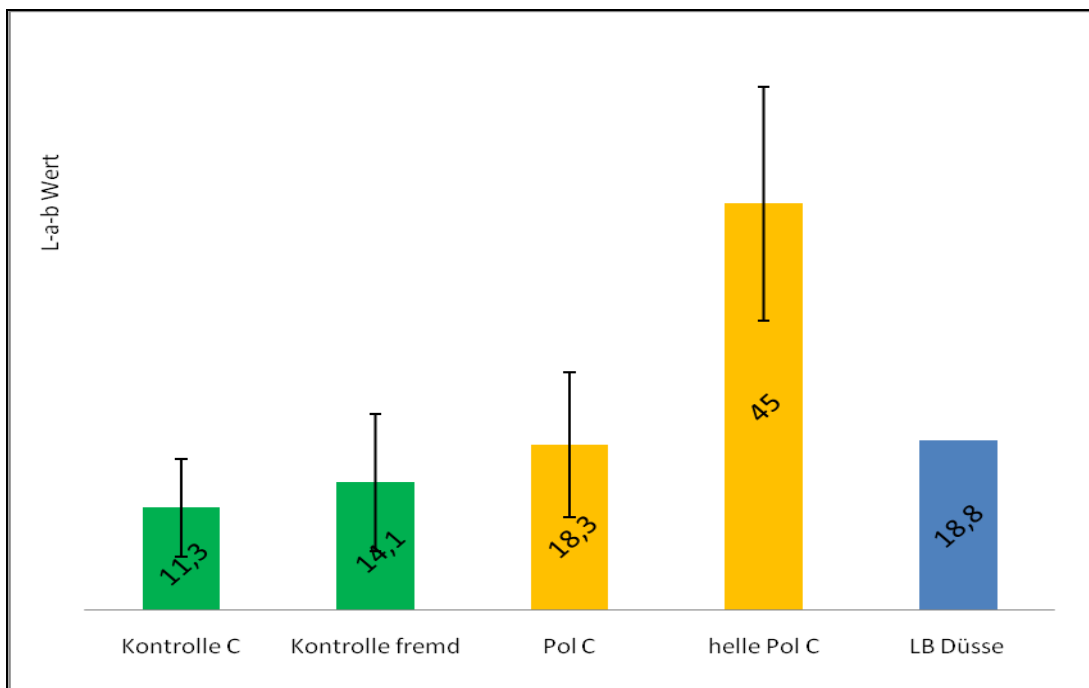


Abbildung 20: L-a-b Wert der braunen Eier (n=270), LB Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden

4.6.1.2 Schalenstabilität und Deformation

Die Schalenstabilitätswerte waren bei allen vier Kontrollgruppen signifikant höher (P je 0,0001) als bei allen fünf Polgruppen. Die Stabilitätswerte der poldefekten Eier lagen zwischen $11,4 \pm 8\text{N}$ (Gruppe Pol A, *LSL*) und $20,9 \pm 7,5\text{N}$ (Gruppe Pol C, *LB*) und damit deutlich niedriger als die Referenzwerte der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LSL*-Hybriden mit $37,4\text{N}$ und der *LB*-Hybriden mit $37,8\text{N}$. Die Stabilitätswerte der Kontrolleier lagen zwischen $44,3 \pm 10,9\text{N}$ (Gruppe Kontrolle fremd, *LB*) und $49,5 \pm 7,5\text{N}$ (Gruppe Kontrolle Y, *LSL*) und damit höher als die Referenzwerte der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004). Die Stabilitätswerte der Gruppe „Pol A“ waren signifikant niedriger als die Stabilitätswerte der Gruppen „helle Pol C“ ($P=0,004$), „Pol C“ ($P=0,009$) und „Pol A Antibiotika“ ($P=0,018$). Die Stabilitätswerte der Kontrollgruppen unterschieden sich nicht signifikant. Eine Übersicht ist in Abbildung 21 aufgeführt.

Die Deformationswerte der poldefekten Eier lagen zwischen $0,28 \pm 0,42\text{mm}$ (Gruppe Pol C) und $0,66 \pm 0,54\text{mm}$ (Gruppe Pol A) und damit deutlich über dem Referenzwert von $0,06\text{mm}$ (SCHOLTYSSSEK 1988). Die Deformationswerte der poldefekten Gruppen variierten im Gegensatz zu den Kontrollgruppen sehr stark, die Standardabweichungen vom Mittelwert in den einzelnen Gruppen waren entsprechend deutlich höher als die der Kontrollgruppen. Die Deformationswerte der Kontrollgruppen lagen zwischen $0,13 \pm 0,054\text{mm}$ (Gruppe Kontrolle Y) und $0,14 \pm 0,095\text{mm}$ (Gruppe Kontrolle fremd) und damit ebenfalls über den Referenzwerten. Die Deformationswerte der Gruppe „Pol A“ waren signifikant höher als die Deformationswerte der vier Kontrollgruppen (je $P=0,0001$), sie waren auch signifikant höher als die Deformationswerte der Gruppen „Pol C“ ($P=0,002$) und „Pol A Antibiotika“ ($P=0,006$). Die Deformationswerte der Gruppe „Pol B“ waren signifikant höher als die Deformationswerte der vier Kontrollgruppen (je $P=0,02$). Die Deformationswerte der Kontrollgruppen unterschieden sich nicht signifikant. Eine Übersicht ist in Abbildung 22 aufgeführt.

4.6.1.3 Eigewicht, Eiklarhöhe und Haugh-Unit

Die durchschnittlichen Eigewichte lagen zwischen $66,1 \pm 4,4\text{g}$ (Gruppe Pol A Antibiotika) und $60,2 \pm 5,6\text{g}$ (Gruppe helle Pol C) und damit im Gewichtsklassenbereich M (53 bis 63 g) und L (63 bis 73g). Die durchschnittlichen Eigewichte waren niedriger als die Referenzwerte der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) der *LSL*-Hybriden mit $68,4\text{g}$ und der *LB*-Hybriden mit $70,3\text{g}$. Die Gewichtswerte der Gruppe helle Pol C waren signifikant niedriger als die Gewichtswerte der Gruppen Pol A Antibiotika ($P=0,0001$) und Pol A ($P=0,028$). Die Gewichtswerte der Gruppe Kontrolle fremd waren signifikant niedriger ($P=0,003$) als die der

Gruppe Pol A Antibiotika. Die Eiklarhöhenwerte lagen bei den braunen poldefekten Eiern mit $4,39 \pm 1,22$ mm (Gruppe helle Pol C) und $4,47 \pm 1,22$ mm (Pol C) knapp unter dem Referenzwert 4,5 mm (SCHOLTYSSSEK 1988) für legefrische Eier des Alters der Legehennen zwischen 40 und 60 Wochen. Die Eiklarhöhen der braunen Kontrollgruppen sowie der weißen poldefekten Eier und der weißen Kontrollgruppen lagen zwischen $5,83 \pm 1,15$ mm (Gruppe Kontrolle C) und $6,84 \pm 0,64$ mm (Gruppe Kontrolle A/B). Die Eiklarhöhen der braunen poldefekten Eier (Gruppen Pol C und helle Pol C) waren signifikant niedriger als die der anderen sieben Gruppen (je $P=0,0001$). Innerhalb der restlichen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede. Eine Übersicht ist in Abbildung 23 aufgeführt.

Die durchschnittlichen Haugh-Units aller Gruppen lagen zwischen $81,6 \pm 4,1$ (Gruppe Kontrolle A/B) und 59,1 (Gruppe Pol C), sie waren niedriger als die Referenzwerte der Legeleistungsprüfung (Haus Düsse, BUDE et al. 2004) der LSL-Hybriden mit 96,5 und der LB-Hybriden mit 88,6. Die durchschnittlichen Haugh-Units der braunen poldefekten Eier (Gruppen Pol C und helle Pol C) waren signifikant niedriger als die der anderen sieben Gruppen (zwischen $P=0,0001$ und $P=0,011$). Die durchschnittlichen Haugh-Units der Gruppe Pol A waren signifikant niedriger als die durchschnittlichen Haugh-Units der Gruppe Kontrolle A/B. Eine Übersicht stellt Abbildung 24 dar.

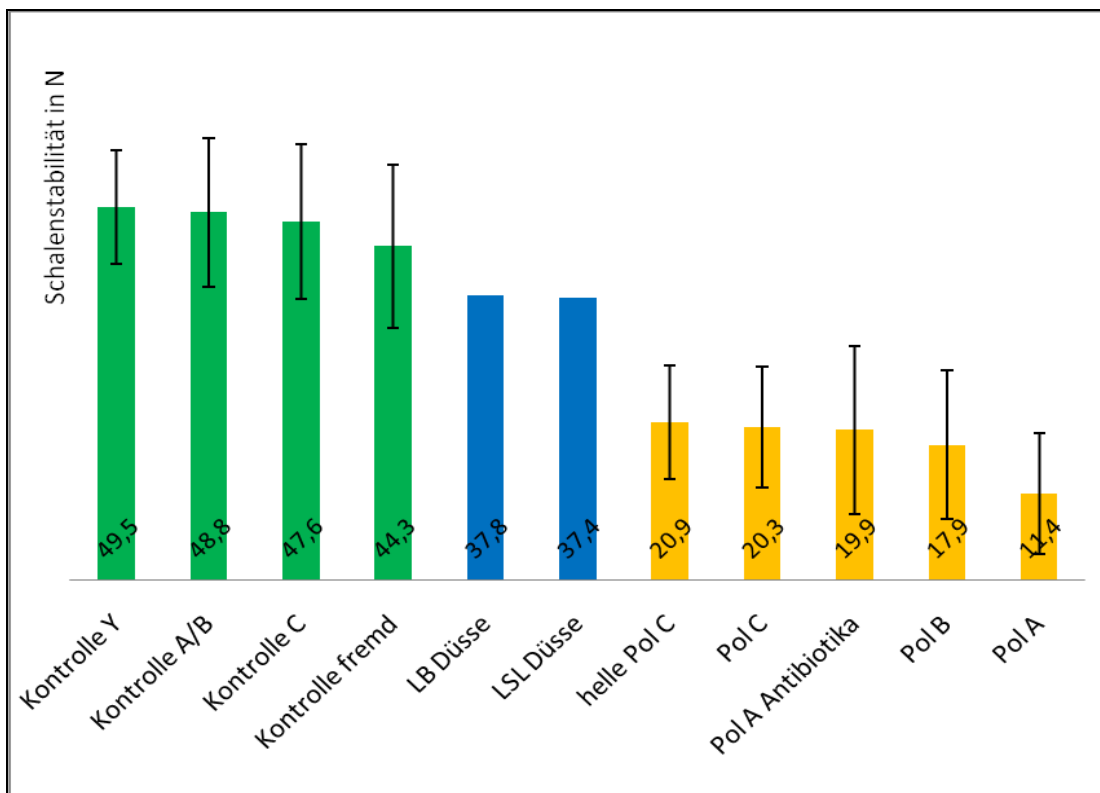


Abbildung 21: Schalenstabilität Eispitze in N (n=270) LB/LSL Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden bzw. LSL-Hybriden

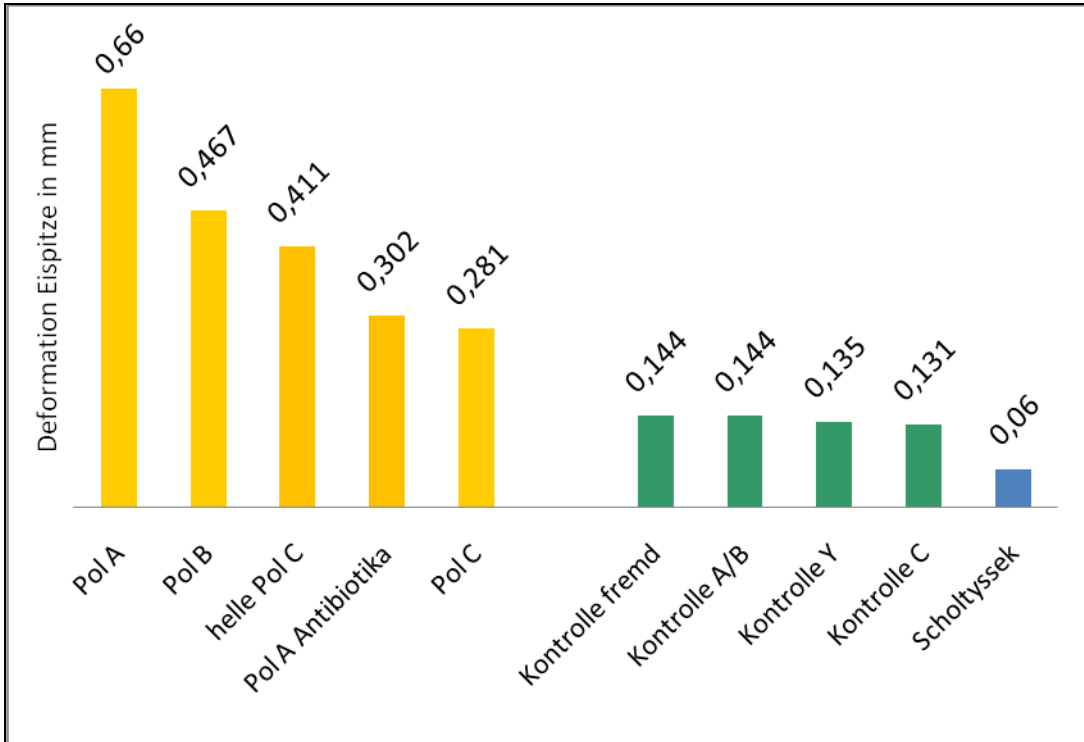


Abbildung 22: Deformationswerte der Eischale an der Spitze in mm (n=270), SCHOLTYSSEK = Referenzwert Eiklarhöhe aus SCHOLTYSSEK 1988

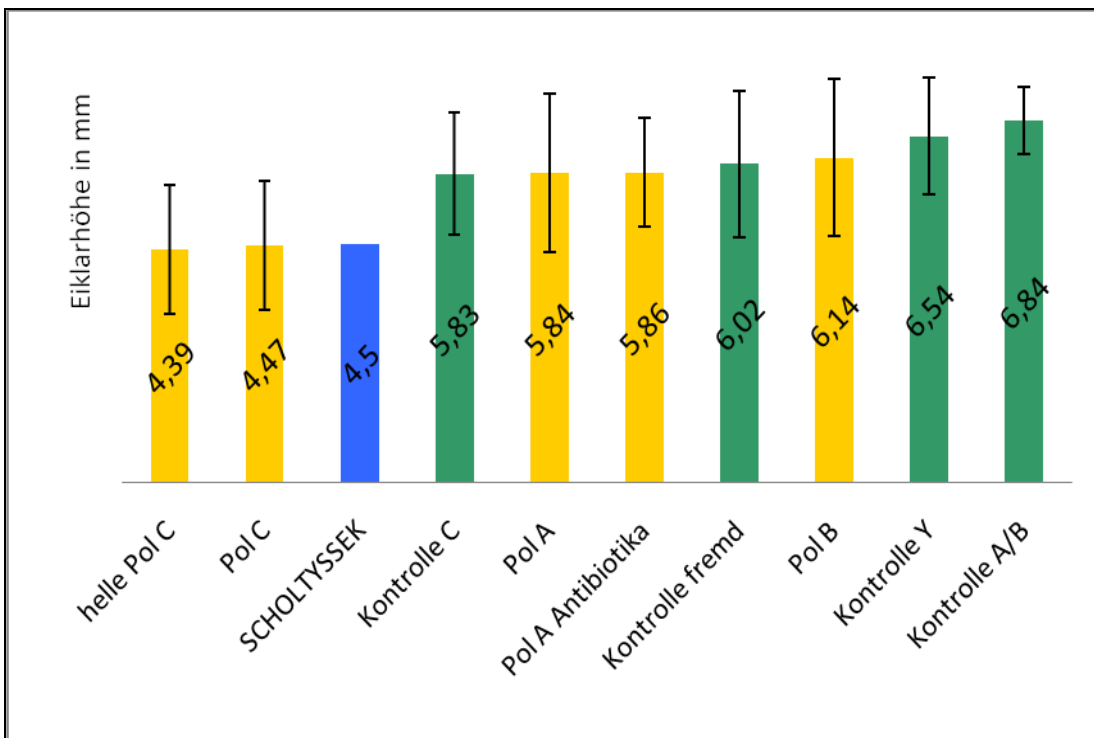


Abbildung 23: Eiklarhöhe von Pol- und Kontrollgruppen in mm (n=270), SCHOLTYSSEK = Referenzwert Eiklarhöhe aus SCHOLTYSSEK 1988

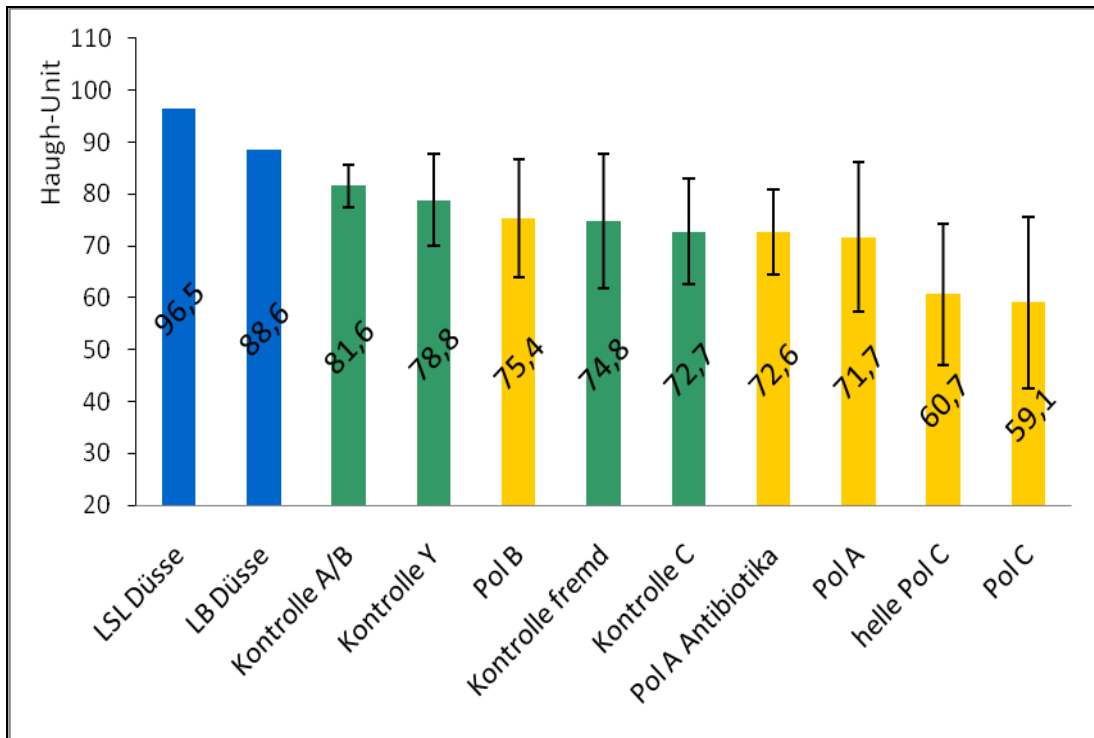


Abbildung 24: Haugh-Units von Pol- und Kontrollgruppen (n=270), LB/LSL Düsse = Referenzwert aus der Legeleistungsprüfung der LB-Hybriden bzw. LSL-Hybriden

4.6.1.4 Fleischflecken

Der Anteil von Eiern mit Fleischflecken von über 3mm Durchmesser lag bei den braunen Eiern mit 7% (Gruppen Kontrolle fremd und Kontrolle C), 27% (Gruppe helle Pol C) und 33% (Gruppe Pol C) jeweils höher als der Referenzwert für *LB*-Hybriden (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) mit 5,4%. Von den Eiern der *LSL*-Hybriden zeigten nur die Polgruppen einen Anteil mit Fleischflecken von über 3mm, die Gruppen „Pol B“ und „Pol A Antibiotika“ hatten jeweils einen Anteil von 3%, die Gruppe „Pol A“ einen Anteil von 10% Fleischfleckeneier. Nach Referenzwert sollten bei *LSL*-Hybriden keine Fleischflecken auftreten (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004).

4.6.2 Innere Qualität

4.6.2.1 Eigewicht und Eischalengewicht

Das durchschnittliche Gewicht der Eier lag am ersten Tag nach dem Legen bei $65,7 \pm 6,3$ g (Kontrolle) beziehungsweise $65,2 \pm 7,7$ g (Pol) und damit im Bereich der Gewichtsklasse L (63 bis 73g). Die Masse nahm bei beiden Gruppen mit kleineren Schwankungen bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $61,3 \pm 5$ g ab. Am 8. Tag nach dem Legen waren die poldefekten Eier mit

4 ERGEBNISSE

61,6±4,6g signifikant leichter als die Kontrolleier mit 65,2±4,6g (P=0,018), sonst unterschieden sich die Gewichte nicht signifikant.

Das durchschnittliche Gewicht der feuchten Eischalen lag bei den Kontrolleiern zwischen 8,8±1g und 7,7±0,49g, bei den poldefekten Eiern zwischen 7,8±0,84g und 7,3±0,72g. Das Gewicht nahm bei beiden Gruppen bis zum 29. Tag nach dem Legen ab. Bei den poldefekten Eiern war das feuchte Schalengewicht am 1., 8. und 29. Tag nach dem Legen signifikant niedriger als das der Kontrolleier (P=0,002; 0,0001 beziehungsweise 0,027). Das durchschnittliche Gewicht der getrockneten Eischalen lag bei den Kontrolleiern zwischen 6,2±0,62g und 5,9±0,53g, bei den poldefekten Eiern zwischen 5,5±0,61 g und 5,1±0,87g. Die Gewichtskurve der trockenen Eischalen war bis zum 29. Tag nach dem Legen auf einem einheitlichen Niveau. Bei den poldefekten Eiern war das trockene Schalengewicht an allen Untersuchungstagen signifikant niedriger als das der Kontrolleier (P<0,03). Eine Übersicht über das durchschnittliche trockene Schalengewicht gibt Abbildung 25. Der errechnete Anteil der trockenen Schale am Eigewicht steigt bis zum 29. Tag nach dem Legen leicht an (Kurvenverlauf Abbildung 26), bei den poldefekten Eiern von 7,7±0,98% auf 8,8±0,9%, bei den Kontrolleiern von 9,1±0,88% auf 9,9±0,73%. Der Anteil der Eischale an der Eimasse war dabei an allen Kontrolltagen bei den poldefekten Eiern signifikant niedriger (P<0,05) als bei den Kontrolleiern.

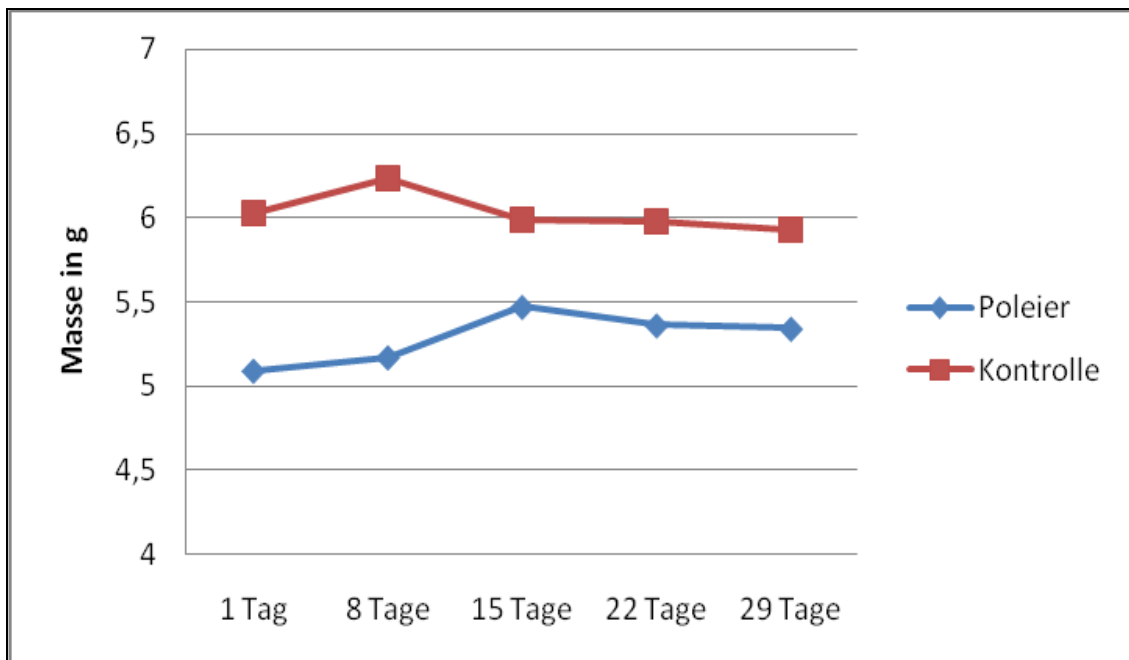


Abbildung 25: Masse der Eischalen nach Trocknung (n=208)

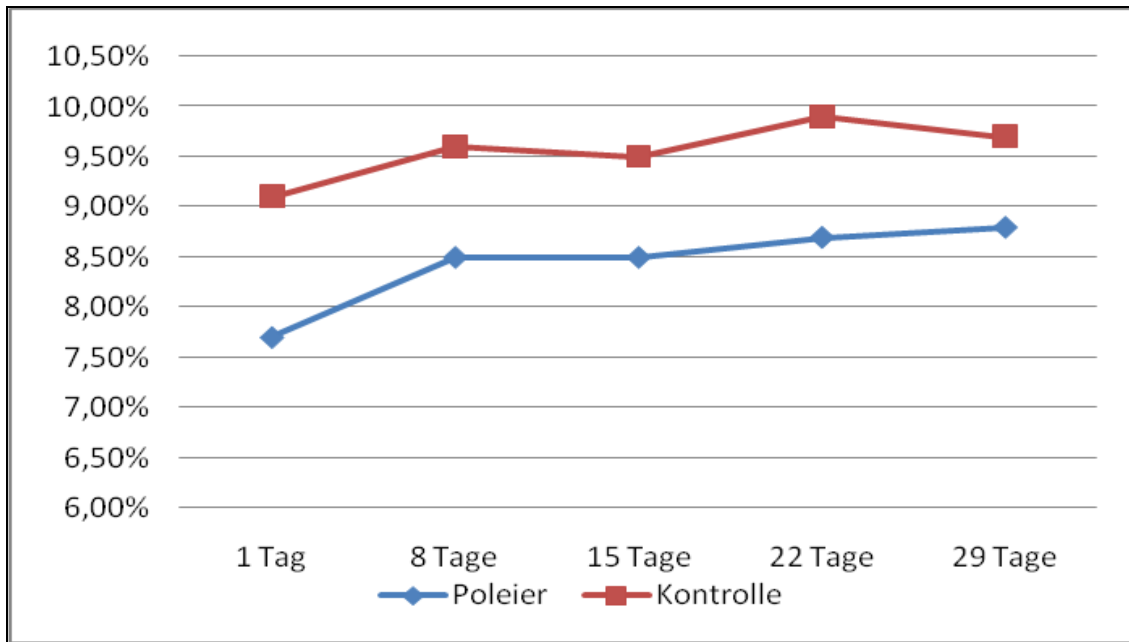


Abbildung 26: Anteil der getrockneten Schalenmasse am Eigewicht (n=208)

4.6.2.2 Eiklarhöhe, Haugh-Unit und Luftkammerhöhe

Die durchschnittliche Eiklarhöhe der Eier lag am ersten Tag nach dem Legen bei $7,45 \pm 1,3$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $6,15 \pm 1,1$ mm (Gruppe Pol) und damit im Bereich des Referenzwertes für legefrische Eier (SCHOLTYSSSEK 1987) mit 4mm ab der 60. Lebenswoche. Die Eiklarhöhe nahm bei beiden Gruppen mit kleineren Schwankungen bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $2,68 \pm 1,1$ mm (Gruppe Pol) beziehungsweise $2,43 \pm 0,84$ mm (Gruppe Kontrolle) ab (Kurvenverlauf Abbildung 27). Am 1. und 22. Tag nach dem Legen war die Eiklarhöhe der poldefekten Eier signifikant niedriger als die der Kontrolleier ($P=0,001$ beziehungsweise $0,036$).

