

Aus der Klinik für Vögel und Reptilien
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Diagnostik der Aspergillose bei Jagdfalken (*Falco spp.*) unter besonderer Berücksichtigung
der Projektionsradiographie und der Serumelektrophorese**

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

eingereicht von
Susanne Vorbrüggen
aus Aachen

Leipzig, 2013

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Professor Dr. Manfred Coenen

Betreuer: Professor Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns

Gutachter: Professor Dr. Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns

Klinik für Vögel und Reptilien

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Professor Dr. Erhard Franz Kaleta

Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische

Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Verteidigung: 27. August 2013

Meiner Familie gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

<u>1</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	<u>3</u>
2.1	Geschichtliche Entwicklung der Falknerei und der Greifvogelmedizin	3
2.2	Vogelspezies der Studien	5
2.3	Aspergillose bei Greifvögeln	9
2.3.1	Ätiologie	9
2.3.1.1	Umweltfaktoren	10
2.3.1.2	Speziesprädispositionen	13
2.3.2	Klinik	14
2.3.3	Pathologie	15
2.3.4	Diagnostik im Allgemeinen	17
2.3.5	Bildgebende Diagnostik	18
2.3.5.1	Radiographie	18
2.3.5.2	Computertomographie (CT)	20
2.3.5.3	Magnetresonanztomographie (MRT)	22
2.3.5.4	Endoskopie	22
2.3.6	Labormedizinische Diagnostik	23
2.3.6.1	Zytologische und mikrobiologische Untersuchung	23
2.3.6.2	Proteinelektrophorese	24
2.3.6.3	Blutchemische Untersuchung	25
2.3.6.4	Serologie	26
2.3.6.5	Hämatologie	28
<u>3</u>	<u>EIGENE PUBLIKATIONEN</u>	<u>30</u>
3.1	Ziele und Fragestellungen der durchgeführten Untersuchungen	30
3.2	Zusammenstellung der eigenen Publikationen	31
3.2.1	VORBRÜGGEN S, BAILEY TA, KRAUTWALD-JUNGHANNS ME. Röntgenzeichen bei an Mykose des Respirationstraktes erkrankten Greifvögeln. Tierärztl Prax. 2013, am 02.01.2013 akzeptiert	31
3.2.2	KUMMROW M, SILVANOSE C, DI SOMMA A, BAILEY TA, VORBRÜGGEN S. Serum Protein Electrophoresis by Using High-resolution Agarose Gel in Clinically Healthy and <i>Aspergillus</i> Species-infected Falcons. J Avian Med Surg. 2012;26(4):213-20.	55
<u>4</u>	<u>ÜBERGREIFENDE DISKUSSION</u>	<u>64</u>
4.1	Radiographie	66
4.2	Proteinelektrophorese	70
4.3	Praxistauglichkeit und Fazit der untersuchten Diagnostika	73

<u>5</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>77</u>
<u>6</u>	<u>SUMMARY</u>	<u>79</u>
<u>7</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>81</u>
<u>8</u>	<u>DANKSAGUNG</u>	<u>93</u>

LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN:

A.	<i>Aspergillus</i>
A:G	Albumin zu Globulin
Abb.	Abbildung
BArtSchV	Bundesartenschutzverordnung
BCG	Bromcresol Grün
BfN	Bundesamt für Naturschutz
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CI	confidence interval, Konfidenzintervall
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DFH	Dubai Falcon Hospital
DFO	Deutscher Falknerorden
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
et al.	et alii, und andere
°F	Grad Fahrenheit
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
g	Gramm
g/dl	Gramm pro Deziliter
g/L	Gramm pro Liter
ICR	Intercostalraum
km/h	Kilometer pro Stunde
kV	Kilovolt
L	Lunge
LANA	Bund-/Länder-Arbeitsgemeinschaft Naturschutz, Landschaftspflege und Erholung
ll	laterolateral
LS	Luftsack
M.	Musculus
mA	Milliampère
mAs	Milliampèresekunden
mg/dL	Milligramm pro Deziliter
mL	Milliliter
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
p	Wahrscheinlichkeit

P _{2,5} -P _{97,5}	2,5 Prozent Perzentil bis 97,5 Prozent Perzentil
PAS	Periodic acid-Schiff
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion
pg	Pikogramm
pg/dl	Pikogramm pro Deziliter
s.	siehe
SD	standard deviation, Standardabweichung
SPE	serum protein electrophoresis, Serumprotein-Elektrophorese
spp.	species
Tab.	Tabelle
Th-LS-Wand	Thorakalluftsack-Wand
TP	Totalprotein
u. a.	unter anderem
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
V	Volt
v. Chr.	vor Christi Geburt
v. a.	vor allem
VAE	Vereinigte Arabische Emirate
vd	ventrodorsal
z. B.	zum Beispiel
α	alpha
β	beta
γ	gamma
1,0	Männchen
0,1	Weibchen
%	Prozent
<	kleiner als
=	gleich
°	Grad

1 EINLEITUNG

1 EINLEITUNG

Aspergillose ist eine der wichtigsten Erkrankungen von in Gefangenschaft gehaltenen Greifvögeln weltweit (COOPER 2002, BAILEY 2008). Sie ist bereits lange bekannt und führte schon im Mittelalter zu der Bezeichnung „die Falken mit dem kurzen Atem“ für Gerfalken (*Falco rusticolus*) (HEIDENREICH 1996a). Die relative Häufigkeit der Aspergillose bei pathologisch untersuchten Greifvögeln, die hauptsächlich aus privaten Haltungen stammten, betrug in einer Studie von KALETA und DRÜNER (1976) bei 112 Taggreifvögeln 20,5 %, in einer Studie von SCHRÖDER (1981) bei 105 Habichtartigen 20,9 % und in einer Studie von GERINGER (1973) bei 47 Habichtartigen und Eulen sogar 30,0 %. In einer Auswertung von 131 pathologisch untersuchten Jagdfalken (*Falco* spp.) aus Saudi-Arabien verstarben 9,9 % der untersuchten Tiere an Aspergillose (NALDO und SAMOUR 2004a).

Neben den noch heute weit verbreiteten und besonders prädisponierten Gerfalken (*Falco rusticolus*) sind weitere Greifvogelarten, aber auch als Heim- oder Zootiere gehaltene Vogelspezies weltweit stark gefährdet. So gelten insbesondere Wasservögel (v. a. Pinguine (Spheniscidae), Gänsevögel (Anseriformes) und Möwen (Laridae)) sowie tropische Papageien (Psittaciformes) und Beos (*Gracula religiosa*) als für Aspergillose prädisponierte Spezies (DAHLHAUSEN 2006, CONVERSE 2007, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2011).

Obwohl Aspergillose ein lang bekanntes und weit verbreitetes Problem darstellt, ist die Diagnosestellung am lebenden Vogel nach wie vor eine Herausforderung und bedarf, unabhängig von der Vogelspezies, der Kombination mehrerer Untersuchungen (JONES und OROSZ 2000, DEEM 2003, REDIG 2008). Die wichtigsten Untersuchungsmethoden stellen zum heutigen Zeitpunkt die Endoskopie inklusive der Probenentnahme zur Zytologie und Mykologie sowie die Radiographie dar. Die hämatologischen und die blutchemischen Untersuchungen mittels Trocken- und Nasschemie sind wenig spezifisch im Hinblick auf die Diagnostik der Aspergillose und können daher eine bestehende Verdachtsdiagnose lediglich unterstützen sowie Verlaufskontrollen ermöglichen (JONES und OROSZ 2000, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2011).

Obwohl die Projektionsradiographie ein lang etabliertes – und im Gegensatz zur Endoskopie – nicht invasives bildgebendes Verfahren in der Vogelmedizin darstellt, existieren bislang nur wenige und auch nur ältere systematische Studien zu radiographischen Befunden, die

1 EINLEITUNG

sich bei Papageien mit Erkrankungen des Respirationstrakts bzw. Aspergillose nachweisen ließen (RÜBEL 1985, MC MILLAN und PETRAK 1989, WERTHER 1993, KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997). Zwar evaluiert eine retrospektive Studie die häufigsten radiographischen Befunde aller zwischen 1998 und 2002 untersuchten Jagdfalken (*Falco* spp.) aus einer Falkenlinik in Saudi-Arabien (NALDO und SAMOUR 2004b), systematische Studien zu radiographischen Befunden bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln sind jedoch nicht bekannt. Zwischen Papageien und Greifvögeln differierende Röntgenbefunde sind allerdings allein aufgrund der unterschiedlichen Röntgenanatomie zu erwarten.

Im Bereich der Labordiagnostik gibt es etwa seit 30 Jahren Bestrebungen, mittels Proteinelektrophorese sowie Antigen- und Antikörpernachweisen schnelle und einfache Nachweisverfahren zur Diagnostik der aviären Aspergillose zu entwickeln. Jedoch mangelte es in Untersuchungen zum Nachweis der Aspergillose bei Greifvögeln mittels Antikörper- und Antigennachweis noch an Sensitivität und Spezifität, so dass sie nur als zusätzliche Untersuchungsmethode eingesetzt werden könnten (REDIG et al. 1997, ARCA-RUIBAL et al. 2006).

Die Proteinelektrophorese nimmt mittlerweile in der Labordiagnostik der Human- und Kleintiermedizin einen wichtigen Stellenwert ein und eignet sich insbesondere zur frühen Erkennung entzündlicher Prozesse (WERNER und REAVILL 1999). Sie wurde bei Greifvögeln bereits zur Untersuchung diverser Erkrankungen (u. a. Aspergillose) eingesetzt und zeigte nach TATUM et al. (2000) und BLANCO und HOFLE (2003) viel Potential, aber auch noch großen Forschungsbedarf auf.

Ziel dieser Arbeit war es, eine bereits lang etablierte diagnostische Methode – die Projektionsradiographie – systematisch im Hinblick auf typische Röntgenzeichen bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln zu untersuchen und eine vergleichsweise jüngere, noch nicht etablierte, aber möglicherweise vielversprechende diagnostische Methode – die Proteinelektrophorese – bei Greifvögeln zur Diagnostik von Aspergillose zu evaluieren, um somit zusätzliche Erkenntnisse über die Aussagekraft dieser beiden nicht invasiven Diagnostika zu gewinnen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 **Geschichtliche Entwicklung der Falknerei und der Greifvogelmedizin**

Die Ursprünge der Falknerei liegen sehr wahrscheinlich in Asien. Schon 2205 v. Chr. wurde die Falknerei in China ausgeführt. Funde von zwei Reliefs und einem Rollsiegel im irakischen Raum bezeugen ihre Ausübung zwischen den Jahren 1600 und 700 v. Chr. (ANONYMUS 2012).

Im Zuge der Völkerwanderung gelangte die Falknerei im vierten Jahrhundert westwärts nach Europa. Aus dem arabischen Raum erfolgte durch die Kreuzzüge vom 11. bis 13. Jahrhundert eine große Wissensbereicherung. So wurden zum Beispiel die Falkenhaube und das Federspiel aus diesen Ländern nach Europa eingeführt (LINDNER 2007, REMPLE und GROSS 2007).

Dieses Wissen wurde etwa ab dem achten Jahrhundert durch Niederschriften in Europa gesammelt. Ein für damalige Zeiten überragendes Werk schuf Kaiser Friedrich II. von Hohenstaufen um 1250 mit „De arte venandi cum avibus“ („Über die Kunst mit Vögeln zu jagen“) (LINDNER 2007, REMPLE und GROSS 2007, ANONYMUS 2012). Es enthielt jedoch vornehmlich Informationen über die Falknerei und Ornithologie; weniger über die Gesundheit von Falken (COOPER 2002). In England verfasste Werke, die auch Inhalte zur Falkenmedizin aufwiesen, wurden von Latham (1615), Bert (1619) und Richard Blome (1668) geschaffen. Alle drei Autoren beschrieben das Bild einer chronischen Erkrankung des Respirationstrakts und Begriffe wie „pantas“ oder „kecks“ wurden dafür eingeführt. Auch „croaks“ (was sich heutzutage noch mit „Quaken“ übersetzen lässt), „cold“ (= Erkältung) und „snurt“ – im Falle einer Rhinitis – sind Begriffe, die damals geprägt wurden (COOPER 2002). Von dem Pathologen Crisp stammte die wahrscheinlich älteste dokumentierte, pathognomonische Beschreibung einer Aspergillose. Er schilderte 1854 detailliert die pathologisch-anatomischen Befunde aus der Sektion eines Wanderfalken (*Falco peregrinus*)(COOPER 2002).

Mitte des 18. Jahrhunderts kam die Falknerei fast vollständig zum Erliegen, da die Jagd mit dem Gewehr attraktiver geworden war und gesellschaftliche Umbrüche erfolgten. Lediglich in England wurde die Beizjagd weitestgehend aufrecht erhalten. Im Jahre 1923 wurde in

2 LITERATURÜBERSICHT

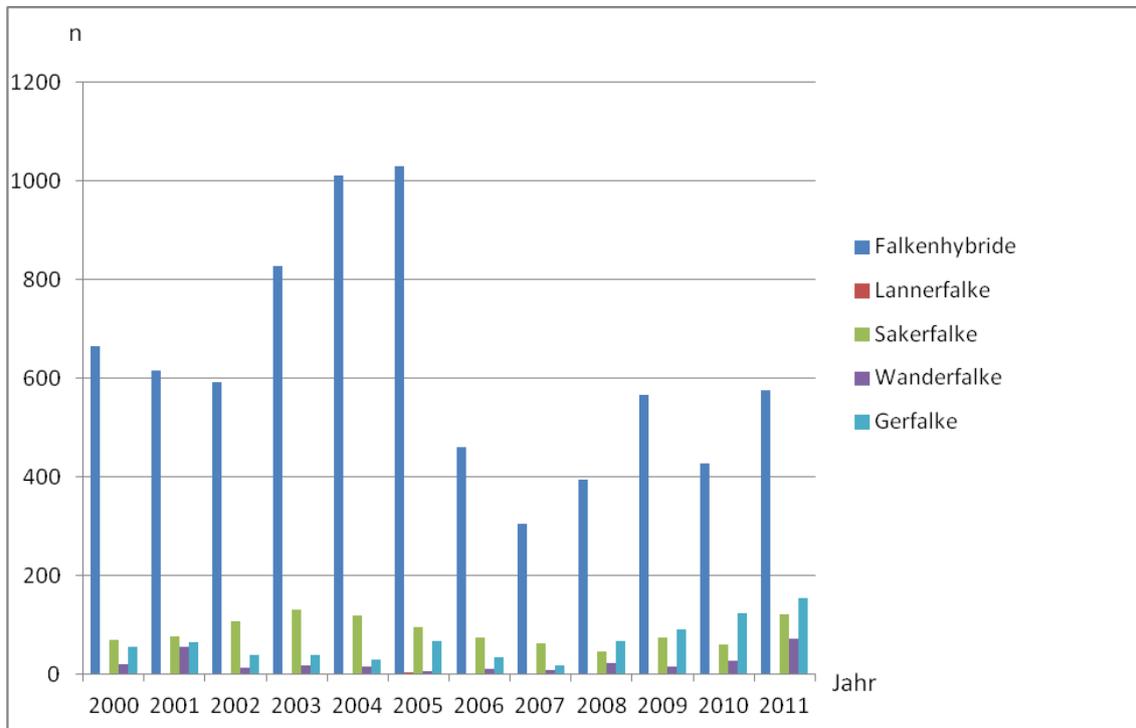
Leipzig der deutsche Falknerorden (DFO) gegründet, um den Verfall dieser Jagdtechnik aufzuhalten (LINDNER 2007, ANONYMUS 2012).

Nach der Blüte der Falknerei und der Beschreibung medizinischer Erkenntnisse im Mittelalter ließ die zweite Entwicklungswelle in der Falknerei bis nach dem zweiten Weltkrieg auf sich warten. Verheerende weltweite Bestandeinbrüche durch DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan), andere Umweltgifte und das damals noch weit verbreitete Aushorsten in den 60er und 70er Jahren führten schließlich zum Verbot von DDT in den meisten westlichen Industrieländern, Greifvogelschutzmaßnahmen für wildlebende Tiere und Nachzuchtbemühungen von Falken in Gefangenschaft. Durch neue Erkenntnisse aus Zucht, Haltung, Medizin und der Verwendung von Telemetrie erlebte die Falknerei weltweit ab den 80er Jahren schließlich einen deutlichen Aufschwung (COOPER 2002, ANONYMUS 2012). Im Jahr 2010 wurde die Falknerei von der UNESCO in die Liste des immateriellen Kulturerbes aufgenommen (ANONYMUS 2012).

In Deutschland, Europa, aber auch traditionell in den arabischen Staaten spielt die Haltung von Greifvögeln heutzutage eine große Rolle. Greifvögel werden zum einen zur Anschauung in Zoos und Greifvogelwarten gehalten, zum anderen werden sie zur Beizjagd genutzt. Im Bereich der Greifvogelzucht steht in Deutschland neben Arterhaltungsprogrammen die Zucht von Falken zu kommerziellen Zwecken im Vordergrund. In den Jahren 2000 bis 2011 wurden nach offiziellen Angaben des Bundesamts für Naturschutz (BfN) im Mittel pro Jahr 766 in Deutschland gezüchtete Falken aus Deutschland hauptsächlich in die arabischen Länder (Vereinigte Arabische Emirate, Saudi-Arabien, Katar, Kuwait, Syrien, Bahrain) exportiert. Einen Höhepunkt stellten die Jahre 2004 und 2005 mit einer Anzahl von 1120 respektive 1064 in Deutschland nachgezogenen und exportierten Falken dar (BfN 2012) (s. Abbildung 1).

2 LITERATURÜBERSICHT

Abbildung 1. Anzahl der pro Jahr aus Deutschland exportierten Falken unterschiedlicher Spezies in die arabischen Länder (VAE, Saudi-Arabien, Katar, Kuwait, Syrien, Bahrain) zwischen den Jahren 2000 - 2011 (BfN 2012); n = Anzahl der Falken



2.2 Vogelspezies der Studien

Im Folgenden sollen die in den Studien untersuchten Falkenspezies genauer vorgestellt werden:

Gerfalke (*Falco rusticolus*)

Der Gerfalke kommt in freier Natur nördlich des 60. Breitengrades Europas und Asiens und in Alaska, Grönland sowie im Norden Kanadas vor. Er lebt in Tundragebieten an felsgesäumten Flüssen, aber auch an arktischen Steilküsten, wo er in Seevogelkolonien jagt. Dieser Falke kommt selbst mit Temperaturen um -40 °C zurecht (MEBS und SCHMIDT 2006). Je nach Verbreitung lassen sich unterschiedliche Morphen, die sich in Größe und Farbe (von grau bis weiß) unterscheiden, differenzieren.



Abbildung 2. Gerfalke (*Falco rusticolus*)
Foto: D. Fischer

2 LITERATURÜBERSICHT

Seine normale Beute besteht aus Schneehühnern (*Lagopus lagopus* und *L. mutus*) sowie Möwen (Laridae), Enten (Anatidae) und Alken (Alcidae) (GÉNSBØL und THIEDE 1997).

Er ist mit 46 - 53 cm und 1000 g (1,0) bis 2100 g (0,1) der größte Falke und daher, aber auch wegen seiner Flugeigenschaften und seiner hellen Farbe, in arabischen Ländern als Jagdvogel sehr beliebt. Er ist ein rasanter Flieger und erreicht Geschwindigkeiten von bis zu 160 km/h. Aufgrund seiner Anpassung an das nordische Klima leidet er in südlichen Gebieten oft an gesundheitlichen Beeinträchtigungen durch die ungewohnte Wärme (REMPLE und GROSS 2007). Zwischen den Jahren 2000 und 2007 machte der Anteil an jährlich aus Deutschland exportierten Gerfalken nur 2 - 6 % aus und stieg in den folgenden Jahren auf bis zu 19 % an (2010) (BfN 2012).

Hybriden der Gerfalken

Neben den reinen Gerfalken (*Falco rusticolus*) spielen Hybride dieser Art mit Saker- (*Falco cherrug*), Lanner- (*Falco biarmicus*) und Wanderfalken (*Falco peregrinus*) als Jagdfalken eine



Abbildung 3. Ger- x Lannerfalke
(*Falco rusticolus* x *Falco biarmicus*)
Foto: W. Holtmeier

immer größer werdende Rolle (KINNE und WERNERY 2006). Für die Zucht und Popularität dieser Hybriden gab es nach HEIDENREICH (1996b) mehrere mögliche Gründe: Zu Beginn der Falkenzucht in den 70er Jahren waren zum einen nicht genügend geeignete reine Elterntiere zur Nachzucht vorhanden, so dass man meist durch artifizielle Insemination begann, zwei Spezies zu hybridisieren. Zum anderen umging man auf diese Weise die strengen Artenschutzbestimmungen, da sich diese anfänglich nur auf reine Spezies bezogen. Bald stellte sich heraus, dass sich durch die Hybridisierung hervorragende Jagdeigenschaften und die gewünschten äußerlichen Merkmale (Größe und helle Gefiederfärbung) erzielen ließen (HEIDENREICH 1996b).

Seit dem 25. Februar 2005 (mit Übergangsfrist bis zum 31. Dezember 2014) gilt jedoch nach §§ 9, 10 und 11 der Bundesartenschutzverordnung (BArtSchV) (ANONYMUS 2013) ein grundsätzliches Verbot der Zucht, der Haltung und des Flugs von Hybriden zwischen einer

2 LITERATURÜBERSICHT

einheimischen und einer nicht einheimischen Greifvogelart in Deutschland, da eine Verdrängung von und Hybridisierung mit einheimischen Arten durch entflugene Tiere befürchtet wird. Die Bestimmung der Elterntiere von Hybriden anhand des Gefieders ist zudem sehr schwierig (HEIDENREICH 1996b, LANA 2010). Zwischen den Jahren 2000 und 2005 machten Falkenhybride fast jedes Jahr über 80 % der aus Deutschland exportierten Falken aus. In den Jahren 2010 und 2011 waren es nur noch 67 % bzw. 62 % (BfN 2012).

Saker- oder Würgfalke (*Falco cherrug*)

Der Sakerfalke lebt in Südosteuropa sowie in Zentralasien und China. Im Winter zieht er zum Teil nach Afrika. Zu seinem Habitat gehören Waldsteppen, Steppen und bewaldete Kulturlandschaften bis zu einer Höhe von 4700 Meter. Seine Hauptbeute stellen Ziesel (*Spermophilus* spp.) dar, Mäuse, Hamster und Insekten werden gelegentlich von ihm gefressen. In den arabischen Ländern wird er aber auch zur Gazellenjagd eingesetzt (GÉNSBØL und THIEDE 1997).

Mit 38,5 cm (1,0) bis 47 cm (0,1) und 900 g bis 1300 g ist er etwas kleiner als der Gerfalke, aber er ist eng mit diesem verwandt. Der im Bergland Asiens vorkommende

Altaifalke (*Falco cherrug altaicus*) stellt möglicherweise eine natürliche Hybridform zwischen Saker- und Gerfalken dar. Im Gegensatz zu den Gerfalken kommt der Sakerfalke gut mit dem heißen Klima zurecht (REMPLE und GROSS 2007). Von den zwischen den Jahren 2000 und 2011 aus Deutschland exportierten Falken machte der Sakerfalke etwa 8 - 16 % der Tiere aus (BfN 2012).



2 LITERATURÜBERSICHT

Lannerfalke (*Falco biarmicus*)

Der Lannerfalke kommt in der Westpaläarktis und im nördlichen Afrika in Wüsten, Halbwüsten und Savannen vor. In Europa bevorzugt er felsige Gegenden mit Steilwänden. Zu seiner Beute gehören bevorzugt kleinere (spatzengroße) bis mittelgroße (perlhuhn große) Vögel, seltener werden auch Kleinsäuger oder Insekten gefressen (GÉNSBØL und THIEDE 1997).

Die Größe ist ähnlich wie die des Wanderfalcken (*Falco peregrinus*) und sein Gewicht beträgt 500 - 850 g (REMPLE und GROSS 2007).

Der Lannerfalke wurde seit dem Jahr 2000 nur in Einzelfällen aus Deutschland exportiert (BfN 2012).



Wanderfalke (*Falco peregrinus*)

Der Wanderfalke ist ein wahrer Kosmopolit. Er kommt nicht nur in ganz Europa, sondern auch in Asien, Afrika und Australien vor. Daher gibt es auch je nach Verbreitung zahlreiche



Unterarten, die sich in Größe und Färbung unterscheiden. Zu seiner Beute gehören fast ausschließlich Vögel, die er im Flug jagt. Dabei erreicht er Geschwindigkeiten von bis zu 320 km/h (MEBS und SCHMIDT 2006). In der Wahl seines Habitats ist er nicht wählerisch. Nach einem sehr starken Rückgang der Population aufgrund des Umweltgifts DDT zwischen 1950 und 1974, ist er mittlerweile sowohl als Baumbrüter als auch als Felsenbrüter und Bewohner hoher Gebäude inmitten von Städten wieder anzutreffen (MEBS und SCHMIDT 2006).

Die Größe der Vögel schwankt je nach Unterart und Geschlecht von 38 cm bis über 45 cm und das Gewicht dementsprechend von 610 g bis 940 g. Die rasanten

Flugmanöver machen ihn zu einem sehr beliebten und bekannten Jagdvogel (REMPLE und

2 LITERATURÜBERSICHT

GROSS 2007). Der Anteil an aus Deutschland exportierten Wanderfalken betrug in den Jahren 2000 - 2011 2 - 8 % (BfN 2012).