Die durchschnittliche Haugh-Unit der Eier lag am ersten Tag nach dem Legen bei $84,3 \pm 7,5$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $75,4 \pm 9,4$ (Gruppe Pol) und damit in beiden Gruppen unter dem Referenzbereich für legefrische Eier der *LSL*-Hybriden (Haus Düsse, BUDDE et al. 2004) von 91,4 in der 66. Lebenswoche. Die Haugh-Unit nahm bei beiden Gruppen mit kleineren Schwankungen bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $32,1 \pm 17,6$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $36 \pm 18,8$ (Gruppe Pol) ab (Kurvenverlauf Abbildung 28). Am 1. und 22. Tag nach dem Legen war die Haugh-Unit der poldefekten Eier signifikant niedriger als die der Kontrolleier ($P=0,002$; $0,010$).

Die durchschnittliche Luftkammerhöhe der Eier lag am ersten Tag nach dem Legen bei $1,8 \pm 0,61$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $3,3 \pm 1,1$ mm (Gruppe Pol) und damit im Bereich des Referenzwertes für frische Eier der Güteklasse A nach VO (EG) Nr. 1234/2007

4 ERGEBNISSE

und 598/2008 von maximal 6mm. Die Luftkammerhöhe nahm bei beiden Gruppen mit kleineren Schwankungen bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $5,6\pm 1,2\text{mm}$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $7,1\pm 2\text{mm}$ (Gruppe Pol) zu (Kurvenverlauf Abbildung 29). An allen Kontrollterminen war die Luftkammerhöhe der poldefekten Eier signifikant höher als die der Kontrolleier ($P\leq 0,002$).

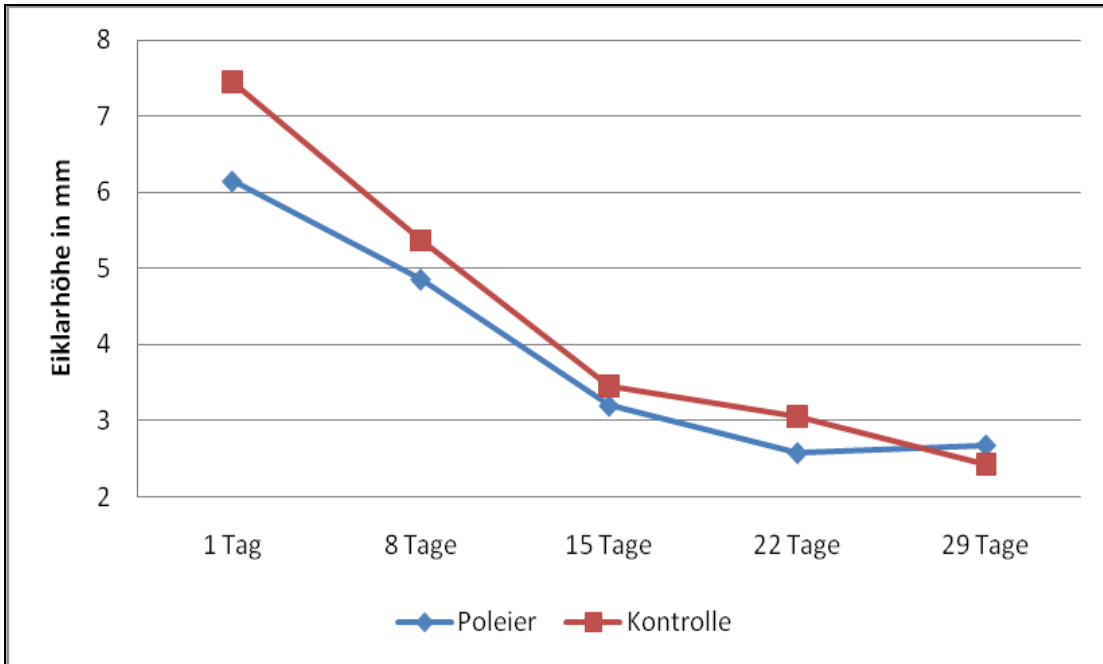


Abbildung 27: Eiklarhöhe in mm abhängig vom Alter der Eier (n=208)

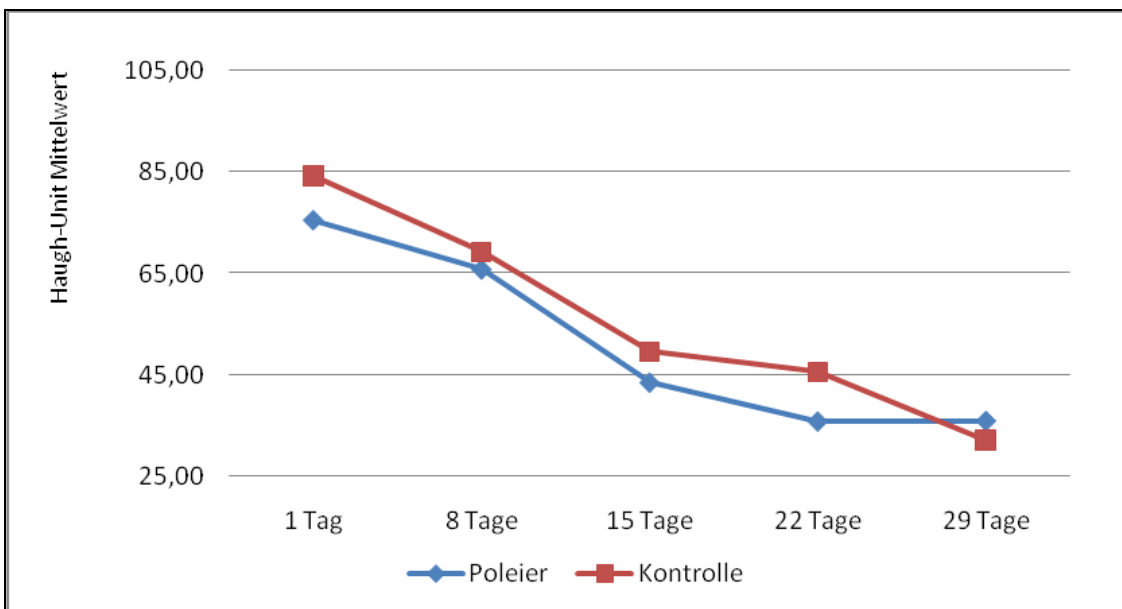


Abbildung 28: durchschnittliche Haugh-Unit abhängig vom Alter der Eier (n=208)

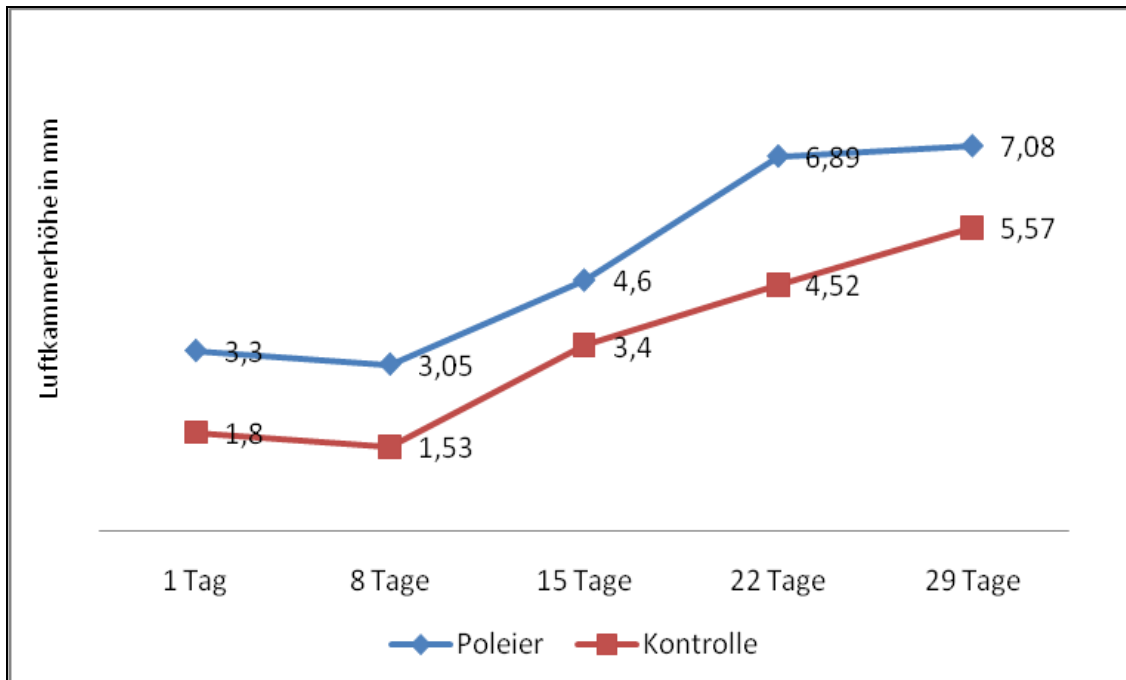


Abbildung 29: Luftkammerhöhe in mm zum Alter der Eier (n=208)

Die Durchschnittswerte der Untersuchung der inneren Qualität an den fünf Untersuchungstagen sind in Anhang 11 aufgelistet.

4.6.2.3 Korrelationen der Ergebnisse aus der Untersuchung der inneren Qualität

Bei den Kontrolleiern gab es eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen dem Alter der Eier und der Luftkammerhöhe ($Rho=0,85$, $P=0,0001$) und eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen dem Alter der Eier und der Eiklarhöhe, der Haugh-Unit und der feuchten Masse der Eischale (Rho je $<-0,4$, $P=0,0001$). Es lag eine negative Korrelation zwischen dem Alter der Eier und dem Gewicht ($Rho=0,365$, $P=0,0001$) vor. Weiterhin gab es eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen der Masse und dem trockenen und feuchten Schalengewicht ($Rho=0,623$ und $0,646$, $P=$ je $0,0001$). Es lag eine positive Korrelation zwischen Masse und Eiklarhöhe und Haugh-Unit ($Rho \geq 0,3$, $P=$ je $0,0001$) vor. Es gab außerdem eine negative Korrelation zwischen dem Gewicht der Eier und der Luftkammerhöhe ($Rho=0,283$, $P=0,004$).

Bei den poldefekten Eiern lag eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen dem Alter der Eier und der Luftkammerhöhe ($Rho=0,673$, $P=0,0001$) und eine hoch signifikante negative Korrelation zwischen dem Alter der Eier und der Eiklarhöhe und Haugh-Unit ($Rho=0,4$, $P=$ je $0,0001$) vor. Es gab eine signifikante positive Korrelation zwischen der Masse und dem trockenen und feuchtem Schalengewicht ($Rho=0,398$ und $0,468$, $P=$ je $0,0001$). Bei den

poldefekten Eiern lag im Gegensatz zu den Kontrolleiern keine Korrelation zwischen Alter, Eimasse und Eischalenmasse vor. Es war keine Korrelation zwischen Masse und Luftkammerhöhe, Eiklarhöhe und Haugh-Unit feststellbar.

4.6.2.4 pH-Wert des Eiklars

Der durchschnittliche pH-Wert des Eiklars der Eier lag am ersten Tag nach dem Legen bei $8,54 \pm 0,36$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $8,46 \pm 0,29$ (Gruppe Pol) und damit etwas unter dem Referenzwert (SCHOLTYSSSEK 1987) von 8,7. Die pH-Wertkurve stieg bis zum 8. Tag nach dem Legen auf ein Maximum von $9,85 \pm 0,12$ beziehungsweise $9,72 \pm 0,52$, dieser Wert lag etwas über dem Referenzwert (SCHOLTYSSSEK 1987) von 9,5. Die pH-Wertkurve fiel dann bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $9,1 \pm 0,06$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $9,05 \pm 0,13$ (Gruppe Pol) ab. Der Kurvenverlauf ist in Abbildung 30 dargestellt.

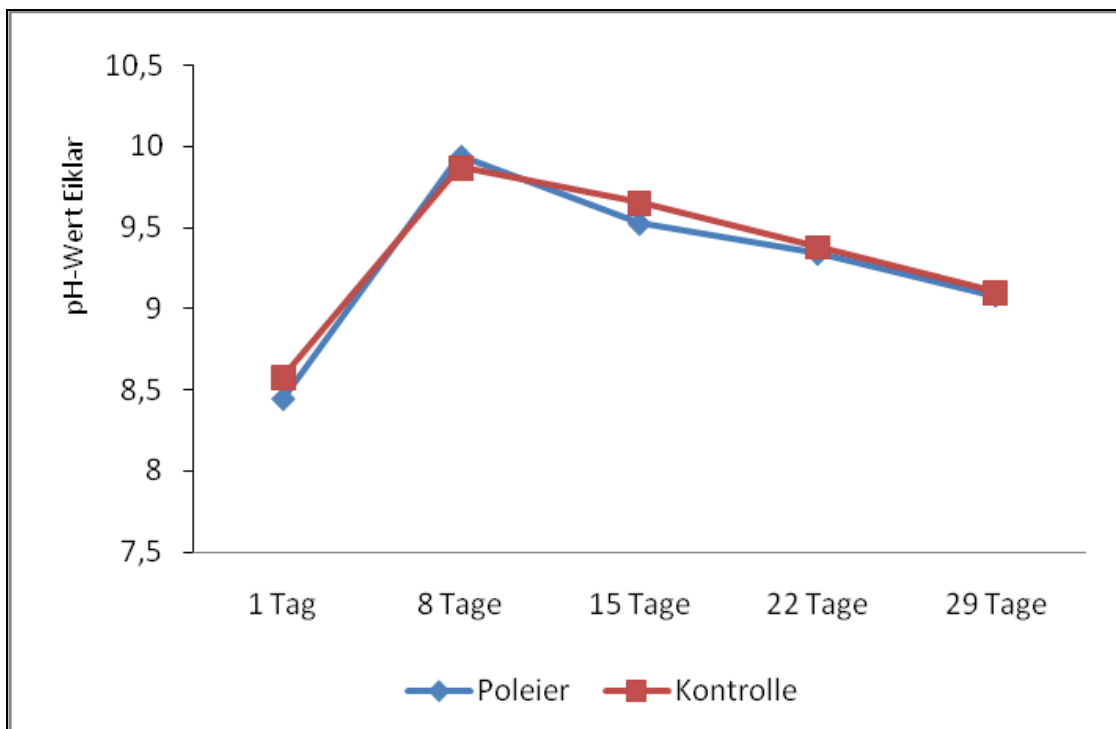


Abbildung 30: Verlauf des pH-Wertes des Eiklars (n=208 Eier)

4.6.2.5 Dotterfarbe, Dotterbreite, Dotterhöhe und Dotterindex

Die Dotterfarbe entsprach an allen Untersuchungstagen einer Standardfarbe von circa 14. Dies entspricht einem tiefen Orange.

Die Dotterbreite lag am ersten Tag nach dem Legen bei $24,6 \pm 1,5$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $24,9 \pm 1,6$ mm (Gruppe Pol), sie stieg bis zum 22. Tag nach dem Legen auf $31,5 \pm 2$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $30,7 \pm 2,8$ mm (Gruppe Pol) an und blieb bis

4 ERGEBNISSE

zum 29. Tag nach dem Legen in etwa auf diesem Niveau. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe. Die Verlaufskurve der Dotterbreite ist in Abbildung 31 dargestellt.

Die Dotterhöhe lag am ersten Tag nach dem Legen bei $17,2 \pm 1,8$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $16,6 \pm 1,4$ mm (Gruppe Pol). Sie fiel bis zum 22. Tag nach dem Legen auf $12,5 \pm 1,5$ mm (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $12,2 \pm 1,9$ mm (Gruppe Pol) ab und blieb bis zum 29. Tag nach dem Legen in etwa auf diesem Niveau. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe. Die Verlaufskurve der Dotterhöhe ist in Abbildung 32 dargestellt.

Der errechnete Dotterindex lag am ersten Tag nach dem Legen bei $70,1 \pm 8$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $66,7 \pm 7,2$ (Gruppe Pol). Er fiel bis zum 22. Tag nach dem Legen auf $39,8 \pm 5,2$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $40,5 \pm 10,4$ (Gruppe Pol) ab und stieg dann bis zum 29. Tag nach dem Legen auf $44,1 \pm 6,6$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $44 \pm 5,2$ (Gruppe Pol) an. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe. Die Verlaufskurve des Dotterindex ist in Abbildung 33 dargestellt.

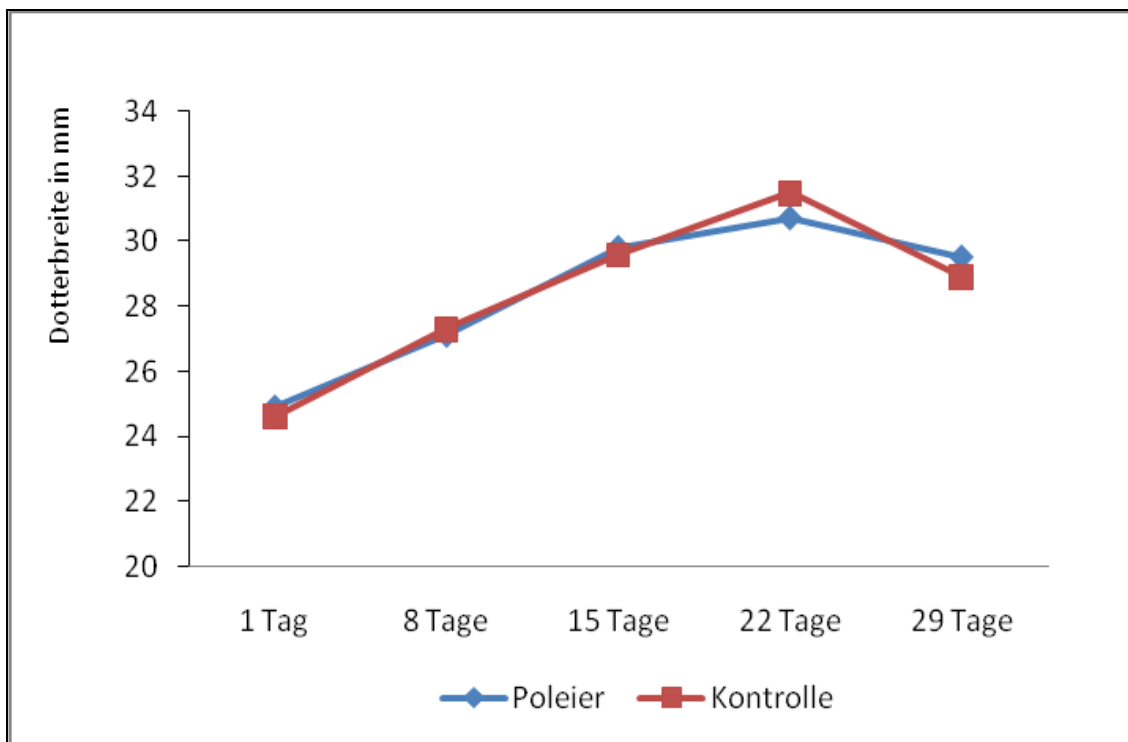


Abbildung 31: Verlaufskurve Dotterbreite in mm (n=208 Eier)

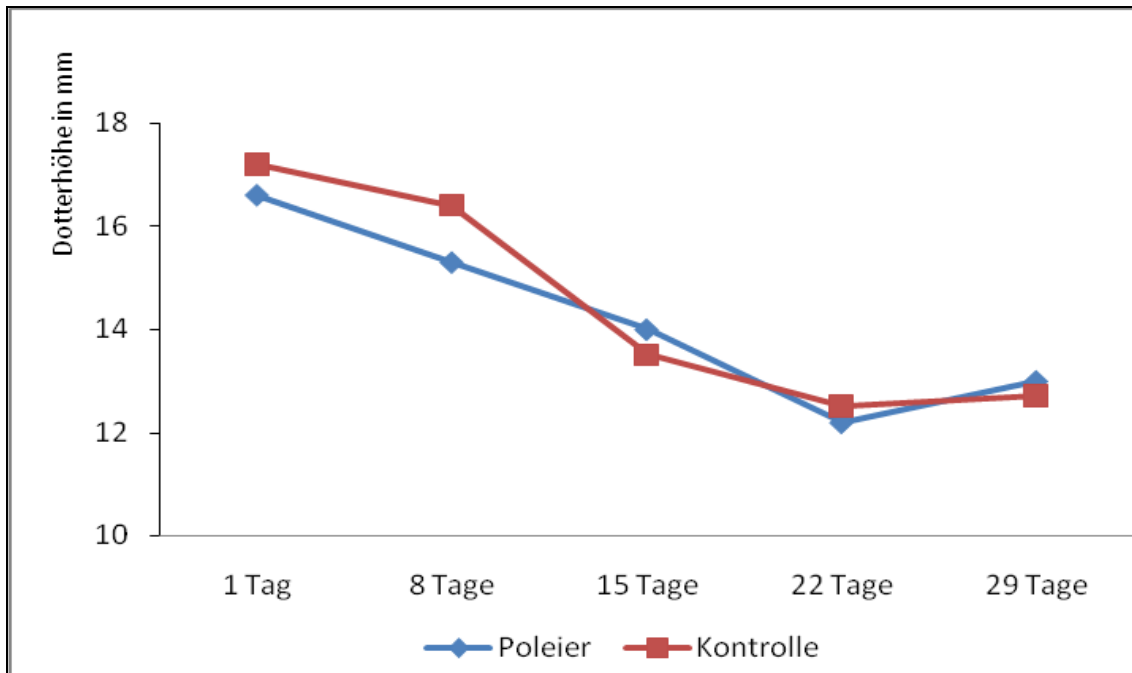


Abbildung 32: Verlaufskurve Dotterhöhe in mm (n=208 Eier)

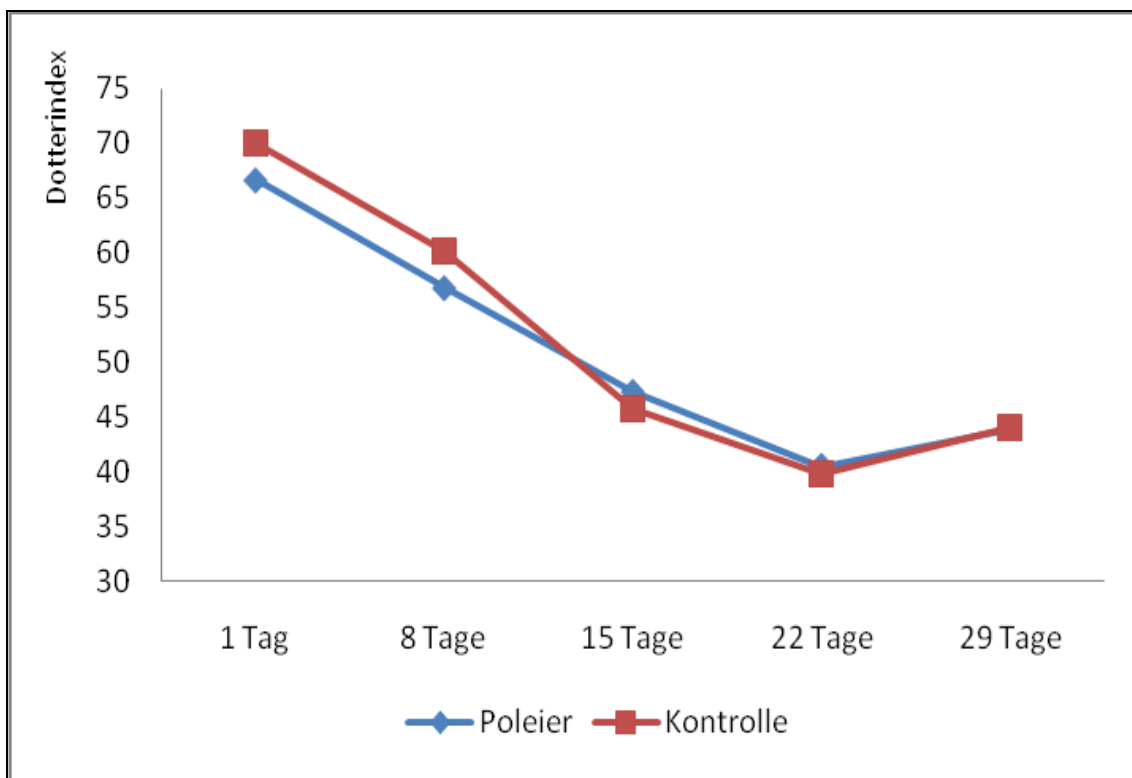


Abbildung 33: Verlaufskurve Dotterindex (n=208 Eier)

Die Durchschnittswerte der Untersuchung der inneren Qualität an den fünf Untersuchungstagen sind in Anhang 11 aufgelistet.

4.6.3 Spezielle Untersuchungen

4.6.3.1 Rohfettgehalt im Dotter und Rohproteingehalt im Eiklar der untersuchten Eier

Der Rohfettgehalt im Dotter schwankte über den gesamten Untersuchungszeitraum zwischen $30,3 \pm 7,1\%$ und $35 \pm 0,6\%$ (Gruppe Pol) beziehungsweise zwischen $33,4 \pm 1,2\%$ und $35 \pm 0,5\%$ (Gruppe Kontrolle). Der durchschnittliche Rohfettgehalt aller Untersuchungen betrug $34,1 \pm 1,6\%$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $32,6 \pm 4\%$ (Gruppe Pol). Er lag damit im Bereich des Referenzwertes für das Eidotter (SCHOLTYSSSEK 1987) von $32,9\%$. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe.

Der Rohproteingehalt im Eiklar stieg vom ersten Tag nach dem Legen von $9,1 \pm 0,7\%$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $8,7 \pm 0,8\%$ (Gruppe Pol) bis zum 22. Tag auf $11 \pm 2,5$ (Gruppe Pol) beziehungsweise bis zum 29. Tag auf $10,7 \pm 0,5$ (Gruppe Kontrolle) an. Der durchschnittliche Rohproteingehalt aller Untersuchungen betrug $10,1 \pm 0,8\%$ (Gruppe Kontrolle) beziehungsweise $10,1 \pm 1,6\%$ (Gruppe Pol), er lag damit im Bereich des Referenzwertes für das Eiklar (SCHOLTYSSSEK 1987) von $10,1\%$. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Pol- und Kontrollgruppe. Die Verlaufskurve des Rohproteingehaltes ist in Abbildung 34 dargestellt. Der Durchschnittswert für Rohprotein und Rohfett für alle Untersuchungstage ist in Abbildung 35 dargestellt. Die Durchschnittswerte der Rohprotein- und Rohfettanalyse sind in Anhang 12 aufgeführt.

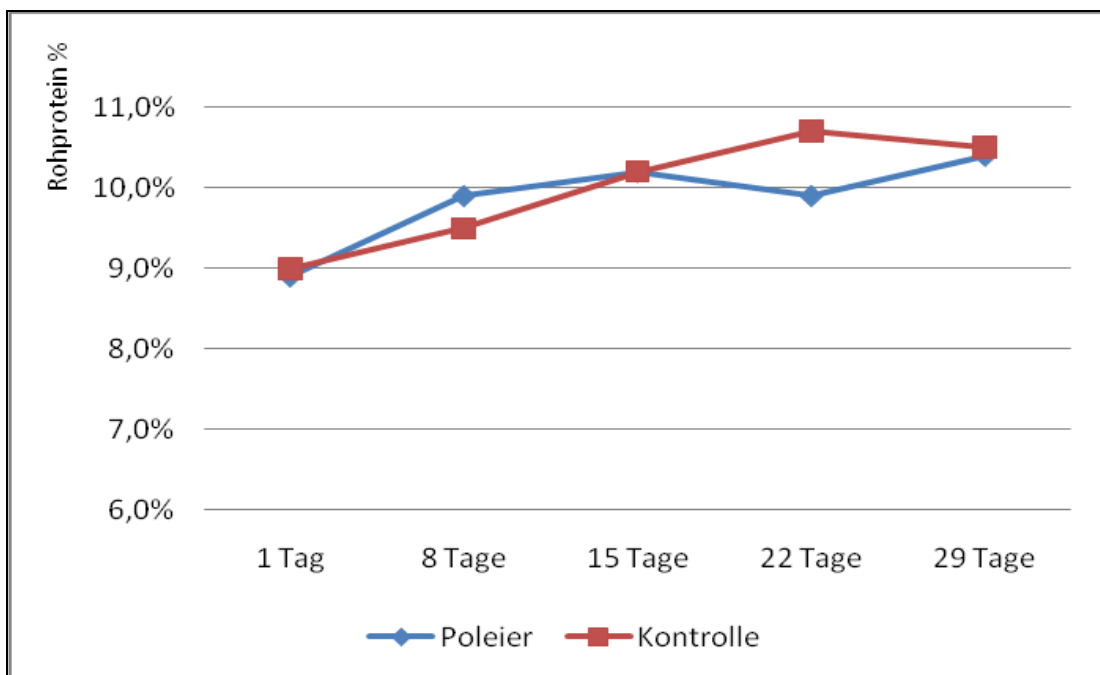


Abbildung 34: Verlaufskurve Rohproteingehalt Eiklar (n=50 Eier)

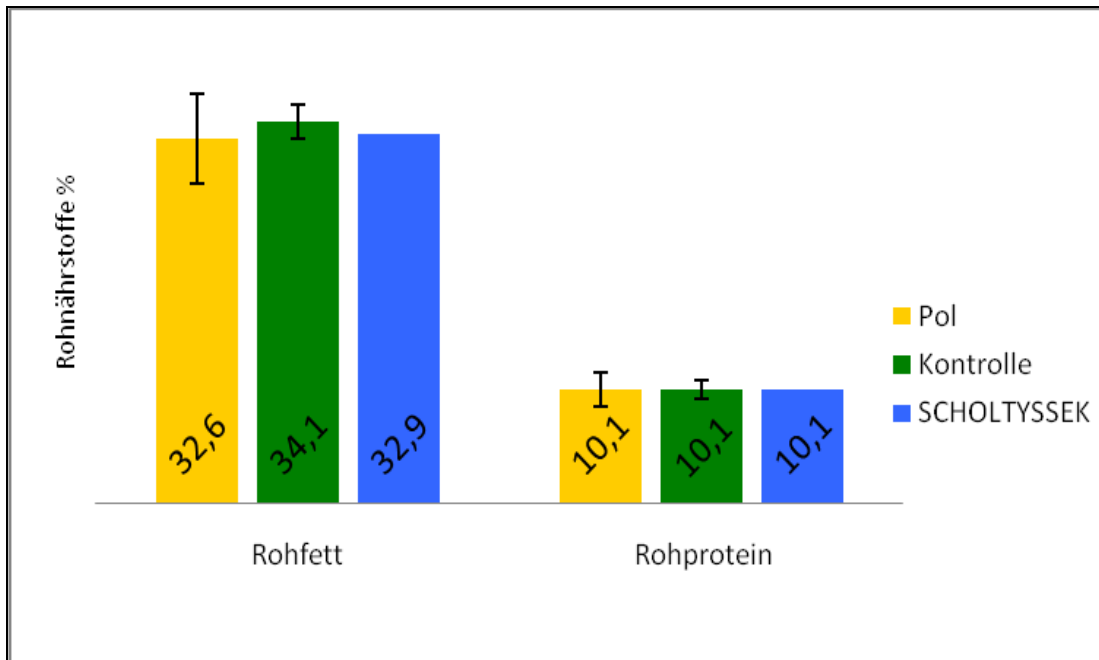


Abbildung 35: Durchschnittliche Rohnährstoffgehalte aller Untersuchungstage (n=50 Eier), SCHOLTYSSSEK = Referenzwert Rohnährstoffe aus SCHOLTYSSSEK 1988

4.6.3.2 Fettsäuremuster des Eidotters

Zwischen den einzelnen Untersuchungsterminen und den Gruppen Pol und Kontrolle gab es keine signifikanten Unterschiede. Die Dotterlipide setzten sich zu $42,8 \pm 1\%$ aus einfach ungesättigten Fettsäuren, zu $36,7 \pm 0,5\%$ aus gesättigten Fettsäuren und zu $14,6 \pm 0,6\%$ aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren zusammen, die fehlenden Anteile zu 100% machen kleinere Fettsäurefraktionen das Cholesterin aus. Die anteilig größten Fraktionen der gesättigten Fettsäuren waren Palmitinsäure mit $26,9 \pm 0,6\%$, Stearinsäure mit $9,3 \pm 0,4\%$ und Myristinsäure mit $0,51 \pm 0,04\%$. Diese Werte lagen in etwa in den Referenzbereichen (SCHOLTYSSSEK 1987) von 25,35% (Palmitinsäure), 8,82% (Stearinsäure) und 0,31% (Myristinsäure). Die anteilig größten Fraktionen der einfach ungesättigten Fettsäuren machten die Ölsäure mit $40,1 \pm 1,2\%$ und die Palmitoleinsäure mit $2,8 \pm 0,3\%$ aus. Diese Werte lagen in etwa in den Referenzbereichen (SCHOLTYSSSEK 1987) von 42,1% (Ölsäure) und 3,8% (Palmitoleinsäure). Die anteilig größten Fraktionen der mehrfach ungesättigten Fettsäuren machten die Linolsäure mit $12 \pm 0,8\%$, die Arachidonsäure mit $2,4 \pm 0,3\%$ und die Linolensäure mit $0,24 \pm 0,02\%$ aus, diese Werte lagen in etwa in den Referenzbereichen (SCHOLTYSSSEK 1987) von 12,8% (Linolsäure) und 0,31% (Linolensäure). Der Arachidonsäureanteil lag mit $2,4 \pm 0,3\%$ etwas höher als der Referenzwert von 0,98% (SCHOLTYSSSEK 1987). Die Ergebnisse sind in Abbildung 36 dargestellt, die Durchschnittswerte der einzelnen Gruppen in Anhang 13.

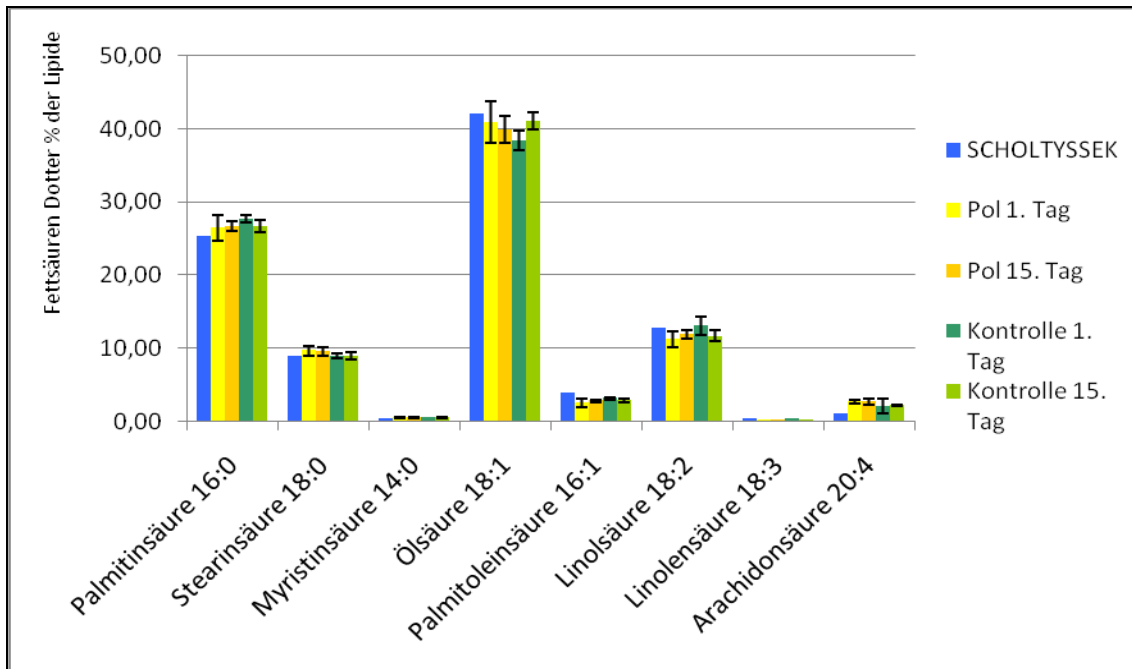


Abbildung 36: Ausgewählte Fettsäurefraktionen im Eidotter, Vergleich poldefekte Eier (=Pol) und Kontrolleier, SCHOLTYSSSEK = Referenzwert Fettsäurezusammensetzung aus SCHOLTYSSSEK 1988

4.6.3.3 Eischalenmatrixproteine

Anhand der bekannten Molekülmasse der Matrixproteine ließ sich den durchschnittlichen Banden das äquivalente Protein zuordnen. Den Banden konnten die Matrixproteine Lysozym, Osteopontin, Ovotransferrin, Ovalbumin, Clusterin sowie Ovocleidin-17 und-116, Ovocalyxin-36, -32 -25 und 21 zugeordnet werden. Die Lokalisation von Ovocalyxin und Clusterin überschneidet sich, da beide Proteine eine Molekülmasse von circa 36kDa haben.

Bei den Proben vom ersten Tag hatten die poldefekten Eier eine deutlich erhöhte 66,8kDa-Bande, der Osteopontin zugeordnet wurde, sowie eine deutlich erhöhte 13,7kDa-Bande, der Lysozym zugeordnet wurde. Bei den Proben vom 15. Tag hatten die Poleier eine erhöhte 16kDa-Bande, der Lysozym zugeordnet wurde. Die poldefekten Eier hatten eine doppelte dem Osteopontin zugeordnete Bande bei 68,6kDa beziehungsweise 65,9kDa, die Kontrolleier hatten nur eine Osteopontin zugeordnete Bande bei 65,9kDa. Eine Übersicht über die Lokalisation der einzelnen Molekulargewichtsbanden und die Zuordnung der entsprechenden Schalenproteine geben Abbildung 37 und 38. Die Anzahl der Proben reichte nicht aus, um die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen statistisch zu untermauern.

4 ERGEBNISSE

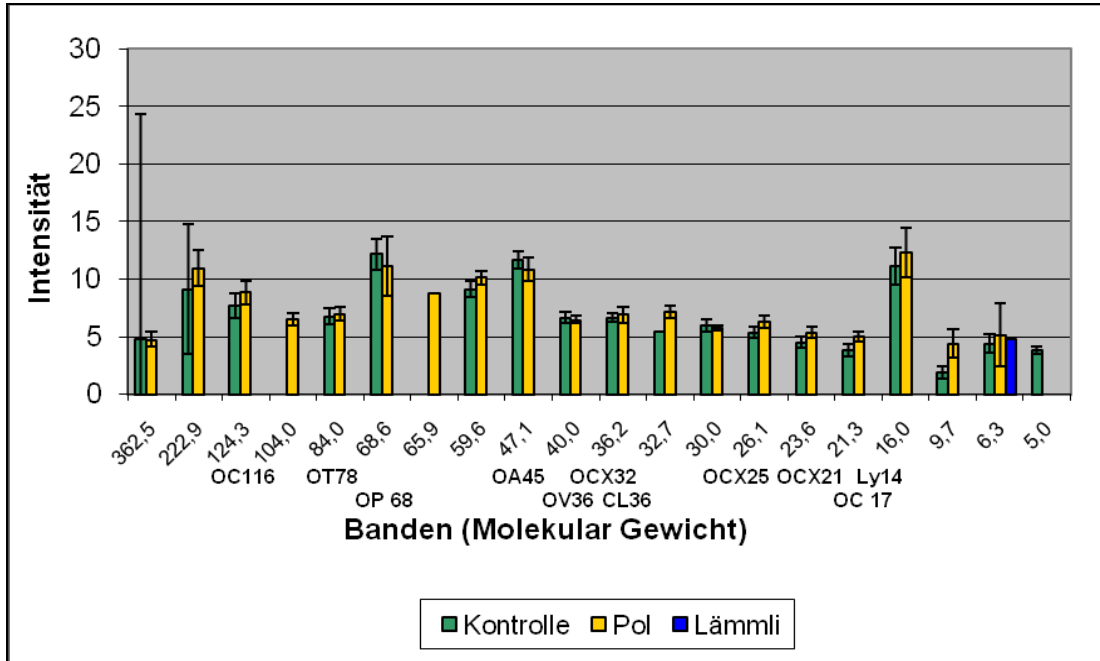


Abbildung 37: Molekulargewichtsbanden Eischalenproteine Tag 1 in kDa, (n=8 Eier), Pol = poldefekte Eier, Lämmli = Referenzprotein

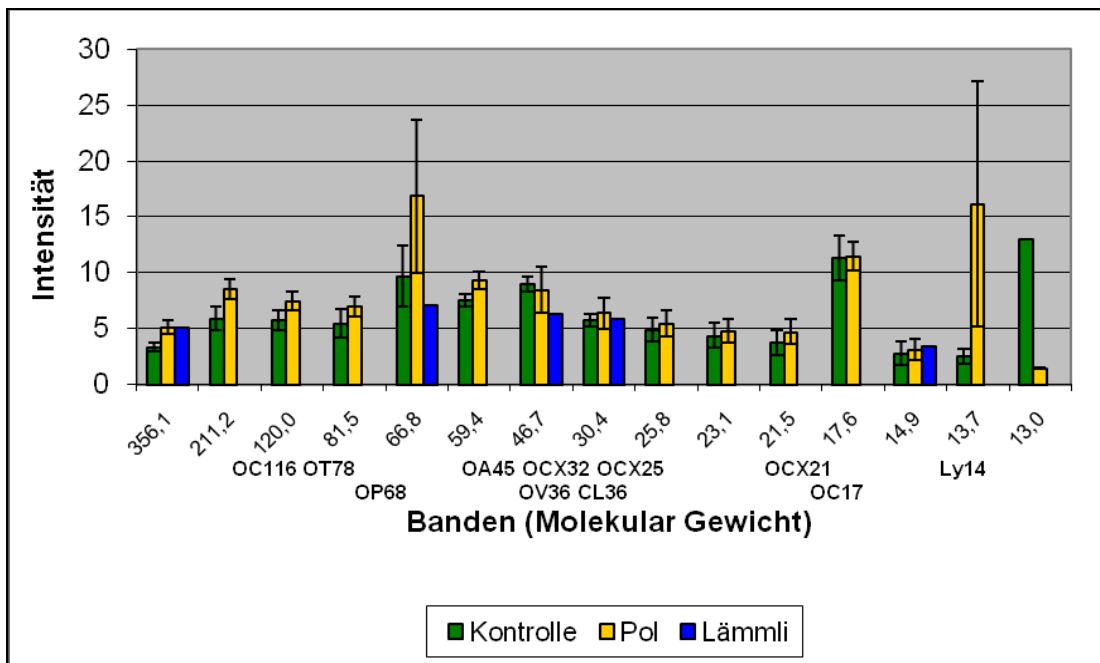


Abbildung 38: Molekulargewichtsbanden Eischalenproteine Tag 8 in kDa (n=8 Eier), Pol = poldefekte Eier, Lämmli = Referenzprotein

Legende Eischalenproteine und Molekulargewichte	
OC116:	Ovocleidin 116kDa
OT78:	Ovotransferrin 78kDa
OP68:	Osteopontin 68 kDa
OA45:	Ovalbumin 45 kDa
OV36:	Ovocalyxin 36kDa
CL36:	Clusterin 36kDa
OCX32:	Ovocalyxin 32kDa
OCX25:	Ovocalyxin 25kDa
OCX21:	Ovocalyxin 21kDa
OC 17:	Ovocleidin 17kDa
Ly14:	Lysozym 14-15kDa
Lämmli:	Referenzproteine mit definiertem Molekulargewicht

4.6.3.4 Ultrastrukturelle Analyse der Eischalen mittels Rasterelektronenmikroskopie

In der 65. Lebenswoche wurden aus der beobachteten Herde A zufällig zwei makroskopisch unauffällige Eier der Handelsklasse A sowie zwei Poleier entnommen, präpariert und vergleichend untersucht. Die Untersuchung umfasste die ultrastrukturelle Analyse der Bruchflächen der Schalen, sowie deren Außen- und Innenseiten. Kriterien waren hierbei die Dicke der Kalkschale an drei Stellen, die Dicke der Schalenmembran, die Erkennbarkeit der Schichtung des Eis, die Beschreibung der einzelnen Schichten, genauer die Beschreibung der Mammillarkörper, Palisadenschicht und Vertikalschicht sowie der Erhalt einer geschlossenen Kutikula.

Die Bruchfläche der Schalen der Kontrolleier war annähernd glatt. Eine charakteristische Schichtung in Mammillar-, Palisaden- und Vertikalschicht war bei den Kontrolleiern zu erkennen (Abbildung 39). Die Mammillarkörper der Kontrolleier saßen konisch auslaufend breit auf der Membran auf (Abbildung 39). Sie hatten einen Durchmesser von circa 50-100µm. Von ihrer Form her entsprechen sie den C-Cones (SOLOMON 1991). Die Membran war nur mit Substanzverlust von der Mammillarschicht ablösbar (Abbildung REM 40).

Im Vergleich dazu erschien die Bruchfläche der poldefekten Eier sehr rau. Von der Schichtung her konnte man nur die Mammillarschicht erkennen, die darüber liegenden Schichten waren sehr inhomogen abgelagert (Abbildung 41). Die Mammillarkörper saßen mit circa 10-50µm Durchmesser der Membran auf, sie waren oval-sphärisch und entsprechen von ihrer Form her den Typ B Mammillarkörpern (SOLOMON 1991). Sie hatten eine sehr glatte Oberfläche und standen wie „Ostereier“ auf der Membran (Abbildung 41 und 42). Diese runden Mammillarkörper hatten kaum eine Bindung zu den darüber liegenden Schichten (Abbildung 42 und 43), vielmehr schien die darüber liegende Schicht auf die präexistente Mammillarkörper durch Sedimentation aufgelagert (Abbildung 43) worden zu sein. Die Mammillarkörper hatten im Anschnitt eine radiäre Struktur (Abbildung 44 und 45). Sie waren im Polbereich des Eis so groß, dass sie die Schalenoberfläche aufrauen und diese wie eine „hügelige Landschaft“ erschien (Abbildung 46 und 47). Die Höhe der „Berge“ variierte von Ei zu Ei, aber auch abhängig von der Lokalisation im Ei. Die Schalendicke der zwei poldefekten Eier war im Polbereich mit $217 \pm 5 \mu\text{m}$ und $136 \pm 8,5 \mu\text{m}$ signifikant ($P < 0,05$) geringer als die der zwei Kontrolleier mit $317 \pm 0,5 \mu\text{m}$ beziehungsweise $331 \pm 0,5 \mu\text{m}$. Die Dicke der Schalenmembran war mit $34 \pm 0,2 \mu\text{m}$ und $36 \pm 0,3 \mu\text{m}$ bei den poldefekten Eier signifikant ($P < 0,05$) geringer, als die Membran der Kontrolleier mit $42 \pm 0,7 \mu\text{m}$ beziehungsweise $74 \pm 1,2 \mu\text{m}$. Die Kutikula war bei beiden Gruppen vollständig vorhanden.

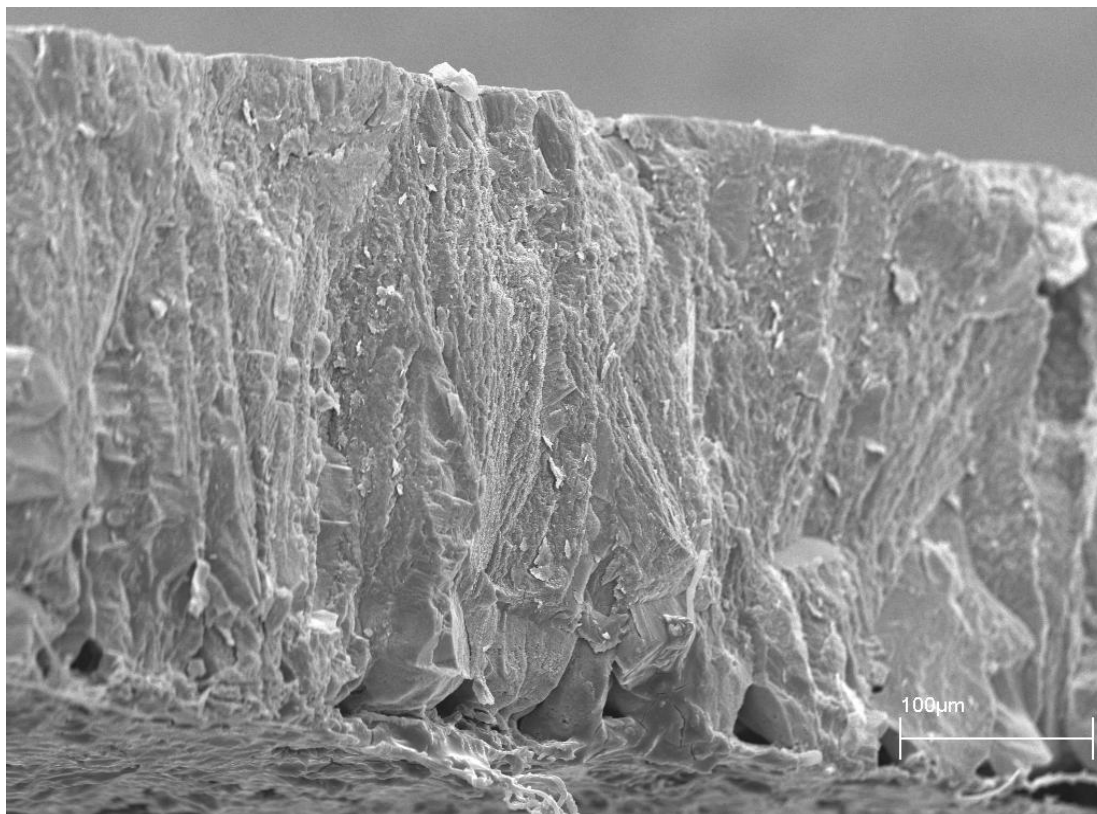


Abbildung 39: Kontrollei, normale Schichtung der Eischale, unten breit aufsitzende Mammillarkörper

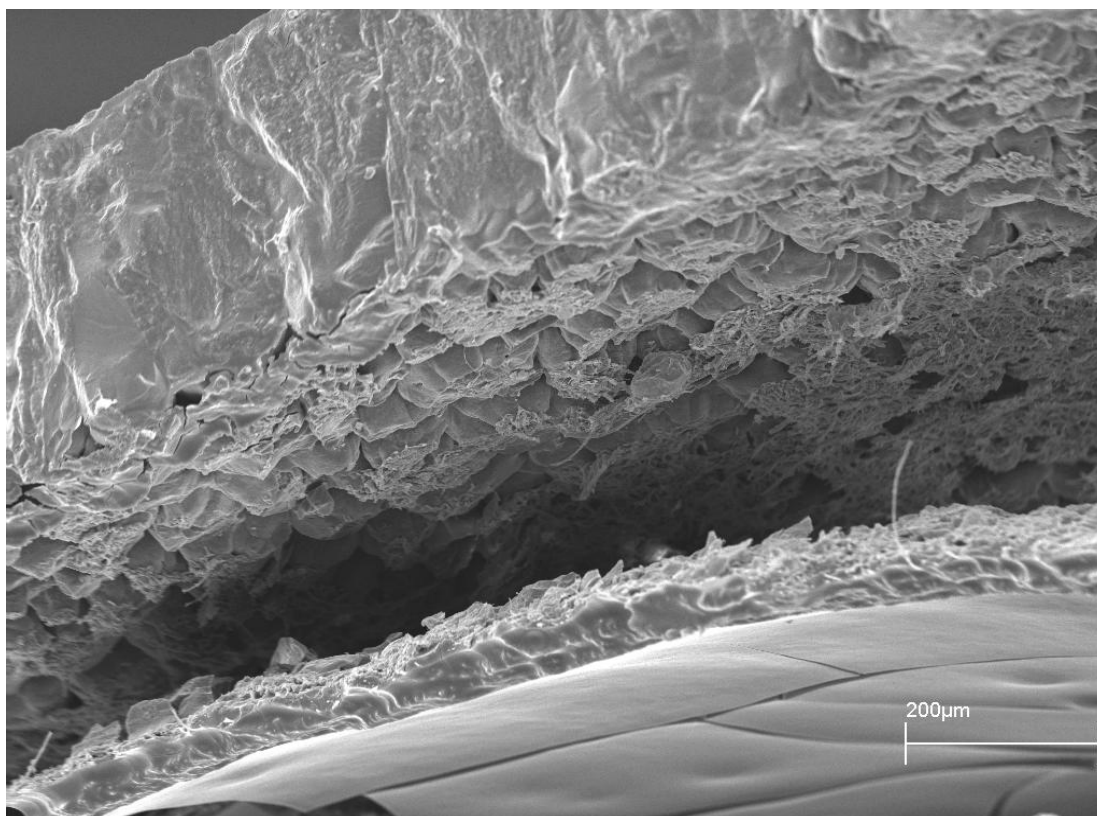


Abbildung 40: Kontrollei, Membran nur unter Substanzverlust von Mammillarschicht trennbar