Wüsten- oder Berberfalke (*Falco pelegrioides pelegrioides*) und Rotnackenshahin (*Falco pelegrioides babylonicus*)

Beide Unterarten des Wüstenfalken sind eng mit dem Wanderfalken verwandt und ähneln ihm sowohl im Aussehen als auch im Jagdverhalten. Der Wüstenfalke kommt in Nordafrika vor, der Rotnackenshahin dagegen eher in West- bis Zentralasien. Beide Unterarten bewohnen Wüsten und Halbwüsten, sind aber auch an Meeresküsten zu finden. Die Größe beträgt etwa 34 - 40 cm und das Gewicht 430 - 640 g (MEBS und SCHMIDT 2006). Exportdaten aus Deutschland zu dieser Spezies liegen nicht vor.



2.3 Aspergillose bei Greifvögeln

2.3.1 Ätiologie

Die Erkrankung Aspergillose entsteht durch die Inhalation der ubiquitär vorhandenen Schimmelpilzsporen. Dabei spielt *Aspergillus fumigatus* mit Abstand die wichtigste Rolle. Aber auch *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* und andere *Aspergillus* spp. können an einer Aspergillose beteiligt sein (FUCHS et al. 1991, TÄSCHNER 1999, REDIG 2008). In Einzelfällen können bei mykologischen Untersuchungen auch Infektionen mit *Penicillium* spp., *Mucor* spp., Zygomyceten und *Candida* spp. nachgewiesen werden. Meist handelt es sich hierbei

2 LITERATURÜBERSICHT

jedoch um Mischinfektionen mit anderen Pilzen (i.d.R. mit *Aspergillus* spp.) (FUCHS et al. 1991, TÄSCHNER 1999, BERTRAM 2003).

Die Erkrankung tritt in verschiedenen chronischen und in einer akuten Erscheinungsform auf und hat je nach Verlaufsform unterschiedliche Hauptursachen. Aspergillose ist allerdings grundsätzlich als Faktorenkrankheit anzusehen (KUMMERFELD und TEMME 1984, KORBEL et al. 1993, DAHLHAUSEN 2006).

2.3.1.1 Umweltfaktoren

Die die Aspergillose bei Greifvögeln, aber auch bei anderen Vogelspezies auslösenden prädisponierenden Faktoren können in zwei Arten gegliedert werden: Zum einen spielen Faktoren, die spontan zu einer extrem hohen Sporenkonzentration führen, eine Rolle, zum andern die Faktoren, die die Funktion des Immunsystems der Vögel negativ beeinflussen. Meist handelt es sich hierbei um Faktoren, die sie – teilweise unterschwellig – in ihrem Allgemeinbefinden beeinträchtigen.

Im Falle der Inhalation von extrem hohen Sporenkonzentrationen steht die akute Symptomatik im Vordergrund. Die Infektionsdosis, bei der eine akute Aspergillose bei Vögeln ausgelöst wird, kann jedoch nur aus Infektionsversuchen geschätzt werden. Bei intratrachealer Verabreichung von 10^3 Sporen bei fünf Hybridfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) und fünf Tauben (*Columba livia* f. *domestica*) konnten weder klinische Anzeichen noch pathologische Befunde hinweisend auf eine Aspergillose festgestellt werden. Nach der Applikation von 10^7 Sporen ließen sich jedoch klinische Symptome sowie postmortal granulomatöse Veränderungen in den Luftsäcken und Lungen bei vier von fünf Tauben und vier von fünf Falken nachweisen. Bis Tag 28 betrug die Letalität der Tauben bei dieser Sporenmenge 40,0 % (eine Taube verstarb an Tag 4, die zweite Taube verstarb an Tag 13), bei den Falken 0 % (VAN WAEYENBERGHE et al. 2012a). Wesentlich akuter verlief die Infektion bei 18 Staren (*Sturnus vulgaris*) bzw. 60 Wachteln (*Coturnix coturnix japonica*), denen eine ähnliche Sporenmenge von 2×10^7 bzw. $0,1 - 1 \times 10^6$ *A. fumigatus* Sporen intratracheal verabreicht wurden. Bei allen Tieren führte die Infektion zur Erkrankung. Bis zum sechsten Tag verstarben 100 % der Stare und 61,6 % der Wachteln (ATASEVER und GÜMÜŞSOY 2004, GÜMÜŞSOY et al. 2004).

Nicht nur die Sporenmenge, sondern auch Pilzart und -stamm sind von entscheidender Bedeutung für den Infektionsverlauf. Im Experiment an Puten erwiesen sich *A. flavus* Sporen

2 LITERATURÜBERSICHT

nach Inhalation unter definierten Laborbedingungen weit weniger pathogen als *A. fumigatus* Sporen (RICHARD et al. 1980). Nach Injektion von jeweils 5×10^6 Sporen 16 verschiedener *A. fumigatus* Stämme in die Luftsäcke von 124 Puten (*Meleagris gallopavo* f. *domestica*) konnten PEDEN und RHOADES (1992) sehr unterschiedliche Krankheitsverläufe und Mortalitätsraten zwischen den einzelnen Stämmen verzeichnen.

Eine Ursache für die Pathogenitätsunterschiede liegt in der von Stamm zu Stamm unterschiedlichen Fähigkeit, Mykotoxine im Verlauf einer Infektion bilden zu können. Insbesondere Gliotoxin, das von der Mehrzahl der *A. fumigatus* Stämme in vivo als auch in vitro gebildet werden kann, wirkt in Schweine- als auch Putenzellkulturen stark zytotoxisch und immunsuppressiv. Die Bildung von Aflatoxin durch *A. flavus* spielt jedoch bei respiratorischen Mykosen kaum eine Rolle (KORBEL et al. 1993, RICHARD et al. 1984 und 1994, TÄSCHNER 1999).

Die akute Aspergillose entwickelt sich auch bei Greifvögeln innerhalb weniger Tage und der Tod erfolgt meist plötzlich (JOSEPH 2000). In einem Fallbericht genügte vermutlich das Aufwirbeln von Stroh durch einen Hund in einem Stall, in dem ein Gerfalke (*Falco rusticolus*) untergebracht war, um eine akute Aspergillose zu provozieren. In einem anderen Fall wurde durch Regen verschimmeltes Heu auf einem Feld neben der Behausung eines Gerfalken gewendet, was ebenfalls als Auslöser einer akuten Aspergillose bei diesem Vogel vermutet wurde. Beide Falken verstarben innerhalb weniger Tage (REDIG 2008). Weitere Situationen mit hohen Sporenkonzentrationen in der Haltung von Greifvögeln werden beispielsweise durch schlechte Belüftung, verrottendes organisches Material (v. a. Einstreumaterial aus Rindenhäcksel oder Eukalyptusmulch), feucht-warme Umgebung (beschleunigtes Pilzwachstum) sowie extreme Trockenheit (vermehrter Sporenflug) nach einer feucht-warmen Periode begünstigt (JOSEPH 2000, REDIG 2008).

Bei der chronischen Form der Aspergillose steht das Immunsystem während der Ätiologie im Vordergrund. Wird es durch endogene oder exogene Faktoren beeinträchtigt, kann es auch bei einem niedrigen Infektionsdruck zur Erkrankung kommen.

Die herausragende Bedeutung des Immunsystems bei der Entstehung und dem Verlauf einer Aspergillose wurde in einem Infektionsversuch an 32 Tauben (*Columba livia* f. *domestica*) deutlich: So konnte der Krankheitsverlauf durch vorherige Dexamethasonapplikationen bei gleicher Infektionsdosis und gleichem Applikationsweg der

2 LITERATURÜBERSICHT

A. fumigatus Sporen im Vergleich zur unbehandelten Gruppe beschleunigt werden (BEERNAERT et al. 2008).

Natürlich vorkommende, speziell das Immunsystem schädigende Noxen stellen beispielsweise das Psittaziden-Circovirus (Psittacine Beak and Feather Disease) bei Papageien und das im Zuge einer Endomykose möglicherweise gebildete Gliotoxin dar. Auch hier lässt sich ein Zusammenhang mit Aspergillose aufzeigen (TÄSCHNER 1999, SCHOEMAKER et al. 2000).

Da Stress die Funktion des Immunsystems negativ beeinflusst (PARGA et al. 2001), sind auch Stress auslösende Faktoren als Prädispositionen hervorzuheben. PARGA et al. (2001) untersuchten den Einfluss eines einstündigen Transports bei trainierten und untrainierten Wanderfalken (*Falco peregrinus*) und Wüstenbussarden (*Parabuteo unicinctus*) und stellten einen signifikanten Anstieg im Verhältnis heterophile Granulozyten : Lymphozyten als „Stressindikator“ fest. Des Weiteren können beispielsweise Besitzerwechsel, Entnahme aus der Wildbahn und medizinisch notwendige Therapien (v. a. mit Corticoiden oder Antibiotika und mit Klinikaufenthalt) einen negativen Einfluss auf das Immunsystem und somit auf die Entwicklung und den Verlauf einer Aspergillose haben (JOSEPH 2000, PARGA et al. 2001, REDIG 2008).

Neben speziell das Immunsystem schädigenden Noxen stellen aber auch ein allgemein verschlechterter Gesundheitszustand sowie diverse Erkrankungen (beispielsweise Bleivergiftungen, Schädigungen der Lunge durch Rauch oder Ammoniak) eine mögliche Prädisposition zur Erkrankung an Aspergillose dar (JOSEPH 2000, REDIG 2008). So wies LOUPAL (1984) in pathologischen Untersuchungen an Psittaziden neben einer Endomykose in 42 von 96 Fällen eine weitere Erkrankung (sowohl infektiös als auch nicht infektiös) nach. In den arabischen Staaten sind als prädisponierende Faktoren für die Entstehung einer Aspergillose in erster Linie die klimatischen Bedingungen, der Trainingsstress, mangelhafte Ernährung und schlecht belüftete bzw. klimatisierte Unterbringungsräume insbesondere nach dem Import der Tiere oder zur Jagdsaison hervorzuheben (DI SOMMA et al. 2007, RAHIM et al. 2013).

Obwohl Aspergillose vor allem bei in Gefangenschaft gehaltenen Greifvögeln auftritt, gibt es auch in freier Wildbahn vereinzelt Nachweise von Aspergillose bei diesen Spezies. Als möglichen prädisponierenden Faktor führen REDIG et al. (1980) bei Untersuchungen an

2 LITERATURÜBERSICHT

freilebenden Habichten (*Accipiter gentilis atricapillus*), die an Aspergillose erkrankt bzw. verstorben waren, die zu der Untersuchungszeit sehr hohe Populationsdichte, die mit Nahrungsmangel und vermehrten sozialen Konflikten einhergeht, auf.

2.3.1.2 Speziesprädispositionen

In der Literatur wird eine Vielzahl von Greifvogelspezies, die besonders anfällig für die Entwicklung einer Aspergillose ist, genannt. Darunter zählen (nach dem Maß ihrer Sensibilität aufgelistet) Gerfalken (*Falco rusticolus*), Habichte (*Accipiter gentilis*), Rauhußbussarde (*Buteo lagopus*), Steinadler (*Aquila chrysaetos*), Fischadler (*Pandion haliaetus*), Weißkopfseeadler (*Haliaeetus leucocephalus*), Schneeeulen (*Nyctea scandiaca*), Rotschwanzbussarde (*Buteo jamaicensis*), Mohrenhabichte (*Accipiter melanoleucus*) und Präriefalken (*Falco mexicanus*) (JONES und OROSZ 2000, JOSEPH 2000, DEEM 2003, REDIG 2008).

Grundsätzlich gilt allerdings, dass keine Vogelspezies gegen Aspergillose resistent ist (JOSEPH 2000, CONVERSE 2007).

Vergleicht man die geographische Verbreitung der gegenüber Aspergillose sensiblen und resistenteren Arten, fällt auf, dass viele der sensiblen Arten aus nördlichen Gebieten stammen (REDIG 2008). CONVERSE (2007) berichtet in diesem Zusammenhang, dass *Aspergillus* spp. nahezu weltweit mit Ausnahme der Antarktis verbreitet sind, was auf eine genetisch bedingte Abwehrschwäche aufgrund mangelnden Kontakts mit dem Antigen – insbesondere bei den extrem empfindlichen Gerfalken (*Falco rusticolus*) – schließen lassen könnte. Diese Vermutung wird von GRACZYK und COCKREM (1995) geteilt. Sie untersuchten 184 Plasmaproben von 5 verschiedenen Pinguinarten (150 *Megadyptes antipodes*, 20 *Eudyptula minor*, 9 *Eudyptes chrysocome*, 5 *Pygoscelis adeliae*) aus 12 unterschiedlichen freilebenden Populationen aus Neuseeland und der Antarktis mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) auf Antikörper gegen *Aspergillus* spp. und setzten die Titerhöhe in Beziehung zum Breitengrad der Habitate der einzelnen Populationen. Je südlicher der Breitengrad, in dem die Population lebte, desto geringer war der Antikörperspiegel, was die Autoren mit einem geringeren Antigenkontakt erklären.

Hybride zwischen den hochsensiblen Gerfalken und den als weniger sensibel geltenden Sakerfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) scheinen resistenter als reine Gerfalken gegen Aspergillose zu sein. Die Prädisposition wird vermutlich jedoch bei Rückkreuzungen mit

2 LITERATURÜBERSICHT

zunehmendem Gerfalkenanteil wieder größer (HEIDENREICH 1996b). Verglichen mit Tauben (*Columba livia* f. *domestica*) wiesen Ger- x Sakerfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) bei Verabreichung derselben Sporenmenge pro Vogel ähnliche Infektionsraten auf (VAN WAEYENBERGHE et al. 2012a).

2.3.2 Klinik

Je nach Verlaufsform kann die Aspergillose in eine akute und mehrere chronische Formen unterteilt werden (s. Tabelle 1) (REDIG 1981, JOSEPH 2000).

Bei akuter Aspergillose weisen Greifvögel innerhalb weniger Tage ein stark vermindertes Allgemeinbefinden auf. Sie zeigen meist starke Dyspnoe, massiven Gewichtsverlust, Anorexie, Polyurie und Polydipsie. Der Tod erfolgt plötzlich (JOSEPH 2000).

Bei der chronischen Form der Aspergillose beträgt die Inkubationszeit eine bis mehrere Wochen. Oftmals sind die Tiere latent infiziert und erkranken erst, wenn das Immunsystem beeinträchtigt wird, wie z. B. durch Transportstress, Veränderungen in der Haltung oder Entnahme aus freier Wildbahn (JOSEPH 2000, DAHLHAUSEN 2006).

In subakuten bis chronischen Fällen der Erkrankung werden teilweise dieselben Symptome beobachtet wie bei dem akuten Verlauf, doch die Krankheitsentwicklung ist insgesamt schleichender. Oft zeigt sich lediglich hochgradige Inanition in Kombination mit geringgradiger Dyspnoe (DEEM 2003). Teilweise werden ausschließlich Veränderungen im Verhalten bemerkt; z. B. dass sich der Greifvogel nach der Jagd nicht so schnell erholt wie üblich, verstärkt atmet oder ganz die Lust am Jagen verliert (JOSEPH 2000, REDIG 2008). In einem Infektionsversuch an 18 Ger- x Sakerfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) konnten bei einem subakut bis chronischen Krankheitsverlauf vor allem Anorexie, Vomitus und Grünverfärbung der Harnsäure festgestellt werden (VAN WAEYENBERGHE et al. 2012a). Obwohl es sich bei Granulomen im Syrinxbereich um eine chronische Form der Aspergillose handelt, geht diese häufig mit akuter Dyspnoe und Stimmveränderungen einher (REDIG 1981). Des Weiteren beschreibt FORBES (1991) das Hängen eines Flügels und Vomitus als Symptom der Aspergillose der vorderen Luftsäcke bei Greifvögeln. Ist der kaudale Teil des Luftsacksystems betroffen, können – bedingt durch die anatomischen Verhältnisse und das infiltrative Wachstum der Aspergillen – Hepato- und Nephropathien sowie gastrointestinale Schädigungen die Symptome bestimmen und die eigentlich primäre Mykose des Respirationstrakts verschleiern (JOSEPH 2000, DEEM 2003). Grundsätzlich kann jedes Organ

2 LITERATURÜBERSICHT

durch Thrombembolien, Metastasierung oder Infarzierung nach Einbrüchen von Schimmelpilzhyphen in das Gefäßsystem oder auch durch die Wirkung von Mykotoxinen geschädigt werden und so zu den Symptomen beitragen (LOUPAL 1984, KORBEL et al. 1993, ATASEVER und GÜMÜŞSOY 2004, DAHLHAUSEN 2006).

2.3.3 Pathologie

Nach REDIG (1981) lassen sich mehrere chronische und eine akute Erscheinungsform der Aspergillose bei Vögeln unterscheiden, die zu verschiedenen pathologischen und klinischen Bildern führen und denen jeweils eine unterschiedliche Pathogenese zu Grunde liegt.

Tabelle 1. Einteilung der Aspergilloseformen nach REDIG (1981)

Typ	Klinische Erscheinungsform	Pathologisches Bild	Mögliche Pathogenese
I A	Akute Aspergillose	Miliare Entzündungsherde im Lungenparenchym	(A) Überwältigende Anzahl an Sporen
I B	Akute Aspergillose	Miliare Entzündungsherde im Lungenparenchym	(B) Unterentwickeltes Abwehrsystem der Lunge (z. B. Küken) und moderate Sporenbelastung
II	Chronische Aspergillose	Ungehindertes Pilzwachstum; geringe Abwehrreaktion	Kompletter Ausfall des Immunsystems und moderate Sporenbelastung
III	Chronische Aspergillose	Hochgradig Granulome in Lungenparenchym und Luftsäcken	Verminderte Abwehr durch Lungenmakrophagen und anschließende Überreaktion der B- und T-Lymphozyten und moderate Sporenbelastung
IV	Chronische, subklinische Aspergillose	Gut abgekapselte, einzelne Granulome in Lunge und Luftsäcken	Angemessene Abwehrreaktion und moderate Sporenbelastung; oft Zufallsbefund
V	Chronische, tracheale Aspergillose	Lokale Granulome / Plaques in der Trachea, meist im Syrinxbereich	Lokaler Abwehrmechanismus insuffizient und moderate Sporenbelastung

2 LITERATURÜBERSICHT

Obwohl sich akute und chronische Aspergillose formalpathologisch teilweise deutlich voneinander unterscheiden, kann es beim Aufflammen von ruhenden chronischen Aspergillosen zu akuten Schüben und somit zur Vermischung der pathologisch-anatomischen Befunde kommen (RAHIM et al. 2013).

FEMENIA et al. (2007) untersuchten den akuten Verlauf der Erkrankung unter klinischen sowie pathologisch-anatomischen Aspekten bei experimentell infizierten Putenküken. Von Tag 1 - 2 an stellten sie geringgradige ödematöse Veränderungen der Luftsackwände und geringgradige multifokale Lungenkongestionen fest. Ab Tag 2 - 3 waren erste einzelne Granulome in der Lunge sichtbar, die bis zum 5. Tag expandierten. Auch bei Greifvögeln konzentrieren sich die pathologischen Befunde bei akuter Aspergillose auf miliare, gelbliche Herde im Lungenparenchym (REDIG 1981, HEIDENREICH 1996a).

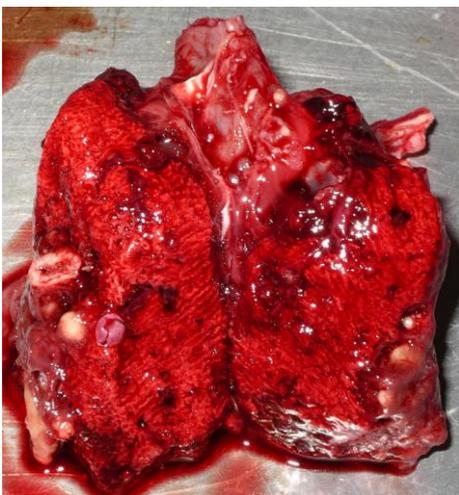


Abbildung 9. Lunge eines Ger- x Sakerfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) mit akuter Aspergillose



Abbildung 10. Luftsäcke eines Ger- x Sakerfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*) mit chronischer Aspergillose

Beschreibungen von chronischen Aspergillosen bei Greifvögeln reichen von käsigen, weißgelben Granulomen unterschiedlicher Größe in Lungen und Luftsäcken und opaken Verdickungen der Luftsäcke bis hin zu konfluierenden gelblichen, fibrinösen Ausgüssen der Körperhöhlen, die teilweise mit Pilzrasen bedeckt sind. Dabei können das Perikard oder die Oberflächen aller angrenzenden Organe in die Veränderungen mit einbezogen sein (REDIG 1981, HEIDENREICH 1996a, DEEM 2003). Bei granulomatösen Erscheinungsformen kann das makroskopische Bild einer Tuberkulose ähneln, weswegen in solchen Fällen eine mykologische oder histologische Untersuchung angeschlossen werden sollte (DEEM 2003).

2 LITERATURÜBERSICHT

Mikroskopisch findet man im Anfangsstadium der Aspergillose sowohl in der Lunge als auch in den Luftsäcken oder den angrenzenden Organen eine Infiltration des Gewebes mit heterophilen Granulozyten, Lymphozyten, Makrophagen, vereinzelt Riesenzellen oder freies Hyphenwachstum. Im Verlauf der Erkrankung wird der Erreger von einem Wall aus Makrophagen, Epitheloid- und Riesenzellen eingegrenzt, an den sich anschließend eine Schicht aus Fibrozyten und Fibroblasten anschließt. Es folgt eine diskontinuierliche Zone aus Lymphozyten, Plasmazellen und kleinen Blutgefäßen. Im Zentrum des Granuloms findet sich je nach Größe radiäres (bei kleineren Granulomen) oder ungeordnetes Wachstum (größere Granulome) von Hyphen mit mehr oder weniger nekrotischem Material. Auch freies Pilzwachstum in den Parabronchien sowie Einbrüche in das Lungengewebe und die Blutgefäße mit Thrombenbildung können nachgewiesen werden (LOUPAL 1984, ATASEVER und GÜMÜŞSOY 2004, FEMENIA et al. 2007). Neben den direkten Einbrüchen in das Gefäßsystem werden Pilzelemente auch von Makrophagen aufgenommen und auf diese Weise in den Blutkreislauf eingebracht (LOUPAL 1984, RICHARD et al. 1984). VAN WAEYENBERGHE et al. (2012b) wiesen die Phagozytose und Lyse von *A. fumigatus* Sporen durch Lungenmakrophagen aus Tauben erstmals in vitro nach. Sie dokumentierten aber auch einen signifikanten Anstieg von Nekrosen bei Makrophagen, die *A. fumigatus* Sporen phagozytiert hatten. Ein anschließendes Aussprossen der phagozytierten Sporen erfolgte in etwa 2 % der Makrophagen.

Speziell zur Färbung von Pilzelementen in histologischen Präparaten können die Gridley Färbung, die Periodic acid-Schiff (PAS)- oder Methenamin-Silber-Färbungen verwendet werden (ATASEVER und GÜMÜŞSOY 2004, FEMENIA et al. 2007).

2.3.4 Diagnostik im Allgemeinen

Das Erstellen der Diagnose „Aspergillose“ ist am lebenden Tier in vielen Fällen sehr schwierig und erfordert in der Regel eine Kombination von Untersuchungsmethoden (JONES und OROSZ 2000, DEEM 2003, REDIG 2008). Grundsätzlich sollten eine genaue Anamnese bezüglich der Haltung, eventueller Veränderungen, Vorbehandlung mit Antibiotika oder Corticosteroiden und ähnlichen prädisponierenden Faktoren aufgenommen sowie eine ausführliche klinische Untersuchung durchgeführt werden (DEEM 2003, DAHLHAUSEN 2006, RAHIM et al. 2013). Auf die möglichen Diagnostika – insbesondere die in dieser Arbeit

2 LITERATURÜBERSICHT

untersuchte Radiographie sowie die Proteinelektrophorese – soll im Folgenden eingegangen werden.

2.3.5 Bildgebende Diagnostik

2.3.5.1 Radiographie

Die Radiographie stellt bei Erkrankungen des Respirationstrakts bei Vögeln eine sehr nützliche Diagnostik dar (TULLY 1995, DEEM 2003). Von großem Vorteil bei dieser Untersuchungsmethode ist, dass sie – im Gegensatz zur Endoskopie – ohne Allgemeinanästhesie durchgeführt werden kann und schnell Ergebnisse liefert (JONES und OROSZ 2000, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 2009).

Auf dem Gebiet der Radiographie zur Diagnostik der Aspergillose gibt es einige allgemeine Beschreibungen von röntgenologischen Befunden, die bei Aspergillose erhoben werden können (JONES und OROSZ 2000, DAHLHAUSEN 2006, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009), aber es existieren bislang nur wenige systematische Studien zu Befunden, die bei Vögeln mit Erkrankungen des Respirationstrakts mittels Projektionsradiographie erstellt wurden. RÜBEL (1985) beschrieb spezielle Röntgenzeichen in Zusammenhang mit Erkrankungen unterschiedlichster Organsysteme; u. a. auch dem Respirationstrakt. KRAUTWALD-JUNGHANNS (1997) untersuchte speziell den Respirationstrakt und dessen Erkrankungen mittels Radiographie und Computertomographie (CT). MC MILLAN und PETRAK (1989) werteten in einer retrospektiven Studie über Papageien, die an Aspergillose erkrankt und gestorben waren, die Röntgenbilder von 10 Tieren aus. WERTHER (1993) konzentrierte sich bei ihren Untersuchungen auf die Aussagekraft der konventionellen Projektionsradiographie im Falle von Mykosen des Respirationstrakts. Alle erwähnten Studien wurden bei Papageien und – mit Ausnahme der Computertomographie – mit analoger Technik durchgeführt. Die Projektionsradiographie wird von allen Autoren als eine sehr gute Methode zur Diagnostik von (v. a. fortgeschrittener) Aspergillose bewertet, deren Aussagekraft sich in Kombination mit weiteren Untersuchungen noch erhöhen lässt.