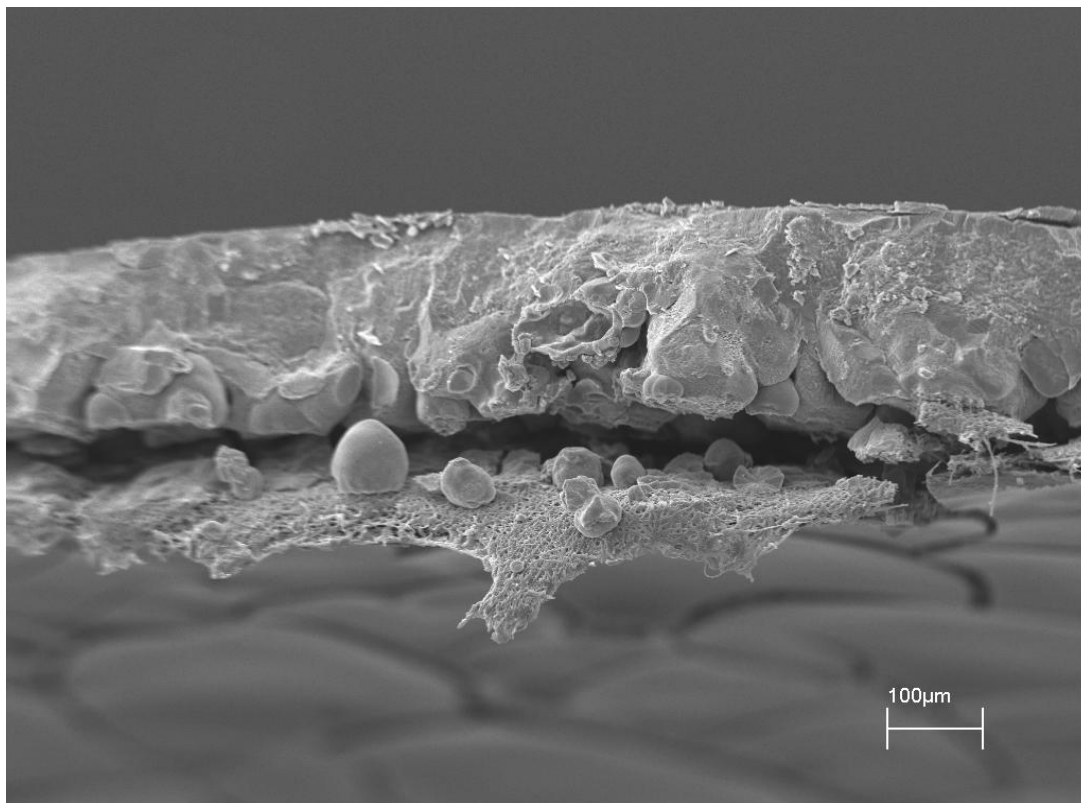


Abbildung 41: Inhomogene Schichtung der Bruchfläche der Eischale eines poldefekten Eies

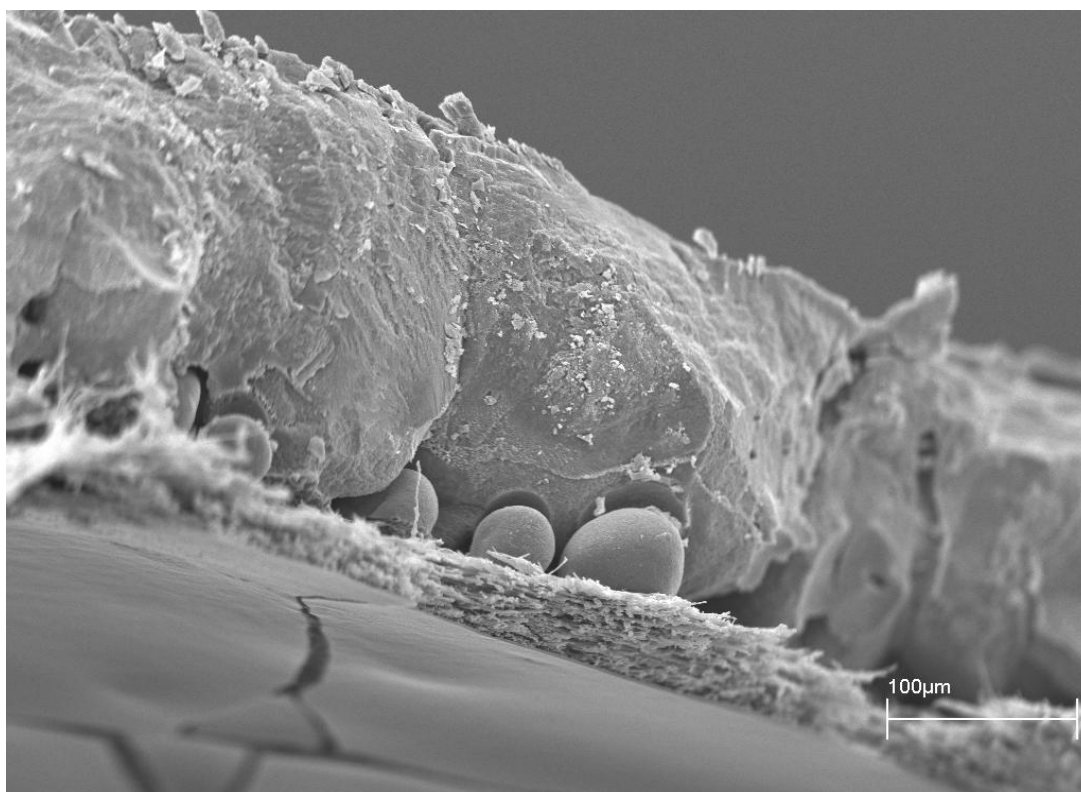


Abbildung 42: ovale Mammillarkörper vom Typ B sitzen wie Ostereier auf der äußeren Schalenmembran eines poldefekten Eis

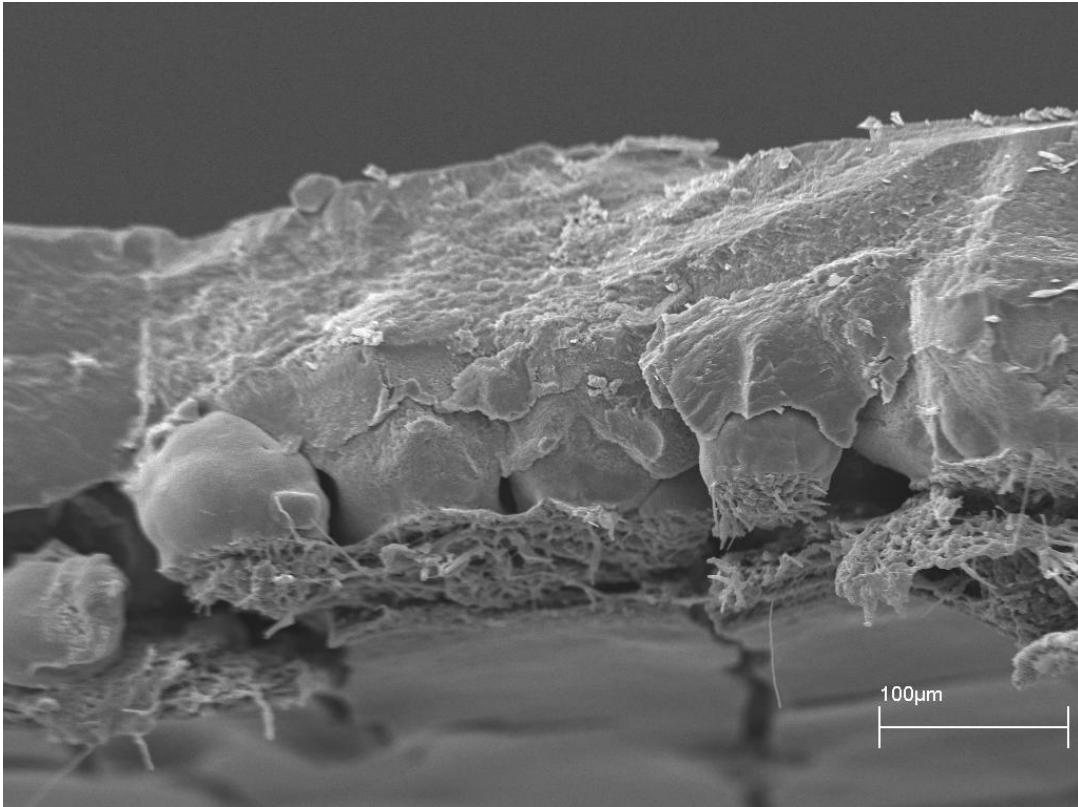


Abbildung 43: Poldefektes Ei, die äußere Kalkschicht ist ohne feste Bindung auf die Mammillarkörper aufgelagert

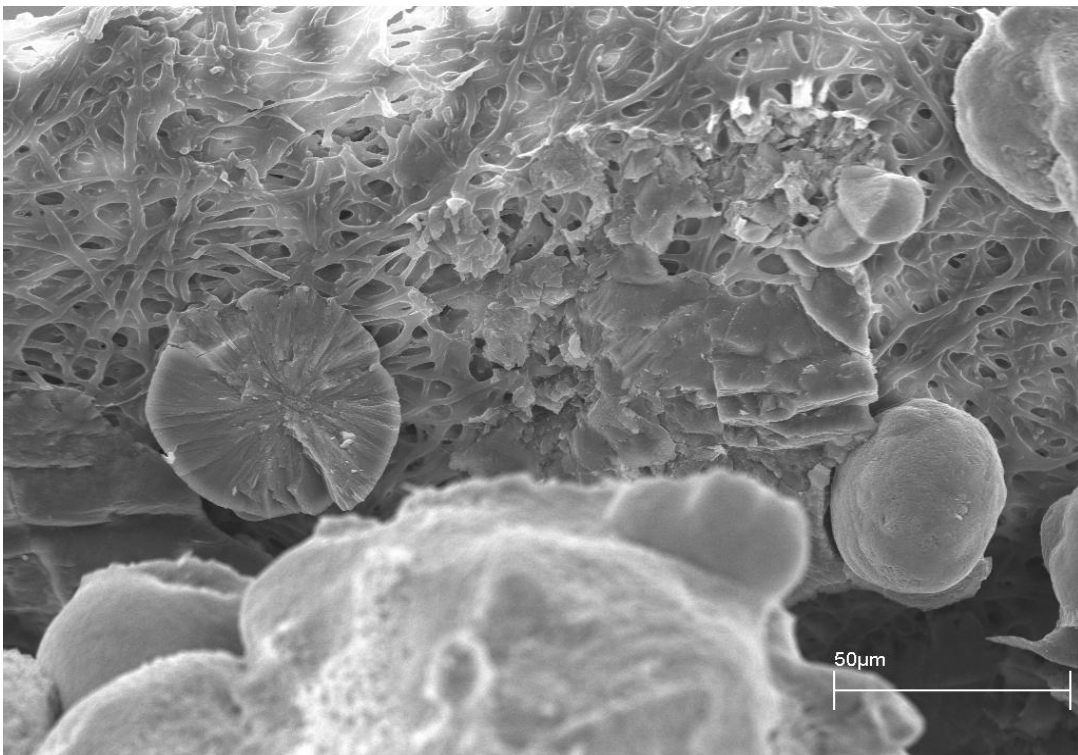


Abbildung 44: Poldefektes Ei, Aufsicht auf die Schalenmembran, radiäre Struktur eines Mammillarkörpers

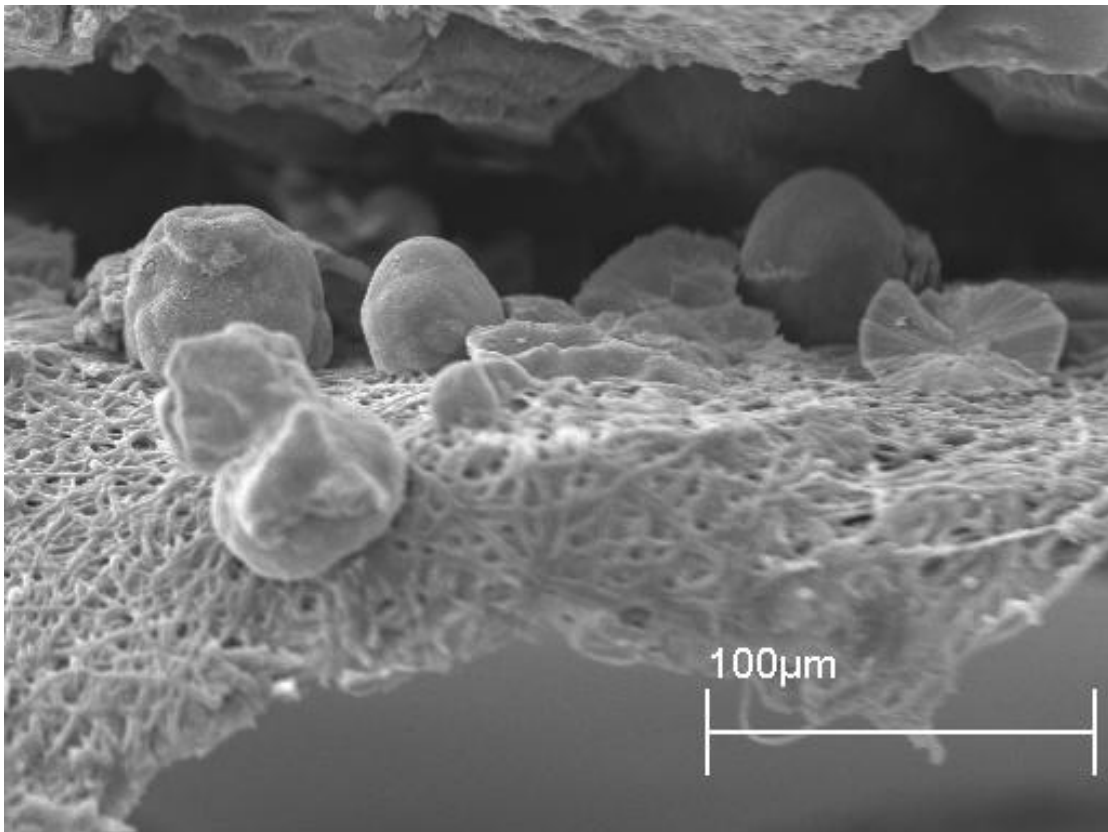


Abbildung 45: Poldefektes Ei, schräge Aufsicht Schalenmembran, Typ B Mammillarkörper mit radiärer Struktur im Querschnitt

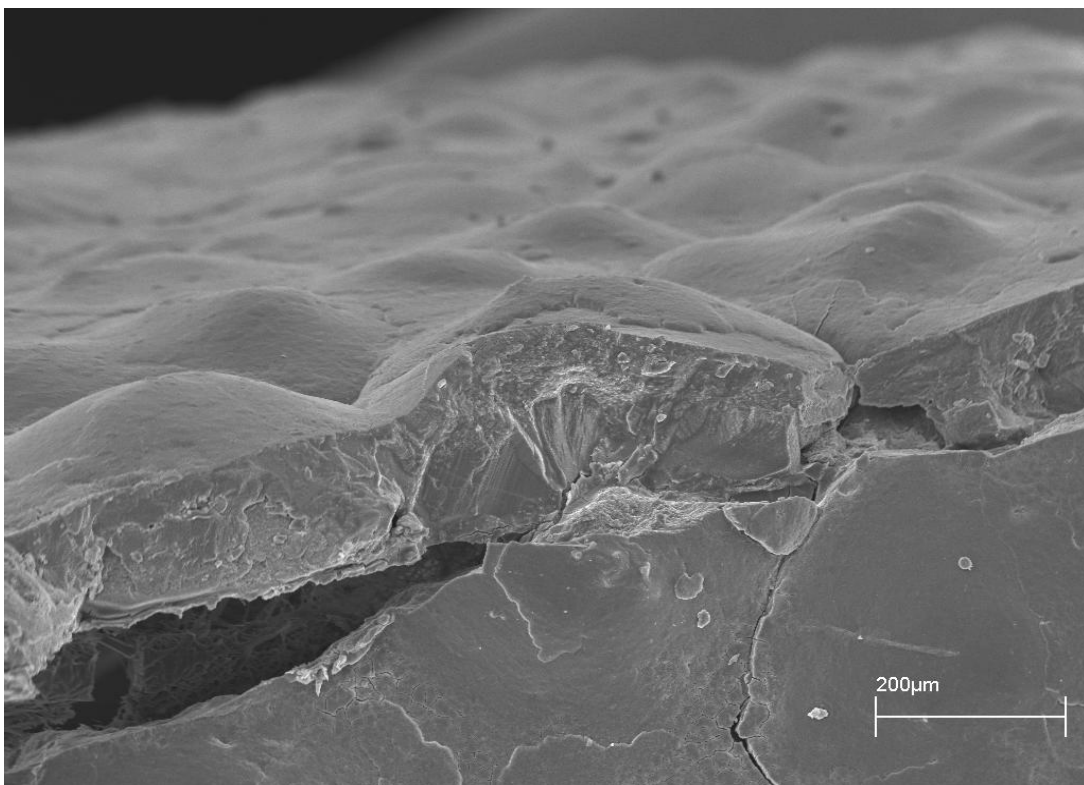


Abbildung 46: Poldefektes Ei, Aufsicht Eischale, "hügelige Landschaft", radiäre Struktur der Erhebungen



Abbildung 47: Poldefektes Ei, Aufsicht auf die Eischale im Eischalenspitzenbereich, hügelige Landschaft, Bild 180° gedreht

5 DISKUSSION

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse konnte erstmals nachgewiesen werden, dass die poldefekten Eier auch in Deutschland auftreten. Sie beeinflussten den Sekunda- und Bruchanteil und führten zu zusätzlichen Verlusten. Übereinstimmend mit den Arbeiten von FEBERWEE und LANDMAN (2008) und FEBERWEE et al. (2009) ist ein kausal-pathogenetischer Zusammenhang zwischen einer Infektion des Legedarms mit *MS* und dem Legen von poldefekten Eiern wahrscheinlich, wobei verschiedene Faktoren für die Infektion des Legedarms verantwortlich zu sein scheinen. Im Unterschied zu FEBERWEE et al. (2009) war bei seziierten Hühner, die poldefekte Eier legten, eine Salpingitis mit teilweise auftretendem Zilienverlust in den einzelnen Abschnitten des Ovidukts nachweisbar.

Fraglich war weiterhin, ob poldefekte Eier die qualitativen Anforderungen von Eiern der Güteklasse A erfüllen. Erstmals wurde dafür eine intensive vergleichende Untersuchung der inneren und äußeren Qualitätsmerkmale von poldefekten Eiern und normalen Eiern durchgeführt. Die für die Eifrische relevanten Größen wichen bei den poldefekten Eiern zwar teilweise signifikant von den Kontrolleiern ab. Die poldefekten Eier erfüllten trotzdem - soweit ihre Schale intakt war - die formalen Anforderungen an frische Eier der Güteklasse A nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 598/2008. Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Eischale der poldefekten Eier ergab eine sowohl in Struktur als auch im Durchmesser erheblich von der Norm abweichende Schalenstruktur im Vergleich zu normalen Eiern, die strukturellen Abweichungen erlaubten erstmals Rückschlüsse auf die formale Pathogenese bei der Ausbildung des Defekts.

5.1 Auftreten poldefekter Eier in dem untersuchten Bestand

Poldefekte Eier traten in allen untersuchten Herden auf, sie machten allerdings einen relativ geringen Anteil aus. Der Anteil poldefekter Eier schwankte in den einzelnen Herden zwischen 0,5 und 2% der Legeleistung, wobei jede Herde ihre eigenen stärkeren, von der erwähnten Klimaschwankung unabhängigen, Anstiege hatte. Dies ließ auf ein langsames, infektiöses Krankheitsgeschehen mit individuellem Verlauf in jeder Herde schließen. Für alle Herden gab es eine Korrelation zwischen poldefekten Eiern und Schmutzeiern sowie Bruch- und Fließeiern: je mehr poldefekte Eier auftraten, umso höher war der Schmutzeianteil sowie der Anteil an Bruch- und Fließeiern. Besonders auffällig war dies in Herde A, die über den gesamten Beobachtungszeitraum den höchsten Anteil an poldefekten Eiern, analog dazu den höchsten

Sekundaanteil und fast immer den höchsten Schmutzeanteil hatte. Dieses Phänomen ließ sich durch die verringerte Schalenstabilität der poldefekten Eier erklären. Das Ei war während des Transportes vom Huhn zur Packstelle mechanisch stark beansprucht. Zerbrach ein poldefektes Ei auf dem Sammelband, im Elevator oder in der Packanlage, wurden häufig die umliegenden Eier durch austretendes Eiklar und Dotter verschmutzt und in der Packstelle als schmutzige Eier der Güteklasse B zugeführt. Jedes Ei mit einer geringeren Schalenstabilität und damit auch jedes poldefekte Ei stellte ein Risiko dar, mehrere andere Eier durch Verschmutzung in die Sekundafraktion zu ziehen.

Bedeutend war die Selektion der „Polhennen“, also jener Hühner, die mindestens ein poldefektes Ei gelegt hatten. Sie legten im gesamten Beobachtungszeitraum fast keine normalen Eier mehr. Bei ungestörtem Allgemeinbefinden der Hühner ließ diese Beobachtung auf ein Problem in der Eischalenbildung schließen. Dieser Prozess schien irreversibel. Hatte ein Huhn einmal begonnen, poldefekte Eier zu legen, legte es fast keine normalen Eier mehr. Bemerkenswert war, dass die Eier der „Polhennen“ bereits am Käfig bei Abnahme und Sortierung per Hand einen Bruch- und Fließeanteil zwischen 27 und 38% hatten. Es erschien hoch wahrscheinlich, dass diese Eier bei normalem Transport bis zur Packstelle auslaufen und andere Eier verschmutzen würden. Der Zusammenhang zwischen poldefekten Eiern und verschmutzten Eiern konnte damit sowohl bei den selektierten Polhennen als auch bei den einzelnen Herden nachgewiesen werden

Alle Herden zeigten trotz des Auftretens der poldefekten Eier eine gute Legeleistung. Sie lag bei kleineren Schwankungen im Bereich der Anforderungen an die Hybriden *LSL* und *LB* aus der Legeleistungsprüfung (BUDDE et al. 2004), damit war der Einfluss der poldefekten Eier auf die Legeleistung eher unbedeutend. Auffällig war der hohe Sekundaanteil an der Legeleistung, wobei die schmutzigen Eier die größte Fraktion ausmachten. Die beiden frühen Anstiege der Sekunda- und Schmutzeikurve in der 38. und 46. Lebenswoche waren wahrscheinlich durch ein klimatisches Phänomen zu erklären. In diesen Zeiträumen stiegen die Außentemperaturen und analog die Hallentemperatur deutlich an, woraufhin die Hühner eine vermehrte Wasseraufnahme zeigten. Hieraus resultierte ein höherer Wasseranteil in Kot und Harn. Der flüssigere Kot verschmutzte die Eier bei der Eiablage, die feuchten, verklebten Federn im Kloakenbereich verschmutzten die Eier zusätzlich. Der Anstieg der Bruch- und Fließeier am Ende der Legeperiode erklärte sich aus dem physiologischen Anstieg des Eigewichtes zum Ende der Legeperiode bei konstanter Kalziumaufnahme. Die schwereren Eier hatten bei einem konstanten Schalengewicht einen geringeren Schalenanteil pro Eimasse und daher eine verringerte Stabilität. Je älter die Hühner wurden, umso höher wurde damit der

Bruch- und Fließeianteil. Zusammenfassend erhöhte das Auftreten der poldefekten Eier zwar den Anteil der verschmutzten Eier, hatte aber keinen Einfluss auf die Legeleistung an sich.

5.2 Nachweis von *MS* und *MG* in Legehennen und poldefekten Eiern

Fast alle untersuchten Hühner hatten Kontakt mit *MS*. Bei 84% der untersuchten Junghennen konnten *MS*-Antikörper nachgewiesen werden, so dass ein erster Kontakt mit *MS* bereits in der Aufzucht erfolgt sein muss. Die *MS*-Antikörpertiter stellten sich teilweise extrem hoch dar und variierten zwischen den einzelnen Herden sehr stark, was sowohl an den unterschiedlichen Rassen (LB/LSL) als auch an den verschiedenen benutzten ELISA-Testkit-Chargen liegen konnte. Bei allen Herden übereinstimmend hatten jedoch die „Polhennen“ einen signifikant höheren *MS*-Antikörpertiter als die Kontrollhühner. Ursächlich könnte ein zweiter Infektionsherd sein. Das Immunsystem der betroffenen Hühner wäre mit einem zweiten Infektionsherd im Legedarm stärker mit dem Erreger konfrontiert, die statistisch nachweisbare Mehrproduktion an *MS*-Antikörpern könnte die Folge dessen sein. Es bestand bei allen drei Herden mit Selektionstieren übereinstimmend ein Zusammenhang zwischen hohen *MS*-Antikörpertitern und dem Legen von poldefekten Eiern.

MS- und *MG*- Antikörpertiter zeigten eine sehr starke Korrelation zueinander. Die Hühner zeigten klinisch keinerlei Anzeichen einer *Gallisepticum*-Mykoplasmosen. Selbst die Junghennen waren zu 48% positiv auf *MG*-Antikörper, auch hier zeigten sich in der gesamten Aufzuchtperiode keine klinischen Symptome. Darüber hinaus konnte bei keiner der untersuchten Hennen *MG*-DNA aus dem Trachealtupfer amplifiziert werden. Kreuzreaktionen der Antikörper von *MS* und *MG* mit dem entsprechenden Antigen wurden publiziert (YAMAMOTO 1983, PATTEN et al. 1984, HIGGINS 1986). Die *MG*-Antikörpertiter stellten damit wahrscheinlich falsch positive Reaktionen des *MG*-ELISAs auf die vorhandenen extrem hohen *MS*-Antikörpertiter dar.