Obwohl in einer retrospektiven Studie an 1702 Falken (*Falco* spp.), bei der alle radiographischen Befunde nach ihrer Häufigkeit ausgewertet wurden, inhomogene und homogene Verschattungen sowie herdförmige Veränderungen in den Luftsack- und Lungenfeldern die häufigsten Befunde darstellten (NALDO und SAMOUR 2004b), sind

2 LITERATURÜBERSICHT

Studien über Röntgenzeichen im Allgemeinen bei Greifvögeln noch seltener als bei Papageien. Außer dieser Studie existieren lediglich Beschreibungen zu physiologischen Befunden bei Schleiereulen (*Tyto alba*) und Rotschwanzbussarden (*Buteo jamaicensis*) (SMITH und SMITH 1990 und 1991) sowie eine Studie über die physiologischen Abmessungen von Jagdfalkenherzen (BARBON et al. 2010).

Als typische Röntgenzeichen speziell für Aspergillose allgemein beim „Vogel“ gelten:

- Inhomogen erhöhte Röntgendichte des Lungenfeldes (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b)
- Multiple und solitäre, herdförmige scharf begrenzte, erhöhte Röntgendichten im Lungenfeld (RÜBEL 1985, MC MILLAN und PETRAK 1989, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b, DAHLHAUSEN 2006)
- Überdehnung der Abdominalluftsäcke („Airtrapping“) (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993)
- Generalisierte inhomogen erhöhte Röntgendichte der thorakalen und abdominalen Luftsäcke (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b)
- Asymmetrische Verschattungen der Luftsackbereiche im ventrodorsalen Strahlengang (RÜBEL 1985, NEWELL et al. 1997, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009)
- Multiple und solitäre, herdförmige scharf begrenzte, erhöhte Röntgendichten im Luftsackfeld (RÜBEL 1985, MC MILLAN und PETRAK 1989, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b, DAHLHAUSEN 2006)
- Erhöhte Röntgendichte der Luftsackwände (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b)
- Verdickung der kaudalen Luftsackwände („Kavernenbildung“) (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NEWELL et al. 1997)

Unspezifische Röntgenzeichen für chronische infektiöse Erkrankungen des Respirationstrakts sind:

- Großflächige, homogen erhöhte Röntgendichte des Lungenfeldes (RÜBEL 1985, NEWELL et al. 1997, NALDO und SAMOUR 2004b)
- Abrundung der kaudalen Lungengrenze (NALDO und SAMOUR 2004b)

2 LITERATURÜBERSICHT

- Erhöhte Röntgendichte im Bereich des Hauptbronchus (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993)
- Multiple und solitäre, herdförmige unscharf begrenzte, erhöhte Röntgendichten im Lungenfeld (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NEWELL et al. 1997)
- Kalzifizierung der Luftsackwände (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993)
- Abrundung der kaudalen Anteile des Abdominalluftsackes im ventrodorsalen Strahlengang (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NEWELL et al. 1997)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich mykotisch bedingte Veränderungen meist herdförmig und abgegrenzt darstellen (NEWELL et al. 1997), wohingegen bakterielle Erkrankungen oft ein diffus verwaschenes Erscheinungsbild hervorrufen (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, NALDO und SAMOUR 2004b).

Nachteilig an der Projektionsradiographie ist, dass geringgradig ausgeprägte Röntgenzeichen zu Beginn von Erkrankungen des Respirationstrakts im Summationsbild durch Überlagerungen bei Papageien leicht übersehen werden (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993). Des Weiteren eignet sich die Projektionsradiographie nur bedingt zur Therapiekontrolle, da sich trotz klinischer Besserung der Patienten nach wenigen Monaten noch keine Verbesserung der radiographischen Befunde feststellen lassen (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, DAHLHAUSEN 2006).

2.3.5.2 Computertomographie (CT)

Die rekonstruktive Röntgentransmissions- oder Computertomographie (CT) führt zu noch genaueren Informationen über Ausmaß und Lage der Veränderungen als die Projektionsradiographie, da durch sie ein überlagerungsfreies Bild geschaffen wird (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997, NEWELL et al. 1997, GUMPENBERGER und HENNINGER 2001, MACKEY et al. 2008, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009). So können sich auch im kranialen Lungenpart einzelne Herde abgrenzen lassen, die bei Verwendung Projektionsradiographie durch die mannigfaltigen Überlagerungen – v. a. durch die Brustmuskulatur – leicht übersehen werden (KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997).

Außerdem ist die Absorptionswertmessung durch die CT sehr viel genauer als die Graustufen eines analogen Röntgenbildes. Insbesondere im Bereich der Lungen und in früheren Krankheitsstadien ist die CT der Radiographie deutlich überlegen und stellt zum heutigen Zeitpunkt das aussagekräftigste und sensitivste Verfahren zur Diagnostik aviärer

2 LITERATURÜBERSICHT

Lungenveränderungen dar (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009). Erkrankungen des Respirationstrakts können sich durch Dichtemessungen der Lunge bereits im Anfangsstadium diagnostizieren lassen (KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997, MACKEY et al. 2008). Dabei ist allerdings zu beachten, dass die Lagerung der Vögel Einfluss auf die Lungendichte hat und eine dorsale Lagerung zu einer signifikant höheren Lungendichte als eine sternale Lagerung führen kann (MALKA et al. 2009).

Im Bereich der Luftsäcke ist die Computertomographie der Projektionsradiographie ebenbürtig. Durch die oft fehlende Abgrenzung zu den inneren Organen und durch das weichteildichte Erscheinungsbild hochgradiger Luftsackveränderungen bei entzündlichen Prozessen, lassen sich die veränderten Luftsackwände oft nicht als solche erkennen. Das Luftsackvolumen spielt aufgrund der physiologisch sehr großen Schwankungsbreite als diagnostischer Indikator keine Rolle (KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009). NEWELL et al. (1997) vermuteten bei der Verwendung der Computertomographie auch bessere Möglichkeiten zur Darstellung von Obstruktionen in der Trachea als bei Verwendung der Radiographie, allerdings konnte dies von KRAUTWALD-JUNGHANNS (1997) nicht bestätigt werden. Im Bereich des oberen Respirationstrakts (*Conchae nasales, Sinus infraorbitalis*) konnten jedoch bei 5 Papageien mit purulenter Sinusitis in allen Fällen Alterationen in den CT-Scans registriert werden und durch Messung eines verminderten Volumens an pneumatisiertem Raum bestätigt werden. Durch die Radiographie hingegen konnten auf Röntgenbildern von 15 Papageien mit hochgradiger chronischer Rhinitis oder Sinusitis lediglich in 6 Fällen Veränderungen festgestellt werden (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1998a).

Neben entzündlichen Veränderungen des Respirationstrakts eignet sich die Computertomographie auch zur Erfassung von Struktur und Ausmaß von Neoplasien (MARSHALL et al. 2004, BAUMGARTNER et al. 2008) und zur nichtinvasiven Darstellung normalanatomischer Befunde am lebenden Tier (OROSZ und TOAL 1992, KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1998b, PEPPERBERG et al. 1998, PETNEHAZY et al. 2012).

Von Nachteil bei der Computertomographie sind die zur Radiographie vergleichsweise höheren Kosten, die schlechtere Verfügbarkeit und die höhere Strahlenbelastung

2 LITERATURÜBERSICHT

(PETNEHAZY et al. 2012). Eine Narkose ist mit modernen Geräten nicht mehr zwangsläufig notwendig (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009).

2.3.5.3 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Magnetresonanztomographie oder Kernspintomographie ist im Bereich der Lungen und Luftsäcke wegen der normalerweise niedrigen Dichte und dem hohen Luftgehalt dieser Organe nicht einsetzbar. Für den oberen Respirationstrakt kann sie sich jedoch im Bereich des *Sinus infraorbitalis* als sinnvoll erweisen (NEWELL et al. 1997, PYE et al. 2000). So konnten bei 7 von 10 Papageien unterschiedlicher Spezies mit chronischer Sinusitis Entzündungsherde im Sinusbereich mittels MRT ermittelt und anschließend bei 5 Vögeln erfolgreich operiert werden (PYE et al. 2000).

Die Kernspintomographie wird aber auch bei anderen Indikationen in der Vogelmedizin wegen der im Vergleich zur CT noch höheren Kosten, der schlechteren Verfügbarkeit und der unbedingt erforderlichen Allgemeinanästhesie (aufgrund der langen Untersuchungsdauer und der hohen Lärmbelastung) selten eingesetzt (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009).

2.3.5.4 Endoskopie

Die Endoskopie der Luftsäcke ist nach REDIG (2008) die aussagekräftigste Methode der Diagnostik bei Aspergillose, in der nicht nur Teile des Respirationstrakts optisch beurteilt, sondern auch Proben genommen werden können, um sie kulturell und mikroskopisch zu untersuchen. Sehr nachteilhaft bei dieser Untersuchungsmethode sind jedoch die Invasivität und die erforderliche Allgemeinanästhesie, die insbesondere bei kranken Vögeln nicht ohne Risiko ist (JONES und OROSZ 2000, KRAUTWALD-JUNGHANNS 2011). Außerdem sind Beurteilungen des inneren Lungenparenchyms, dessen Zustand jedoch essentiell für den Krankheitsverlauf und die Prognose ist, nicht möglich.

Um beide Lungen zumindest oberflächlich von der *Facies septalis* aus beurteilen zu können und um die Thorakal- und Bauchluftsäcke vollständig einsehen zu können, ist ein Zugang von beiden Seiten nötig.

Die auf der *Facies septalis* mündenden Ostien der Hauptbronchien sollten dabei inspiziert werden, da sie als eine der Prädilektionsstellen für Aspergillome anzusehen sind (HOCHLEITHNER 1997). Des Weiteren können als unspezifische Anzeichen einer

2 LITERATURÜBERSICHT

Lungenkongestion und -inflammation eine Rötung oder bei Ödemen eine Graufärbung der ansonsten rosafarbenen *Facies septalis* festgestellt werden (HOCHLEITHNER 1997, TAYLOR 1997).

Die Luftsäcke sind in den Anfangsstadien von Entzündungen jeglicher Genese lediglich stärker vaskularisiert, wohingegen sie in chronischen Prozessen opak erscheinen und mit Granulomen oder ungeformten Auflagerungen besetzt sein können (TAYLOR 1997).

Auch die Trachea kann endoskopisch (je nach Vogelgröße und Endoskopdurchmesser- bzw. länge) auf das Vorhandensein von – vor allem im Syrinxbereich vorkommenden – Granulomen inspiziert werden. Proben von Granulomen oder anderen Auflagerungen können entweder direkt mit einem Tupfer oder durch Abzupfen mit einer Biopsiezange entnommen werden (TAYLOR 1997, DAHLHAUSEN 2006, REDIG 2008). Allein aufgrund der morphologischen Befunde ist jedoch noch keine Diagnose von Aspergillose möglich, da auch bakteriell bedingte Infektionen des Respirationstrakts zu ähnlichen Erscheinungsbildern führen können (TAYLOR 1997).

2.3.6 Labormedizinische Diagnostik

2.3.6.1 Zytologische und mikrobiologische Untersuchung

Proben, die während der Endoskopie aus den Luftsäcken oder aus der Trachea mit sterilen Tupfern entnommen werden, sollten mykologisch und zytologisch untersucht werden. Bei der Entnahme der Proben aus Trachea und Luftsack ist in jedem Falle eine Allgemeinanästhesie nötig, um die Verletzungsgefahr des Vogels und die Kontaminationsgefahr des Tupfers mit Keimen aus der Umwelt zu verringern (CAMPBELL und ELLIS 2007a, REDIG 2008). Zu beachten ist, dass bei einem Nachweis von Schimmelpilzen aus dem oberen Respirationstrakt nicht direkt auf eine Infektion der Lunge gefolgert werden kann und die Korrelation zwischen kulturell mykologischem Befund und klinischer Symptomatik unsicher ist (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2011).

Die Speziesdiagnose der Schimmelpilze ist zwar – abgesehen von der PCR (Polymerase Chain Reaction) (BUCHHEIDT und HUMMEL 2005) – nur nach kultureller Anzucht (durch Kulturmorphologie und mikroskopische Untersuchung von Fruktifikationsorganen) möglich (CAMPBELL und ELLIS 2007a, RÜSCHENDORF 2008), aber die Gewinnung der Proben ist – wie die Endoskopie – teilweise invasiv und mit einer Allgemeinanästhesie verbunden.

2 LITERATURÜBERSICHT

Wegen der Gefahr der Verwechslung von Infektion mit Kontamination bei der Auswertung der Kulturen sind die Resultate dieser Untersuchungen immer im Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik zu sehen (JONES und OROSZ 2000).

Die Anzucht der meisten pathogenen Pilze gelingt bei etwa 37 °C auf Sabouraud-Dextrose-Agar. Nach dem Wachstum der Pilze und Ausbildung der asexuellen Fruktifikationsorgane können diese mittels Abklatsch- oder Zupfpräparaten mikroskopisch untersucht werden und so eine Speziesdiagnose ermöglichen. Zur Färbung der Präparate eignet sich beispielsweise Lactophenolblau (RÜSCHENDORF 2008).

Gegenüber der kulturellen Anzucht hat die zytologische Untersuchung den Vorteil, dass man bei Nachweis von Entzündungszellen neben den Pilzelementen zwischen einer Infektion und einer Kontamination unterscheiden kann (JONES und OROSZ 2000). Bei Infektionen mit *Aspergillus* spp. können breite (5 - 10 µm), septierte Hyphen, die sich im 45°-Winkel dichotom verzweigen und Entzündungszellen (heterophile Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen) mikroskopisch sichtbar sein. Zur Färbung zytologischer Präparate eignet sich beispielsweise die Diff-Quick-Färbung (CAMPBELL und ELLIS 2007a).

2.3.6.2 Proteinelektrophorese

Zwar gehört die Proteinelektrophorese zu den blutchemischen Untersuchungen, doch wird sie hier – da sie in der vorgestellten Studie untersucht wird – separat behandelt.

Als eine der ersten Forscher stellten QUESENBERRY und MOROFF (1991) die Anwendung der Proteinelektrophorese in der Ziervogelmedizin anhand von Plasmaproben von gesunden und erkrankten Papageien vor und erläuterten deren Bedeutung und Interpretation. Seitdem gab es viele verschiedene Studien, die die Elektrophorese bei verschiedenen Vogelspezies und verschiedenen Erkrankungen untersuchten und je nach Krankheitsursache ein mehr oder weniger typisches Elektropherogramm aufzeigten. Für Aspergillose typische Veränderungen bestehen bei dem „Vogel“ in einem Anstieg des Gesamtproteins – wobei dieser durch eine Hyperglobulinämie der β - und γ -Fraktion hervorgerufen wird – und einem Abfall des Albumins, was insgesamt zu einem Abfall des Albumin : Globulin-Verhältnisses führt (CRAY und HARRIS 1995, CRAY und TATUM 1998, IVEY 2000, BLANCO und HOFLE 2003). Die Plasma- oder Serumelektrophorese stellt für viele Forscher eine wichtige Screeningmethode für Vögel in Kombination mit anderen Untersuchungen dar, um insbesondere Frühstadien von Krankheiten zu erfassen, da sie sehr schnell und sensibel auf

2 LITERATURÜBERSICHT

Veränderungen im Vogelorganismus reagiert (CRAY und TATUM 1998, TATUM et al. 2000, BLANCO und HOFLE 2003, ROMAN et al. 2005). So konnten ROMAN et al. (2005) bei 10 Pfauen (*Pavo cristatus*) bereits 16 Stunden nach erfolgter Tendektomie des *Musculus pectoralis superficialis* einen Anstieg in der α - und β -Fraktion verzeichnen. Problematisch in Bezug auf die Interpretation der Elektropherogramme ist jedoch, dass unterschiedliche Vogeltaxa unterschiedliche Referenzbereiche aufweisen (ORDONNEAU et al. 2005, CRAY et al. 2007), dass auch physiologische Veränderungen (z. B. Legetätigkeit, Mauser, Alter) zu Abweichungen von dem „normalen“ Elektropherogramm führen können (KRISTJANSSON et al. 1963, CLUBB et al. 1991, SPAGNOLO et al. 2006) und dass die Ergebnisse sich je nach verwendetem Elektrophoresesystem erheblich unterscheiden (ROMAN et al. 2005, CRAY et al. 2007, CRAY et al. 2011). Derartige Probleme, die die Interpretation von Elektropherogrammen erschweren, können möglicherweise nach CRAY und TATUM (1998) und ROMAN et al. (2009a) durch Identifizierung von bestimmten Peaks als spezielle Proteine, die während einer bestimmten Erkrankung verstärkt exprimiert werden, in Zukunft behoben werden. So identifizierten ROMAN et al. (2009a) zum ersten Mal mittels Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie bei gesunden Vögeln (12 Venezuelaamazonen (*Amazona amazonica*), 12 Schwarzmilanen (*Milvus migrans*) und 12 Felsentauben (*Columba livia*)) einen speziellen, bislang in seiner Bedeutung unklaren Peak in der α -Globulin Fraktion als das Lipoprotein A-I.

Zur Prognose und zur Verlaufskontrolle von Erkrankungen (u. a. der Aspergillose) bei Zier-Zoo- und Wildvögeln stellt die Elektrophorese nach Meinung einiger Forscher schon heute ein wichtiges Diagnostikum dar (REIDARSON und MC BAIN 1995, CRAY und TATUM 1998, TATUM et al. 2000). So stellten REIDARSON und MC BAIN (1995) bei 29 von 62 Humboldt-, Magellan-, und Adeliepinguin (*Spenicus humboldti*, *Spenicus magellanicus*, *Pygoscelis adeliae*), die an Aspergillose erkrankt waren, einen Albumingehalt von weniger als 1,8 g/dl im Serum fest. Von diesen 29 Pinguinen verstarben 27 Tiere. Die Autoren sehen somit in dem Albumingehalt einen wichtigen prognostischen Indikator.

2.3.6.3 Blutchemische Untersuchung

Die Befunde der mittels Trocken- oder Nasschemie durchgeführten Blutuntersuchungen stellen immer nur eine Momentaufnahme dar, für deren korrekte Beurteilung eine

2 LITERATURÜBERSICHT

Folgeuntersuchung notwendig ist. Aufgrund von starken speziesspezifischen Differenzen bei Vögeln, exogenen Einflüssen auf den Vogelorganismus und unterschiedlichen Labormethoden sind diese blutchemischen Befunde schwer zu interpretieren und sollten erst bei einer Abweichung von mindestens 25 % vom Referenzbereich als diagnostisch bedeutsam gewertet werden (SCOPE 2011).

Selbst solche deutlichen Abweichungen von Referenzwerten sind jedoch nicht spezifisch für Aspergillose. Denn je nach Grad und Ort der Noxen, die durch die Infektion gesetzt werden (z. B. invasives Wachstum auf Organoberflächen, mykogene Thrombembolien, Mykotoxine), können Abweichungen unterschiedlicher Schweregrade in den einzelnen Organprofilen registriert werden, die nicht in Bezug zur klinischen Symptomatik stehen müssen (KORBEL et al. 1993, JONES und OROSZ 2000).

2.3.6.4 Serologie

Die ersten Versuche, Aspergillose mittels serologischer Untersuchungen zu diagnostizieren, wurden vom „Raptor Center“ der Universität Minnesota in den 80er Jahren mit einem eigens entwickelten Antikörper im Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) durchgeführt (PHALEN 2001). Von REDIG et al. (1997) erfolgten Untersuchungen an 1786 Plasmaproben 19 verschiedener Spezies unter Verwendung dieses Antikörper-ELISAs von an Aspergillose erkrankten Greifvögeln aus Gefangenschaft. Dabei stellte sich heraus, dass der verwendete ELISA nur bei extrem hohen Antikörpertitern gegen *Aspergillus* spp. Antigene (wegen schlechter Korrelation zu dem klinischen Erscheinungsbild) einen Hinweis auf die Erkrankung bieten und eine Verlaufskontrolle anhand der Titerentwicklung ermöglichen konnte.

Auch bei Untersuchung anderer ELISA-Systeme und anderer Vogelspezies schien eine Korrelation zwischen klinischem Verlauf der Erkrankung und Antikörpertiter bei Vögeln nicht vorhanden zu sein (GRACZYK et al. 1998, GERMAN et al. 2002). Selbst klinisch sowie pathologisch völlig gesunde Vögel (in diesem Falle als Negativkontrolle eingesetzte 30 Puten (*Meleagris gallopavo* f. domestica)) wiesen einen gewissen Antikörperspiegel auf (FRANÇA et al. 2012). Je nach Vogelordnungen aber auch -spezies scheint es sehr unterschiedliche „Titerlevel“ (unabhängig ob kranke oder gesunde Vögel) zu geben, wie bei in einigen Studien nachgewiesen werden konnte (REDIG et al. 1997, GERMAN et al. 2002, CRAY et al. 2009c). Dies kann sowohl immunologische als auch haltungsbedingte (höhere oder niedrigere

2 LITERATURÜBERSICHT

Sporenexposition) Gründe haben (GERMAN et al. 2002, CRAY et al. 2009c). FRANÇA et al. (2012) stellten bei 64 Broilern signifikant höhere Antikörperspiegel bei einer Infektion mit *Aspergillus fumigatus* als mit *A. flavus* fest, so dass auch eine Beeinflussung des Titers durch die *Aspergillus* Spezies mit in Betracht gezogen werden muss. Die Methodik der Antikörperbestimmung wird unabhängig von dem verwendeten Testsystem als wenig sensibel und spezifisch eingeschätzt (PAHLEN 2001) und weitere Untersuchungsmethoden zur Erstellung der Diagnose Aspergillose werden als notwendig erachtet (REDIG et al. 1997, JONES und OROSZ 2000).

Erste Untersuchungen zum Antigennachweis von *Aspergillus* spp. in Blutproben von Vögeln (Psittaciformes, Alcidae, Falconiformes) wurden zum Ende der 90er Jahre mit laboreigenen Antigen-ELISAs durchgeführt (CRAY und ZIELEZIENSKI-ROBERTS 1997).

Mittlerweile sind zwei, für die Humanmedizin entwickelte Antigen ELISAs kommerziell erhältlich. Der erste Test weist Galactomannan nach, ein Heteropolysaccharid aus der Zellwand des Pilzes, das während des Wachstums freigesetzt wird (Galactomannan EIA: Platelia® Test, Bio-Rad, München, Deutschland). Der zweite Test reagiert bei Vorliegen von (1 → 3) β-D Glucan, einem Zellwandbestandteil der meisten pathogenen Pilze ((1 → 3) β-D Glucan Assay: Fungitell® Assay, Associates of Cape Cod, Falmouth, MA, USA)(BURCO et al. 2012). Während in der Humanmedizin Sensitivitäts- und Spezifitätswerte bei Patienten mit invasiver Aspergillose von durchschnittlich 70 % bzw. 92 % mit dem Platelia®-Test (Patienten mit Immunsuppression durch Neoplasien der Blutzellen) erreicht wurden (AQUINO et al. 2007), gibt es bei Vögeln mit Aspergillose unterschiedliche Studienergebnisse. ARCA-RUIBAL et al. (2006) erreichten in Untersuchungen an 142 gesunden und 50 an Aspergillose erkrankten Falken eine Sensitivität von nur 12 %, allerdings eine Spezifität von 95 %. LE LOCH et al. (2005) stellten – allerdings speziesübergreifend – bei 116 Vögeln von 33 Spezies mit vermuteter Aspergillose (die Untersuchungsprotokolle waren unterschiedlich) eine Sensitivität von 30 % bei einer Spezifität von 86 % fest. In den Untersuchungen von CRAY et al. (2009b) an 128 in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln unterschiedlicher Spezies (56 Vögel mit histologisch bestätigter Aspergillose, 72 gesunde Vögel; insgesamt 76 % Psittaciformes) beliefen sich die Werte bezüglich der Sensitivität auf 67 % bei einer Spezifität von 73 %. CRAY et al. (2009b) betonen jedoch, dass die Wahl des Cut-off Wertes, bei dem eine Probe positiv gewertet wird, die Sensitivitäts- und Spezifitätswerte enorm

2 LITERATURÜBERSICHT

beeinflusst. So wurden die beiden erstgenannten Studien mit einem Cut-off Wert von 1 durchgeführt, die letztere mit einem Wert von 0,5. Die Ergebnisse des Tests können von mehreren Faktoren beeinflusst werden. Zum einen scheint die Lokalisation und Art der Infektion entscheidend zu sein. Je abgekapselter und schlechter durchblutet ein Infektionsherd ist (z. B. in der Trachea), desto niedriger sind die Indices (LE LOCH et al. 2005, CRAY et al. 2009a und 2009b, BURCO et al. 2012). Zum andern scheint ein hoher Antikörperspiegel aufgrund von Bindungsreaktionen niedrigere Indices zu erzeugen (CRAY et al. 2009a und 2009b). Falsch positive Ergebnisse entstehen beim Menschen u. a. durch den Einsatz von β -Lactam Antibiotika (AQUINO et al. 2007), beim Vogel liegen bislang keine Studien zu dieser Thematik vor.