Da in allen untersuchten Herden inklusive der Aufzucht *MS*-DNA im Trachealabstrich nachgewiesen werden konnte, muss von einer Durchseuchung der Hühner des Betriebes ausgegangen werden, wobei der überwiegende Teil der Hühner normale Eier legte. Der Trachealabstrich war dementsprechend als Nachweisverfahren für Hühner, welche poldefekte Eier legten, ungeeignet. Im Unterschied hierzu konnte im Kloakenabstrich nur bei legenden Hühnern *MS*-DNA amplifiziert werden, die untersuchten Junghennen waren im Kloakenabstrich übereinstimmend negativ für *MS*-DNA, obwohl sie im Trachealabstrich alle positiv auf *MS*-DNA waren. Eine Erklärung hierfür könnte in der Physiologie des Legeakts liegen. Bei der Eiablage stülpt sich die Vagina in den Kloakenausgang vor. Mykoplasmen aus dem Legedarm könnten über Eileitersekret und den Schleimhautkontakt in die Kloake gelangen

und sich dort nachweisen lassen. Bei Hühnern mit poldefekten Eiern war statistisch signifikant häufiger *MS*-DNA aus der Kloake amplifizierbar gegenüber den Kontrolltieren. Diese These stützen auch die Ergebnisse der Legedarmabstriche aus der Sektion von fünf „Polhennen“, allerdings war die Anzahl der Tiere gering und es wurden vergleichend keine Kontrolltiere untersucht. Aus allen fünf Tieren konnte aus verschiedenen Abschnitten des Ovidukts *MS* isoliert und angezchtet werden. Im Unterschied zu den Angaben von FEBERWEE et al. (2009) zeigten die fünf seziierten „Polhennen“ eine katarrhalische bis katarrhalisch-eitrige Salpingitis welche neben den entzündlichen Reaktionen auch durch einen teilweise auftretenden Zilienverlust in den einzelnen Abschnitten des Ovidukts charakterisiert war. Die *MS*-DNA ließ sich in den poldefekten Eiern signifikant häufiger nachweisen als in den Kontrolleiern. Bei der Untersuchung der Kompartimente war das Eiklar signifikant häufiger positiv in der PCR getestet worden als das Eidotter, so dass die Mykoplasmen möglicherweise bei der Bildung des Eiklars im Ovidukt in das Ei gelangten.

Eine Assoziation zwischen dem Auftreten von poldefekten Eiern und der Besiedlung des Legedarms mit *MS* schien damit analog zu FEBERWEE et al. (2009) wahrscheinlich, wenn auch nicht im Infektionsversuch nachgewiesen. Schlussfolgernd verursachte eine Besiedlung des Legedarms mit *Mycoplasma synoviae* *MS*-DNA positive Eiklar-, Ovidukt- und Kloakentupfer. Der Kloakenabstrich wäre damit als Nachweisverfahren für einzelne Hühner, die poldefekte Eier legen, geeignet, wenn auch sehr teuer und aufwendig.

Statistisch sprachen damit alle Ergebnisse für eine Assoziation zwischen *MS* und den poldefekten Eiern, wobei auch andere Ursachen (Immunitätslage gegen *IBV/ND*, Belüftung) prädisponierend wirken konnten. Die absolute Kausalpathogenität von *MS* als Erreger des Poldefekts konnte mit dieser Arbeit aufgrund des fehlenden Infektionsversuchs nicht eindeutig nachgewiesen werden, dieser wurde jedoch bei Legehennen (FEBERWEE et al. 2009) und bei Broiler-Elterntieren (FEBERWEE und LANDMAN 2010) bereits durchgeführt. Analog zu DUFOUR-GESBERT et al. (2006) war kein signifikanter Einfluss auf die Legeleistung feststellbar, dies widersprach den Ergebnissen von LANDMAN und FEBERWEE (2003) sowie STIPKOVITS (1992), die Legeleistungsverluste feststellten. Analog zu KÖHN et al. (2009) bestand kein Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik und *MS*-positiven Tieren und Herden. Sowohl die Arbeit von DUFOUR-GESBERT et al. (2006) als auch die Arbeit von KÖHN et al. (2009) waren als epidemiologische Studien angelegt, die die Prävalenz des Erreger *MS* nachweisen sollten. Die poldefekten Eier könnten aufgrund ihres anteilig geringen Auftretens schlicht übersehen gewesen - oder anderen Schalenveränderungen (z. B. *IBV*, *EDS*, Kalzium- und Vitaminversorgung) zugeordnet gewesen sein.

5.2.1 Weitere prädisponierende Faktoren für das Legen von poldefekten Eiern

Bei den Impfantikörpern hatten die Hühner mit poldefekten Eiern signifikant niedrigere *IB*-Antikörpertiter, was auf eine durchschnittlich geringere Immunität gegen das *IB*-Virus (*IBV*) schließen lässt (WOERNLE und HAFEZ 1992). Eine *IBV*-Infektion (*IBV*-D1466) führte als ein Faktor synergistisch mit *MS* zu poldefekten Eiern (FEBERWEE et al. 2009). Eine schlechte Immunitätslage gegen *IBV* erhöht die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der Erkrankung bei einzelnen Tieren und könnte daher einen Faktor für das Auftreten der poldefekten Eier darstellen. Die Hühner mit poldefekten Eiern hatten in allen Herden ebenfalls signifikant niedrigere *ND*-Antikörpertiter als die Kontrollhühner. Ob dieser Faktor ein ätiologischer Aspekt in der Entstehung von poldefekten Eiern war, ist fraglich. Der Unterschied könnte in der Art und Weise der Impfung begründet liegen, die *IB*- und *ND*- Lebendimpfstoffe wurden den Herden identisch mittels Trinkwasservakzination verabreicht, im Vergleich korrelieren beide Antikörpergruppen sehr stark. Bei den anderen untersuchten Antikörpertitern (*EDS*, *ILT*, *AE*, *IBD*) ließ sich kein Unterschied zwischen Hühnern, die poldefekte Eier legten und den Kontrollhühnern feststellen. Besonders die Infektion des Eileiters mit dem *EDS*-Virus war für die Schalenstabilitätsprobleme sowie als prädisponierender Faktor für die Entstehung der poldefekten Eier in den untersuchten Herden unwahrscheinlich.

Die Infektion mit *MS* und *MG* erfolgt in der Regel mittels Tröpfcheninfektion, prädisponierend wirken andere Erkrankungen oder Schädigungen des Respirationstrakts (HINZ und BEHR 2005). Es erschien daher sinnvoll, die selektierten Tiere auch nach ihrer ursprünglichen Lokalisation in der Halle zu untersuchen. Die Tiere, die vor der Selektion im Bereich der Zuluft saßen, zeigten niedrigere *MS*-Antikörpertiter als jene Gruppen in Abluft und Gang. Die *MS*-DNA war im Kloakenabstrich im Bereich Gang und Abluft signifikant häufiger nachweisbar als im Bereich Zuluft. Ursächlich für diese ungleiche Verteilung könnten viele Faktoren sein. Alle Hühner waren unabhängig von der Lokalisation in der Halle im Trachealabstrich positiv für *MS* und sind damit potentielle Keimträger und Keimausscheider. Die Käfige im Außengang wurden direkt von der Zuluft versorgt (Gruppe Zuluft), Käfige in den Innengängen (Gang) sowie Käfige im Mittelgang (Abluft) bekamen ihre Luft erst nach dem Kontakt der Luft zu anderen Hühnern. Die Abluftgruppe saß in Zeitperioden intensiver Lüftung (Sommerhitze) direkt in der Zugluft, was einen zusätzlichen belastenden Faktor darstellte. Eine Akkumulation der Mykoplasmen in den Wassertröpfchen der ausgeatmeten Luft könnte eine Erhöhung des Infektionsdrucks für die Hühner im schlechter belüfteten Gang bedeuten. Hühner im Bereich der Abluft wurden neben dem höheren Infektionsdruck zusätzlich durch zeitweise sehr starke Zugluft belastet, was potentiell die respiratorischen Epithelien schädigen könnte. Ebenfalls

könnten Hühner im Bereich Gang und Abluft stärker durch Staub, Feinstaub, Ammoniak, Schwefelverbindungen und andere Schadgase aus dem Kot belastet sein. Alle diese Faktoren würden den Respirationstrakt schädigen und wirkten prädisponierend für Infektionen in diesem Bereich. Möglicherweise konnte sich *MS* in der Folge stärker gegen das Immunsystem behaupten, die Lungen-Blut-Schranke durchbrechen und sich nach einer Bakteriämie im Legedarm festsetzen. Eine schlechte Luftführung kann sich daher als ein Faktor prädisponierend auf das Vorkommen von poldefekten Eiern in Legehennenbeständen auswirken. Die reine Besiedlung des Legedarms mit *MS* verursachte nicht zwingend poldefekte Eier, denn auch aus Eiern der Güteklasse A sowie aus den Kloakenabstrichen einiger Kontrollhennen konnte *MS*-DNA amplifiziert werden. Analog zur respiratorischen Form der Erkrankung schien ein multifaktorielles Krankheitsgeschehen für die graduellen Veränderungen im Legedarm verantwortlich zu sein (STIPKOVITS 1992).

Eine Eradikation von *MS* aus den Hühner- und Putenbeständen wird nicht in absehbarer Zeit zu erreichen sein. Eine Optimierung des Herdenmanagements und des Impfregimes gegen Erkrankungen des Legedarms, sowie gegebenenfalls stallspezifische *MS*-Vakzinen könnten als prophylaktische Maßnahmen möglicherweise dem Auftreten von poldefekten Eiern entgegenwirken.

5.2.2 Bedeutung der poldefekten Eier für den Produzenten

Aufgrund der hohen Prävalenz von *MS* in deutschen Legehennenbeständen ist es wahrscheinlich, dass poldefekte Eier auftreten. Die Frage ist, warum dieses weder Produzenten noch Verbrauchern bisher aufgefallen ist. Der Grund dafür könnte sein, dass sich der Poldefekt relativ unauffällig in den Beständen zeigte. Der Produzent würde wie im untersuchten Betrieb die Schalenstabilitätsprobleme zwar feststellen, aber diese nicht mit dem Poldefekt in Verbindung bringen. Zunächst war der prozentuale Anteil poldefekter Eier an der Legeleistung mit 0,5 bis 2% in den untersuchten Herden eher gering. Außerdem stieg der Anteil poldefekter Eier nur langsam an. Von den Selektionstieren konnte man ableiten, dass circa ein Viertel bis ein Drittel Bruch- und Fließeier hinzuzurechnen sind, sowie hellchalige Eier bei den braunen Hybriden, die man auch nicht unbedingt mit dem Poldefekt in Verbindung bringen würde. Bei der Sortierung in den Packstellen war der Poldefekt eigentlich nur bei weißen Eiern mit bloßem Auge zu sehen, die braunen Eier mussten durchleuchtet werden, um den Defekt zu erkennen. Selbst bei den weißen Eiern wurde bei der Sortierung wahrscheinlich ein großer Anteil poldefekter Eier nicht erfasst, da der Poldefekt je nach Lage des Eies nicht sichtbar war und das Hauptaugenmerk auf den verschmutzten Eiern lag. In der Regel wurden die Eier in der Packstelle anschließend von einem Crack-Detektor auf Mikroläsionen und Lichtsprünge der

Eischale untersucht. An diesem Punkt wurden die poldefekten Eier bei kleinsten Sprüngen der Eischale als Sekundaware aussortiert, dies funktioniert vollautomatisch und in einer sehr hohen Geschwindigkeit, hier fielen die poldefekten Eier ebenfalls nicht auf. Die „stillen Verluste“ an Technik und Kotband waren für den Produzenten nur schwer quantifizierbar und wurden nicht in erster Linie mit den poldefekten Eiern in Verbindung gebracht. Außerdem verursachten Eier mit einer geringeren Schalenstabilität indirekte Verluste, indem sie durch ihren Bruch irgendwo in der Sammeltechnik andere Eier verschmutzten sowie die Arbeits- und Reinigungskosten erhöhten. Es ist wahrscheinlich, dass die Legehennen, die einmal poldefekte Eier legten, für den Rest der Legeperiode keine normalen Eier mehr legten. Sie zeigten keinerlei klinische Anzeichen einer Erkrankung und fraßen normale Futtermittel, konnten aber annähernd keine normalen Eier produzieren.

Aufsummiert entstand dem Betrieb ein erheblicher wirtschaftlicher Verlust. Jedes Ei der Güteklasse B war im Untersuchungszeitraum anstatt circa 7ct im Verkauf als Güteklasse A nur noch 4ct im Verkauf an die Eiproduktindustrie wert, was einem Verlust von 3ct pro Ei entsprach (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2009). Nicht in der Statistik quantifizierbar waren die „stillen Verluste“, also jene Eier die auf dem Weg vom Huhn zur Packstelle verloren gingen. Dies waren einerseits Eier, die beim Transport zerbrachen und deren Schalen dann an den Übergabestellen der Bänder herunterfielen, andererseits Eier, deren Stabilität so gering war, dass sie beim Legeakt direkt an den Käfigstreben hängenblieben und vom Huhn auf das Kotgitter durchgetreten wurden. Beides trat in den Herden mit poldefekten Eiern vermehrt auf, ließ sich jedoch nicht quantifizieren. Zu dem Verlust der Eier an sich kamen daher zusätzlich ein vermehrter Arbeitsaufwand für die Reinigung der Abnahmetechnik sowie die Entsorgung der heruntergefallenen Eierteile hinzu. Eine Beispielrechnung mit vereinfachten Beispielwerten aus den Legeleistungsfractionen der untersuchten Herden und der Selektionstiere ist in Tabelle 3 aufgeführt. Nach diesem Beispiel würde ein Anteil poldefekter Eier von nur 2% von 100.000 gelegten Eiern unter Berücksichtigung der anderen durch die poldefekten Eier auftretenden Fractionen zu einem Verlust am Verkaufserlös von 19.000ct beziehungsweise 190 Euro pro Tag führen, was wirtschaftlich durchaus bedeutend wäre. Nicht eingerechnet sind die zusätzlichen Arbeitskosten für die Reinigung, die zusätzlichen Entsorgungskosten für die Bruch- und Fließeier und der stärkere Verschleiß der Eiersammeltechnik durch die stärkere Verschmutzung.

5 DISKUSSION

Tabelle 3: Beispielrechnung für Verluste am Verkaufserlös durch poldefekte Eier

Fraktion	% an aLL (Bsp.)	Absolute Zahl Eier/d	Einordnung in Güteklasse (GKL)	Verlust Verkaufserlös*/d
absolute Legeleistung (aLL)	100%	100.000	-	-
Poldefekte Eier	2%	2.000	GKL B	6000ct
Schmutzei durch Bruch poldefektes Ei	2%	2.000	GKL B	6000ct
Bruch- und Fließeier der Polhennen	0,5%	500	Entsorgung	3500ct
„stille Verluste“ der Polhennen	0,5%	500	Entsorgung	3500ct
Verwertbare Legeleistung	98,5%	98.500	-	Σ 19.000ct

* durchschnittlicher Verkaufserlös Stand Juli 2009 (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2009): A-Ware = 7ct/Ei, B-Ware = 4ct/Ei

Die Eierproduzenten mit Schalenstabilitätsproblemen sollten über das Auftreten von *MS* induzierten poldefekten Eiern und die „stillen Verluste“ informiert und für diese Problematik sensibilisiert werden. Aufgrund der hohen Prävalenz ist eine Erregerfreiheit von *MS* kaum zu erreichen. Da im Moment in Deutschland kein Impfstoff gegen *MS* zugelassen ist, könnten sich die Betriebe bestandsspezifische Vakzinen herstellen lassen. Die Impfung des gesamten Bestandes gegen *MS* vor der Legereife könnte sich je nach Betrieb und Auftreten von poldefekten Eiern durchaus rechnen, wenn der Impfstoff einen ausreichenden Impfschutz auch gegen die Poleiform der *MS*-Infektion gewährleistet. Dies müsste im Infektionsversuch überprüft werden.

5.3 Güte Merkmale der poldefekten Eier

5.3.1 Äußere Qualität

Der auffälligste Unterschied bei der Untersuchung der äußeren Qualität war die signifikant geringere Schalenstabilität der poldefekten Eier im Vergleich zu den Kontrolleiern sowie zum Rassestandard (BUDDE et al. 2004). Die Deformation korrelierte bei allen Gruppen negativ mit der Schalenstabilität. Die poldefekten Eier wichen bei der Deformation analog zur Stabilität signifikant von den Kontroll- und Referenzwerten ab. Die Eischalenspitzen der Gruppe „Pol A“

hielten mit 11,4N nur ca. ein Viertel der Belastung der Referenzherde aus und zeigten Deformationswerte von über 0,6mm. Die Schalenstabilität der Kontrolleier ist im Gegensatz dazu mit über 40N sogar höher als die des Rassestandards. Ursächlich hierfür könnte die mehrmalige Verabreichung von Vitamin D im Verlauf der Legeperiode sein, die den Legehennen eine höhere Kalziumresorption aus dem Magen-Darm-Trakt ermöglicht. Die hohe Schalenstabilität der Kontrolleier zeigte, dass der größte Teil der Herden keine Schalenstabilitätsprobleme hatte. Die in der Anamnese erhobenen Schalenstabilitätsprobleme stammen wahrscheinlich zu einem großen Teil von den poldefekten Eiern. Es ist ebenfalls wahrscheinlich, dass der Hauptanteil an mit Eiinhalt verschmutzten Eiern vom Bruch der instabilen poldefekten Eier herrührt beziehungsweise dass sie auch einen großen Teil der Brucheier ausmachten. Die Schalenfarbe der braunen poldefekten Eier war oft signifikant heller als die der Kontrolleier, auch waren die Farbpigmente (a- und b-Wert) signifikant verändert. Diese Abweichung von den Kontrolleiern und vom Rassestandard ist wahrscheinlich durch die fehlerhafte Kalzifizierung der Schale verursacht und spielt lebensmittelhygienisch keine Rolle. Für den Einzelhandel ist eine konstante braune Farbe der Eier allerdings relevant. Braune Eier haben in Deutschland einen Marktanteil von über 60% (persönliche Mitteilung, JUTTA SCHMIDT, Neukirchen, 2009). Die poldefekten Eier wichen teilweise signifikant von der gezüchteten standardisierten braunen Farbe der *LB*-Hybriden mit dem L-Wert bei circa 60, dem a-Wert bei circa 15 und dem b-Wert bei circa 26 ab (BUDDE et al. 2004). Eine verringerte Akzeptanz dieser helleren Eier beim Verbraucher ist möglich, besonders da jedes dritte dieser poldefekten Eier Fleischflecken enthält. Übereinstimmend mit FEBERWEE et al. (2009) trat damit eine Veränderung der Eiqualität von poldefekten Eiern im Vergleich zu normalen Eiern auf, die Eischalen der poldefekten Eier waren dünner, ihr Aufbau verändert, die Schalenstabilität signifikant geringer. Zusätzlich waren in der vergleichenden Untersuchung die Haug-Units der poldefekten Eier signifikant niedriger, es traten bei braunen Eiern vermehrt Fleischflecken sowie Farbabweichungen auf. Dies widerspricht BRANTON et al. (1997b), MOHAMMED et al. (1987) und OPITZ (1983), die keinen negativen Einfluss auf die Qualität der Eier durch *MS* nachwiesen – wobei diese Autoren auch Stichproben aus den Eiern der untersuchten Herden entnahmen und nicht speziell nach poldefekten Eiern suchten. Die Kontrolleier des untersuchten Bestandes waren hinsichtlich der Eiqualität nicht verändert.

5.3.2 Innere Qualität

Das trockene Schalengewicht sowie der Anteil der Schale am Gesamtgewicht des Eies an allen Untersuchungstagen waren signifikant niedriger als bei den Kontrolleiern. Der Unterschied zwischen den Gruppen von bis zu einem Gramm weniger Schale pro Ei beruht wahrscheinlich auf einem Mangel an Kalziumkarbonat, was mit 94% (GERSTBERGER und BARTH 1999) den überwiegenden Teil der Eischalenmatrix stellt. Ursächlich hierfür könnten Fehler bei der Eischalenbildung, verursacht durch die Besiedlung des Legedarms mit *MS* und die damit verbundenen entzündlichen Prozesse, sein. Die für die Eifrische relevanten Größen wichen bei den poldefekten Eiern teilweise signifikant von den Kontrolleiern ab. Die Luftkammerhöhe war an allen Untersuchungstagen bei den poldefekten Eiern signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies lässt sich wahrscheinlich durch eine gesteigerte Verdunstung durch die dünnere Eischale erklären. Die häufig auftretenden Mikroläsionen und Lichtsprünge verstärken wahrscheinlich ebenfalls die Verdunstung. Die Luftkammerhöhe blieb allerdings bis zum 22. Tag nach dem Legen unter 6mm, der maximalen Luftkammerhöhe für frische Eier nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 598/2008. Die Haugh-Units und Eiklarhöhen der poldefekten Eier in der Untersuchung der inneren und äußeren Qualität waren teilweise signifikant niedriger als die der Kontrolleier. Die poldefekten Eier haben bereits nach dem Legen eine signifikant geringere Eiklarhöhe. Die weißen poldefekten Eier wichen bereits am ersten Tag nach dem Legen, die braunen poldefekten Eier am 3. Tag nach dem Legen (aus Sicht der Untersuchung auf äußere Qualität) signifikant von den Kontroll- und Referenzwerten ab. Es ist daher wahrscheinlich, dass die poldefekten Eier bereits mit einer verminderten Eiklarhöhe gelegt werden. Ursächlich hierfür sind wahrscheinlich die Entzündungsprozesse im Rahmen der Besiedlung des Legedarms mit *MS*. Dotterindex und pH-Wert unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht signifikant. Die Korrelationen zwischen Alter und Luftkammerhöhe sowie die negative Korrelation zwischen Gewicht und Alter erklären sich aus den Verdunstungsprozessen im Laufe des Alterns. Die negativen Korrelationen zwischen Eiklarhöhe sowie Eidotterhöhe und Alter erklären sich wie die positive Korrelation zwischen Dotterbreite und Alter aus den physiologischen Alterungsprozessen des Eiklars beziehungsweise Eidotters. In den braunen poldefekten Eiern traten vermehrt Fleischflecken auf, diese waren beim Durchleuchten nicht sichtbar. Die Fleischflecken sind hygienisch nicht bedenklich, dennoch sind sie beim Aufschlagen des Eies ekelierend. Frische Eier der Handelsklasse A müssen nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 598/2008 ein klares Eiklar frei von Einlagerungen haben.

5.3.3 Spezielle Untersuchungen

Für eine Infektion über das Ei muss der Erreger vermehrungsfähig im Ei vorhanden sein. Die Erregerausscheidung erfolgt über alle Körpersekrete.

Aus den poldefekten Eiern ließ sich der Erreger *MS* jedoch nicht isolieren und anzüchten. Ursächlich hierfür kann die Ausscheidung einer zu geringen Erregerdosis sein. Die geringe Tenazität des Erregers könnte ebenfalls eine Rolle spielen. Die beprobten poldefekten Eier wurden allerdings im Gegensatz zu den Kontrolleiern mittels PCR *MS*-DNA positiv getestet. Das PCR ist ein sehr sensitives Verfahren (FEBERWEE et al. 2005) für den *MS*-Nachweis, das positive Ergebnis stammt daher wahrscheinlich von einer geringen Anzahl von Mykoplasmen beziehungsweise nicht vermehrungsfähigen oder abgestorbenen Mykoplasmen im Ei.

Aus Sicht des Verbraucherschutzes ist diese mikrobielle Kontamination als nicht bedenklich einzustufen, da *MS* nur Infektionen beim Geflügel verursacht (STIPKOVITS 1992) und damit kein zoonotisches Potential besitzt. Über die Rolle von *MS* als Verderbniserreger ist aus der Literatur nichts bekannt. Die optimale Stoffwechselleistung des Erregers wird in der Anzucht aerophil bei 37°C erreicht (in Frey-Agar nach Herstellerangaben von Fa. heipha Dr. Müller GmbH). Laut VO (EG) Nr. 853/2004 und Tierische Lebensmittel-Hygiene-VO (2007) müssen Eier bei konstanter Temperatur aufbewahrt werden, diese sollte aber der Raumtemperatur entsprechen. Die Kühlpflicht beginnt erst am 18. Tag nach dem Legen (Tierische Lebensmittel-Hygiene VO 2007). Damit sind die Mykoplasmen wahrscheinlich als Verderbniserreger bei normaler Lagerung unbedeutend. Eine Rolle spielen können sie allerdings bei Bruteiern die bei ca. 37°C inkubiert werden, eine vertikale Infektion ist über das Brutei für *MS* bei Hühnern (STIPKOVITS 1992) und Gänsen (BENCINA et al. 1988) beschrieben.

Die Analyse von Rohprotein, Rohfett sowie die Fettsäuredifferenzierung brachten keine signifikanten Unterschiede zwischen poldefekten Eiern und Kontrolleiern.

In der gelelektrophoretischen Analyse der organischen Matrix der Eischalen war in den Poleiern die Intensität der Proteinfraktion bei der 16±1,63kDa-Bande beziehungsweise in der zweiten Untersuchung bei der 14,5±0,54kDa-Bande jeweils höher als bei den Kontrolleiern. Dieser Unterschied konnte aufgrund der geringen Probenanzahl mit maximal 8 Eiern pro Gel nicht statistisch untermauert werden. Diese Fraktion könnte analog zum SDS-PAGE von NYS et al. (2004) zum größten Teil aus Lysozym bestehen, dessen Molekulargewicht zwischen 14kDa und 15kDa beträgt. Eine genauere Differenzierung dieser Bande wurde nicht durchgeführt.

5.3.4 Ultrastrukturelle Untersuchung der Eischalen mittels REM

Die rasterelektronenmikroskopische Analyse der poldefekten Eier ergab starke strukturelle Unterschiede zwischen poldefekten Eiern und Kontrolleiern. Die Kontrolleier entsprachen in Struktur und Durchmesser den Referenzwerten für Hühnereier (SOLOMON 1991). Die poldefekten Eier wichen sowohl in Struktur als auch im Durchmesser erheblich von der Norm ab. Die Mammillarschicht war in diesen Eiern nicht als solche erkennbar. Vereinzelt Mammillarkörper waren selten, sphärisch abgerundet und hatten keine effektive Bindung zur äußeren Kalkschicht, sie können optisch als Typ B Mammillarkörper angesprochen werden (SOLOMON 1991). Die eigentliche Palisadenschicht sowie eine Vertikalschicht waren nicht erkennbar, vielmehr scheint die komplette äußere Schicht der Schale durch eine ungerichtete Kalzifizierung entstanden zu sein. Die Schalenmembran war wie bei FEBERWEE et al. (2009) dicker als bei den Kontrolleiern, sie hatte keine effektive Bindung zur Kalkschale und blätterte teilweise ohne Substanzverlust ab, wobei die abgerundeten Mammillarkörper an der Membran haften blieben. Zu diesen strukturellen Defiziten kommt noch, dass die absolute Dicke der Kalkschale der poldefekten Eier analog zu FEBERWEE et al. (2009) am spitzen Eipol signifikant unter den Werten der Kontrolleier lag. Die deutlichen Veränderungen in Dicke und Struktur sind die Ursachen für die verminderte Schalenstabilität.

5.3.5 Bedeutung der poldefekten Eier für den Verbraucher

Die untersuchten poldefekten Eier erfüllten, soweit ihre Schale intakt war, zumindest formal die Anforderungen an frische Eier der Güteklasse A nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 598/2008. An den Eischalen der poldefekten Eier zeigten sich allerdings häufig Lichtsprünge und Mikroläsionen im Polbereich. Die Luftkammerhöhe war bei den poldefekten Eiern ab dem 22. Tag nach dem Legen im Durchschnitt über der Grenze von 6mm – zu diesem Zeitpunkt dürften sie aber sowieso nur noch als Eier der Güteklasse B vermarktet werden. Die Gütemerkmale Schalenfarbe, Haugh-Unit, Eiklarhöhe, Schalengewicht, Schalenstabilität und Deformation zeigen eine geringere Qualität der poldefekten Eier an, sind aber nicht gesetzlich verankert. Die zahlreichen Fleischflecken bei den braunen poldefekten Eiern sind Einlagerungen, die nicht in das klare, flüssige Eiklar gehören, diese sind allerdings beim Durchleuchten nur bedingt zu Erkennen.

Es ist fraglich, ob die veränderte Schale der poldefekten Eier in ihrer mikrobiologischen Barrierefunktion beeinträchtigt ist, eine Untersuchung auf eine vermehrte Kontamination der poldefekten Eier müsste noch durchgeführt werden.

Die poldefekten Eier kommen in der Güteklasse A vereinzelt im Einzelhandel vor (Abbildung

5 DISKUSSION

48). Wie häufig sie tatsächlich auftreten, müsste durch eine andere Untersuchung geklärt werden. Es ist schwierig abzusehen, inwiefern die Änderung der Haltungsbedingungen von Käfighaltung auf Boden- und Freilandhaltung in den nächsten Jahren das Vorkommen poldefekter Eier beeinflusst. Alternative Haltungssysteme zeigen eine im Vergleich zur Haltung in Käfig und Kleingruppe deutlich höhere Belastung der Luft mit zum Beispiel Ammoniak (GROOT KOERKAMP et al. 1998), was die Zilien nachhaltig schädigen kann (HINZ und BEHR 2005). Es ist zu erwarten, dass der Anteil respiratorischer Erkrankungen der Legehennen aufgrund der höheren Belastung der Atemluft steigt. Im Versuch konnte gezeigt werden, dass die *MS*-Antikörpertiter sowie der Nachweis von *MS*-DNA im Kloakentupfer (aus dem Legedarm stammend) durch die Luftführung beeinflusst werden. Der Erreger kann sich in vorgeschädigten respiratorischen Epithelien besser gegen das Immunsystem behaupten. Es wird sich zeigen, ob sich die Mehrbelastung der Luft in den neuen Haltungssystemen prädisponierend auf eine vermehrte Produktion von poldefekten Eiern auswirkt.



Abbildung 48: poldefektes Ei aus dem Einzelhandel, Bodenhaltung, Herkunft Niederlande (Stempel NL), unten rechts Durchleuchtung mit Schierlampe (Siepmann GmbH, Herdecke)

5.4 These zur formalen Pathogenese des Poldefektes

Ursächlich für die strukturellen Veränderungen könnten Störungen der Zusammensetzung des Uterussekrets im Laufe der Schalenbildung sein (NYS et al. 2004). In der pathologisch-histologischen Untersuchung des Legedarms von Hühnern mit poldefekten Eiern zeigte sich im Gegensatz zu FEBERWEE et al. (2009) das Bild einer katarrhalischen bis katarrhalisch-eitrigen Salpingitis. Die Uterindrüsen an sich schienen jedoch nicht verändert zu sein. Die gelelektrophoretische Analyse der organischen Matrix der Eischalen wies zwischen poldefekten Eiern und Kontrolleiern einen Unterschied der dem Lysozym zugeordneten Proteinfraction auf, der aufgrund der geringen Probenanzahl pro Gel statistisch nicht untermauert werden konnte.

Verschiedene Einflussfaktoren wie die Kalziumkarbonatkonzentration, pH-Wert-Schwankungen und ein veränderter Lysozymgehalt haben einen Einfluss auf das Mineralisationsmuster von Kalziumkarbonat (JIMENEZ-LOPEZ et al. 2003). Lysozym induziert und beschleunigt in niedrigen Dosen die Präzipitation von Kalziumkarbonat, hemmt sie aber in höheren Dosen (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al. 2003), was durch einen ionotropischen Effekt erklärt werden kann (ADDADI und WEINER 1992). Lysozym ist im Körper weit verbreitet, es wird außer für die Eiklar- und Schalenfraktionen im Uterus unter anderem auch in mononukleären Makrophagen und polymorphkernigen Granulozyten produziert (SALMON et al. 1974). Ohne Lysozym und mit niedrigen Spiegeln entstehen bei der Ausfällung perfekte rhomboedrische Calcitkristalle. Bei über 10 beziehungsweise 25mg Lysozym/ml wurden die Ecken zunehmend abgerundet, bei über 50mg Lysozym/ml war die Bildung von Calcit gehemmt, es formierten sich sphärische, abgerundete Gebilde (JIMENEZ-LOPEZ et al. 2003).

Es ist ätiologisch denkbar, dass eine subklinische bakterielle Besiedlung des Legedarms mit *MS* und die daraus resultierende Immunantwort des Körpers den Lysozymspiegel des Uterussekrets verschiebt beziehungsweise erhöht. Somit wird die Kristallstruktur des Kalziumkarbonats in den frühen Phasen der Eischalenbildung abgerundet, es bildet sich große, sphärische Mammillarkörper, aber keine Palisadenschicht aus. Die Mammillarkörper bilden keine der Belastung äquivalente Bindung zwischen organischer und anorganischer Matrix aus, dieses strukturelle Defizit der poldefekten Eier ließ sich in den REM-Untersuchungen nachweisen. Andererseits hemmt die höhere Lysozymkonzentration die Kalziumkarbonatpräzipitation an sich (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al. 2003), was sich in der signifikant verringerten Schalendicke sowie im geringeren Schalenanteil am Eiergewicht bei den poldefekten Eiern zeigt.

5 DISKUSSION

Die Verschiebung des Lysozymspiegels wirkt sich damit sowohl qualitativ als auch quantitativ negativ auf die Eischalenbildung aus. Das Resultat ist eine verringerte Schalenstabilität, das morphologische Korrelat der im Eischalenspitzenbereich sichtbare Defekt. Die Abbildung 49 bietet eine schematische Darstellung der unterstellten formalen Pathogenese des Eischalenpoldefekts.

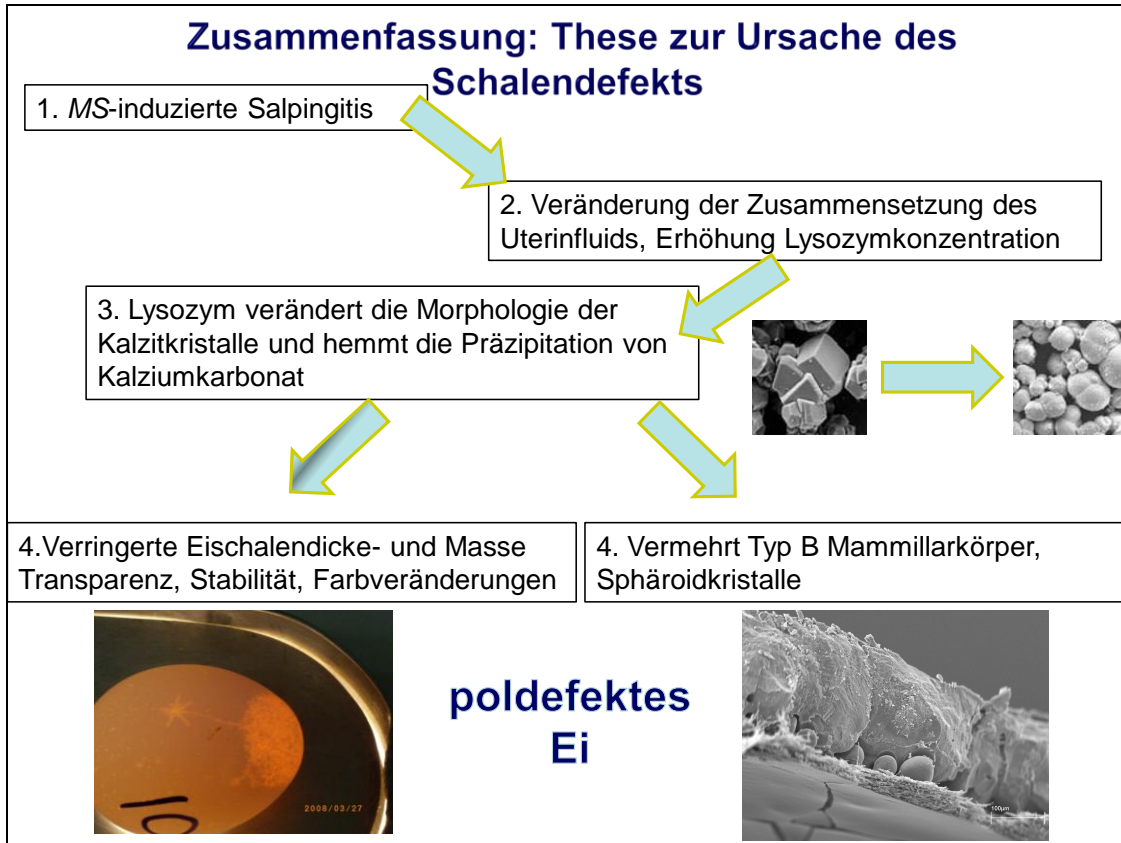


Abbildung 49: Übersicht formale Pathogenese des Poldefekts

6 ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY

6.1 Zusammenfassung

Martin Frederik Ranck

Mycoplasma synoviae- assoziierte Eischalenpoldefekte bei Legehennen
Klinik für Vögel und Reptilien und Institut für Lebensmittelhygiene der
Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Dezember 2010

99 Seiten, 49 Abbildungen, 3 Tabellen, 13 Anhänge, 138 Literaturangaben

Schlüsselwörter: Legehennen, *Mycoplasma synoviae*, Schalendefekt, Poldefekt

In einer klinisch-prospektiven Feldstudie wurden Legehennenherden untersucht, in denen poldefekte Eier auftraten. Aus 3 betroffenen Herden wurden hierzu gezielt 86 Hühner, die poldefekte Eier legten, sowie willkürlich 72 Hühner, die normale Eier legten, untersucht. Alle Herden zeigten eine gute Legeleistung und einen hohen Sekundaanteil von über 5% an der Legeleistung, wobei die verschmutzten Eier die größte Fraktion ausmachten. Je mehr poldefekte Eier auftraten, umso höher waren der Schmutzanteil sowie der Anteil an Bruch- und Fließeiern. Dieses Phänomen lässt sich durch die verringerte Schalenstabilität der poldefekten Eier erklären. Bei den auf poldefekte Eier selektierten Hühnern machten die poldefekten Eier den Hauptanteil der absoluten Legeleistung mit 46 bis 64% aus, sie hatten zudem einen Bruch- und Fließeanteil zwischen 27 und 38%. Der Bruch- und Fließeanteil hat die absolute Legeleistung gesenkt, aufgrund ihrer Instabilität gingen viele dieser Eier auf dem Weg vom Huhn zur Packstelle verloren. Hatte ein Huhn einmal begonnen poldefekte Eier zu legen, legte es fast keine normalen Eier mehr.

In der serologischen Untersuchung mittels ELISA hatten die Hühner aller drei Herden, welche poldefekte Eier legten, einen signifikant höheren Antikörpertiter ($p < 0,05$) gegen *Mycoplasma synoviae* (MS) im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Bei allen Hühnern konnte MS-spezifische DNA in Trachealabstrichen mittels PCR amplifiziert werden. Kloakenabstriche erwiesen sich mittels MS-PCR bei den Hühnern mit poldefekten Eiern zu 87% (n=72), bei den Kontrollhühnern dagegen nur zu 18% (n=13) als MS positiv. MS war darüber hinaus aus Legedarmabstrichen von fünf Hühnern, welche poldefekte Eier legten, kultivierbar.

Darüber hinaus wurden 49 poldefekte Eier und 43 Eier ohne Poldefekte im Eiklar auf *MS* untersucht. Bei fast allen poldefekten Eiern konnte im Eiklar *MS*-spezifische DNA nachgewiesen werden (n=48; 98%), im Unterschied zu den Kontrolleiern (n=11; 26%). Ein kausal-pathogenetischer Zusammenhang zwischen einer Infektion des Legedarms mit *MS* und dem Legen von Eiern mit Poldefekten ist den Ergebnissen folgend wahrscheinlich, wobei verschiedene Faktoren für die Infektion des Legedarms verantwortlich zu sein scheinen.

Bei der qualitativen Untersuchung hatten die poldefekten Eier eine signifikant ($p < 0.05$) geringere Schalenstabilität im Vergleich zu den Kontrolleiern. Die Eischalenspitzen der Gruppe „Pol A“ hielten mit 11,4N fast nur ein Viertel der Belastung der Referenzherde aus. Die hohe Schalenstabilität der Kontrolleier von über 40N zeigte, dass die Legehennen, die keine poldefekten Eier legten, keine Schalenstabilitätsprobleme hatten. Die Farbe der braunen poldefekten Eier war oft signifikant heller als die der Kontrolleier, auch waren die Farbpigmente (a- und b-Wert) signifikant ($p < 0,05$) verändert. Das trockene Schalengewicht war bei den poldefekten Eiern mit bis zu einem Gramm Unterschied pro Ei signifikant ($p < 0,05$) niedriger als bei den Kontrolleiern. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Eischale wurden an 2 poldefekten Eiern und 2 Eiern ohne Poldefekte durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass sich die poldefekten Eier sowohl in Struktur als auch im Durchmesser der Eischale erheblich von den Kontrolleiern unterschieden.

Es ist fraglich, ob die veränderte Schale der poldefekten Eier in ihrer mikrobiologischen Barrierefunktion beeinträchtigt ist. Die für die Eifrische relevanten Größen wichen bei den poldefekten Eiern teilweise signifikant von den Kontrolleiern ab. In den braunen poldefekten Eiern traten vermehrt Fleischflecken auf. Aus den poldefekten Eiern ließ sich der Erreger *MS* jedoch nicht isolieren und anzüchten. Die untersuchten poldefekten Eier erfüllten damit - soweit ihre Schale intakt war - die formalen Anforderungen an frische Eier der Güteklasse A nach VO (EG) Nr. 1234/2007 und 598/2008.

In der gelelektrophoretischen Analyse der organischen Matrix der Eischalen war in den poldefekten Eiern die Intensität der Lysozym zugeordneten Bande jeweils höher als in den Kontrolleiern, dies ließ sich jedoch statistisch nicht untermauern. Ätiologisch ist denkbar, dass eine subklinische bakterielle Besiedlung des Legedarms mit *MS* und die daraus resultierende Immunantwort den Lysozymspiegel des Uterussekrets erhöht. Die Verschiebung des Lysozymspiegels wirkt sich sowohl qualitativ als auch quantitativ negativ auf die Eischalenbildung aus. Das Resultat ist eine verringerte Schalenstabilität, das morphologische Korrelat der im Eischalenspitzenbereich sichtbare Defekt.

6.2 Summary

Martin Frederik Ranck

Mycoplasma synoviae- associated egg-pole shell defects in laying hens

Clinic for Birds and Reptiles and Institute of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Leipzig

Submitted in December 2010

99 pages, 49 figures, 3 tables, 13 apendices, 138 references

Keywords: laying hens, *Mycoplasma synoviae*, shell defect, egg-pole shell defect

Hens laying eggs with egg-pole shell defects (EPS) were examined in a clinical prospective study. 86 hens with EPS and 72 hens without EPS from 3 flocks were selected for this study. All examined flocks showed a good laying performance, although laying many eggs off quality class B. The rate was over 5 percent of all laid eggs, most of them were dirty eggs. There was a significant correlation between EPS-eggs and dirty eggs, although between EPS-eggs and broken- and thin shelled eggs. This phenomenon could be explained by the decreased eggshell strength of the EPS-eggs. The selected hens with EPS showed a rate between 46 and 64 percent EPS-eggs of all laid eggs, the rate of broken- and thin shelled eggs was between 27 and 38 percent. Those broken- and thin shelled eggs increased absolute laying performance, because of their instability many of them were lost on the way from the cage to the packing station. The selected hens with EPS produced almost no normal eggs. It could be shown that if a hen starts laying EPS-eggs, she is almost unable to lay normal eggs any more.

It could be proven serologically that hens with EPS had significant ($p < 0.05$) higher titers against *Mycoplasma synoviae* (MS) than hens without EPS. MS-DNA was detectable from the tracheal swab in all tested hens. PCR tested cloacal swabs for MS were more frequently positive from hens with EPS (n=72; 87%) than from hens without EPS (n=13; 18%). Furthermore MS could be cultivated from the oviduct of 5 hens with EPS. Additionally 49 Eggs with EPS and 43 Eggs without EPS were examined microbiologically. MS-DNA was detectable in the albumen of nearly all eggs with EPS (n = 48; 98 %), contrary to the eggs without EPS (n = 11; 26%). Due to the findings it is very likely that an infection of the oviduct with MS results in eggs with EPS, whereas different factors may play an important role for the infection of the oviduct.

In the qualitative investigation EPS-eggs had a significant ($p < 0.05$) decreased pole eggshell strength than the eggs without EPS. The pole eggshell strength of the EPS-eggs of flock A (group "Pol A") was with 11,4N just about a quarter of the pole eggshell strength of the reference flock. Nearly all eggs without EPS had a pole eggshell strength over 40N. It could be shown that hens without EPS had no decreased eggshell strength. The color of the brown EPS-eggs was often significant brighter than color of brown eggs without EPS. Furthermore the color pigments of the EPS-eggs were significant ($p < 0.05$) changed. Dry eggshell weight was in EPS-eggs up until 1 gram difference significant ($p < 0.05$) lower compared to eggs without EPS. Scanning electron microscopy was performed in 2 eggs with EPS and 2 eggs without EPS. This investigation revealed that eggs with EPS showed considerable differences of the eggshell structure as well as the cross section dimension according to eggs without EPS.

It is doubtful whether the changed eggshell of EPS-eggs is impaired in its microbiological barrier function. The relevant variables for the freshness of the egg varied in the EPS-eggs in some cases significantly ($p < 0.05$) compared to the control eggs. In Brown EPS-eggs increased Meat-spots occurred. However, *MS* could not be cultivated from EPS-eggs. Therewith fulfilled the investigated EPS-eggs - if their shell was intact - the formal requirements for fresh eggs of grade A eggs under regulation VO (EG) No. 1234/2007 and 598/2008.

A gel electrophoretic analysis of the organic matrix of the eggshells of EPS-eggs and normal eggs was made. Intensity of the lysozyme-associated band was in the EPS eggs respectively higher than in the control eggs. However, this could not be proven statistically. Etiologically is conceivable that subclinical bacterial colonization of the hens oviduct with *MS* and the resulting immune response increases the lysozyme level in the uterine secretions. The shift of the lysozyme level affects both quantitatively and qualitatively negative on the eggshell formation. The result is a decrease in shell strength. The morphological correlate is the visible eggshell pole defect.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Abril JR, Barclay WR, Abril PG. Safe use of microalgae (DHA GOLD) in laying hen feed for the production of DHA-enriched eggs. *Egg Nutrition and Biotechnology*. CAB International 2000:197-202.

Addadi L, Weiner S. Control and design principles in biological mineralization. *Angewandte Chem. Int. Ed. Engl.* 1992;31:153-69.

Ahn DU, Sell JL, JO C, Chamruspollert M, Jeffrey M. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality of chicken eggs during refrigerated storage. *Poult Sci.* 1999;78:922-8.

Amtliche Methoden für die Untersuchung von Lebensmitteln. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG), Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Hrsg.): Band I (L), 2005; Methode L 05-00-14 Bestimmung des Gesamtlipidgehalts in Eiern und Eiprodukten, Methode L 05-00-15 Bestimmung des Rohproteingehalts in Eiern und Eiprodukten.

Ansari AA, Taylor RF, Chang TS. Application of enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibody to *Mycoplasma gallisepticum* infections in poultry. *Avian Dis.* 1982;27:21-5.

Antillon A, Scott ML, Krock L, Wasserman RH. Metabolic response of laying hens to different dietary levels of Ca, P and vitamin D. *Cornell Vet.* 1977;67:413-44.

Avakian AP, Kleven SH, Glisson JR. Evaluation of the specificity and sensitivity of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits, the serum plate agglutination test and the haemagglutination inhibition test for antibodies found in response to *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.* 1988;32:262-72.

Bäuerlein E. Calciumcarbonat. Kristallchemie: Calcit, Aragonit, Vaterit, amorphes Calciumcarbonat. Internetpublikation der Fakultät für Chemie und Pharmazie der LMU München. Ludwig-Maximilians-Universität München 2006 [zitiert am 24. April 2009]. Weblink: http://www.cup.uni-muenchen.de/ac/kluefers/homepage/L_biomineralisation.html.

- Bencina D, Tadina T, Dorrer D. Natural infection of geese with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* and egg transmission of the mycoplasmas. Avian Pathol. 1988;17:925-8.
- Bergquist DH. Measurable differences in the quality of egg products. Proceedings of the 6th Eur. WPSA-Conference Hamburg 1980. S. 232-45.
- Biesalski HK und Grimm P. Eicosanoide. In: Biesalski HK und Grimm P, Hrsg. Taschenatlas der Ernährung. 4. aktualisierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2002. S. 268-70.
- Bisgaard M. Influence of *Infectious bronchitis virus* on egg production, fertility, hatchability and mortality rate in chicken. Nord Vet Med. 1976;28:368-76.
- Blanch A und Grashorn MA. Ernährungsphysiologische Bedeutung der Omega-3-Fettsäuren und Möglichkeiten der Anreicherung in Eiern. Arch. Geflügelkd. 1996;60:49-58.
- Bock RR, Shore LS, Samberg Y, Pearl S. Death in broiler breeders due to salpingitis: Possible role of zearalenone. Avian Pathol. 1986;15:495-502.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1976;72:248-54.
- Branton SL, May JD, Lott BD, Maslin WR. Various blood parameters in commercial hens acutely and chronically infected with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. Avian Dis. 1997a;41:540-7.
- Branton SL, Lott BD, May JD, Maslin WR, Boyle, CR, Pharr GT. The effects of F strain *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, and the dual infection in commercial layer hens over a 44-week laying cycle when challenged before beginning of lay. Egg production and selected egg quality parameters. Avian Dis. 1997b;41:832-7.
- Budde FJ, Poteracki P, Simon I, Bracht W, Bering B, Rickert C et al. Legeleistungsprüfung für Hühner. Ergebnisse des Durchganges 2002 bis 2004. Landwirtschaftliches Wochenblatt Westfalen-Lippe. Schriftenreihe Warenteste 2004;21:11-36.

Burley RW, Vadehra DV. The avian egg: chemistry and biology. 4. Auflage New York: John Wiley & Sons International; 1989.

Carrino DA, Dennis JE, Wu TM, Arias JL, Fernandez MS, Rodriguez JP, et al. The avian eggshell extracellular matrix as a model for biomineralization. *Connect Tissue Res.* 1996;35:325-9.

Cowen B, Calnek BW, Menendez NA, Ball RF. Avian Adenoviruses: effect on egg production, shell quality and feed consumption. *Avian Dis.* 1978;22:459-70.

Dänicke S, Halle I, Jeroch H, Böttcher W, Ahrens P, Zachmann R et al. Effect of soy oil supplementation and protein level in laying hen diets on praecaecal nutrient digestibility, performance, reproductive performance, fatty acid composition of yolk fat and other egg quality parameters. *Eur J Lipid Sci Techn.* 2000;102:218-32.

Dominguez-Vera JM, Gautron J, Garcia-Ruiz JM, Nys Y. The effect of avian uterine fluid on the growth behavior of calcite crystals. *Poult Sci.* 2000;79:1014-7.

Dufour-Gesbert F, Dheilly A, Marois C, Kempf I. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. *Vet Microbiol.* 2006;114:148-54.

Dusanića D, Bercic RL, Cizelj I, Salmic S, Narat M, Bencina D. *Mycoplasma synoviae* invades non-phagocytic chicken cells in vitro. *Vet Microbiol.* 2009;138:114-9.

Dwivedi P, Burns RB. The natural occurrence of ochratoxin A and its effects in poultry. *World Poultry Sci J.* 1986;42:32-55.

Eder K, Hirche F, Brandsch C. Fütterung und ernährungsphysiologisch relevante Inhaltsstoffe im Ei. Proceedings 112. VDLUFA-Kongress; 2000; Stuttgart-Hohenheim. VDLUFA-Schriftenreihe 2000;55:6-20.

Feberwee A, de Vries TS, Landman WJ. Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farms. *Avian Pathol.* 2008;37:629-33.

Feberwee A, de Wit JJ, Landman W. Induction of eggshell apex abnormalities by *Mycoplasma synoviae*: field and experimental studies. *Avian Pathol.* 2009;38:77-85.

Feberwee A, Landman W. A novel eggshell pathology induced by *Mycoplasma synoviae*. *World Poultry (Holland)* 2008;24:22-3.

Feberwee A, Landman W. Induction of eggshell apex abnormalities in broiler breeder hens. *Avian Pathol.* 2010;39:133-7.

Feberwee A, Mekkes DR, de Wit JJ, Hartman EG, Pijpers A. Comparison of culture, PCR and different serologic tests for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infections. *Avian Dis.* 2005;49:260-8.

Fehlhaber K. Faktoren, die mikrobiellen Verderb bestimmen. In: Sinell HJ, Hrsg. Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4. neu bearbeitete Auflage Stuttgart: Parey Verlag; 2003. S. 111-25.

Fehlhaber K. Eier und Eiprodukte. In: Fehlhaber K, Kleer J, Kley F, Hrsg. Handbuch Lebensmittelhygiene. 1. Auflage Hamburg: Behr's Verlag; 2007. XII: S.1-14.

Gautron J, Hincke MT, Nys Y. Precursor matrix proteins in the uterine fluid change with stages of eggshell formation in hens. *Connect Tissue Res.* 1997;36:195-210.

Gautron J, Hincke MT, Panheleux M, Garcia-Ruiz JM, Boldicke T, Nys Y. Ovotransferrin is a matrix protein of the hen eggshell membranes and basal calcified layer. *Connect Tissue Res.* 2000;42:255-67.