Der von BURCO et al. (2012) an 178 Plasmaproben von verschiedenen Vogelspezies (54 an Aspergillose erkrankte Vögel, 124 gesunde Vögel, beide Gruppen durch pathologische Untersuchungen bestätigt) untersuchte Fungitell® Assay erzielte insgesamt ähnliche Ergebnisse: Bei einem statistisch optimierten Cut-off Wert von 461 pg/dl lag die Sensitivität bei 60 % und die Spezifität bei 92,7 %. Die Autoren empfehlen den Test allerdings nicht bei abgekapselten und sehr frühen Infektionen, da es in diesen Fällen nicht bzw. noch nicht zur Antigenämie kommt. FRANÇA et al. (2012) verglichen beide Antigen- und einen Antikörper ELISA bei 48 Puten und 64 Broilern mit pathologisch bestätigter Aspergillose und stellten mittels Galactomannan ELISA bei Broilern sogar 100 % richtig positive Ergebnisse (Puten: 57,1 %) fest, wohingegen der Antikörpernachweis schlechter abschnitt (66,6 % bzw. 28,5 %) und der (1 → 3) β -D Glucan ELISA gar keine Unterschiede zur Kontrollgruppe aufzeigte.

Der Fungitell® Assay wird von BURCO et al. (2012) nur bedingt und in Kombination mit weiterer Diagnostik empfohlen, der Platelia®-Test wird gerade bei Falken von ARCA-RUIBAL et al. (2006) und bei anderen Vogelspezies von LE LOCH et al. (2005) wegen mangelnder Sensitivität nicht zur Diagnostik der Aspergillose angeraten.

2.3.6.5 Hämatologie

Hämatologische Parameter zeigen auch beim gesunden Vogel eine große Schwankungsbreite auf. Zwischen den einzelnen Spezies sind deutliche Unterschiede in den Referenzwerten zu verzeichnen, aber auch innerhalb einer Spezies können deutliche Schwankungen der Parameter durch externe und interne Beeinflussungen (z. B. Jahreszeit,

2 LITERATURÜBERSICHT

Tageszeit, Alter, Geschlecht) auftreten. Referenzwerte sollten daher nur als Orientierungshilfe angesehen werden (CAMPBELL und ELLIS 2007b).

Darüber hinaus ist das Blutbild zur Diagnostik von Aspergillose als wenig spezifisch zu werten (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2011). Eine Vielzahl anderer Erkrankungen (z. B. Mykobakteriose, Chlamydiose, allgemein chronisch granulomatöse Entzündungen) sind bei einem für Aspergillose „typischen“ Blutbild als Differentialdiagnosen in Betracht zu ziehen. Ein solches Blutbild zeichnet sich in erster Linie durch eine Leukozytose, hervorgerufen durch eine Heterophilie und Monozytose, eine nicht regenerative Anämie (in chronischen Fällen von Aspergillose) und teilweise durch toxisch veränderte Heterophile (in hochgradigen Fällen von Aspergillose) aus (CAMPBELL und ELLIS 2007b, MITCHELL und JOHNS 2008). Dies setzt jedoch voraus, dass das Immunsystem adäquat reagiert. Ist dies nicht der Fall können normale oder sogar erniedrigte Leukozytenwerte vorliegen (JONES und OROSZ 2000).

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

3.1 **Ziele und Fragestellungen der durchgeführten Untersuchungen**

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Gewinnung neuer Erkenntnisse über die Aussagekraft eines lang etablierten Diagnostikums – der Projektionsradiographie – und eines noch nicht etablierten, aber vielversprechenden Diagnostikums – der Proteinelektrophorese – bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln durch die Bearbeitung der folgenden Fragestellungen:

- Welche Röntgenzeichen sind bei Greifvögeln mit Aspergillose zu erfassen?
- Unterscheiden sich die Befunde von Greifvögeln von den bereits für andere Vogelarten beschriebenen Befunden?
- Wie stellt sich das Elektropherogramm der Serumelektrophorese bei gesunden Falken dar?
- Welche Veränderungen im Elektropherogramm sind bei Falken mit Aspergillose festzustellen?

3.2 Zusammenstellung der eigenen Publikationen

- 3.2.1 VORBRÜGGEN S, BAILEY TA, KRAUTWALD-JUNGHANNS ME. Röntgenzeichen bei an Mykose des Respirationstraktes erkrankten Greifvögeln. Tierärztl Prax. 2013, am 02.01.2013 akzeptiert**

Anmerkung: Da diese Veröffentlichung noch nicht abgedruckt wurde, ist sie in der Formatierung den Richtlinien für Autoren folgend wiedergegeben.

**Röntgenzeichen bei an Mykose des Respirationstraktes erkrankten
Greifvögeln**

**Radiographic findings in raptors affected with a mycosis of the respiratory
tract**

S. Vorbrüggen¹, T. Bailey², M.-E. Krautwald-Junghanns¹

¹ Klinik für Vögel und Reptilien, An den Tierkliniken 17, 04103 Leipzig, Telefon:
+49341/9738405, Fax: +49341/9738409, Email: vorbrueggen@vogelklinik.uni-leipzig.de

² Head of Aviculture and Health, International Wildlife Consultants, PO Box 19, Carmarthen,
Dyfed, Wales , United Kingdom, SA33 5YL, Telefon: +44 1267 233864, Fax: +44 1267 233934,
Email: tom@falcons.co.uk

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Schlüsselwörter: *Falconidae*, Röntgenuntersuchung, Lunge, Luftsäcke

Keywords: *Falconidae*, radiographic examination, lungs, air sacs

Zusammenfassung

Gegenstand und Ziel: Zusammenstellung von typischen Röntgenbefunden bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln im Vergleich mit bereits bei Papageienvögeln etablierten Röntgenzeichen. *Material und Methoden:* Auswertung von digital erstellten Röntgenaufnahmen von 110 erkrankten Jagdfalken (*Falco* spp.) mit endoskopisch bestätigter Aspergillose. *Ergebnisse:* In der vorliegenden Studie konnten – verglichen mit Psittaziden – hauptsächlich subtile Röntgenzeichen (v. a. inhomogene Verschattungen der Lunge/Luftsäcke) nachgewiesen werden. Zwei typische Röntgenzeichen speziell für erkrankte Falken bestanden in der schlechten Abgrenzbarkeit des Herzschattens sowie der strichförmig verschatteten kaudalen Lungengrenze. Durch die stark ausgeprägte Flugmuskulatur ist die Röntgendiagnostik der Lunge limitiert. *Schlussfolgerungen:* Die differierenden Studienergebnisse sind durch die unterschiedliche Röntgenanatomie, die anderen Haltungsbedingungen und die unterschiedliche verwendete Röntgentechnik (digital versus analog) zu begründen. *Klinische Relevanz:* Der mit Ziervögeln erfahrene Praktiker sollte bei Greifvögeln, bei denen der Verdacht einer Aspergillose besteht, einige Besonderheiten bei der Interpretation der Röntgenbilder beachten.

Summary

Objective: Summary of typical radiographic signs in birds of prey with aspergillosis compared to signs already established in parrots. *Materials and methods:* Evaluation of radiographs of 110 falcons (*Falco* spp.) with aspergillosis confirmed by endoscopy. *Results:* In the present study subtle radiographic signs were detected primarily compared to parrots (especially inhomogeneous increased radiodensities of the airsacs/lungs). Two typical signs for diseased falcons consisted in the poor delineation of the cardiac silhouette and the line-shaped

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

increased radiodensity of the caudal lung border. Radiographic diagnosis of the lung is limited due to the strong flight musculature. *Conclusions:* The varying results can be explained by the different radiographic anatomy, different husbandry conditions and the different x-ray technique (digital versus analog). *Clinical relevance:* A pet bird-experienced practitioner should be aware of specific radiographic signs in birds of prey suspicious for aspergillosis.

Einleitung

Aspergillose ist die häufigste mykotische Erkrankung bei Vögeln (11). Insbesondere Greifvögel (v. a. Gerfalken *Falco rusticolus* und Habichte *Accipiter gentilis*), tropische Papageien (v. a. Graupapageien *Psittacus erithacus* und Amazonen *Amazona* spp.) sowie einige Wasservogelarten (v. a. Pinguine *Spheniscidae*) sind für diese Erkrankung hochgradig prädisponiert (3, 11). Bei der Diagnostik kommt der Röntgenuntersuchung als schnelles und nicht invasives Verfahren eine hohe Bedeutung zu. Bei *Psittaciformes* sind die entsprechenden klassischen Röntgenzeichen seit langem beschrieben (5 - 7, 12 - 13, 17). Im Gegensatz hierzu gibt es in diesem Kontext keine systematischen Studien zu falknerisch gehaltenen Greifvögeln. In der vorliegenden Studie wurden daher stellvertretend für Greifvögel erkrankte Jagdfalken röntgenologisch untersucht und die Befunde mit den für Graupapageien und Amazonen (stellvertretend für die tropischen Papageien) beschriebenen Röntgenzeichen verglichen.

Material und Methoden

Beurteilung des Gesundheitszustandes

Bei allen Vögeln wurden zunächst eine allgemeine klinische Untersuchung und eine parasitologische Untersuchung von Kot und einem Kropfabstich durchgeführt. Die Blutentnahme für hämatologische Untersuchungen, die röntgenologischen Untersuchungen und die endoskopische Untersuchung erfolgten jeweils unter Isofluran-Narkose nach beschriebener Methodik (4). Für die Untersuchungen mit dem starren Endoskop (30 ° Optik,

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

2,7 mm Durchmesser; Karl Storz Veterinary Endoscopy America Inc, CA, USA) wurde der Standardzugang beidseits zwischen der letzten und vorletzten Rippe gewählt, um Zugang zu den kaudalen und kranialen Thorakal- sowie Bauchluftsäcken zu erlangen. Während der Endoskopie wurden bei auffälligem Befund durch einen sterilen Arbeitskanal (14.5F Arbeitskanal; 5F Instrumentenkanal; Karl Storz Veterinary Endoscopy America Inc, CA, USA) geeignete Tupferproben und/oder Proben mit der Biopsiezangen (Karl Storz Veterinary Endoscopy America Inc, CA, USA) entnommen.

Die entnommenen Proben wurden zur zytologischen Untersuchung auf Objektträger aufgetragen, luftgetrocknet und mittels Neat stain (Astral Diagnostics, West Deptford, NJ, USA) gefärbt und ausgewertet. Die Kultivierung erfolgte auf Saboraud-Chloramphenicol Agar drei bis fünf Tage bei 37 °C im Inkubator.

Die Endoskopie der Falken wurde nach der röntgenologischen Untersuchung durchgeführt. Der Abstand zwischen beiden Untersuchungen betrug maximal zwei Tage.

Röntgenuntersuchung

Alle Röntgenbilder wurden mit einem digitalen System (Agfa CR 25.0 digital unit, Agfa HealthCare, Bonn, Deutschland) ausgelesen und verarbeitet. Die Aufnahmen wurden mit dem Röntgengerät (MinXray HF 80+ 15 mA, MinXray, Inc., Northbrook, USA) bei einer Spannung von 54 kV und einem mAs-Wert von 0,04 angefertigt. Die technischen Details der Röntgeneinheit werden in Tabelle 1 aufgeführt. Für die Röntgenbilder wurden die mit Isofluran narkotisierten Falken in Rückenlage gebracht und Flügel als auch Ständer symmetrisch gestreckt, so dass die Carina sterni und die Wirbelsäule möglichst perfekt übereinander projiziert wurden. Für die laterolaterale Projektion wurden die Falken auf die Seite gelegt und die Flügel dorsal über dem Körper aufeinander positioniert, während die Ständer nach kaudal gezogen wurden, um beide Femurköpfe und die Korakoide bestmöglich zur Deckung zu bringen (8, 9).

Die Röntgenbilder erkrankter Tiere wurden auf der Basis der Röntgenbilder gesunder Falken und der bei erkrankten Psittaziden beschriebenen Röntgenzeichen (6, 7, 12) sowie studienspezifisch ergänzter Röntgenzeichen von zwei Untersucherinnen an einem Monitor für die medizinische Diagnostik (24,1 Zoll, Auflösung 1920 Punkte x 1200 Zeilen,

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Punktabstand 0,27 x 0,27 mm, EIZO MX240W, Avnet Technology, Nettetal, Deutschland) beurteilt (Tab. 2). Zur Nachbearbeitung standen die üblichen Hilfsmittel (Kontrast- und Helligkeitsmodifikation sowie Vergrößerung) durch die Software Agfa CD Viewer 4.5.1 (Agfa-Gevaert, Mortsel, Belgien) zur Verfügung.

Tiere

Im Vorversuch wurden zunächst ventrodorsale und laterolaterale Röntgenbilder von 10 gesunden Falken (ein Gerfalke (*Falco rusticolus*), drei Ger- x Wanderfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco peregrinus*), zwei Wanderfalken (*Falco peregrinus*), drei Ger- x Sakerfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*), ein Sakerfalke (*Falco cherrug*) ausgewertet. Diese waren in allen bei der Beurteilung des Gesundheitszustandes (s. oben) beschriebenen Untersuchungen unauffällig.

Für den Hauptversuch wurden jeweils laterolaterale (ll) und ventrodorsale (vd) Röntgenbilder von 110 Falken, die im Dubai Falcon Hospital (DFH) vorgestellt wurden und an Aspergillose erkrankt waren, ausgewertet. Bei allen Falken handelte es sich um ausgewachsene Tiere; der Anteil der weiblichen Tiere (n = 86) überwog deutlich den Anteil der männlichen Tiere (n = 24). Die untersuchte Gruppe bestand aus 30 Gerfalken (*Falco rusticolus*), 29 Ger- x Wanderfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco peregrinus*), 18 Wanderfalken (*Falco peregrinus*), 20 Ger- x Sakerfalkenhybriden (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*), 5 Sakerfalken (*Falco cherrug*), 3 Gerfalken x Rotnackenshahin-Hybriden (*Falco rusticolus* x *Falco pelegrinoides babylonicus*), 3 Berberfalken (*Falco pelegrinoides pelegrinoides*), einem Ger- x Lannerfalkenhybrid (*Falco rusticolus* x *Falco biarmicus*) und einem Rotnackenshahin (*Falco pelegrinoides babylonicus*). Die Symptomatik der an einer Mykose des Respirationstraktes erkrankten Tiere war unspezifisch und reichte von allgemeinen Symptomen wie Leistungsabfall beim Fliegen und Gewichtsverlust, über unspezifische gastrointestinale Symptome, bis hin zu respiratorischen Krankheitsanzeichen.

Es wurden nur Falken in die Studie mit eingeschlossen, die die folgenden Bedingungen erfüllten:

1. Vorversuch und Hauptversuch: Vorliegen eines korrekt gelagerten, ventrodorsalen und laterolateralen Röntgenbildes von gefasteten Tieren (8, 9, 17).

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

2. Hauptversuch: Vorliegen eines eindeutig positiven Aspergillosebefundes aus zytologischen und/oder mykologischen Untersuchungen von Proben, die bei der Endoskopie der Tiere entnommenen wurden.

Statistik

Die statistischen Untersuchungen auf Assoziation der Röntgenzeichen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS Statistic 17.0 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Zunächst wurden die Röntgenzeichen auf Unabhängigkeit untereinander mittels des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson bzw. dem exakten Test nach Fisher (im Falle, dass die Zellen eine erwartete Häufigkeit < 5 aufwiesen) hin untersucht. Das Signifikanzniveau betrug $p = 0,05$. Anschließend wurden bei signifikant nicht unabhängigen Daten die Kontingenzkoeffizienten nach Cramer's V berechnet. Das Effektstärkemaß von Cohen w (hier gleich V) wurde bei Werten bis 0,3 als klein, bei Werten zwischen 0,3 und 0,5 als mittel, und bei Werten größer 0,5 als groß angesehen.

Ergebnisse

Röntgenuntersuchung der gesunden Vögel

Die Lunge ließ sich in der vd-Aufnahme durch die Überlagerungen von Herz, Leber und Magen-Darm-Trakt nur bedingt ab dem 3. Intercostalraum (ICR) auswerten. Bei allen untersuchten gesunden Tieren stellte sie sich als ein feines, streifenförmiges Muster dar, das sich bis zum 5. ICR verlor.

In der ll-Aufnahme ließ sich die Lunge in allen Fällen nur in der kaudalen Hälfte überlagerungsfrei darstellen. In der kranialen Hälfte war sie durch vielfältige Strukturen (Ösophagus, Gefäß- und Nervenplexi, Muskulatur) stark überlagert. Daher wurde nur die kaudale Lungenhälfte in der Hauptstudie ausgewertet. So fiel insbesondere ein weichteildichter Schatten auf, dessen kaudale Grenze vom Ursprung der 3. Rippe nach kaudoventral bis zum 5. ICR über das Lungenfeld verlief. Dieser war dem Musculus pectoralis und dem M. supracoracoideus zuzuordnen, welcher bei Psittaziden radiologisch nicht derart röntgendicht erscheint (Abb. 1) Im ll-Bild wies der kaudale Lungenbereich die,

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

wie auch bei gesunden Papageienvögeln beschriebene, typische, honigwabenförmige Struktur auf.

Die Luftsäcke ließen sich nur in einem kleinen Bereich zwischen Lunge, Magendarmkonvolut und Nieren überlagerungsfrei darstellen. Durch den im Vergleich mit Psittaziden deutlich dehnbaren Drüsenmagen war die Beurteilbarkeit der Luftsäcke nach der Fütterung extrem eingeschränkt bzw. unmöglich, so dass derartige Röntgenaufnahmen im Vorfeld von der Studie ausgeschlossen wurden. Die Luftsackwand zwischen kaudalem Thorakalluftsack und Bauchluftsack, die sich bei mittelgroßen Psittaziden normalerweise nicht darstellen lässt, war bei allen gesunden Falken sichtbar (Abb. 1). In der Hauptstudie wurde hier folglich nur eine deutliche Verschattung der Luftsackwände als pathologisches Zeichen gewertet.

Das Herz ließ sich bei allen gesunden Falken in der II-Projektion scharf zu allen Seiten hin abgrenzen. Lediglich im Bereich des Sternums lag es direkt auf dem Knochen auf und war hier somit nicht abgrenzbar. Dem gegenüber ist das Herz von gesunden Psittaziden nicht so klar abgrenzbar (Abb. 1).

Zur besseren Veranschaulichung der beschriebenen Befunde werden in Abbildung 1 die laterolateralen Röntgenbilder eines Gerfalken (*Falco rusticolus*) und eines Graupapageien (*Psittacus erithacus*) gegenüber gestellt. Beide Bilder sind mit digitaler Röntgentechnik erstellt. Zu beachten ist das unterschiedliche Vergrößerungsverhältnis (ca. 1:2).

Röntgenbefunde der an Aspergillose erkrankten Vögel

Allgemeine Bemerkungen

Die ventrodorsalen Aufnahmen eigneten sich wie beschrieben (6) gut zum Seitenvergleich der beiden Körperhälften.

Von den 110 in der Studie eingeschlossenen Vögeln waren 29 Tiere röntgenologisch vollkommen unauffällig. Bei 25 Tieren konnten lediglich ein Röntgenzeichen, bei 17 Tieren zwei Röntgenzeichen festgestellt werden.

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Lunge

Die Lunge konnte – wie bereits erwähnt – aufgrund der vielfältigen Überlagerungen im kranialen Teil nicht ausgewertet werden. Daher musste auch von der Beurteilung der großen Bronchien abgesehen werden. Als häufigster Lungenbefund konnten inhomogene Verschattungen der ansonsten homogen wabenförmigen Zeichnung der kaudalen Lunge (n = 42) beschrieben werden. Diese traten besonders oft zusammen mit inhomogenen Verschattungen der Luftsäcke/Lunge (im vd- und II-Bild) und einer strichförmig verschatteten kaudalen Lungengrenze (II-Bild) auf. Herdförmige Veränderungen wies die Lunge in einem Fall auf, strichförmige Verschattungen oder eine homogene Erhöhung der Röntgendichte im Lungengewebe waren in keinem Fall diagnostizierbar (Tab. 3).

Ein sehr häufiges Röntgenzeichen bestand in der strichförmigen Verschattung der kaudalen Lungengrenze. Diese stellte sich in 33 Fällen als eine röntgendichte Linie dar und wies eine mittlere Assoziation mit inhomogenen und streifenförmigen Verschattungen der kaudalen Luftsäcke sowie inhomogenen Verschattungen der Lunge im II- Bild auf (weitere Assoziationen in Tab. 5) (Abb. 2 und 3).

Eine Zuordnung zu Lunge oder Luftsack war lediglich auf der laterolateralen Aufnahme möglich.

Luftsäcke

Ein bislang noch nicht im Zusammenhang mit Aspergillose beschriebenes Röntgenzeichen stellte sich bei der genaueren Betrachtung des Herzschattens dar: Letzterer war in der II-Projektion in 47 von 110 ausgewerteten Fällen schlecht abgrenzbar (Tab. 4). Diese Befunde waren schwach mit einer inhomogenen Verschattung der kaudalen Luftsäcke sowie der strichförmigen Verschattung der kaudalen Lungengrenze und mittel mit inhomogenen Verschattungen der Lunge assoziiert.

Als eines der häufigsten Röntgenzeichen erwiesen sich inhomogene Verschattungen der kaudalen Luftsäcke im II- (n = 32) und vd- Bild (n = 38). Es zeigte sich dabei eine mittlere Assoziation zu streifig und herdförmig verschatteten Luftsäcken, deutlich verschatteten kaudalen Thorakalluftsackwänden sowie inhomogenen Verschattungen der Lunge und strichförmig verschatteten kaudalen Lungengrenzen in den II- Projektionen.

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Als ein weiterer häufiger Befund (n = 29) stellten sich streifenförmige Verschattungen der kaudalen Luftsäcke (Abb. 2 und 3), die insbesondere im II- Bild gut zu diagnostizieren waren, heraus. In dieser Projektion traten sie oft mit inhomogenen Verschattungen der Luftsäcke (II- Bild) auf. Außerdem zeigte sich eine mittlere Assoziation zu dem Röntgenzeichen der strichförmigen Verschattung des kaudalen Lungenrandes und zu herdförmigen Verschattungen der Luftsäcke/Lunge (vd). Im vd- Bild fielen streifenförmige Verschattungen nur beim Vorliegen von deutlichen Veränderungen im II-Bild auf (n = 8).

Bei sechs Vögeln konnten vermehrt luftgefüllte Axillardivertikel beidseits im vd- Bild nachgewiesen werden. Dies war stark mit einer vermehrten Luftfüllung der Abdominalluftsäcke in der II-Projektion assoziiert (Cohen's w = 0,62, nicht in Tab 5).

Die kaudalen Luftsäcke (kaudaler Thorakal- und Bauchluftsack) erschienen in 10 Fällen im II- Bild verstärkt luftgefüllt und in acht (einseitig) bzw. zwei (beidseits) Fällen in der vd- Aufnahme. Die vermehrte Luftfüllung der kaudalen Luftsäcke im II- Bild wies eine mittlere Assoziation zu den Röntgenzeichen des inhomogenen Erscheinungsbildes der Luftsäcke/Lunge, herdförmigen Verschattungen der Luftsäcke und deutlichen Verschattungen der kaudalen Thorakalluftsackwände in der II- Aufnahme auf. Lediglich schwache Assoziationen zeigten sich zu Lungenveränderungen (Tab. 5.)

In 15 Fällen stellte sich die kaudale Thorakalluftsackwand deutlich verschattet dar. Dieser Befund zeigte eine mittlere Assoziation zu dem Vorliegen von inhomogenen und streifenförmigen Verschattungen der Lunge/Luftsäcke (vd-Bild) sowie vermehrten Luftfüllungen der kaudalen Thorakalluftsäcke und strichförmig verschatteten kaudalen Lungengrenzen.

Nur selten waren herdförmige Verschattungen in den Luftsäcken zu diagnostizieren (vd: n = 8; II: n = 4) (Abb. 4). Diese wiesen jeweils mittlere Assoziationen zu vermehrt luftgefüllten kaudalen Luftsäcken und inhomogenen Lungen/Luftsackfeldern (vd-Bild) sowie streifig verschatteten Luftsäcken im II-Bild auf.

Das Röntgenzeichen des „Airtrappings“- also einer deutlichen Überdehnung der Abdominalluftsäcke im II-Bild (12) -, die eine vermehrte Luftfüllung übersteigt und sich nur auf die Abdominalluftsäcke bezieht, konnte in keinem Fall beschrieben werden. Kalzifizierte

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Luftsackwände (als Anzeichen chronischer mykotischer Luftsackentzündungen (7)) oder homogene Verschattungen der Luftsäcke waren ebenso wenig nachweisbar.

Diskussion

Die vorliegende Untersuchung sollte der Darstellung von typischen Röntgenbefunden bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln im Vergleich mit bereits bei Papageienvögeln etablierten Röntgenzeichen dienen. Bisher existierende radiologische Studien bei Greifvögeln befassten sich weitestgehend mit Normalbefunden des Herzens (1) und des Skelettsystems (14 - 16). Aufgrund der physiologischen Unterschiede der Greifvögel (starke Flugmuskulatur, hohe Herz-/Kreislaufleistung) aber auch aufgrund der andersartigen Haltungsform (falknerische Haltung/Flugtraining versus Innenraumhaltung ohne Freiflug) waren Unterschiede in der Röntgenanatomie und damit -diagnostik des Respirationstraktes zwischen den einzelnen Familien zu erwarten.

Obwohl ein Einschlusskriterium in der Endoskopie beider kaudaler Thorakalluftsäcke mit mykologisch positiver Probenentnahme bestand, erschien ein direkter Vergleich zwischen Endoskopie und Röntgenbefunden nicht sinnvoll, da radiologische Befunde zum Beispiel im zentralen Lungenparenchym endoskopisch wegen mangelnder Erreichbarkeit nicht dargestellt werden können und sich zu dem der Befund eines dreidimensionalen, aber lokal begrenzten Bildes diffuser Veränderungen kaum auf ein zweidimensionales Summationsbild übertragen lässt.

Einige allgemeine Beobachtungen, die in der Literatur zur Röntgendiagnostik bei Psittaziden beschrieben werden (6, 7), konnten bestätigt werden: Die Symmetrie von Veränderungen ließ sich in der ventrodorsalen Ebene besser erkennen und die Zuordnung von Veränderungen war eher in der laterolateralen Ebene möglich. Überdies waren viele pathologische Befunde aufgrund von Überlagerungen nur in einer Ebene darstellbar. Dies verdeutlichte noch einmal die absolute Notwendigkeit der Anfertigung zweier Ebenen.

Allgemein konnten in der vorliegenden Studie vor allem subtile Röntgenzeichen nachgewiesen werden, wohingegen ausgeprägte Röntgenbefunde selten oder gar nicht festgestellt werden konnten. Nur wenige Vögel wiesen mehr als fünf Röntgenzeichen

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

(n = 12) auf. Eindeutig kalzifizierte Luftsackbereiche und ein Airtrapping, wie in der Studie von Krautwald-Junghanns et al. (6) bei Graupapageien und Amazonen beschrieben, konnten nicht nachgewiesen werden und der Anteil an herdförmigen Veränderungen der Lunge war vergleichsweise sehr gering (6,9 % gegenüber 0,9 %). Dem gegenüber steht der hohe Nachweis von inhomogenen Verschattungen (II: 29,1 % bzw. vd: 34,5 %), die deutlich häufiger als bei Papageienvögeln (6, 12) nachgewiesen werden konnten (7,6 % (6) bzw. 13,4 % (12)). Bei Jagdfalken wird die Aspergillose aufgrund der ihnen abverlangten Flugleistung möglicherweise früher von ihren Trainern bemerkt als bei Psittaziden. So wäre es möglich, dass die Tiere schon im Anfangsstadium der Erkrankung vorgestellt werden, ohne dass sich bereits drastische röntgenologische Veränderungen entwickelt haben. Ein weiterer Faktor, der zu den unterschiedlichen Resultaten beigetragen haben wird, ist die verwendete Technik. Da die verglichenen Studien an Psittaziden mit analoger Röntgentechnik durchgeführt wurden, konnten bei diesen Studien möglicherweise subtilere Röntgenzeichen nicht so deutlich dargestellt und somit beschrieben werden, da die digitale Röntgentechnik in der Detailerkennbarkeit überlegen ist (2).

Bei den erkrankten Falken waren in dieser Studie insbesondere zwei spezielle Röntgenzeichen nachzuweisen: Die schlechte Abgrenzbarkeit des Herzschatens sowie die strichförmig verschattete kaudale Lungengrenze. Das gemeinsame Auftreten von dem schlecht abgrenzbaren Herzschaten im Zusammenhang mit inhomogenen Verschattungen der kaudalen Luftsäcke, der Lunge und strichförmigen Verschattungen des kaudalen Lungenrandes lassen vermuten, dass dieses Röntgenzeichen durch allgemeine Entzündungsreaktionen, wie z. B. Exsudationsprodukte zustande kommt.

Inhomogene Verschattungen im kaudalen Teil der Lunge und in den Luftsäcken wurden wesentlich häufiger nachgewiesen, als in den übrigen Studien (6, 12, 13). Häufig stellten sie sich zusammen mit strichförmigen Verschattungen des kaudalen Lungenrandes dar, so dass diese Lokalisation bei *Falconiformes* besonderer Aufmerksamkeit bei der Beurteilung bedarf. Da das Ostium der Lunge als Prädilektionsstelle und Ausgangspunkt für mykotisch bedingte Luftsackentzündungen gilt (4), ist eine erhöhte Nachweisrate von Veränderungen in diesem Bereich erklärbar. Rübel (13) deutete das Röntgenzeichen „einer abnormal deutlich ausgeprägten Netzzeichnung der Lunge mit kaudal deutlich sichtbarer Lungengrenze“ als Zeichen einer chronischen Stauung der Lunge aufgrund von Herzveränderungen. Da

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

fragliche Vögel jedoch keine radiologischen Auffälligkeiten an den herznahen Gefäßen zeigten, wurde dieses Röntgenzeichen der Aspergillose zugeordnet. Ein klarer, positiv assoziierter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von inhomogenen Verschattungen in Lunge und Luftsäcken, wie von Krautwald-Junghanns et al. (6) nachgewiesen, konnte bestätigt werden. Das Röntgenzeichen der homogenen Verschattung der Lunge oder der Luftsäcke konnte nicht festgestellt werden. Eine mögliche Erklärung dafür liegt in der Assoziation dieses Röntgenzeichens mit bakteriell bedingten Respirationstrakterkrankungen (6), die nicht Gegenstand dieser Studie waren. Das von Rübel (12) erstmalig als „Airtrapping“ bezeichnete und in seiner Studie bei 20,3 % der untersuchten Psittaziden beschriebene Röntgenzeichen (bei Krautwald-Junghanns et al. bei 12,1 % der Psittaziden) wurde hier in keinem Fall nachgewiesen. Allerdings konnte in 9,1 % der Fälle zumindest eine deutlich vermehrte Luftfüllung in den kaudalen Luftsäcken im laterolateralen Bild beobachtet werden, welche oftmals zusammen mit inhomogenen bzw. herdförmig verschatteten Luftsäcken/Lungen und vermehrten Luftfüllungen der Axillardivertikel nachgewiesen wurde. Dies deckt sich mit den Befunden bei Jagdfalken von Naldo und Samour (10). Im Zusammenhang mit einer erhöhten Dichte im Syrinxbereich wird „Airtrapping“ als charakteristisch für Stenosen in diesem Bereich angesehen (6). In dieser und einer weiteren Studie an Falken (10) konnte diese Kombination der Röntgenzeichen, aber auch Veränderungen des Syrinx an sich, in keinem Fall beobachtet werden. Dies ist möglicherweise auch durch die mannigfaltigen Überlagerungen im kranialen Lungenpart bedingt. In einer Studie an 509 radiologisch untersuchten Psittaziden (18) wurden zwar bei 445 (87,4 %) Tieren Verschattungen im Trachealbereich nachgewiesen, aber lediglich bei 37 (22,4 %) von 165 pathologisch-anatomisch untersuchten Vögeln Veränderungen im Tracheal- und Bronchusbereich festgestellt. Dies verdeutlicht noch einmal die Problematik bei der korrekten Beurteilung des kranialen Respirationstrakts.

Die Luftsackwand zwischen kaudalem Thorakal- und Bauchluftsack stellte sich in der laterolateralen Projektion auch beim gesunden Falken im Vergleich zum Papageien sehr deutlich dar, so dass in Abgrenzung zum physiologischen Befund nur hochgradige Veränderungen als Röntgenzeichen gewertet werden sollte (vergl. Abb. 1).

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Ausblick

Für die überlagerungsfreie radiologische Untersuchung der Lunge – insbesondere deren kranialen Anteils – wäre eine systematische Untersuchung und Auswertung erkrankter Vögel mittels Computertomographie (CT) sinnvoll. Neben der Möglichkeit der Lungendichtemessung werden hier auch kleinere Veränderungen, wie sie beim Beginn von mykotisch bedingten Luftsackentzündungen vorliegen, besser erkannt (7). Dieser Vorteil käme insbesondere bei den Falken zum Tragen, da diese eher geringgradige Veränderungen aufwiesen und der kraniale Part der Lunge aufgrund der sehr gut ausgeprägten Flugmuskulatur nicht zu beurteilen ist.

Fazit für die Praxis

In der Praxis vorgestellte Greifvögel, bei denen der Verdacht einer Aspergillose nahe liegt, sollten radiologisch untersucht werden. Bei der Auswertung der Bilder sollte insbesondere auf subtile Röntgenzeichen, wie

- inhomogene Verschattungen der kaudalen Lungen und Luftsäcke,
- strichförmige Verschattung des Lungenrandes und
- schlechte Abgrenzbarkeit des Herzens

geachtet werden. Deutlich sichtbare Röntgenzeichen, wie herdförmige Verschattungen oder Kalzifizierungen werden bei diesen Spezies vergleichsweise selten gesehen. Der kraniale Teil der Lunge ist röntgenologisch nicht auswertbar.

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Literatur

- 1 Barbon AR, Smith S, Forbes N. Radiographic evaluation of cardiac size in four falconiform species. *J Avian Med Surg.* 2010;24(3):222-6.
- 2 Bochmann M. Vergleichender Einsatz einer hochauflösenden Film-Folienkombination mit einem digitalen Detektorsystem zur röntgenologischen Untersuchung bei Vögeln und Reptilien [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Universität Leipzig; 2011.
- 3 Dalhausen RD. Implications of mycoses in clinical disorders. In: Harrison GJ, Lightfoot TL, Hrsg. *Clinical avian medicine.* 2. Aufl. Florida: Spix Publishing Inc.; 2006. p. 691-704.
- 4 Hochleithner M. Endoscopy. In: Altmann R, Clubb S, Dorrestein G, Quesenberry K, Hrsg. *Avian medicine and surgery.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1997. p. 800-7.
- 5 Krautwald ME. Lagerungen und Röntgenanatomie. In: Krautwald ME, Tellhelm B, Hummel GH, Kostka VM, Kaleta EF, Hrsg. *Atlas zur Röntgenanatomie und Röntgendiagnostik der Ziervögel.* Hamburg: Paul Parey Verlag; 1992. p. 39-172.
- 6 Krautwald-Junghanns ME, Schumacher F, Tellhelm B. Evaluation of the lower respiratory tract in psittacines using radiology and computed tomography. *Vet Radiol Ultrasound.* 1993;34:382-90.
- 7 Krautwald-Junghanns ME. Computertomographie des aviären Respirationstraktes [Habilschr. med. vet.]. Gießen: Justus Liebig Universität Gießen; 1997.
- 8 Krautwald-Junghanns ME. Respirationstrakt. In: Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Reese S, Tully T, Hrsg. *Atlas der bildgebenden Diagnostik bei Heimtieren. Vögel, Kleinsäuger, Reptilien.* Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2009. p. 2-103.
- 9 Krautwald-Junghanns ME. Röntgenuntersuchung. In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns ME, Hrsg. *Kompodium der Ziervogelkrankheiten. Papageien, Tauben, Sperlingsvögel.* 6. Aufl. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2011. p. 62-6.

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

- 10 Naldo JL, Samour JH. Radiographic findings in captive falcons in Saudi Arabia. *J Avian Med Surg.* 2004;18(4):242-56.
- 11 Redig PT. Avian aspergillosis. In: Fowler ME, Hrsg. *Zoo and wild animal medicine. Current therapy.* 3. Aufl. Philadelphia: Saunders; 1993. p. 178-81.
- 12 Rübél A. Röntgenuntersuchungen bei inneren Erkrankungen von großen Psittaziden. Aufnahme-technik, Röntgenanatomie, Röntgenbefunde [Dissertation med. vet]. Zürich: Universität Zürich; 1985.
- 13 Rübél A, Paul-Murphy J, Koblik P, Grimm F. Vögel. In: Rübél A, Isenbügel E, Wolvekamp P. Hrsg. *Atlas der Röntgendiagnostik bei Heimtieren. Kleinsäuger, Vögel, Reptilien, Amphibien.* Stuttgart: Schlütersche Verlagsbuchhandlung; 1991. p. 76-153.
- 14 Samour JH, Naldo JL. Radiographic species catalog. In: Samour JH, Naldo JL, Hrsg. *Anatomical and clinical radiology of birds of prey.* Philadelphia: Saunders; 2007. p. 25-175.
- 15 Smith SA, Smith BJ. Normal xerographic and radiographic anatomy of the red tailed hawk (*Buteo jamaicensis*), with reference to other diurnal raptors. *Vet Radiol.* 1990;31(6):301-12.
- 16 Smith SA, Smith BJ. Normal xerographic and radiographic anatomy of the great horned owl (*Bubo virginianus*), with special reference to the barn owl (*Tyto alba*). *Vet Radiol.* 1991;32(1):6-16.
- 17 Smith BJ, Smith SA. Radiology. In: Altmann R, Clubb S, Dorrestein G, Quesenberry K, Hrsg. *Avian Medicine and Surgery.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1997. p. 170-99.
- 18 Werther K. Bewertung der Radiographie zur Diagnose der Lungen-Luftsack-Mykose bei *Psittaciformes* [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1993.

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

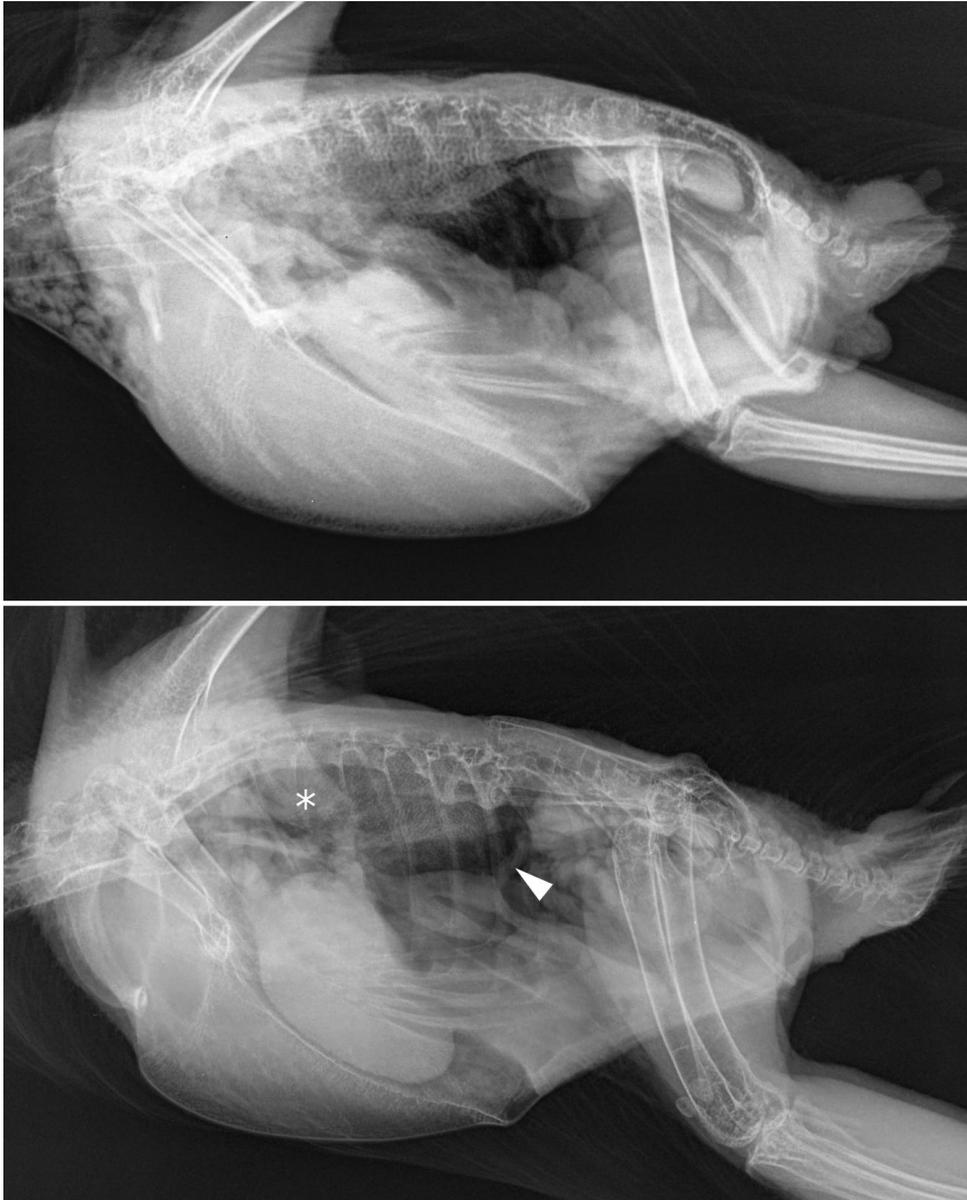


Abbildung 1. Laterolaterale Projektion eines gesunden Gerfalcken (*Falco rusticolus*) (unten) im Vergleich zu einem gesunden Graupapagei (*Psittacus erithacus*) (oben). Vergrößerungsverhältnisse ca. 1 : 2. Kaudale Thorakalluftsackwand (Pfeil), Überlagerung des M. pectoralis und M. supracoracoideus (*), gut abgrenzbarer Herzschatten.

Figure 1. Lateral view of a healthy Gyrfalcon (*Falco rusticolus*) (at lower position) in comparison with an African grey parrot (*Psittacus erithacus*) (above). Magnification ratio approx. 1 : 2. Caudal wall of the thoracal air sac (arrow), superimposition of the M. pectoralis und M. supracoracoideus (*), clear delineation of the cardiac silhouette.



Abbildung 2. Laterolaterale Projektion eines Gerfalcken (*Falco rusticolus*). Aspergillose. Strichförmig verschattete kaudale Lungengrenze (Pfeil), streifenförmige und inhomogene Verschattung der kaudalen Luftsäcke (nicht ausgefüllte Pfeile), schlechte Abgrenzbarkeit des Herzens.

Figure 2. Lateral view of a Gyrfalcon (*Falco rusticolus*). Aspergillosis. Line-shaped shadowing of caudal lung border (arrow), streaky and inhomogeneous increased radiodensities of caudal air sacs (non solid arrows), poor delineation of the cardiac silhouette.



Abbildung 3. Laterolaterale Projektion eines Ger- x Sakerfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). Aspergillose. Strichförmig verschattete Lungengrenze (Pfeil), streifenförmige Verschattung der kaudalen Luftsäcke (unausgefüllte Pfeile), im Gegensatz zu Abb. 2 gut abgrenzbares Herz.

Figure 3. Lateral view of a Gyr- x Sakerfalcon (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). Aspergillosis. Line-shaped shadowing of caudal lung border (arrow), streaky increased radiodensities of caudal air sacs (non solid arrows), clear delineation of the cardiac silhouette in contrast to figure 2.

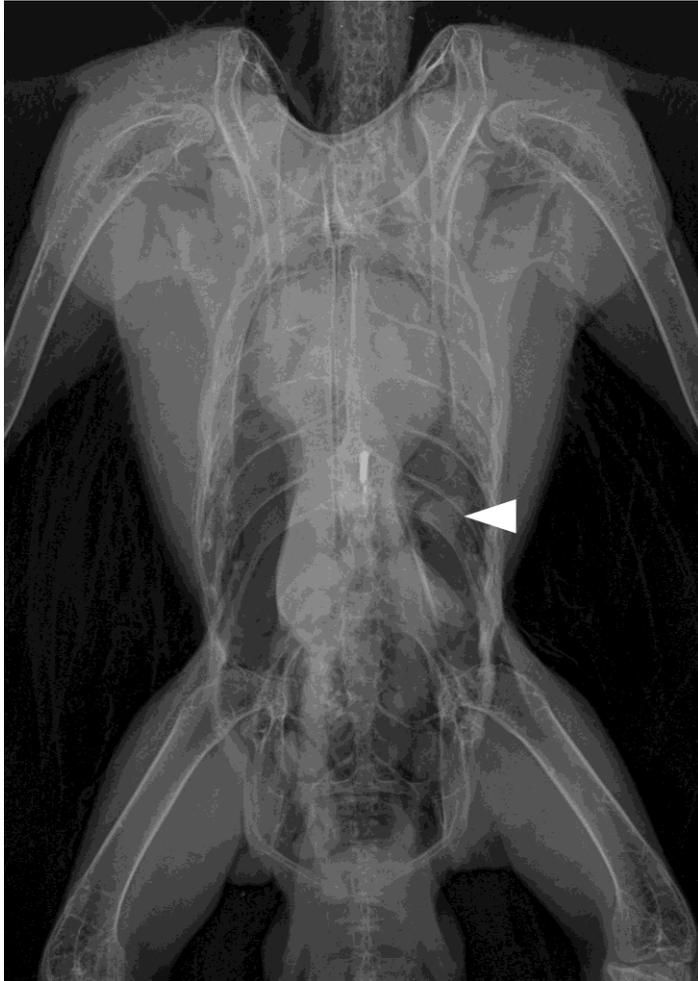


Abbildung 4. Ventrodorsale Projektion eines Ger- x Sakerfalken (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). Aspergillose. Herdförmige Verschattung der Lunge/des Luftsacks (Pfeil).

Figure 4. Ventrodorsal view of a Gyr- x Sakerfalcon (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). Aspergillosis. Focal radiodensity of the lung/air sac (arrow).

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Tabelle 1. Technische Details des Röntgen Equipments.

Table 1. Technical details of the diagnostic X-ray equipment.

Röntgengerät	Aufnahmesystem	Ausleseeinheit	Belichtungsparameter
MinXray HF80+ 15 mA, max. Leistung: 50- 80 kV, 15 mA	Agfa CR MD 4.0 Allgemeine Kassette, Standardauflösung, Speicherfoliensystem mit photostimulierbarem Phosphor, 35 x 43 cm, räumliche Auflösung: 6 Pixel / mm, Größe der Pixelmatrix: 2320 x 2826 Pixel	Agfa CR 25.0 Digitizer	54 kV, 0,04 mAs, Film-Fokus- Abstand: 75 cm, ungefähres Gewicht der Falten: 1000 g

Tabelle 2. Tabellarische Darstellung der auswertbaren Röntgenzeichen der Hauptstudie.

vd: ventrodorsal, ll: laterolateral

Table 2. Tabular presentation of evaluable radiographic signs of the main study.

vd: ventrodorsal view, ll: lateral view

Vermehrte Luftfüllung der Luftsäcke Axillardivertikel Bauch-/Thorakalluftsäcke (vd: rechts, links, beidseits; ll)
Inhomogene/streifige/herdförmige Verschattungen Luftsäcke/Lunge (vd: rechts, links, beidseits) Lunge (ll) Luftsäcke (ll)
Deutlich verschattete kaudale Thorakalluftsackwand
Kaudale Lungengrenze strichförmig verschattet
Abgrenzbarkeit des Herzens schlecht

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Tabelle 3. Absolute und relative Verteilung der Röntgenzeichen der Lunge.

vd: ventrodorsal, ll: laterolateral, LS: Luftsack, L: Lunge

Table 3. Absolute and relative distribution of the radiographic signs of the lungs.

vd: ventrodorsal view, ll: lateral view, LS: air sac, L: lungs

Befunde Lunge	Anzahl (n) und (Anteil in %)
ll: L inhomogen verschattet	42 (38,182)
ll: L herdförmig verschattet	1 (0,909)
ll: L streifig verschattet	0 (0)
ll: Kaudale Lungengrenze strichförmig verschattet	33 (30,0)

Tabelle 4. Absolute und relative Verteilung der Röntgenzeichen der Luftsäcke.

vd: ventrodorsal, ll: laterolateral, LS: Luftsack, L: Lunge

Table 4. Absolute and relative distribution of the radiographic signs of the air sacs.

vd: ventrodorsal view, ll: lateral view, LS: air sac, L: lungs

Befunde Luftsäcke	Anzahl (n) und (Anteil in %)	vd-Projektion: links/rechts/beidseits
vd: Axillardivertikel vermehrt luftgefüllt	6 (5,455)	0/0/6
vd: Kaudale LS vermehrt luftgefüllt	10 (9,091)	0/8/2
ll: Kaudale LS vermehrt luftgefüllt	10 (9,091)	
vd: L/LS inhomogen verschattet	38 (34,545)	16/7/15
ll: LS-Bereich inhomogen verschattet	32 (29,091)	
vd: L/LS herdförmig verschattet	8 (7,273)	4/2/2
ll: LS-Bereich herdförmig verschattet	4 (3,364)	
vd: L/LS streifig verschattet	8 (7,273)	5/3/0

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

Il: LS-Bereich streifig verschattet	29 (26,364)	
-------------------------------------	-------------	--

Fortsetzung Tabelle 4.