Gautron J, Hincke MT, Mann K, Panheleux M, Bain M, McKee MD, Solomon SE, Nys Y. Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein. Isolation, amino acid sequencing, cloning, and immunocytochemical localization. *J Biol Chem.* 2001;276:39243-52.

Gerstberger R und Barth SW. Reproduktion beim Vogel. Struktur und Funktion des Oviduktes. In: Breves G und Engelhardt WV, Hrsg. Physiologie der Haustiere, 1. Auflage Stuttgart: Enke Verlag; 1999. S.560-2.

Gertler MM, Garn SM, Lerman J. The interrelationships of serum cholesterol, cholesterol esters and phospholipids in health and in coronary artery disease. *Circulation*. 1950;2:205-14.

Groot Koerkamp PWG, Metz JHM, Uenk GH, Phillips VR, Holden MR, Sneath RW et al. Concentrations and emissions of ammonia in livestock buildings in Northern Europe. *J. Agric. Res.* 1998;70:79-95.

Günther F, Burckhart O. Nachweis und Bestimmung der Leucin-Aminopeptidase (Aminosäure-Arylamidase) im Eiklar. *Eur Food Res Technol.* 1969;141:17-22.

Haugh RR. The Haugh unit for measuring egg quality. *US Egg Poult. Mag.* 1937;43:552-73.

Heffels-Redmann U, Kaleta E F. Weitere Infektionen mit Hühneradenoviren. In: Siegmann O und Neumann U, Hrsg. *Kompendium der Geflügelkrankheiten*, 6. aktualisierte und erweiterte Auflage Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S.179-80.

Hess M, Monreal G. Egg Drop Syndrome 1976. In: Siegmann O und Neumann U, Hrsg. *Kompendium der Geflügelkrankheiten*, 6. aktualisierte und erweiterte Auflage Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S.174-5.

Hernández-Hernández A, Navarro AR, García-Ruiz JM. Influence of model proteins on the precipitation of calcium carbonate. *Proceedings 16th Eur. Symp. on the quality of poultry meat and 10th European symposium on the quality of eggs and egg products*; 2003; Saint-Brieuc, France. S.28-34.

Higashihara M, Hiruma M, Houdatsou T, Takai S, Matumoto M. Experimental infection of laying chickens with *Egg-Drop-Syndrome 1976 Virus*. *Avian Dis.* 1987;31:193-6.

Higgins PA, Whithear KG. Detection and differentiation of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* antibodies in chicken serum using enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis.* 1986;30:160-7.

Hincke MT, Tsang CPW, Courtney M, Hill V and Narbitz R. Purification and immunochemistry of a soluble matrix protein of the chicken eggshell (ovocleidin 17). *Calcif. Tissue Int.* 1995;56:578-83.

Hincke MT, Gautron J, Panheleux M, Garcia-Ruiz J, McKee MD, Nys Y. Identification and localization of lysozyme as a component of eggshell membranes and eggshell matrix. *Matrix Biol.* 2000;19:443-53.

Hincke MT, Guest S, Gautron J and Nys Y. Quality of eggs and egg products. Proceedings 16th Eur. Symp. on the quality of poultry meat and 10th European symposium on the quality of eggs and egg products; 2003; Saint-Brieuc, France. S.783-790.

Hinz KH, Behr KP. Aviäre Mykoplasmen. In: Siegmann O und Neumann U, Hrsg. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 6. aktualisierte und erweiterte Auflage Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S.266-274.

Howell WH, Sim JS, Nakai S, Guenter W. Food cholesterol and its plasma and lipoprotein response: Is food cholesterol still a problem or overstated? CAB International, Egg Nutrition and Biotechnology 2000;15-24.

Hummel G. Weibliche Geschlechtsorgane, Physiologie der Fortpflanzung, Aufbau des Eies. In Löffler, K und Strauch D, Hrsg. Anatomie und Physiologie der Vögel. 1. Auflage Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer; 2000. S.180-191.

Hunton P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. *Brazilian Jour. Poultry Sci.* 2005;7:67-71.

Husveth F, Rosza L, Magyar L, Bali G, Paposci P. N-3 fatty acid enrichment of table eggs by adding a fish oil preparation. *Arch. Geflügelk.* 2003;67:198-203.

Jeroch H. Einfluss von pflanzlichen Ölen im Legehennenfutter auf das Fettsäurenmuster des Eidotterfettes. *UFOP-Schriftenreihe* 2003;20:111-7.

Jimenez-Lopez C, Rodriguez-Navarro A, Dominguez-Vera JM, Garcia-Ruiz JM. Influence of lysozyme on the precipitation of calcium carbonate: a kinetic and morphologic study. *Geoch. Cosmoch. Acta.* 2003;67:1667-76.

Jones JF, Whithear KG, Scott PC, Noormohammadi AH. Onset of immunity with *Mycoplasma synoviae*: comparison of the live attenuated vaccine MS-H (Vaxsafe MS) with its wild-type parent strain (86079/7NS). *Avian Dis.* 2005;50:82-7.

Kaleta EF. Newcastle-Krankheit. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band I: Allgemeiner Teil und Spezieller Teil 1.* Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 590-625.

Kaleta EF und Werner O. Newcastle-Krankheit. In: Siegmann O und Neumann U., Hrsg. *Kompendium der Geflügelkrankheiten. 6. aktualisierte und erweiterte Auflage* Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S. 143-7.

Kawakubo Y, Kume K, Yoshioka M, Nishiyama Y. Histo- and immuno-pathological studies on experimental *Mycoplasma synoviae* infection of the chicken. *J Comp Pathol.* 1980;90:457-67.

Keshavarz K. The effect of variation of Ca intake on production performance and shell quality. *Poult Sci.* 1986;65:2120-5.

Klaczinski K. Erkrankungen der eibildenden und ableitenden Organe. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band II: Spezieller Teil 2.* Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 685-9.

Kleven SH. Control of avian *Mycoplasma* infections in commercial poultry. *Avian Dis.* 2008; 52:367-74.

Köhn S, Spargser J, Ahlers C, Voss M, Bartels T, Rosengarten R, Krautwald-Junghanns ME. Vorkommen von Mykoplasmen in Legehennenbeständen im Verlauf der Legeperiode. *Berl. Münchn. Tierärztl. Wochenschr.* 2009;122:186-92.

Kolb E. Vitamin D. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band II: Spezieller Teil 2. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 500-8.

Kolb E. Der Kalziumstoffwechsel bei Legehennen und seine Beziehung zur Eischalenqualität. Monatsh. Vet. med. 1979;34:305-10.

Krautwald-Junghanns ME und Hinz KH. Mykotoxikosen. In: Siegmann O und Neumann U., Hrsg. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 6. aktualisierte und erweiterte Auflage Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S. 283-7.

Lämmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970;227:680-5.

Lakshminarayanan R, Joseph JS, Kini RM, Valiyaveetil S. Structure-function relationship of avian eggshell matrix proteins: a comparative study of two major eggshell matrix proteins, ansocalcin and OC-17. Biomacromolec. 2004;6:741-51.

Lancaster JE. Newcastle disease – a review 1926 - 1964. Canadian department of agriculture 1966;3:23-9.

Landman WJM., Feberwee A. The clinical and economic relevance of *Mycoplasma synoviae*. World Poultry (Holland). 2003;19:22-3.

Lavelin I, Meiri N, Pines M. New insight in eggshell formation. Poult Sci. 2000;79:1014-7.

Levisohn S, Kleven SH. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). Rev Sci Tech. 2000;19:425-42.

Luck MR, Scanes CG. The relationship between reproductive activity and blood Ca in the Ca-deficient hen. Br Poult Sci. 1979;20:559-64.

Mann K, Gautron J, Hincke MT, McKee MD, Schneider WJ, Nys Y. Clusterin is an egg white and egg shell protein. Proceedings 16th Eur. Symp. on the quality of poultry meat and 10th

European symposium on the quality of eggs and egg products; 2003a; Saint-Brieuc, France. S. 771-782.

Mann K, Gautron J, Nys Y, McKee MD, Bajari T, Schneider WJ, Hincke MT. Disulfide-linked heterodimeric clusterin is a component of the chicken eggshell matrix and egg white. *Matrix Biol.* 2003b;22:397-407.

Mann K, Macek B, Olsen JV. Proteomic analysis of the acid-soluble organic matrix of the chicken calcified eggshell layer. *Proteomics.* 2006;13:3801-10.

Mann K, Olsen JV, Macek B, Gnad F, Mann M. Phosphoproteins of the chicken eggshell calcified layer. *Proteomics.* 2007;7:106-15.

Markham FS, Wong SC. Chronic respiratory disease. *Poult Sci.* 1952;31:902-3.

Mayr A. Infektiöse Bronchitis des Huhnes. Newcastle disease. In: Mayr A, Hrsg. *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.* 8. überarbeitete Auflage Stuttgart: Enke Verlag; 2006. S. 255-66.

McFerran JB, McCracken RM, McKillop ER, McNulty MS and Collins DS. Studies on depressed egg production syndrome in Northern Ireland. *Avian Pathol.* 1978;7:35-47.

Miksík I, Eckhardt A, Sedláková P, Mikulíková K. Proteins of insoluble matrix of avian (*Gallus gallus*) eggshell. *Connect Tissue Res.* 2007;48:1-8.

Moalic PY. Improving mycoplasmosis control using PCR technology. *World Poultry (Holland).* 2002;7:39-40.

Mohammed HO, Carpenter TE, Yamamoto R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Dis.* 1987;31:477-82.

Monira KN, Salahuddin M, Miah G. Effect of breed and holding period on egg quality characteristics of chicken. *Int. Journal of Poult. Sci.* 2003;4:261-3.

Monreal G. Aviäre Adenovirus-Salpingitis (AAVS). In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band I: Allgemeiner Teil und Spezieller Teil 1. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 394-9.

Nelson JB. Nelson's coryza. J exp med. 1936;63:509-15.

Nys Y, Gautron J, McKee MD, Garcia-Ruiz JM, Hincke MT. Biochemical and functional characterization of eggshell matrix proteins in hens. World Poultry Sci. Jour. 2001;57:401-13.

Nys Y, Gautron J, Garcia-Ruiz JM, Hincke MT. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. Comptes Rendus Palevol. 2004;3:549-62.

Odabasi AZ, Miles RD, Balaban MO, Portier KM. Changes in brown eggshell as the hen ages. Poult Sci. 2007;86:356-63.

Oguro Y. Leg abnormality associated with dietary excessive calcium carbonate in broiler chicks. National Institute of Animal Health Quarterly 1981 (Japan);21:141-7.

Olson NO. *Mycoplasma synoviae* infection. In: De Vries L, Hofstad MS, Biester HE, Beach JR, Becker ER, Benbrook EA, Hrsg. Diseases of Poultry. 8. Auflage. Iowa City: Iowa State University Press, Ames-Verlag; 1984. S. 212-20.

Opitz HM. *Mycoplasma synoviae* infections in Maine's egg farms. Avian Dis. 1983;27:324-6.

Opitz HM, Cyr MJ. Indirect micro-enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Mycoplasma synoviae* and *M. gallisepticum*. Avian Dis. 1983;27:773-86.

Ouchi T, Yasuhisa M, Sakamoto H. Application of MS live vaccine (MSH) in layers. Health and welfare featured articles 2008 [zitiert am 25. Januar 2009]. Weblink: <http://www.thepoultrysite.com/articles/1062/application-of-ms-live-vaccine-msh-in-layers>.

Palyusik M, Bitay Z. Mykotoxikosen. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band II: Spezieller Teil 2. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 319-33.

- Panangala VS, Hwang MY, Lauerman LH, Kleven SH, Giambrone JJ, Gresham M, Mitra A. Immunoenzymatic test with monoclonal antibodies for detection of avian *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* antibodies. Zbl Bakt. 1990;20:517-25.
- Panheleux M, Bain M, Fernandez MS, Morales I, Gautron J, Arias JL et al. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study. Br Poult Sci. 1999;40:240-52.
- Panheleux M, Nys Y, Williams J, Gautron J, Boldicke T, Hincke MT. Extraction and quantification by ELISA of eggshell organic matrix proteins (ovocleidin-17, ovalbumin, ovotransferrin) in shell from young and old hens. Poult Sci. 2000;79:580-8.
- Patten BE, Higgins PA, Whithhear KG. A urease-ELISA for the detection of *Mycoplasma* infections in poultry. Aust Vet J. 1984;61:151-4.
- Pattison M. Egg production – general overview. In: Pattison M, McMullin PF, Bradbury JM, Alexander DJ, Hrsg. Poultry diseases. London: Saunders Elsevier; 2004. S. 10-5.
- Pompe E und Lehman HA. Untersuchungen zum Einfluß der 1-Hydroxyethan-1,1-diphosphonsäure, HEDP, auf die Kristallisation von CaCO_3 in $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ -Lösungen. Z Anorg Allg Chem. 1983;505:202-8.
- Potel K. Die Sektion des Geflügels. In: Potel K, Seffner W, Hrsg. Leitfaden für die Sektion der Haustiere. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1970. S. 74-81.
- Randall CJ. Viral Diseases. In: Randal CJ, Hrsg. Diseases of the Domestic Fowl and Turkey. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 1985. S. 34-58.
- Raviv Z, Ferguson-Noel N, Laibinis V, Wooten R, Kleven SH. Role of *Mycoplasma synoviae* in commercial layer *Escherichia coli* peritonitis syndrome. Avian Dis. 2007;51:685-90.
- Reyes-Grajeda JP, Moreno A, Romero A. Crystal Structure of Ovocleidin-17, a major protein of the calcified *Gallus gallus* eggshell. Implications in the calcite mineral growth pattern. J. Biol. Chem. 2004;279:40876-81.

Rodriguez-Navarro A, Kalin O, Nys Y, Garcia-Ruiz JM. Influence of the microstructure on the egg shell strength of eggs laid by hens of different ages. *Br Poult Sci.* 2002;43:395-403.

Romanoff AL, Romanoff AJ. Changes in pH of Albumen and Yolk in the course of embryonic development under natural and artificial incubation. *Biol Bull.* 1929;57:300-6.

Rosengarten R, Yogev D. Variant colony surface antigenic phenotypes within mycoplasma strain populations: Implication for species identification and strain standardization. *J. Clin Microbiol.* 1996;34:149-58.

Ruiz J, Lunam CA. Ultrastructural analysis of the eggshell: contribution of the individual calcified layers and the cuticle to hatchability and egg viability in broiler breeders. *Br Poult Sci.* 2000;41:584-92.

Rupp N. Der Einfluss eine Bruteidesinfektion mittels Ozon auf ausgewählte Eiinhaltsstoffe. [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2008.

Saif YM. Mycoplasmosis. In: Saif YM, Hrsg. *Diseases of Poultry*. 11. Auflage. Iowa City: Iowa State University Press; 2003. S. 756-66.

Salmon G, Todd J, Cohn ZA. In vitro synthesis and secretion of lysozyme by mononuclear phagocytes. *J exp med.* 1974;139:1228-48.

Scholtyssek S. Die Eiqualität bei Rassegeflügel und Legehybriden. *D. Gefl. wirt. Schw. Prod.* 1987;39:29-32.

Scholtyssek S. Eier. Güteermkmale des Eies. In: Kallweit E, Fries R, Kielwein G, Scholtyssek S, Hrsg. *Qualität tierischer Nahrungsmittel*. 1. Auflage. Stuttgart: Ulmer Verlag; 1988. S. 309-27.

Scholtyssek S, El-Bogdady A. Herkunfts- und Lagerungseinflüsse auf die innere Eiqualität, insbesondere die Proteine im dünnen und dicken Eiklar. *Arch. f. Gefl. Kde.* 1979;43:245-52.

Scholtyssek S, El-Bogdady A. Die Qualität und insbesondere das Schaumbildungsvermögen von Eiern aus unterschiedlichen Herkünften und Lagerungsbedingungen. Arch. f. Gefl. Kde. 1980;44:79-81.

Seidel A. Der Einfluß langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren auf die Stoffwechsellistung einer caninen Mastocytomzelllinie [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2004.

Sekeroglu A, Altunas E. Effects of egg weight on egg quality characteristics. J Sci Food Agr. 2008;89:379-83.

Siegmann O, Neumann U. Klinische Untersuchung. In: Siegmann O und Neumann U., Hrsg. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 6. aktualisierte und erweiterte Auflage Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2005. S. 83-4.

Silversides FG und Budgell K. The relationships among measures of egg albumen height, pH and whipping volume. Poult. Sci. 2004;83:1619-23.

Simons PCM. Ultrastructure of the hen eggshell and its physiological interpretation. [Ph. D. thesis]. Beekbergen: Het Spelderholt, Beekbergen, the Netherlands; 1971.

Solomon S. The pattern of mineralisation. In: Solomon S, Hrsg. Egg & Eggshell Quality. 1st ed. London: Manson Publishing ltd.; 1991. S. 37-71.

Stadelmann WJ, Coterill OJ. Egg science and technology. 4th ed. New York: Food Products Press; 1995.

Stanley WA, Hofacre CL, Speksnijder G, Kleven SH, Aggrey SE. Monitoring *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in breeder chickens after treatment with enrofloxacin. Avian Dis. 2001;45:534-9.

Stipkovits L. Mykoplasmosen. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band II: Spezieller Teil 2. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 257-60.

Stipkovits L, Kempf I. Mycoplasmoses in poultry. Rev Sci Tech. 1996;15:1495-525.

Taniguchi T, Yamaguchi S, Maeda M, Kawamura H, Horiuchi T. Pathologic changes in laying hens inoculated with the JPA-1 strain of *egg-drop-syndrome-1976 virus*. Nat. Ins. Anim. Hlth. Quart. (Japan) 1981;21:83-91.

Taylor A, Francis S. Field studies on the association between amyloid arthropathy and *Mycoplasma synoviae* infection, and experimental reproduction of the condition in brown layers. Avian Pathol. 2001;30:629-39.

Turk JL, McGinnis J. Influence of vitamin D on various aspects of the reproductive process in mature hens. Poult Sci. 1964;43:539-45.

Van Eck JHH, Davelaar FG, Van den Heuvel-Plesmant AM, Van Kol N, Kouwenhoven B, Guildie FHM. Dropped egg production, soft shelled and shell less eggs associated with appearance of precipitins to adenovirus in flocks of laying fowls. Avian Pathol. 1976;5:261-72.

Williams KC. Some factors affecting albumen quality with particular reference to Haugh unit score. World Poultry Sci. Jour. 1992;48:5-16.

Woernle H und Hafez HM. Infektiöse Bronchitis. In: Heider G, Monreal G, Mészáros J, Hrsg. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Band I: Allgemeiner Teil und Spezieller Teil 1. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1992. S. 787-804.

Wolf SE, Loges N, Mathiasch B, Panthöfer M, Mey I, Janshoff A, Tremel W. Phasenselektion von Calciumcarbonat durch die Chiralität adsorbierter Aminosäuren. Ang. Chem. 2007;9:1-7.

Yamaguchi S, Imada T, Kawamura H, Taniguchi T, Kawakami M. Pathogenicity and distribution of *egg-drop-syndrome-1976 virus* (JPA-1) in inoculated laying hens. Avian Dis. 1981;25:642-9.

Yamamoto R. Potential value of enzyme linked immunsorbent assay in avian mycoplasma serology. Abstract of Presentations at AAAP Mycoplasmosis Symposium. Avian Dis. 1983;27:333-4.

8 ANHANG

Anhang 1: Protokoll über die Ermittlung der Legeleistungsfractionen

	Herde A				Monat:
	Leistung	davon Sekunda			Bruch- und Fließeier
		Schmutzeier	Deformierte Eier	poldefekte Eier	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					

8 ANHANG

Anhang 2: Standardprotokoll Untersuchung der inneren Eiqualität

Nr:	Pol / Kontrolle	Masse: (g)	Luftkammer (mm):	Dotter-farbe	Eiklar-Höhe:	Dotter-Breite:	Dotter-Höhe:	pH:	Schale feucht(g)	Schale trocken	Bakteriologie/ PCR
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											

Untersucher:

Datum:

Alter der Eier:

8 ANHANG

Anhang 3: Standardprotokoll zur Extraktion von Eischalenproteinen

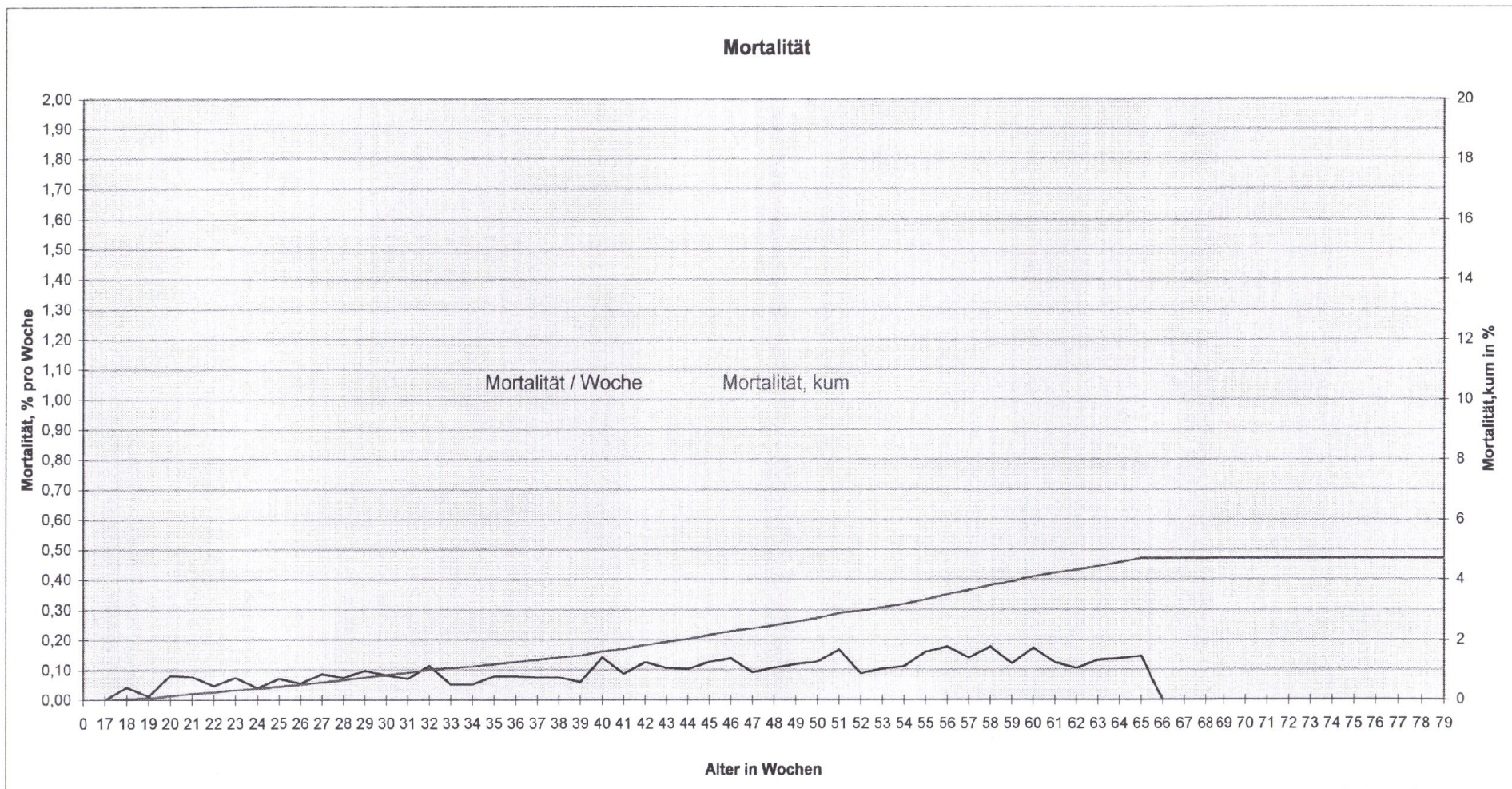
Protokoll zur Extraktion von Eischalenproteinen		Stand 27.03.2009														
Nach M. Penheleux et al., Poultry Science 2000, 79:580-588																
Tag	Probenaufarbeitung															
1. Tag	1. Eischalen mit 0,9 % NaCl-Lösung waschen 2. innere Membran per Hand entfernen 3. Eischalen mit Mörser und Pistill pulverisieren 4. 250 mg Eischalenpulver in einem Tube mit 5 ml 20%-iger Essigsäure unter konstantem Schütteln ü. N. demineralisieren bei 4°C (in 50 ml Blue Cap)															
2. Tag	5. Proben filtrieren (Spritze und 0,45 µm Filteraufsatz), das Extrakt 1:1 mit deionisiertem Wasser verdünnen, Probe tiefkühlen auf -80°C und ü. N. gefriertrocknen um die Essigsäure zu entfernen (Probe in 50 ml Blue-Cap)															
3. Tag	6. Das gefriergetrocknete Puder über Nacht unter konstantem Rühren bei 4°C in 4,5 ml Extraktionspuffer lösen															
4. Tag	7. Dialysemembran für 5 min mit 10 ml Aqua dest. Wässern bevor Probe eingefüllt wird, die Proben (Ausschluss 3.500 KDa) gegen Dialysepuffer dialysieren <i>(Novagen) 10ml</i> - Novagen Dialysetubes: (ü.N. 4°C, unter Rühren <u>oder</u>) bei RT, 1h mind. 2x 1 h unter Rühren, <i>dan Puffer verwerfen + waschen (100)</i> - 20 min bei 2.500 g zentrifugieren (Pellet verwerfen) - Proben im Sartorius Ultracentrifugation Tube aufkonzentrieren auf ca. 250 µl <i>→ 30 min zentrifug. 4°C, 6000g, 10 min</i> 8. Proteinbestimmung 9. Proben bei -20°C lagern <i>→ 100 µl aufbewahren</i>															
Benötigte Lösungen:																
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 20 %-ige Essigsäure ▪ Extraktionspuffer, frisch herstellen: <table style="margin-left: 20px;"> <tr><td>4 M</td><td>Guanidiniumhydrochlorid</td></tr> <tr><td>10 mM</td><td>EDTA</td></tr> <tr><td>0,05 M</td><td>Natriumacetat</td></tr> <tr><td>0,5 %</td><td>Tween</td></tr> <tr><td>0,1 M</td><td>6-Aminocapronsäure</td></tr> <tr><td>2 mM</td><td>Phenylmethylsulfonylfourid*¹</td></tr> <tr><td>5 M</td><td>Benzamidinhydrochlorid*²</td></tr> </table> pH 5,8 			4 M	Guanidiniumhydrochlorid	10 mM	EDTA	0,05 M	Natriumacetat	0,5 %	Tween	0,1 M	6-Aminocapronsäure	2 mM	Phenylmethylsulfonylfourid* ¹	5 M	Benzamidinhydrochlorid* ²
4 M	Guanidiniumhydrochlorid															
10 mM	EDTA															
0,05 M	Natriumacetat															
0,5 %	Tween															
0,1 M	6-Aminocapronsäure															
2 mM	Phenylmethylsulfonylfourid* ¹															
5 M	Benzamidinhydrochlorid* ²															
<p>*¹ als Stammlösung in absol. Isopropanol (200 mM, 37,8 mg/ml), 1ml auf 100 ml Extraktionspuffer</p> <p>*² im Moment nicht vorhanden</p>																
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dialysepuffer: <table style="margin-left: 20px;"> <tr><td>0,3 M</td><td>NaCl</td></tr> <tr><td>25 mM</td><td>Natriumacetat</td></tr> <tr><td>0,1 %</td><td>Tween</td></tr> </table> pH 5,8 			0,3 M	NaCl	25 mM	Natriumacetat	0,1 %	Tween								
0,3 M	NaCl															
25 mM	Natriumacetat															
0,1 %	Tween															

8 ANHANG

Anhang 5: Mortalitätskurve Herden A, B, C, X, Y über die Legeperiode, kum = kumulativ

Gesamtverluste, Stück 1217
Gesamtverluste, % 4,71%

Alter in Wochen: 65 6/7 Wo



8 ANHANG

Anhang 6: Sektionsergebnisse Herden A, B, C, X, Y über die Legeperiode verteilt

Datum	Alter (LW)	n	LDV/ Legenot	EBE/ Serositis	Festlieger	FLS	Knochenw.	Kannibal.	Technop.	Kokzid.	Gicht	Nephrop.	Kachexie
22.01.2008	23	24	6	2				8		1			1
29.01.2008	24	21	3		1			11	1				1
19.02.2008	28	17	3		1	1		5					1
11.03.2008	31	40	12			1		22					2
06.06.2008	43	31	6	1	2	1	5	14					1
23.07.2008	50	14	5				2	3			1	1	1
22.09.2008	59	32	16				3	9				1	2
22.10.2008	63	19	3		1	3	1	3	1			4	1
18.11.2008	67	23	6		1			6				2	5
09.12.2008	70	21	11	1		2	2	4			1		
Summe		242	71	4	6	8	13	85	2	1	2	8	15

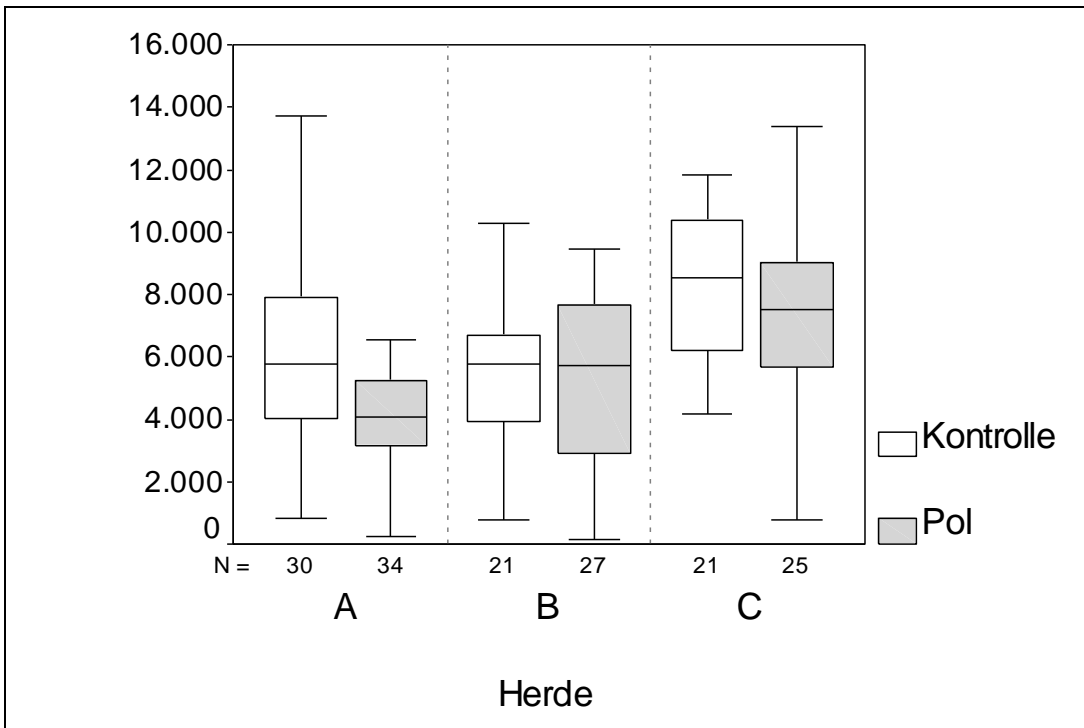
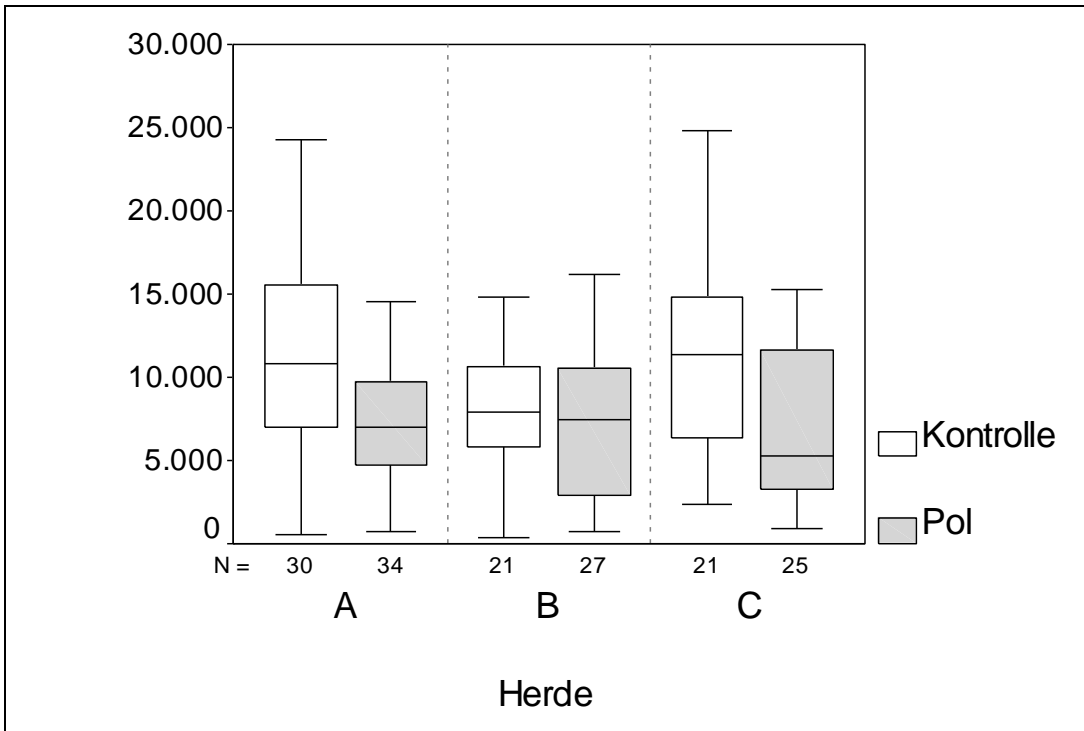
(n = Anzahl untersuchte Legehennen, LW = Lebenswoche, LDV = Legedarmvorfall, EBE = Eileiterbauchfellentzündung, FLS = Fettlebersyndrom, Knochenw. = Knochenweiche, Kannibal. = Kannibalismus, Technop. = Technopathie, Kokzid. = Kokzidiose, Nephrop. = Nephropathie

8 ANHANG

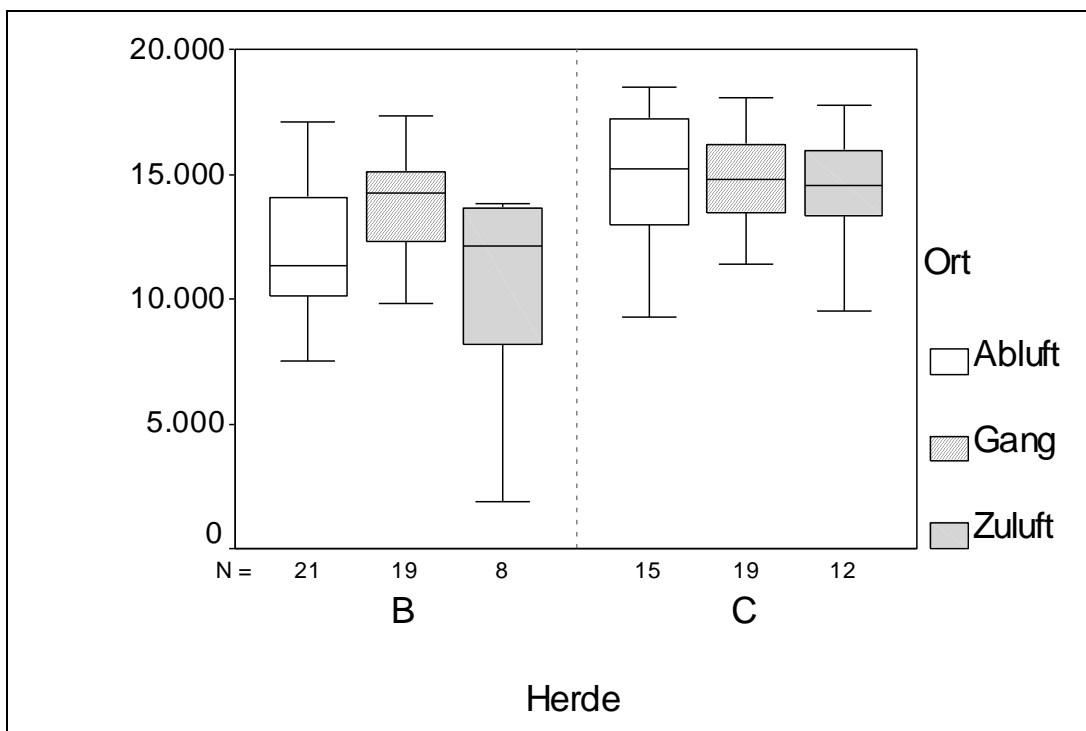
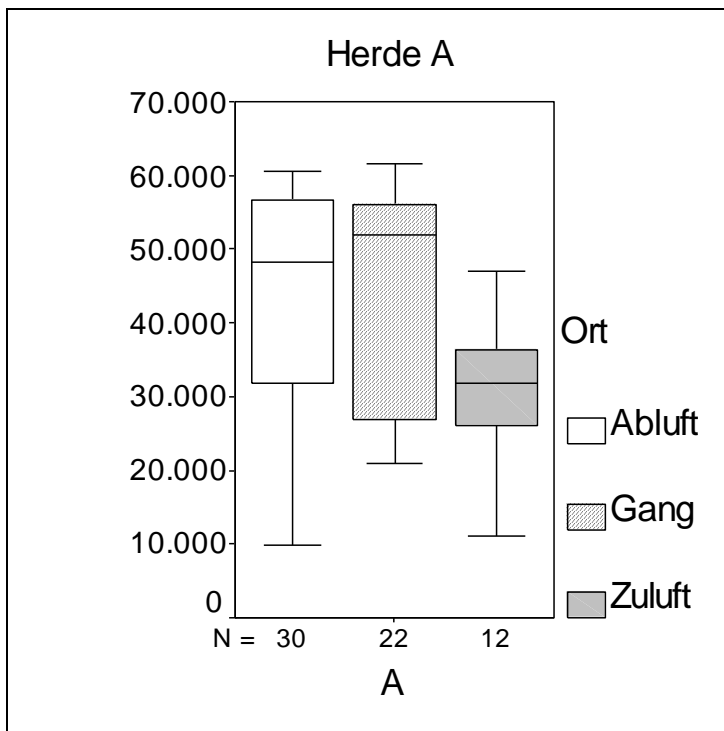
Anhang 7: Ausführliche Sektionsergebnisse der fünf selektierten Polhennen

Huhn, Rasse	Sektionsbefund	Pathohistologische Befunde:	Diagnosen	MS-PCR
21 a LB Herde C	EZ sehr gut Eileiterzyste am Übergang zur Kloake	multifokale lymphoplasmazelluläre Infiltrate in Magnum und Leber aktiviertes BALT	Ggr. akute katarrhalische Salpingitis Ggr. akute nicht-eitrige Hepatitis aktiviertes BALT	+
21 b LB Herde C	EZ sehr gut Schichtei Eileiterbauchfell-entzündung weiß-gelbe Flocken im Abdomen verteilt	Trachea: hochgradig diffus lymphoplasmazelluläre Infiltrate, Epithelverlust, gefüllt mit Dotter Lunge: Dotter in Parabronchien, aktiviertes Bronchus assoziiertes lymphatisches Gewebe Leber: geringgradig multifokal perivaskulär heterophile und lymphohistiozytäre Infiltrate Magnum: geringgradig multifokal lymphoplasmazelluläre Infiltrate Serosa: geringgradig multifokal Dotter und lymphoplasmazelluläre Infiltrate	geringgradig akute katarrhalische Salpingitis Dotterembolie und katarrhalische Tracheitis geringgradig akute nicht-eitrige Hepatitis Eidotterserositis	+
27 LSL Herde A	EZ sehr gut Ovarzyste 5x3 cm oval belegte Luftsäcke mgr. Hepatomegalie, gelbe Färbung der Leber	Leber: geringgradig multifokal perivaskulär heterophile und lymphohistiozytäre Infiltrate Lunge: aktiviertes Bronchus assoziiertes lymphatisches Gewebe Milz: Blutstauung Serosa: hochgradig heterophile und lymphohistiozytäre Infiltrate, Dottermaterial Infundibulum: geringgradig multifokal lymphoplasmazelluläre Infiltrate im submukösen Gewebe Uterus: geringgradig multifokal lymphoplasmazelluläre Infiltrate im submukösen Gewebe, Kinozilien geringgradig multifokal verklebt	Eidotterserositis akute katarrhalische Salpingitis akute nicht-eitrige Hepatitis aktiviertes BALT	+
22a LSL Herde A	Fließei im Uterus Blutaspiration Eileiterzyste: weißer, mattenflockiger Inhalt weiß-speckige Umfangsvermehrung im Kloakenbereich 2x 3mm, Konsistenz hart EZ sehr gut	Milz: Blutstauung Lunge: aktiviertes Bronchus assoziiertes lymphatisches Gewebe Niere: Dotterauflagerungen auf Serosa Leber: geringgradig multifokal perivaskulär lymphoplasmazelluläre Infiltrate Trachea: mittelgradig diffus lymphoplasmazelluläre Infiltrate, Epithelverlust, Dottermaterial im Lumen Infundibulum: hochgradig diffus lymphoplasmazelluläre Infiltrate und Ödem im submukösen Gewebe, vereinzelt fokal Fibrin und heterophile und lymphohistiozytäre Infiltrate im Lumen, hochgradig diffus Dottermaterial im Lumen	subakute katarrhalisch-eitrige Salpingitis akute nicht-eitrige Hepatitis aktiviertes BALT und katarrhalische Tracheitis	+
22b LSL	EZ sehr gut Tumor Ovar: Weiß- speckig, 8 x2 mm	Milz: Blutstauung Trachea: geringgradig fokal lymphoplasmazelluläre Infiltrate, Dotter im Lumen Lunge: geringgradig multifokal Dotter in Parabronchien, aktiviertes BALT Uterus: geringgradig multifokal perivaskulär lymphoplasmazelluläre Infiltrate, Zilien verklebt Magnum: geringgradig multifokal perivaskulär lymphoplasmazelluläre Infiltrate UV: geschichtetes Fibrin und Zelldetritus Infundibulum: gefüllt mit Dotter	Dotterembolie geringgradig akute katarrhalische Salpingitis	+

Anhang 8: IBV und NDV Antikörpertiter nach Herden



Anhang 9: MS-Antikörpertiter nach Lokalisation der Hühner in der Halle



8 ANHANG

Anhang 10: Durchschnittsergebnisse der Untersuchung der äußeren Qualität

Herkunft (n= je 30)	L-Wert	a-Wert	b-Wert	L-a-b-Wert	Gewicht in g	Stabilität in N	Deformation in mm	Eiklarhöhe in mm	Haugh- Unit	Fleisch- flecken
Kontrolle fremd	62±4,1	18,4±2,3	29,8±1,6	14,1±7,6	61±4	44,3±10,9	0,14±0,1	6±1,4	74,8±13	2
Kontrolle Herde C	59,6±3,5	19,1±1,8	29,3±3,5	11,3±5,4	64,1±5,9	47,6±10,3	0,13±0,05	5,8±1,2	72,7±10,2	2
Pol Herde C	62,8±4,1	16,4±2,9	28,1±2,6	18,3±8	64,1±5,4	20,3±8	0,28±0,41	4,5±1,2	59,1±16,5	10
helle Pol Herde C	71,9±5,5	7,6±3,5	19,3±5,1	45±13	60,2±5,6	20,9±7,5	0,41±7,5	4,4±1,2	60,7±13,6	8
Kontrolle Herde Y	92,4±1,4	0,22±0,17	2,4±1,1	89,7±2	63±4,6	49,5±7,5	0,14±0,04	6,5±1,1	78,8±8,9	-
Kontrolle Herde A/B	91,2±1,5	0,13±0,18	2,3±1,3	88,8±2,2	62,3±4,5	48,9±9,9	0,14±0,05	6,8±0,64	81,6±4,1	-
Pol A Antibiotika	92,5±1,4	0,15±0,08	1,4±0,51	90,9±1,4	66±4,4	19,9±11,1	0,3±0,38	5,9±1	72,6±8,2	1
Pol Herde A	89,6±4,3	0,17±0,09	1,1±0,98	88,3±3,9	64,5±3,8	11,4±8	0,66±0,54	5,8±1,5	71,7±14,4	3
Pol Herde B	92,9±1,4	0,19±0,12	1,9±0,91	90,8±1,3	62,4±5,3	17,9±9,9	0,47±0,5	6,1±1,5	75,4±11,4	1

(±Standardabweichung), helle Pol = poldefekte Eier der Herde C mit heller Schale, Pol = poldefekte Eier, A = Herde A, B = Herde B, C = Herde C, Antibiotika = nach Antibiotikabehandlung der Selektionstiere mit Tiamulin über 5 Tage

8 ANHANG

Anhang 11: Durchschnittswerte der Untersuchungen der inneren Eiqualität Teil I

Alter	Gruppe	n	Eigewicht in g	Luftkammer- höhe in mm	Eiklarhöhe in mm	Haugh- Unit	Masse Schale in g		
							feucht	trocken g	trocken % m
1 Tag	Kontrolle	20	65,7±6,3	1,8±0,62	7,5±1,3	84,3±7,5	8,8±1	6±0,65	9,1±0,88%
	Pol	20	65,2±7,7	3,3±1,2	6,2±1,1	75,4±9,4	7,8±0,84	5,1±0,87	7,7±0,98%
8 Tage	Kontrolle	19	65,2±4,6	1,5±0,51	5,4±0,9	69,2±7,7	8,4±0,65	6,2±0,62	9,6±0,8%
	Pol	21	61,6±4,6	3,1±1	4,9±0,91	65,7±10,2	7,4±0,56	5,2±0,57	8,5±0,78%
15 Tage	Kontrolle	20	62,5±3,2	3,4±0,68	3,45±0,69	49,5±9,7	7,8±0,49	6±0,52	9,5±0,57%
	Pol	20	64,6±5,7	4,6±1,2	3,2±1	43,5±13,8	7,8±0,89	5,5±0,61	8,5±0,86%
22 Tage	Kontrolle	21	59,9±5,5	4,5±1	3,1±0,67	45,5±10,2	7,9±0,8	6±0,71	9,9±0,73%
	Pol	19	61,7±5,8	6,9±2,8	2,6±0,69	35,9±12,3	7,8±1,1	5,4±0,74	8,7±1,42%
29 Tage	Kontrolle	23	61,3±5	5,6±1,2	2,4±0,84	32,1±17,6	7,7±0,7	5,9±0,5	9,7±0,85%
	Pol	25	61,3±4,8	7,1±2	2,7±1,1	36±18,8	7,3±0,7	5,3±0,62	8,8±0,9%

(±Standardabweichung)

zu Anhang 11: Durchschnittswerte der Untersuchungen der inneren Eiqualität Teil II

Alter	Gruppe	n	pH-Wert	Dotterfarbe	Dotterbreite in mm	Dotterhöhe in mm	Dotterindex
1 Tag	Kontrolle	20	8,54±0,36	14,1±0,64	24,6±1,5	17,2±1,8	70,1±8
	Pol	20	8,46±0,29	14,1±1,3	24,9±1,6	16,6±1,4	66,7±7,2
8 Tage	Kontrolle	19	9,85±0,12	14,2±0,7	27,3±1,6	16,4±1,5	60,2±6,3
	Pol	21	9,72±0,52	14±0,97	27,1±1,6	15,3±1,5	56,8±6,7
15 Tage	Kontrolle	20	9,64±0,04	14±0,83	29,6±2	13,5±1	45,8±4,2
	Pol	20	9,48±0,23	13,8±0,89	29,8±1,9	14±1,7	47,3±7,4
22 Tage	Kontrolle	21	9,37±0,05	13,9±0,8	31,5±2	12,5±1,5	39,8±5,2
	Pol	19	9,28±0,15	13,8±0,6	30,7±2,8	12,2±1,9	40,5±10,4
29 Tage	Kontrolle	23	9,1±0,06	14±0,8	28,9±1,9	12,7±1,4	44,1±6,6
	Pol	25	9,05±0,13	14,1±0,76	29,5±1,9	13±1,5	44±5,2

(±Standardabweichung)

8 ANHANG

Anhang 12: Rohfettgehalt Eidotter und Rohproteingehalt Eiklar

Alter	Gruppe	n	Rohfett %	Rohprotein %
1 Tag	Kontrolle	5	35±0,5	9,1±0,7
	Pol	5	30,3±7,1	8,7±0,8
8 Tage	Kontrolle	5	33,5±1,1	9,9±0,9
	Pol	5	35±0,6	10±0,8
15 Tage	Kontrolle	5	34,4±1,5	10,2±0,3
	Pol	5	32±4,9	10,2±0,8
22 Tage	Kontrolle	5	34,1±2,7	10,6±0,9
	Pol	5	33,7±1	11±2,5
29 Tage	Kontrolle	5	33,4±1,2	10,7±0,5
	Pol	5	32±2,4	10,9±1,5
alle Untersuchungstage	Kontrolle	25	34,1±1,6	10,1±0,8
	Pol	25	32,6±4	10,1±1,6

(±Standardabweichung)

Anhang 13: Fettsäuredifferenzierung Eidotter (n=20)

Alter		1 Tag		15 Tage		Alle	SCHOLTYSSSEK (1987) %
Gruppe		Kontrolle	Pol	Kontrolle	Pol		
Anzahl Eier		5	5	5	5	20	
Gesättigte FS 36,7±0,5 %	Myristinsäure 14 : 0	0,56±0,04	0,46±0,06	0,49±0,05	0,51±0,03	0,51±0,0 4	0,31
	Palmitinsäure 16 : 0	27,7±0,5	26,4±1,7	26,7±0,8	26,7±0,7	26,9±0,6	25,35
	Stearinsäure 18 : 0	9±0,3	9,6±0,68	8,9±0,5	9,6±0,6	9,3±0,4	8,82
einfach ungesättigte FS 42,8±1 %	Ölsäure 18 : 1	38,4±1,4	40,9±2,9	41,1±1,2	39,9±1,8	40,1±1,2	42,1
	Palmitoleinsäure 16 : 1	3,1±0,2	2,4±0,6	2,8±0,22	2,8±0,22	2,8±0,3	3,8
Mehrfach ungesättigte FS 14,6±0,6 %	Linolsäure 18 : 2	13±1,3	11,2±1,1	11,6±0,75	11,9±0,6	12±0,8	12,8
	Linolensäure 18 : 3	0,27±0,03	0,21±0,03	0,24±0,03	0,24±0,02	0,24±0,0 2	0,31
	Arachidonsäure 20 : 4	2,1±1	2,7±0,25	2,2±0,08	2,6±0,4	2,4±0,3	0,98

(±Standardabweichung)

Danksagung:

Ich möchte mich zunächst bei all denen bedanken, ohne die diese wissenschaftliche Arbeit niemals entstanden wäre. Zunächst geht ein großer Dank an meine beiden Betreuer, Frau Professor Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns und Herrn Professor Karsten Fehlhaber für ihre Unterstützung. Es ist nicht selbstverständlich die Betreuung der Dissertation eines Studenten im 7. Fachsemester zu übernehmen.

Ein großes Dankeschön geht auch an die Mitarbeiter der Firma Eifrisch in Neukirchen, besonders an Frau Jutta Schmidt und Frau Petra Wagner für die Erlaubnis und Unterstützung der Feldversuche. Vielen Dank auch an Frau Beate Eineder und Frau Carol Geleschius, ohne deren Geduld und Mitarbeit die Versuche an den Legehennen nicht möglich gewesen wären.

Weiterhin vielen Dank an die Firma Lohmann Tierzucht in Cuxhaven für ihre materielle und wissenschaftliche Unterstützung. Besonderer Dank gilt hierbei Herrn Dr. Matthias Voss und Herrn Doktor Hans-Christian Philipp, in deren Labor die serologischen und PCR-Untersuchungen sowie die bakterielle Anzucht und Untersuchungen der äußeren Eiqualität durchgeführt wurden.

Vielen Dank an Dr. Volker Schmidt und Frau Iris Ringel von der Klinik für Vögel und Reptilien für die fachliche Unterstützung sowie die praktische Unterstützung bei den Sektionen und pathologisch-histologischen Untersuchungen. Vielen Dank auch an Dr. Thiemo Albert für die Unterstützung bei der Untersuchung der inneren Eiqualität. Ein ganz besonderer Dank geht an Herrn Andreas Richter, der mir die endlosen Zahlenkolonnen statistisch verständlich machte. Vielen Dank auch an Professor Dr. Johannes Seeger für seine fachliche Beratung sowie an Dr. Johannes Kacza für seine geduldige Unterstützung bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung der Eischalen.

Ein ganz besonderer Dank gilt auch meinem Vater, Dr. Volker Ranck, und meiner Mutter Viola Ranck. Vielen Dank für Eure Geduld, für Eure fachliche und moralische Unterstützung, ihr habt mir immer den Rücken freigehalten. Durch Eure finanzielle Unterstützung habt ihr mir den Beginn in Budapest und das ganze Studium überhaupt erst ermöglicht. Vielen Dank auch an Dich, Annabell. Du hast die schlaflosen Nächte der Reinschrift ertragen und die endlosen Papierstapel geordnet, hast jeden Zweifel weggewischt und mich seelisch und moralisch unterstützt.