Befunde Luftsäcke	Anzahl (n) und (Anteil in %)	vd-Projektion: links/rechts/beidseits
Il: Verschattung der kaudalen Thorakal-LS-Wand	15 (13,636)	
Il: Schlechte Abgrenzbarkeit d. Herzenschattens	47 (42,727)	

Tabelle 5. (Auf der folgenden Seite dargestellt) Assoziationen der einzelnen Röntgenzeichen, angegeben als Effektstärkemaß nach Cohen w. Die fettgedruckten Werte kennzeichnen die wichtigsten Ergebnisse. Il: laterolateral, vd: ventrodorsal, kaud.: kaudal L: Lunge, LS: Luftsack, Th-LS-Wand: Thorakalluftsackwand

Table 5. (Presented at the following page) Associations of the radiographic signs, expressed as Cohen's w effect size. Boldly printed values indicate the essential results. Il: lateral view, vd: ventrodorsal view, kaud: caudal, L: lungs, LS: air sac, Th-LS-Wand: caudal wall of the thoracal air sac

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

	II: Verschattung kaud. Th-LS-Wand	II: LS streifig	II: LS herdförmig	vd: L/LS herdförmig	II: LS inhomogen	vd: L/LS inhomogen	II: Kaud. LS vermehrt luftgefüllt	II: Gesamte Abgrenzbarkeit Herz schlecht	II: Kaud. L-grenze strichförmig	II: L inhomogen
II: L inhomogen	0,23	0,25			0,44	0,45	0,27	0,31	0,43	-
II: Kaud. L-grenze strichförmig	0,32	0,33			0,41	0,34	0,28		-	0,43
II: Gesamte Abgrenzbarkeit Herz schlecht					0,29	0,26			0,28	0,31
II: Kaud. LS vermehrt luftgefüllt	0,36		0,45	0,40		0,30	-	0,28	0,28	0,27
vd: L/LS inhomogen	0,38	0,43	0,27	0,31	0,31	-	0,30	0,26	0,34	0,45
II: LS inhomogen		0,62			-	0,31		0,29	0,41	0,44
vd: L/LS herdförmig		0,31	0,69	-		0,31	0,40			
II: LS herdförmig			-	0,69		0,27	0,45			
II: LS streifig		-		0,31	0,62	0,43		0,33		0,25
II: Verschattung kaud. Th-LS-Wand	-					0,38	0,36	0,32	0,32	0,23

3 EIGENE PUBLIKATIONEN

- 3.2.2 KUMMROW M, SILVANOSE C, DI SOMMA A, BAILEY TA, VORBRÜGGEN S.
Serum Protein Electrophoresis by Using High-resolution Agarose Gel in
Clinically Healthy and *Aspergillus* Species-infected Falcons. J Avian Med Surg.
2012;26(4):213-20.

Serum Protein Electrophoresis by Using High-resolution Agarose Gel in Clinically Healthy and *Aspergillus* Species-infected Falcons

Maya Kummrow, Dr Med Vet, DVSc, Dipl ACZM, Christudas Silvanose, BMLT, Antonio Di Somma, Med Vet, SMPA, Thomas A. Bailey, BVSc, MRCVS, MSc, PhD, CertZooMed, Dipl ECAMS, and Susanne Vorbrüggen, Med Vet

Abstract: Serum protein electrophoresis has gained importance in avian medicine during the past decade. Interpretation of electrophoretic patterns should be based on species-specific reference intervals and the electrophoresis gel system. In this study, serum protein electrophoresis by using high-resolution agarose gels was performed on blood samples collected from 105 falcons, including peregrine falcons (*Falco peregrinus*), gyrfalcons (*Falco rusticolus*), saker falcons (*Falco cherrug*), red-naped shaheens (*Falco pelegrinoides babylonicus*), and hybrid falcons, that were submitted to the Dubai Falcon Hospital (Dubai, United Arab Emirates) between 2003 and 2006. Reference values were established in clinically healthy birds and compared with values from falcons infected with *Aspergillus* species (n = 32). Falcons with confirmed aspergillosis showed significantly lower prealbumin values, which is a novel finding. Prealbumin has been documented in many avian species, but further investigation is required to illuminate the diagnostic significance of this negative acute-phase protein.

Key words: aspergillosis, serum protein electrophoresis, high-resolution agarose gel, prealbumin, avian, falcons, *Falco* species, Falconidae

Introduction

Evaluation of blood protein distribution by electrophoresis allows the early detection of inflammatory and humoral responses, and is a well-established aid to the diagnosis of many diseases of humans and animals.¹ Protein electrophoresis has gained importance in avian medicine during the past decade,¹ and it has become evident that interpretation of patterns should be based on species-specific reference intervals because of differences in fractions among different avian species.² Several attempts have been made to establish reference intervals for various bird species and

electrophoretic patterns for common avian diseases.^{2–5} However, lack of data for many bird species and inconsistency in methodology and interpretation make it difficult for clinicians to include protein electrophoresis as part of routine diagnostic procedures in birds. Currently, diagnostic confirmation of aspergillosis in birds relies on endoscopy and cytologic examination or fungal culture of air sac biopsy samples.⁶ In addition, protein electrophoresis is a useful adjunct diagnostic tool to detect changes in blood proteins, potentially indicating the acute phase of a disease process at an early stage as well as monitoring recovery and the success of therapy.⁷

The aim of this study was to evaluate results of serum protein electrophoresis (SPE) in falcons commonly used in falconry in the Middle East, to develop reference intervals, and to examine the diagnostic validity in cases of aspergillosis. Results of SPE from falcons with confirmed aspergillosis

From the Zoo Hannover GmbH, Adenauerallee 3, 30175 Hannover, Germany (Kummrow); the Dubai Falcon Hospital, PO Box 23919, Dubai, United Arab Emirates (Silvanose, Di Somma, Bailey); Aviculture and Health, International Wildlife Consultants, PO Box 19, Carmarthen, Dyfed, Wales, SA33 5YL United Kingdom (Bailey); and the Klinik für Vögel und Reptilien, Universität Leipzig, An den Tierkliniken 17, 04103 Leipzig, Germany (Vorbrüggen).

Table 1. Distribution of species, health status and sex of the 105 falcons of the study.

Falcon species	Group ^a	Males	Females	Total
Peregrine (n = 26)	1	11	14	25
	2	0	1	1
Saker (n = 10)	1	0	6	6
	2	0	4	4
Gyr falcon (n = 22)	1	2	12	14
	2	4	4	8
Red-naped shaheens (n = 3)	1	0	3	3
	2	0	0	0
Hybrid falcons (n = 44)	1	7	18	25
	2	5	14	19
Total group 1		20	53	73
Total group 2		9	23	32
Total both groups		29	76	105

Abbreviation: n indicates sample size.

^a Group 1 are clinically healthy falcons; group 2 are falcons with confirmed aspergillosis.

were analyzed and compared with results from clinically healthy birds.

Materials and Methods

Animals

Serum protein electrophoresis was performed on blood samples collected from 105 falcons that were submitted to the Dubai Falcon Hospital (Dubai, United Arab Emirates) between 2003 and 2006. The species of falcons from which samples were obtained were peregrine falcons (*Falco peregrinus*), gyrfalcons (*Falco rusticolus*), saker falcons (*Falco cherrug*), red-naped shaheens (*Falco pelegrinoides babylonicus*), and gyr-hybrid falcons (gyrfalcon × peregrine falcon, gyrfalcon × saker falcon, gyrfalcon × red-naped shaheen). The falcons were categorized into 2 groups: group 1, clinically healthy birds (n = 73), and group 2, birds with confirmed aspergillosis (n = 32). The number, species, and sex of the falcons in the 2 groups are listed in Table 1.

Health checks were performed on all falcons presented to the Dubai Falcon Hospital for prepurchase examinations or because of sickness. Clinical status was assessed by selective diagnostic procedures that comprised physical examination, parasitologic screening for endoparasites (microscopic examinations of feces and a crop swab), hematologic testing, whole-body radiographs (ventrodorsal and lateral views), endoscopic examination of the air sacs, and examination of biopsy samples or swabs taken during diagnostic proce-

dures by cytologic examination, mycotic culture, or both, and by aerobic bacterial culture.

The falcons were categorized as clinically healthy (group 1) when no abnormalities were found during physical, hematologic, endoscopic, and radiographic examinations. Birds with positive parasitologic findings were only included if they were asymptomatic.

Birds included in group 2 were considered infected with *Aspergillus* species if macroscopic changes of the trachea and the lower respiratory tract, including lungs and air sacs, were apparent during endoscopic examination and *Aspergillus* species was isolated from a biopsy sample of air sac lesions or if results of cytologic examination of air sac biopsy samples were consistent with mycotic infection. Samples were cultured in Sabouraud chloramphenicol agar and incubated at 37°C (98.6°F) for 3–5 days. Fungi were identified by culture appearance and morphologic characteristics determined by microscopic examination of specimens prepared by lactophenol aniline stain.

Serum preparation

Blood samples were collected from the vena metatarsalis medialis or vena basilica and transferred into 1-mL serum gel separation tubes (Sarstedt, Nuembrecht, Germany). Serum tubes were kept in a tube rack for 1–3 hours at room temperature (23°C [73.4°F]) for clot formation, then subsequently centrifuged at 2332g for 5 minutes (Micromax IEC, Needham Heights, MA, USA). Separated serum samples were stored at –80°C (–110°F) until analysis (up to 2 years). Hemolyzed samples were removed from the study. Total protein (TP) and albumin concentrations were determined in an automated chemistry analyzer (Mira Plus, Montpellier, France) by the biuret and bromocresol green (BCG) dye-binding method, respectively. Spintrol bovine control samples were used in each day of analysis according to the manufacturer's protocol (Spin-react, Sant Esteve de Bas, Spain).

Serum protein electrophoresis

Electrophoresis was performed in a SAS 1 unit (Helena, Saint Leu La Forest, France) with 2 applications at an electric voltage of 100 V for 18 minutes by using a high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB; Helena). The staining procedure was done by using an auto stainer SAS 2 (Helena). The gel images were scanned by using an Epson Perfection 3170 photo scanner (Hirooka Shiojiri-Shi, Nagano-Ken, Japan) and were read with

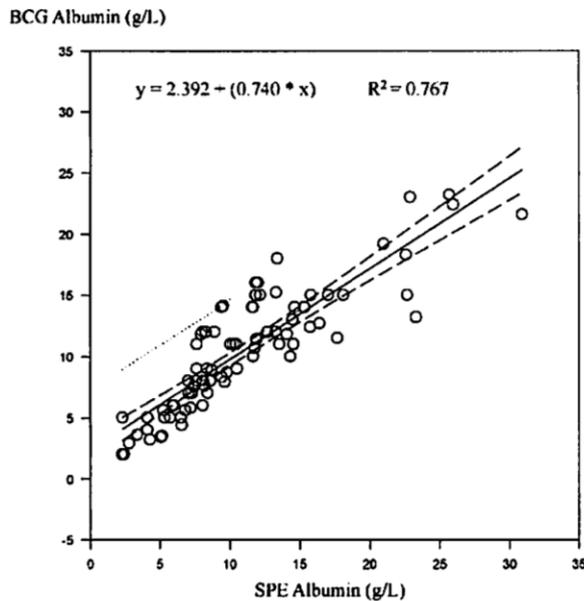


Figure 1. Serum albumin concentration in falcons (groups 1 and 2) determined by serum protein electrophoresis (SPE) and by the bromocresol green dye-binding (BCG) method.

platinum gel analysis software (Helena). Normal and abnormal Kemtrol serum controls (Helena) were used in each run of electrophoresis.

In this study, peaks in the electrophoretogram were assigned to the different protein fractions based on the albumin value obtained by the BCG method. Once the albumin peak was identified in the electrophoretogram, further peaks were assigned to the main groups of globulin fractions according to their migration distance and regardless of any further subdivision. The albumin:globulin (A:G) ratio was calculated as the following: $(\text{prealbumin} + \text{albumin}) / (\alpha + \beta + \gamma \text{ globulins})$.²

Statistical analysis

Statistical analysis was performed by using SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, Erkrath, Germany), Reference intervals were calculated by using MedCalc 12.1.3.0 (Medcalc Software bvba, Marienkerke, Belgium). Normality was assessed with the Kolmogorov-Smirnov statistic. If the data were not normally distributed, then nonparametric tests were applied (Mann-Whitney *U* test, Kruskal-Wallis test). To investigate the correlation between the albumin values obtained by the BCG method and SPE, a least squares regression line was fitted to the data (Fig 1). Significance was set at $P < .05$.

In both groups, only the values of albumin determined with BCG and the A:G ratio were normally distributed according to the Kolmogorov-Smirnov test (Table 2). Values, therefore, were also expressed by the median and the interquartile range. A comparison of results between groups 1 and 2 was performed by using the unpaired *t* test in the case of normally distributed data and by using the Mann-Whitney *U* test with nonparametric data, respectively. Reference intervals were calculated by using the "robust method" for smaller sample sizes (fewer than 120) as recommended by the National Committee on Clinical Laboratory Standards and Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines C28-A2 and C28-A3 for estimating percentiles ($P_{2.5} - P_{97.5}$) and their 90% confidence intervals (Table 2).⁸

The data from clinically healthy birds (group 1) were evaluated for differences among different species and between sexes by using analysis of variance and the unpaired *t* test for normally distributed data and the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney *U* test in cases in which normality failed.

Results

Thirteen birds in group 1 had positive parasitologic findings in feces and crop swabs but were asymptomatic. Findings were *Caryospora megalalconis* ($n = 1$), *Serratospiculum* species ($n = 10$), *Pseudostrigea falconis* ($n = 1$), *Trichomonas* species ($n = 3$), and *Capillaria* species ($n = 1$). Albumin values for group 1 and group 2 birds obtained by the BCG method and by SPE were highly correlated (Fig 1). Based on calculations of TP and the albumin fraction obtained by the biuret method and the BCG method, respectively, 5 protein fractions were identified in the electrophoretogram: prealbumin, albumin, alpha globulin, beta globulin, and gamma globulin (Fig 2). In 4 electrophoretograms (1 bird from group 1 and 3 birds from group 2), the high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB) produced a twin peak in the alpha-globulin fraction.

No significant differences were found in values for A:G ratios and protein fractions among the different species or between sexes. The SPE values for peregrine, gyr, saker, hybrid falcons, and red-naped shaheens, therefore, were combined for all falcon species (Table 2). Evaluation of the protein fraction values revealed significant differences between group 1 and group 2 for albumin concentrations determined by the BCG method, total albumin concentration (albumin + prealbu-

Table 2. Serum protein values (g/dL) for clinically healthy falcons (group 1) and for falcons with confirmed aspergillosis (group 2).

Variable	Mean (SD)	95 % CI	Median	Interquartile range	Reference interval	P value
Group 1 (n = 73)						
TP, g/dL (biuret)	3.18 ± 1.78	2.77–3.60	2.7	2.20–3.93	0–6.46	
Albumin, g/dL (BCG) ^a	1.14 ± 0.48	0.10–1.28	1.2	0.70–1.50	0.14–2.12	
A : G ratio ^a	1.36 ± 0.37	0.48–2.24	1.43	1.14–1.60	0.63–2.15	
Total albumin, g/dL	1.74 ± 0.80	1.55–1.93	1.59	1.23–2.14	0–3.22	
Prealbumin, g/dL (SPE)	0.68 ± 0.32	0.60–0.75	0.65	0.49–0.82	0–1.27	
Albumin, g/dL (SPE)	1.08 ± 0.53	0.96–1.21	0.99	0.73–1.23	0–2.03	
Alpha globulin, g/dL (SPE)	0.48 ± 0.42	0.38–0.58	0.39	0.29–0.54	0–1.22	
Beta globulin, g/dL (SPE)	0.45 ± 0.25	0.39–0.50	0.36	0.31–0.52	0–0.91	
Gamma globulin, g/dL (SPE)	0.53 ± 0.49	0.41–0.64	0.37	0.26–0.59	0–1.38	
Group 2 (n = 32)						
TP, g/dL (biuret)	2.66 ± 1.57	2.10–3.23	2.4	1.65–3.05		.06
Albumin, g/dL (BCG)	0.92 ± 0.52	0.73–1.11	0.88	0.56–1.18		.03 ^b
A : G ratio ^a	1.22 ± 0.54	1.02–1.42	1.14	0.78–1.61		.14
Total albumin, g/dL	1.32 ± 0.76	1.04–1.59	1.24	0.87–1.52		.002 ^b
Prealbumin, g/dL (SPE)	0.43 ± 0.34	0.29–0.56	0.34	0.22–0.53		<.001 ^b
Albumin, g/dL (SPE)	0.93 ± 0.52	0.75–1.12	0.83	0.63–1.12		.09
Alpha globulin, g/dL (SPE)	0.44 ± 0.40	0.30–0.59	0.28	0.21–0.54		.12
Beta globulin, g/dL (SPE)	0.42 ± 0.33	0.30–0.54	0.34	0.19–0.48		.17
Gamma globulin, g/dL (SPE)	0.49 ± 0.42	0.34–0.64	0.33	0.24–0.52		.42

Abbreviations: CI indicates confidence interval; TP, total protein; A : G, albumin : globulin; BCG, bromocresol green; SPE, serum protein electrophoresis. SI conversion factor: To convert g/dL to g/L, multiply by 10.

^a Normally distributed (Kolmogorov-Smirnov test).

^b Statistically significant ($P < .05$).

min), and prealbumin (Table 2). An example of differences in the SPE pattern in a clinically healthy bird compared with a bird with confirmed aspergillosis is illustrated in Figure 3.

Discussion

One of the most striking findings in this study was a high double peak within the albumin fraction in the SPE pattern, of which the first one was assigned to prealbumin. Interestingly, prealbumin was one of the values significantly different between clinically healthy and aspergillosis birds. Prealbumin serves as a carrier for various transport proteins and acts as a negative acute-phase protein, which may explain its decline in aspergillosis-affected birds in this study.^{9,10} Prealbumin fractions are usually negligible in mammalian species.⁹ In birds, however, prealbumin can represent from 10% to 75% of the total albumin fraction, depending on the species of birds.^{2–5,11,12} The inconsistent prealbumin values are thought to be a function of technique and electrophoresis apparatus because some conditions may cause the loss of these rapidly migrating molecules,^{11–14} which could be confirmed in a pilot study (Fig 4) in which prealbumin fractions were not apparent in 63% of

the samples or could not be read properly because of their fast migration in the agarose standard gel (SAS-1 SP-24 gel). In comparison, 95% of the samples showed clear prealbumin fractions when using a high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB gel). The presence of prealbumin is also believed to depend on the species, as has been demonstrated in several psittacine species when using the same method.¹⁵ In addition, physiologic status of the bird may play a role: variable occurrence of prealbumin was reported in laying hens,¹⁶ however, the occurrence of prealbumin was not associated with seasonality in female birds in our study, and differences in prealbumin values showed no correlation to molting or egg formation as shown in other bird species.⁴

Compared with results of previous studies,^{3,17} this study revealed relatively low TP values for falcons, along with high values for prealbumin and for the A : G ratio. Likewise, high values for prealbumin were previously found for Spanish imperial eagles (*Aquila adalberti*).¹² The A : G ratio is a primary indicator from the protein electrophoresis. In some cases of immune response, TP may remain within the normal range, but the shift of protein fractions and resultant change in A : G ratio have more clinical significance than the TP

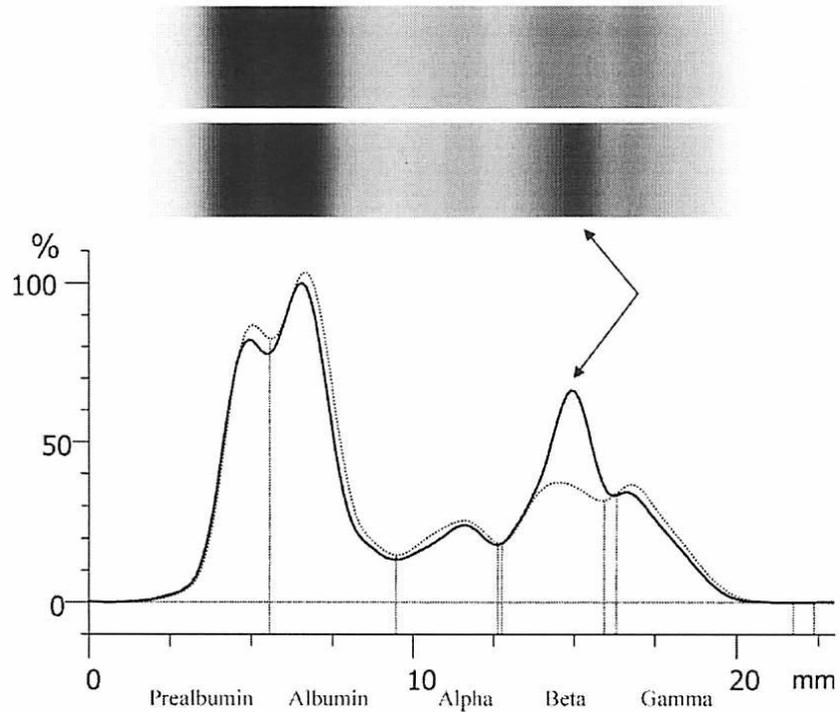


Figure 2. Comparison of protein electrophoretogram obtained by high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB) of plasma (solid, lower band) and serum (dotted, upper band) from a clinically healthy hybrid falcon. The clearly elevated peak and a band in the plasma pattern represent the beta-globulin fraction (arrows).

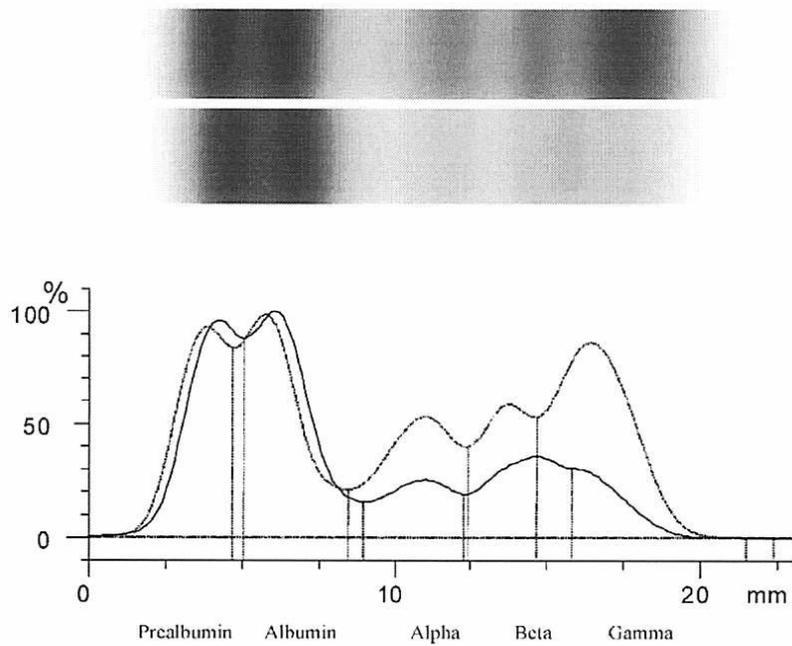


Figure 3. Comparison of electrophoretogram patterns of a clinically healthy hybrid falcon (solid, lower band) and a gyrfalcon with aspergillosis (dotted, upper band) obtained by serum protein electrophoresis by using high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB).

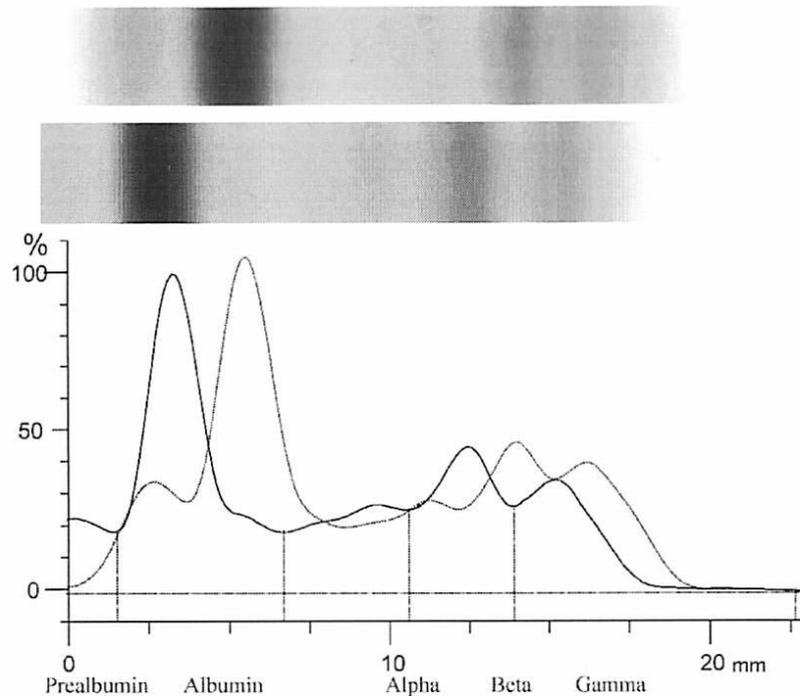


Figure 4. Comparison of electrophoretogram patterns of a clinically healthy saker falcon obtained by serum protein electrophoresis by using high-resolution agarose gel (dotted) and standard agarose gel (solid). Note the fast migration and, therefore, incomplete reading of the peak at the very left of the electrophoretogram in the standard agarose gel (solid).

alone.^{2,11,18} However, as a natural response to physiologic situations, such as egg laying or migration,¹ season, age and husbandry,⁵ and pathologic conditions in general, protein levels are not exclusively related to certain diseases and should always be interpreted in relation with other diagnostic measures. In our study, variability in SPE patterns between different sexes was not statistically significant for healthy falcons ($n = 73$), which was in agreement with previous studies, according to which reference values appear to be significantly different among different genera but negligible among taxonomic species.^{3,15,17,19}

Published protein electrophoretic patterns in birds are diverse and often inconsistent because of insufficient information about standardized methods of defining the different protein fractions.^{2,18} A recent study questions the reliability of the determination of alpha, beta, and gamma globulins by protein electrophoresis in birds in particular and offers some explanations for the variations of the globulin fraction values, such as low sample volumes for globulin fractions, technical variations in the methodology, and limitations of the statistical methods.^{13,20} The identification of

the different protein fractions in the electrophoretogram in the current study was based on albumin values obtained by the BCG method. Although this method showed poor correlation to electrophoretic albumin values determined by cellulose acetate membrane in pigeons (*Columba livia*),²¹ it provided us, based on the strong correlation between the 2 methods in this study, an approximation of the albumin value. Starting from the identification of the albumin peak, the band with a faster migration than albumin, if present, was assigned to prealbumin and the 3 bands with slower migration were assigned to the main groups (alpha, beta, gamma) of globulins. These assumptions were confirmed in a small pilot study by the obvious elevation of one peak in the electrophoretogram pattern of plasma compared with serum, which likely represents fibrinogen in the beta-globulin fraction (Fig 2). The identification of additional protein subfractions, such as alpha₁- and alpha₂-globulins, or twin peaks in beta-globulin have been reported in different bird species.^{2,3,11} In this study, the high-resolution agarose gel (SAS-1 SP-24 SB) produced a twin peak in the alpha-globulin fraction in only 4

electrophoretograms (1 bird from group 1 and 3 birds from group 2), which could not be further explained. In a recent study, in which the investigators used de novo sequencing to define the protein fractions more precisely, the alpha₁-globulin peak was identified as apolipoprotein A-I,²² which underlines the importance of clearly describing the methods of identifying the protein fractions in the electrophoretogram until more specific studies (eg, immunoelectrophoresis²) are performed.

In contrast to many other studies on protein electrophoresis in birds, serum was used instead of plasma because fibrinogen in plasma samples can obscure the electrophoretogram in the beta- and gamma-globulin regions,²³ and heparin may interfere with BCG dye,^{21,24} which precludes reliable albumin measurements. Because serum separates from the blood clot and is in contact with blood cells for a longer time than in plasma samples that are usually immediately centrifuged, it inevitably undergoes changes due to continuing metabolic activities and, therefore, is not recommended for obtaining blood biochemical values. Because cellular metabolism has not been reported to change protein fractions, serum was thought to be more advantageous for protein electrophoresis. However, when interpreting electrophoretic patterns, one should be aware that TP is lower in serum than in plasma and that peaking of the beta-globulin fraction may not be as prominent because of the missing acute-phase protein fibrinogen.²⁵ The lack of fibrinogen in serum samples of this study coupled with the relatively high values of prealbumin may explain the comparably high A:G ratios. Potential limitations of this study are the lack of comparison of paired plasma and serum samples of the same birds to clarify the influence of fibrinogen.

In most studies, birds with clinical aspergillosis show increased total blood protein concentrations, marked hyperglobulinemia (beta and gamma fraction), and decreased albumin fraction that resulted in a decreased A:G ratio.^{2,3,11,26} In fact, in penguins, a connection among albumin levels that dropped below 0.18 mg/dL and poor prognosis was shown,²⁷ and, compared with antigen and antibody enzyme-linked immunosorbent assays, protein electrophoresis showed the highest sensitivity.²⁶ In some individual cases, these changes could also be seen in this study (Fig 3); however, apart from the decreased total albumin concentration determined by SPE, the results were not significantly different between groups 1 and 2. However, in most of these studies, plasma was used, and the increase in the beta region likely

originated from increased fibrinogen, which could not be observed in the current study because of the use of serum. Another explanation for this may be that birds presented to Dubai Falcon Hospital are trained falconry birds; these birds are closely observed by their trainers every day and changes in performance are noticed in very early stages of disease.

Because abnormal electrophoretic patterns may precede seroconversion, detection of pathogens, or biochemical and hematologic values,^{1-3,28} SPE can be used as an accessory tool to indicate pathologic conditions in falcons, for example, aspergillosis. In particular, a decrease in the prealbumin fraction may be an important early indicator; however, further investigations are necessary to identify the appropriate standardized methods to distinctively identify the electrophoretographic fractions and elucidate the significance of this potential negative acute phase protein in the diagnosis of aspergillosis in birds.

Acknowledgments: We thank His Highness Sheikh Hamdan bin Rashid al Maktoum for his continued support of the Dubai Falcon Hospital. We thank Mr Humaid Obaid al Muhari and the staff of the Dubai Falcon Hospital for their technical support. We thank Dr Donatella Gelli for her expertise.

References

1. Werner LL, Reavill DR. The diagnostic utility of serum protein electrophoresis. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 1999;2(3):651-662.
2. Cray C, Tatum LM. Applications of protein electrophoresis in avian diagnostics. *J Avian Med Surg.* 1998;12(1):4-10.
3. Blanco JM, Hofle U. Plasma protein electrophoresis as diagnostic and prognostic tool in raptors. *Proc Euro Assoc Avian Vet.* 2003:256-261.
4. Spagnolo V, Crippa V, Marzia A, Sartorelli P. Reference intervals for hematologic and biochemical constituents and protein electrophoretic fractions in captive common buzzards (*Buteo buteo*). *Vet Clin Pathol.* 2006;35(1):82-87.
5. Spagnolo V, Crippa V, Marzia A, et al. Hematologic, biochemical and protein electrophoretic values in captive tawny owls (*Strix aluco*). *Vet Clin Pathol.* 2008;37(2):225-228.
6. Deem SL. Fungal diseases of birds of prey. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2003;6(2):363-376.
7. Lumeij JT. Avian plasma chemistry in health and disease. *Proc Annu Conf Assoc Avian Vet.* 1993:20-26.
8. MedCalc Software Manual. Reference interval. <http://www.medcalc.org/manual/referenceinterval.php>. Accessed November 29, 2011.

9. Eckersall PD. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press Elsevier; 2008:117–155.
10. Harr KE. Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Vet Clin Pathol*. 2002;31(3):140–151.
11. Cray C, Bossart G, Harris D. Plasma protein electrophoresis: principles and diagnosis of infectious disease. *Proc Annu Conf Assoc Avian Vet*. 1995:55–59.
12. Garcia-Montijano M, Garcia A, Lemus JA, et al. Blood chemistry, protein electrophoresis, and hematologic values of captive Spanish imperial eagles (*Aquila adalberti*). *J Zoo Wildl Med*. 2002;33(2):112–117.
13. Cray C, King E, Rodriguez M, et al. Differences in protein fractions of avian plasma among three commercial electrophoresis systems. *J Avian Med Surg*. 2011;25(2):102–110.
14. Archer FJ, Battison AL. Differences in electrophoresis patterns between plasma albumin of the cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) and the chicken (*Gallus gallus domesticus*). *Avian Pathol*. 1997;26(4):865–870.
15. Cray C, Rodriguez M, Zaias J. Protein electrophoresis of psittacine plasma. *Vet Clin Pathol*. 2007;36(1):64–72.
16. Kristjansson FK, Taneja GC, Gower RS. Variations in serum proteins of the hen during egg formation. *Br Poult Sci*. 1963;4(3):239–341.
17. del Pilar Lanzarot M, Montesinos A, San Andres MI, et al. Hematological, protein electrophoresis and cholinesterase values of free-living nestling peregrine falcons in Spain. *J Wildl Dis*. 2001;37(1):172–177.
18. Tatum LM, Zaias J, Mealey BK, et al. Protein electrophoresis as a diagnostic and prognostic tool in raptor medicine. *J Zoo Wildl Med*. 2000;31(4):497–502.
19. Clubb SL, Schubot RM, Joyner K, et al. Hematologic and serum biochemical reference intervals in juvenile macaws (*Ara* sp.). *J Assoc Avian Vet*. 1991;5(3):154–162.
20. Rosenthal KL, Johnston MS, Shofer FS. Assessment of the reliability of plasma electrophoresis in birds. *Am J Vet Res*. 2005;66(3):375–378.
21. Lumeij JT, Bruinje JJ, Kwant MM. Comparison of different methods of measuring protein and albumin in pigeon sera. *Avian Pathol*. 1990;19(2):255–261.
22. Roman Y, Bed'Hom B, Guillot A, et al. Identification of apolipoprotein A-I in the α -globulin fraction of avian plasma. *Vet Clin Pathol*. 2009;38(2):206–212.
23. Thomas JS. Protein electrophoresis. In: Feldmann BF, Zinkl JG, Jain NC, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:899–903.
24. Hrubec TC, Whichard JM, Larsen CT, Pierson FW. Plasma versus serum: specific differences in biochemical analyte values. *J Avian Med Surg*. 2002;16(2):101–105.
25. Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press Elsevier; 2008:839–872.
26. Ivey ES. Serologic and plasma protein electrophoretic findings in 7 psittacine birds with aspergillosis. *J Avian Med Surg*. 2000;14(2):103–106.
27. Reidarson TH, McBain J. Serum protein electrophoresis and *Aspergillus* antibody titers as an aid to diagnosis of aspergillosis in penguins. *Proc Annu Conf Assoc Avian Vet*. 1995:61–64.
28. Cray C, Reavill D, Romagnano A, et al. Galactomannan assay and plasma protein electrophoresis findings in psittacine birds with aspergillosis. *J Avian Med Surg*. 2009;23(2):125–135.

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Die Greifvogelhaltung und -zucht spielt in Deutschland eine große Rolle, wie sich an der Anzahl der allein in Deutschland gezüchteten und exportierten Falken nachvollziehen lässt. Für diese in Deutschland, aber auch weltweit gehaltenen Greifvögel stellt Aspergillose eine sehr große Bedrohung dar (DEEM 2003, BAILEY 2008, REDIG 2008). Durch die zunehmende Beliebtheit von Gerfalkenhybriden – insbesondere in den arabischen Ländern (KINNE und WENERY 2006) – ist es nicht unwahrscheinlich, dass diese Erkrankung dort, aber auch in den Zuchtzentren Deutschlands noch mehr zunehmen wird. In Untersuchungen aus Saudi-Arabien belief sich der Anteil der an Aspergillose verstorbenen Falken auf 9,9 % des Sektionsguts (NALDO und SAMOUR 2004a).

Um die Mortalität bei Aspergillose zu senken, ist neben der Vermeidung prädisponierender Faktoren eine frühzeitige Diagnose hilfreich, um die Letalität erkrankter Falken zu reduzieren. Denn je früher die Diagnose Aspergillose gestellt wird, desto günstiger ist die Prognose für den Verlauf der Erkrankung der betroffenen Falken (HEIDENREICH 1996a, REDIG 2008).

Die heute üblichen Untersuchungsmethoden zur Diagnostik von Aspergillose bei Greifvögeln umfassen in erster Linie radiographische und endoskopische Untersuchungen (mit Probenentnahme für Bakteriologie, Mykologie und Zytologie) sowie die Hämatologie und trocken- und nasschemischen Blutuntersuchungen. Nachteilig an den aufgeführten Methoden ist im Falle der konventionellen Projektionsradiographie die mangelnde Sensitivität, insbesondere bei akuten Aspergillosen, im Falle der Endoskopie die erforderliche Allgemeinanästhesie und die Invasivität dieses Diagnostikums. Sowohl die Hämatologie als auch die trocken- und nasschemischen Blutuntersuchungen weisen einen großen Mangel an Spezifität und Sensitivität auf. Auch die teilweise bereits von Laboren angebotenen direkten als auch indirekten Antigennachweise ergaben in wissenschaftlichen Studien sehr unterschiedliche Spezifitäts- und Sensitivitätsangaben, so dass sie von mehreren Autoren nicht oder nur in Kombination mit anderen Diagnostika empfohlen werden (REDIG et al. 1997, JONES und OROSZ 2000, LE LOCH et al. 2005, ARCA-RUIBAL et al. 2006, BURCO et al. 2012). Zwar gilt die Computertomographie als die aussagekräftigste und sensitivste Methode zur Diagnostik aviärer Lungenveränderungen (KRAUTWALD-

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

JUNGHANNS 2009), aber die hohen Kosten dieser Untersuchung können oftmals von den Besitzern nicht getragen werden. Die Magnetresonanztomographie ist sowohl wegen der sehr hohen Kosten als auch wegen der schlechten Darstellbarkeit der Lungen und Luftsäcke sowie der notwendigen langen Narkose nicht zur Diagnostik der Aspergillose geeignet.

Obwohl die Projektionsradiographie insbesondere in frühen Erkrankungsstadien als wenig sensibel angesehen wird (RÜBEL 1985, DAHLHAUSEN 2006), könnte durch die Erarbeitung und Beschreibung von Röntgenzeichen bei an Aspergillose erkrankten Vögeln die Sensitivität der vergleichsweise günstigen und vor allem patientenschonenden Untersuchungsmethode erhöht werden, wenn der untersuchende Tierarzt über ausreichende Kenntnisse der Röntgenzeichen verfügt. Bisher sind jedoch ausschließlich systematische Studien über Röntgenzeichen bei an Aspergillose erkrankten Papageien und nicht bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln bekannt.

Im vogelmedizinischen Bereich der Elektrophorese befassen sich einige Arbeiten mit Referenzwerten unter Verwendung der Serum- oder Plasmaelektrophorese von gesunden Tieren verschiedener Vogelspezies (CLUBB et al. 1991, ORDONNEAU et al. 2005, CRAY et al. 2007), andere Arbeiten beschreiben die Abweichungen des Elektropherogramms bei unterschiedlichen Erkrankungen diverser Vogelspezies (CRAY und TATUM 1998, IVEY 2000, TATUM et al. 2000). Eine Studie über Elektropherogramme von gesunden im Vergleich mit an Aspergillose erkrankten Greifvögeln bei Nutzung der Serumelektrophorese wurde bis dato noch nicht durchgeführt, obwohl die Proteinelektrophorese ein großes Potential bei diesen Spezies verspricht (TATUM et al. 2000, BLANCO und HOFLE 2003).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, den praktizierenden Tierarzt durch die Beschreibung von typischen Röntgenzeichen bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln für diese Befunde zu sensibilisieren und durch die Untersuchung von Serumproben mittels Proteinelektrophorese „Referenzwerte“ für gesunde Falken zu erstellen und diese mit den Werten von an Aspergillose erkrankten Falken zu vergleichen, um so neue Erkenntnisse über die Aussagekraft dieses vielversprechenden Diagnostikums zu gewinnen.

Beide Studien dieser Arbeit wurden im Dubai Falcon Hospital (DFH) in Dubai an den dort vorgestellten Jagdfalken durchgeführt. Die erkrankten Jagdfalken werden im DFH meist im Anfangsstadium der Aspergillose vorgestellt, da durch das harte Flugtraining während der Jagdsaison Leistungsdefizite frühzeitig auffallen, sie von ihren Trainern engmaschig

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

beobachtet und bei geringen Auffälligkeiten unmittelbar zur Untersuchung vorgestellt werden (persönliche Mitteilung, THOMAS A. BAILEY; Dubai, Vereinigte Arabische Emirate, April 2010). Diese Tatsache ist im Vergleich mit Ergebnissen aus anderen Studien zu berücksichtigen und führte in beiden Studien teilweise zu Abweichungen von aus der Literatur beschriebenen Befunden. Meist wurden in der Literatur als Heimtiere gehaltene Papageien oder Zoovögel diverser Spezies untersucht. Da Vögel es nach Möglichkeit vermeiden, Anzeichen von Krankheiten zu zeigen und sowohl die als Heimtiere gehaltenen Papageien als auch die Zoovögel keine körperlich anstrengende Leistung erbringen müssen, bei denen geringgradige Leistungsdefizite auffallen würden, werden diese Vögel oft erst im Spätstadium der Erkrankung vorgestellt (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993).

4.1 Radiographie

Bei den Röntgenuntersuchungen der 110 Jagdfalken konnten in erster Linie subtile Röntgenzeichen beschrieben werden. Insbesondere inhomogene Verschattungen des Lungenfeldes (38,2 % in der laterolateralen Projektion [ll]) und strichförmige Verschattungen der kaudalen Lungengrenze (30,0 % ll) sowie inhomogene (34,5 % ll; 29,1 % in der ventrodorsalen Projektion [vd]) und streifige (26,4 % ll) Verschattungen der Luftsäcke, aber auch eine schlechte Abgrenzbarkeit des Herzschatens in der laterolateralen Projektion (42,7 %) stellten die häufigsten Befunde dar. Bei Studien, die an Papageien mit Erkrankungen des Respirationstrakts durchgeführt wurden (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993), war der Anteil der inhomogenen Verschattungen der Lungen mit 10,7 % bzw. 12,8 % und der Anteil der inhomogenen Verschattungen der Luftsäcke mit 7,6 % bzw. 13,4 % sehr viel geringer. Herdförmige Verschattungen der Lunge konnten bei den Falken hingegen wesentlich seltener als bei Papageien nachgewiesen werden (0,9 % Falken versus 6,9 % bzw. 12,8 % Papageien), herdförmige Verschattungen der Luftsäcke waren fast zu etwa gleichen Anteilen feststellbar (7,3 % Falken, 8,7 % bzw. 10,2 % Papageien). Die schlechte Abgrenzbarkeit des Herzschatens und die strichförmige Verschattung der kaudalen Lungengrenze waren bei Papageien in Zusammenhang mit Aspergillose noch nicht beschrieben worden (RÜBEL 1985, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993). Im Vergleich war in dieser Studie der Anteil an subtilen Röntgenzeichen, die wahrscheinlich einem früheren Erkrankungsstadium entsprechen, geringer und der Anteil an

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

massiven Röntgenzeichen – wie zum Beispiel Granulomen, die meist in fortgeschrittenen Krankheitsstadien beobachtet werden können (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009) – größer.

Diese Unterschiede können zum einen durch die frühzeitige Vorstellung der Falken, die sich daher noch im Anfangsstadium der Erkrankung befanden, erklärt werden; zum anderen wurden die Falken mit digitaler anstelle von analoger Projektionsradiographie untersucht. Die digitale Technik erlaubt beim Vogelpatienten eine bessere Detailerkennbarkeit insbesondere bei weichteildichten Strukturen, da durch den größeren Dynamikumfang mehr Graustufen als bei der Film-Folien Kombination dargestellt werden können (BOCHMANN 2011, HATT und OHLERT 2012). Darüber hinaus erwies sich bei dieser Studie auch die nachträgliche Bearbeitungsmöglichkeit der digital erstellten Bilder als sehr vorteilhaft. So konnten Kontrast, Helligkeit und Größe nachträglich am Betrachtungsbildschirm bearbeitet werden. Durch dieses zusätzliche Potential der digitalen Röntgentechnik war es möglich, auch sehr subtile Veränderungen der Lungen und Luftsäcke der erkrankten Falken beurteilen zu können.

Diese nachträgliche Bearbeitungsmöglichkeit verleitet aber möglicherweise auch insbesondere ungeübte Betrachter zu einer Fehlinterpretation von physiologischen Strukturen, wie zum Beispiel der kaudalen Thorakalluftsackwand. Sie kann beim gesunden Falken dargestellt werden und könnte insbesondere nach Bearbeitung des Röntgenbildes, auch als typisches Röntgenzeichen für Aspergillose gewertet werden.

Welchen Anteil die frühzeitige Vorstellung oder die verwendete digitale Technik an den im Vergleich zur Literatur dominierenden subtilen Röntgenzeichen hat, kann nicht genau beziffert werden, da hierfür eine Vergleichsstudie zwischen analoger und digitaler Radiographie bei an Aspergillose erkrankten Greifvögeln notwendig gewesen wäre. Diese Fragestellung war nicht Ziel dieser Studie, ihre Beantwortung könnte aber in einer Folgestudie von großem Nutzen sein.

Trotz endoskopisch (und mykologisch bzw. zytologisch) bestätigter Aspergillose waren 26,4 % der Falken radiologisch vollkommen unauffällig. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass sich ein Großteil dieser Falken noch in einem so frühen Stadium der Erkrankung befand, dass lediglich geringgradige Entzündungsreaktionen in Lunge und Luftsäcken vorlagen, die sich im Röntgenbild nicht nachvollziehen ließen. Auch in der Literatur wird die mangelnde Sensitivität der Radiographie in akuten Fällen von Aspergillose bemängelt

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

(KRAUTWALD-JUNGHANNS 1997, JONES und OROSZ 2000, DEEM 2003, DAHLHAUSEN 2006). Eine Erkrankung an Aspergillose kann daher bei Falken auch bei einem unauffälligen Röntgenbefund nicht sicher ausgeschlossen werden.

Im Zuge der Auswertung der Röntgenbilder der Falken zeigte sich, dass die Aussagekraft im kranialen Bereich der Lungen wegen der stark ausgeprägten Brustmuskulatur bei diesen Vogelspezies deutlich eingeschränkt ist. Dies könnte sich zusätzlich als besonders nachteilhaft im Falle von akuten Aspergillosen erweisen, da diese sich hauptsächlich durch Bildung miliarer Granulome im Lungenparenchym manifestieren (REDIG 1981, HEIDENREICH 1996a). Ein weiteres Hindernis bei der Beurteilung von Röntgenbildern von Falken, aber auch von anderen Greifvogelspezies (Falconiformes), kann der sehr dehnbare Drüsenmagen darstellen. Ist die letzte Fütterung des Greifvogels nicht mindestens sechs Stunden her (NALDO und SAMOUR 2004b), sind die Röntgenbilder in beiden Ebenen nicht adäquat auswertbar, da weite Teile der Luftsäcke von dem mit Futter gefüllten Drüsenmagen überlagert werden. Außerdem wird die Auswertbarkeit von Röntgenbildern durch unzureichend symmetrische Lagerung nicht nur bei den Falken, sondern bei jeder Vogelspezies negativ beeinträchtigt. Diese Einschränkungen führten zum Ausschluss einiger Röntgenbilder vor Beginn der Studie, obwohl bei den entsprechenden Falken Aspergillose endoskopisch nachgewiesen worden war.

Viele Röntgenzeichen, die bei einer Aspergillose beim Vogel erhoben werden können, sind nicht spezifisch für diese Erkrankung. Sie zeigen lediglich eine chronische Pneumonie bzw. Aerosacculitis an (MC MILLAN und PETRAK 1989, NEWELL et al. 1997, DAHLHAUSEN 2006), so dass in Zusammenhang mit der Anamnese und weiteren klinischen Untersuchungen auf die Ursache der Erkrankung gefolgert werden muss. Bei der eigenen Studie wurden ausschließlich Falken mit endoskopisch bestätigter Aspergillose untersucht. Prinzipiell können andere Erkrankungen des Respirationstrakts wie z. B. Serratospiculiasis oder bakterielle Infektionen zu ähnlichen radiologischen Befunden führen. Vergleichsstudien zu diesen beispielhaft genannten und weiteren Erkrankungen des Respirationstrakts waren jedoch nicht Gegenstand dieser Studie.

Ebenso wenig konnte ein Vergleich von Endoskopie und Projektionsradiographie Gegenstand der Studie sein. Eine direkte Gegenüberstellung der jeweiligen Befunde eines zweidimensionalen Summationsbildes des gesamten Körpers und eines dreidimensionalen,

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

aber lokal sehr begrenztem Bildes erschien wegen der unterschiedlich darstellbaren Strukturen nicht sinnvoll. So lassen sich beispielsweise eventuelle radiologische Lungenbefunde wegen mangelnder endoskopischer Visualisierung im Inneren des Lungenparenchyms nicht durchgängig nachvollziehen.

Die Auswertung von Röntgenbildern stellt bis zu einem gewissen Grad eine subjektive Beurteilung dar, die ein gewisses Mindestmaß an Erfahrung voraussetzt (BOCHMANN 2011, HATT und OHLERT 2012). Kenntnisse zur aviären Anatomie und Physiologie sind Voraussetzung (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 2009, HATT und OHLERT 2012). Daher können gerade subtile Röntgenzeichen ungeübten Betrachtern verborgen bleiben. In dieser Studie wurden sowohl deutliche Unterschiede in der radiologischen Anatomie sowie in der Ausprägung und Häufigkeit von pathologischen Röntgenzeichen zwischen Papageien und Greifvögeln erarbeitet und ausführlich erläutert, um die Interpretation der Röntgenbilder bei diesen Spezies zu erleichtern und die Aussagekraft dieses Diagnostikums bei an Aspergillose erkrankten Falken zu steigern.

Die Ergebnisse dieser Studie lassen sich nur bedingt auf andere Vogelspezies übertragen. Die meisten Parallelen sind wahrscheinlich bei dem Vergleich mit anderen Taggreifvogelspezies (Falconidae und Accipitridae) zu finden. Die schlechte Auswertbarkeit des kranialen Lungenparts durch die Überlagerung mit der gut ausgeprägten Brustmuskulatur und die Überlagerung weiter Teile der Luftsäcke durch den gefüllten Drüsenmagen kurz nach der Fütterung lassen sich sicherlich bei anderen Taggreifvögeln bei der Auswertung von Röntgenbildern feststellen. Möglicherweise stellt sich die kaudale Thorakalluftsackwand insbesondere bei kleineren gesunden Greifvögeln nicht ganz so deutlich dar, und die Abgrenzbarkeit des Herzschatens könnte bei anderen Greifvogelspezies auch bei gesunden Vögeln unterschiedlich deutlich sein. Zwar beschreiben SMITH und SMITH (1990) den Rotschwanzbussard (*Buteo jamaicensis*) als Referenz für die Gruppe der Taggreifvögel und gehen von einer gewissen Vergleichbarkeit der physiologischen Befunde aus, jedoch befassen sie sich in ihren Beschreibungen hauptsächlich mit dem Skelettsystem und nicht mit den parenchymatösen Organen.

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

4.2 Proteinelektrophorese

In der an 105 Jagdfalken durchgeführten Studie konnten mit dem Elektrophoresesystem SAS 1 unit (Helena, Saint Leu La Forest, Frankreich) Referenzwerte an 73 gesunden Jagdfalken für Serumproben erstellt werden. Verglichen mit Studien an 139 bzw. 143 gesunden Greifvögeln von 10 bzw. 8 unterschiedlichen Spezies (nur 29 Wanderfalken (*F. peregrinus*) eingeschlossen) (TATUM et al. 2000, BLANCO und HOFLE 2003), sind die erarbeiteten Referenzen für Albumin vergleichbar, die Totalproteinwerte jedoch relativ niedrig und die Präalbuminwerte relativ hoch. Eine Unterteilung der α -Globuline, wie in anderen Studien an Greifvögeln unterschiedlicher Spezies (inklusive Wanderfalken) beobachtet (TATUM et al. 2000, GARCIA-MONTIJANO et al. 2002, BLANCO und HOFLE 2003, SPAGNOLO et al. 2006), konnte nur bei einem gesunden Falken registriert werden.

Vergleicht man die Totalproteinwerte dieser Studie mit Referenzen, die ausschließlich von 29 adulten Wanderfalken (*Falco peregrinus*) ermittelt wurden (BLANCO und HOFLE 2003), relativieren sich die Differenzen zu den eigenen Befunden, was möglicherweise mit einem grundsätzlich niedrigeren Totalproteinwert bei Falken (Falconidae) zusammenhängt. Darüber hinaus entstand der relativ niedrige Gesamtproteinwert vermutlich auch durch die Verwendung von Plasma. Wird Plasma anstelle von Serum als Probenmaterial verwendet, ist zu beachten, dass Serum kein Fibrinogen enthält und folglich die β -Fraktion geringer ausfallen wird, als bei der Wahl von Plasma (CRAY und TATUM 1998, HRUBEC et al. 2002, LUMEIJ 2008, ROMAN et al. 2009b). Dies muss beim Vergleich mit anderen Studien berücksichtigt werden.

Mit der vorliegenden Studie vergleichbare hohe Präalbuminwerte wurden auch in einer Studie an 12 gesunden adulten spanischen Kaiseradlern (*Aquila adalberti*) mittels Plasmaproteinelektrophorese gemessen (GARCIA-MONTIJANO et al. 2002). Das bei Menschen und Vögeln vorkommende Präalbumin enthält Transthyretin, ein Transportprotein für Schilddrüsenhormone und Retinol (HARR 2002, ECKERSALL 2008). Der relativ hohe Präalbuminwert der Jagdfalken könnte möglicherweise mit einer hohen Stoffwechselrate, bedingt durch das harte Training, zusammenhängen, die hohen Präalbuminwerte der Adler durch die vermehrte Aktivität während der Balzzeit.

Unklar bleibt, weshalb in dieser Studie eine Unterteilung der Globulinfractionen nur bei einem von 73 gesunden Jagdfalken beobachtet werden konnte. Eine Begründung liegt

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

möglicherweise in der Verwendung unterschiedlicher Elektrophoresesysteme in den einzelnen Studien. Sie könnte neben den bereits diskutierten Gründen auch eine Erklärung für den relativ niedrigen Gesamtproteingehalt und den hohen Präalbumingehalt darstellen. In der hier vorgestellten Studie konnte beispielsweise bei Voruntersuchungen die Präalbuminfraktion in 63 % der Fälle bei Verwendung des Standard-Agarosegels (SAS-1 SP-24) nicht adäquat ausgelesen werden, wohingegen es bei 95 % der mit dem High-Resolution Agarosegel derselben Firma (SAS-1 SP-24 SB) durchgeführten Untersuchungen möglich war. Auch in der Literatur finden sich derartige Beschreibungen: So führen nicht nur chemisch unterschiedliche Trägergele sondern auch unterschiedliche Fabrikate mit ähnlicher Technik zu abweichenden Untersuchungsergebnissen (CRAY und TATUM 1998, WERNER und REAVILL 1999, CRAY et al. 2011). Darüber hinaus beeinflussen bei der Elektrophorese die Konzentration des Trärgels, die Pufferlösungen, der pH-Wert, die angelegte Spannung, die Wanderungszeit und nicht zuletzt die Färbung das Endresultat (ECKERSALL 2008, CRAY et al. 2011).

Neben den unterschiedlichen Resultaten durch Verwendung unterschiedlicher Systeme können natürlich auch Fehler während der Probenverarbeitung durch unsachgemäßes Lagern und subjektive Bewertung der Elektropherogramme (wie sie bei manchen Systemen nötig ist) sowie durch hämolytische oder lipämische Proben entstehen (CRAY und TATUM 1998, CRAY et al. 2007, CRAY et al. 2011). In dieser Studie wurde versucht, derartige Artefakte zu verhindern, indem die Untersuchungen immer von denselben Personen durchgeführt, die Proben mit der Platinum Gel Analysis Software (Helena, Saint Leu La Forest, Frankreich) ausgelesen und hämolytische oder lipämische Proben verworfen wurden.

Einige Autoren berichten, dass bestimmte biologische Prozesse im Vogel – wie Mauser, Legetätigkeit oder Alter (KRISTJANSSON et al. 1963, CLUBB et al. 1991, SPAGNOLO et al. 2006) – das Elektropherogramm in physiologischer Weise beeinflussen können. Außerdem sollten Referenzwerte stets speziesspezifisch sein (ORDONNEAU et al. 2005, CRAY et al. 2007, ROMAN et al. 2009b). In dieser Studie konnten jedoch keine Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies sowie den Geschlechtern nachgewiesen werden.

Im Vergleich mit den 73 Serumproben der gesunden Falken ließ sich bei den 32 Serumproben der an Aspergillose erkrankten Falken ein signifikant erniedrigter Albuminwert

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

mittels der Bromcresol Grün Methode, ein signifikant erniedrigter Totalalbuminwert (Albumin + Präalbumin) mittels Serumelektrophorese und ein hoch signifikant erniedrigter Präalbuminwert mittels Serumelektrophorese feststellen. Der Abfall des (Gesamt-) Albuminwerts ist auf einen stark reduzierten Präalbuminwert der erkrankten Falken zurück zu führen, da sich das mittels Serumelektrophorese untersuchte Albumin (ohne Präalbumin) nicht signifikant zwischen gesunden und erkrankten Falken unterschied.

Bei Greifvögeln als auch Papageien bestehen in der Literatur beschriebene „typische“ Veränderungen des Elektropherogramms bei Erkrankungen an Aspergillose in einem Anstieg des Gesamtproteins – wobei dieser durch eine Hyperglobulinämie der β - und γ -Fraktion hervorgerufen wird – und einem Abfall des Albumins, was insgesamt zu einem Abfall des Albumin : Globulin-Verhältnisses führt (CRAY und TATUM 1998, IVEY 2000, BLANCO und HOFLE 2003). Die von der Literatur stark abweichenden Ergebnisse dieser Studie können zum einen wiederum durch die besondere Überwachung des Gesundheitsstatus der untersuchten Falken und der dadurch sehr frühzeitigen Vorstellung in der Klinik erklärt werden. Da in der γ -Fraktion Immunglobuline enthalten sind (CRAY und TATUM 1998), die sich erst im Laufe einer Erkrankung bilden, ist es denkbar, dass diese sich bei vielen Falken noch nicht in signifikantem Maße gebildet hatten. Zum anderen könnte wiederum die Verwendung von Serum zur Proteinelektrophorese anstelle von Plasma eine Rolle gespielt haben, da ein Teil der β -Fraktion aus Fibrinogen besteht, welches im Zuge der Aspergillose ansteigt (CRAY und TATUM 1998, HRUBEC et al. 2002, LUMEIJ 2008, ROMAN et al. 2009b) und folglich in den hier verwendeten Serumproben fehlte.

Präalbumin enthält, wie beschrieben, Transthyretin und gilt als ein negatives Akute-Phase-Protein; das heißt, es nimmt im Gegensatz zu Akute-Phase-Proteinen im Krankheitsfall ab (HARR 2002, ECKERSALL 2008). Der signifikante Abfall des Präalbuminwerts entspricht demnach den Erwartungen aus der Literatur. Die Tatsache, dass er bei anderen Vogelspezies noch nicht im Zusammenhang mit Aspergillose festgestellt wurde, liegt möglicherweise an den niedrigeren Referenzwerten für Präalbumin bei anderen Spezies, so dass ein Sinken dieses Werts unbemerkt bleibt, da er die Grenze der bis heute möglichen Differenzierungsmöglichkeiten unterschreitet. Bei den an Aspergillose erkrankten Falken reflektiert der Abfall des Präalbumins möglicherweise eine reduzierte Leistung beim Training, die mit reduzierter Stoffwechselleistung einhergeht. Ob der reduzierte

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Präalbuminwert jedoch ausschließlich bei an Aspergillose erkrankten Falken nachgewiesen werden kann, ist durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht zu klären. Es ist jedoch zu vermuten, dass er auch bei anderen krankhaften Prozessen sinkt.

Als einen möglichen Schwachpunkt der vorliegenden Studie könnte man – wegen der schlechteren Vergleichbarkeit zu anderen Studien und wegen der reduzierten Aussagekraft bezüglich der β -Fraktion – die Verwendung von Serum anstelle von Plasma zur Proteinelektrophorese betrachten. Da Fibrinogen jedoch die β -Fraktion vollständig verbergen kann (THOMAS 2000) und Heparin mit Bromcresol Grün – also der Methode zur Bestimmung von Albumin ohne Verwendung der Elektrophorese – interagieren kann (LUMEIJ et al. 1990, HRUBEC et al. 2002), wurde im Vorfeld dieser Studie Serum als Probenmaterial gewählt.

Obwohl sich die meisten der 32 erkrankten Falken höchstwahrscheinlich noch im Anfangsstadium der Aspergillose befanden, konnten bereits signifikante Unterschiede zu den 72 gesunden Falken mittels Serumelektrophorese ermittelt werden. Viele Forscher schätzen die Proteinelektrophorese als sehr sensitive Screeninguntersuchung, um auch subklinische pathologische Verhältnisse bei Vögeln aufzudecken und weiterführende Untersuchungen zu veranlassen (CRAY und TATUM 1998, WERNER und REAVILL 1999, TATUM et al. 2000, BLANCO und HOFLE 2003). Bei operierten Pfauen (*Pavo cristatus*) konnten beispielsweise schon nach spätestens 16 Stunden Veränderungen in den die Akute-Phase-Proteine enthaltenden α - und β -Globulinen registriert werden (ROMAN et al. 2005). Unterschiede zwischen den einzelnen Falkenspezies bzw. Hybriden und den Geschlechtern waren in dieser Studie nicht nachweisbar. Es ist folglich davon auszugehen, dass zumindest hormonell bedingte Einflüsse keine Auswirkungen auf die Elektropherogramme gehabt haben. Einflüsse der Spezies scheinen bei einem höheren Verwandtschaftsgrad (Hybride sind bei diesen Falkenarten möglich) keine größere Rolle zu spielen, sollten aber bei entfernter verwandten Arten unbedingt berücksichtigt werden.

4.3 Praxistauglichkeit und Fazit der untersuchten Diagnostika

Fast in jeder tierärztlichen Praxis befindet sich heutzutage ein Röntgengerät. Die Anfertigung eines Röntgenbildes ist damit leicht machbar und gehört zur Routinediagnostik. Sie bietet schnelle und verlässliche Aussagen, ist nicht invasiv und bedarf nicht zwangsläufig

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

einer Allgemeinanästhesie, was insbesondere bei hochgradig in ihrem Allgemeinbefinden beeinträchtigten Vögeln sehr vorteilhaft ist. Mittlerweile stehen Röntgenatlanten für die Beurteilung von radiologischen Befunden von Vögeln (SAMOUR und NALDO 2007, KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 2009) zur Verfügung, so dass selbst ein ungeübter Praktiker die Möglichkeit hat, sich einzuarbeiten. Auch die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, den Leser für typische Röntgenzeichen, die bei an Aspergillose erkrankten Falken nachzuweisen sind, zu sensibilisieren und neue Erkenntnisse über die Aussagekraft der Radiographie auf diesem Gebiet zu gewinnen.

Die Proteinelektrophorese wird heute bereits von einigen Laboren als Leistung angeboten. Allerdings kann die Interpretation aufgrund der vielfältigen Beeinflussungen durch physiologische Prozesse im Vogelorganismus (z. B. Mauser und Legetätigkeit) (KRISTJANSSON et al. 1963, CLUBB et al. 1991, SPAGNOLO et al. 2006) schwierig sein. Zusätzlich sind auch die für Aspergillose „typischen“ Veränderungen im Elektropherogramm nicht spezifisch für Aspergillose und können beispielsweise auch durch eine Mykobakteriose entstehen (CRAY und TATUM 1998). Es ist darauf zu achten, dass die Referenzwerte, die zur Auswertung der eigenen Proben verwendet werden, mit denselben Methoden und Materialien sowie nach Möglichkeit den von denselben Personen und vom selben Labor erstellt wurden.

Beide Diagnostika bieten sich als sensible Screening-Untersuchungen an, wie in beiden Studien an im Anfangsstadium der Aspergillose befindlichen Falken demonstriert werden konnte. Dennoch sollten beide Untersuchungsmethoden in Kombination mit anderen Diagnostika angewendet werden. Denn auch beim Vorliegen eines Röntgenbildes ohne besonderen Befund, kann eine Aspergillose nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden und die Auswertung eines Elektropherogramms in der Vogelmedizin ist heutzutage noch mit vielen Interpretationsschwierigkeiten behaftet. Für eine engmaschige Therapiekontrolle scheint die Elektrophorese aufgrund ihrer äußerst hohen Sensibilität gut geeignet. Die konventionelle Projektionsradiographie ist nur zur längerfristigen Therapiekontrolle geeignet, da auch ausgeheilte Granulome über Monate radiographisch manifest bleiben (KRAUTWALD-JUNGHANNS et al. 1993, DAHLHAUSEN 2006). Möglicherweise könnten bei Nutzung der digitalen Röntgentechnik auch schon nach kürzeren Abständen das Fehlen von

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

subtileren Röntgenzeichen – als Ausdruck des Abbaus von Entzündungsprodukten – bemerkt werden.

Zusammenfassend kann die Nutzung der digitalen Projektionsradiographie zur Diagnostik von Aspergillose sowohl dem „Kleintierpraktiker“ als auch den auf Vogelmedizin spezialisierten Institutionen wie Vogelkliniken, Zoos oder Rehabilitationszentren empfohlen werden. Die Proteinelektrophorese kann bis zum heutigen Zeitpunkt sicherlich nur bedingt für den Praktiker, wohl aber für spezialisierte Institutionen bei Beachtung aller Besonderheiten als wichtige Zusatzinformation zum Gesundheitszustand empfohlen werden.

Bereits zum heutigen Zeitpunkt spielt die Röntgendiagnostik eine große Rolle in der Vogelmedizin. In letzter Zeit werden immer häufiger analoge Röntgensysteme durch digitale ersetzt. Dabei hat die digitale Röntgentechnik gerade in den letzten Jahren enorme Fortschritte gemacht, so dass von ihr immer bessere Untersuchungsergebnisse zu erwarten sind. Im Bereich der Forschung sind weitere Röntgenstudien bei anderen Vogelarten und durchaus auch anderen Erkrankungen insbesondere des Respirationstrakts wünschenswert, da es – wie in dieser Arbeit gezeigt – doch größere Unterschiede in der Ausprägung von Röntgenzeichen zwischen den einzelnen Vogelordnungen zu geben scheint.

Die Computertomographie ist zwar immer noch relativ teuer, bietet aber insbesondere zur Lungendiagnostik die größte Aussagekraft (KRAUTWALD-JUNGHANNS 2009). Sie wäre vor allem aufgrund der starken Überlagerung der Lunge durch die ausgeprägte Brustmuskulatur bei Greifvögeln von Vorteil. Mit steigenden Ansprüchen der Vogelbesitzer und immer günstiger und verfügbarer werdender Technik, wäre es möglich, dass die Computertomographie die Endoskopie ersetzen wird. Allerdings ist der Forschungsbedarf auf dem Feld der Diagnostik mittels Computertomographie noch sehr groß.

Auf dem Gebiet der Proteinelektrophorese beim Vogel gab es in letzter Zeit einige Entwicklungen, die eine immer genauere Differenzierung von Proteinen ermöglichen (ECKERSALL 2008, ROMAN et al. 2009a), so dass diese Weiterentwicklung der Elektrophorese zu einem besserem Verständnis der Resultate führen wird (CRAY und TATUM 1998, WERNER und REAVILL 1999).

In letzter Zeit scheinen sich zwei Elektrophoresesysteme in den wissenschaftlichen Studien in der Vogelmedizin durchzusetzen: Das Beckmann Paragon System mit SPEP II Gel

4 ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

(Beckmann Coulter GmbH, München, Deutschland) (IVEY 2000, TATUM et al. 2000, CRAY et al. 2007, CRAY et al. 2009a und 2009b) und das Sebia Hydrasis System mit dem. Hydragel Protein 15/30 Set (BLANCO und HOFLE 2003, ORDONNEAU et al. 2005, ROMAN et al. 2005, ROMAN et al. 2009a und 2009b) (Sebia, Paris, Frankreich). Dies lässt hoffen, dass es in Zukunft mehr veröffentlichte vergleichbare Referenzwerte als bislang gibt.

In Bezug auf diese Studie wäre eine Folgestudie sinnvoll, bei der unterschiedliche Grade der Aspergillose mittels Plasmaelektrophorese untersucht werden, um den Verlauf der Präalbuminwerte sowie der β - und der γ -Fraktion besser verstehen zu können.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Susanne Vorbrüggen

Diagnostik der Aspergillose bei Jagdfalken (*Falco* spp.) unter besonderer Berücksichtigung der Projektionsradiographie und der Serumelektrophorese

Klinik für Vögel und Reptilien, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im März 2013

(80 Seiten, 18 Abbildungen, 8 Tabellen, 120 Literaturangaben)

Schlüsselwörter: Falken, Greifvögel, Radiographie, Proteinelektrophorese, Aspergillose

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit zwei Methoden zur Diagnostik der Aspergillose bei Greifvögeln, um neue Erkenntnisse über die Aussagekraft dieser nicht invasiven Diagnostika zu gewinnen. In der ersten Studie wurden bei ausschließlich Aspergillose-positiven Falken (*Falco* spp.) (n = 110) spezifische Röntgenzeichen an digital erstellten Röntgenbildern systematisch ermittelt und mit den typischen Röntgenzeichen von Papageien mit Erkrankungen des unteren Respirationstrakts verglichen. In der zweiten Studie wurden gesunde (n = 73) und an Aspergillose erkrankte (n = 32) Jagdfalken (*Falco* spp.) mittels Serumelektrophorese untersucht, Referenzwerte für die gesunden Falken erstellt und mit den Werten der erkrankten Falken verglichen. In beiden Studien stammten die Tiere aus dem Patientengut derselben Klinik.

Bei der Auswertung von Röntgenbildern Aspergillose-positiver Falken wurden hauptsächlich subtile Röntgenzeichen beschrieben. Von den 110 Tieren waren 29 (26,4 %) radiologisch vollkommen unauffällig. Die am häufigsten beschriebenen Befunde waren inhomogene Verschattungen des Lungenfeldes (38,2 % laterolateral [II]) und strichförmige Verschattungen der kaudalen Lungengrenze (30,0 % II) sowie inhomogene (34,5 % II; 29,1 % ventrodorsal [vd]) und streifige (26,4 % II) Verschattungen der Luftsäcke, aber auch eine schlechte Abgrenzbarkeit des Herzschattens in der laterolateralen Projektion (42,7 %). Im Vergleich zu an Papageien mittels konventioneller Projektionsradiographie durchgeführten

5 ZUSAMMENFASSUNG

Studien war der Anteil an subtilen Röntgenzeichen geringer und der Anteil an massiven Röntgenzeichen größer.

Verglichen mit Referenzwerten diverser Greifvogelspezies aus der Literatur zeigten die Referenzwerte der gesunden Falken dieser Studie unter Verwendung des hochauflösenden Elektrophoresesystems SAS 1 unit (Helena, Saint Leu La Forest, Frankreich) relativ niedrige Gesamtproteinwerte und relativ hohe Präalbuminwerte auf.

Bei den 32 Serumproben der an Aspergillose erkrankten Falken ließ sich im Gegensatz zu den 73 Serumproben der gesunden Falken ein signifikant erniedrigter Totalalbuminwert (Albumin + Präalbumin) sowie ein hoch signifikant erniedrigter Präalbuminwert mittels Serumelektrophorese feststellen.

Obwohl die Falken meist schon in frühen Krankheitsstadien vorgestellt wurden und die Diagnostik in diesen Stadien besonders schwierig ist, konnten mit beiden Untersuchungsmethoden von gesunden Tieren differierende Befunde erhoben werden. Diese in Zusammenhang mit Aspergillose erhobenen Befunde wichen jedoch teilweise deutlich von den in der Literatur beschriebenen „typischen“ Befunden bei an Aspergillose erkrankten Vögeln ab. Dies kann damit erklärt werden, dass die meisten vergleichbaren Studien an als Heimtiere gehaltenen Papageien oder gefangen gehaltenen Zoovögeln (von Falken abweichende Haltungsform, Anatomie und Physiologie sowie Leistungsniveau) und mit unterschiedlicher Technik (digitale versus konventionelle Projektionsradiographie, unterschiedliche Elektrophoresesysteme und Verwendung von Serum anstelle von Plasma) durchgeführt wurden.

Die digitale Projektionsradiographie kann aufgrund ihrer schonenden, einfachen und schnellen Durchführbarkeit sowohl den Vogelmedizin spezialisierten Institutionen als auch den Kleintierpraktikern uneingeschränkt empfohlen werden. Die Proteinelektrophorese kann bis zum heutigen Zeitpunkt nur bedingt für den Praktiker, wohl aber für spezialisierte Institutionen bei Beachtung aller Besonderheiten als zusätzliches Diagnostikum empfohlen werden.

6 SUMMARY

6 SUMMARY

Susanne Vorbrüggen

Diagnosis of aspergillosis in falcons (*Falco* spp.) under giving special consideration to radiography and serum protein electrophoresis

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

Submitted in March 2013

(80 pages, 18 figures, 8 tables, 120 references)

Keywords: falcons, raptors, radiography, protein electrophoresis, aspergillosis

The present study concentrates on two methods for diagnosing birds of prey with aspergillosis with the intent to increase the knowledge of the validity of these non-invasive diagnostic methods. In the first study, specific radiographic signs of digitally created radiographs of falcons (*Falco* spp.) which were exclusively positive for aspergillosis (n = 110) were systematically analyzed and compared to the typical radiographic signs of parrots with diseases of the lower respiratory tract. In the second study, healthy falcons (n = 73) and falcons affected with aspergillosis (n = 32) (*Falco* spp.) were examined by using serum protein electrophoresis in order to create reference values for healthy falcons and compare them with the values of the affected falcons. In both studies, the animals were patients of the same clinic.

While evaluating the radiographs of the falcons with aspergillosis, mainly subtle radiographic signs were described. Radiographically within normal limits were 29 (26.4%) of the 110 animals. The most commonly reported findings were inhomogeneous increased radiodensity of the lung area (38.2% laterolateral [ll]), line-shaped shadowings of the caudal lung border (ll 30.0%) as well as an inhomogeneous (34.5% ll, 29.1% ventrodorsal [vd]) and streaky (26.4% ll) radiodensity of the air sacs, but also a poor delineation of the cardiac silhouette in the laterolateral projection (42.7%). Compared to studies performed on

6 SUMMARY

parrots by conventional radiography, the portion of subtle radiographic signs was lower and the portion of severe signs was higher.

Compared to reference values of various raptor species from the literature, this study, which made use of the high-resolution electrophoresis SAS 1 unit (Helena, Saint Leu La Forest, France), revealed relatively low values for total proteins and relatively high values for prealbumin in the reference values of the healthy falcons.

The 32 serum samples of the falcons suffering from aspergillosis showed a significantly reduced total albumin (albumin + prealbumin) level and a highly significantly reduced prealbumin level compared to the 73 serum samples of healthy falcons.

Although the falcons were for the most part already brought to the clinic in one of the early stages of the disease, when diagnosing aspergillosis is particularly difficult, both examination methods revealed different results for the healthy and diseased animals. However, the findings related to aspergillosis were in some cases significantly different from those described in the literature as the "typical" findings in birds suffering from aspergillosis. This can be explained by the fact that most of the comparable studies were conducted with parrots held as pets or with captive zoo birds (when husbandry, anatomy and physiology, as well as performance level are different from falcons) and with a different technique (digital versus conventional radiography, different electrophoresis systems and the use of serum instead of plasma).

The digital radiography can be fully recommended for specialized medical institutions for avian medicine as well as for small animal practitioners because of its easy, rapid and gentle feasibility. To date, the protein electrophoresis can only be recommended with restrictions for practitioners, however for specialized institutions, it can be useful as additional diagnostic tool if all its specific features are taken into account.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Anonymus. Geschichte der Falknerei. 2012 (zitiert vom 24. Nov. 2012) <<http://d-f-o.de/geschichte-der-falknerei.html>>.

Anonymus. Bundesartenschutzverordnung (BArtSchV) in der Fassung vom 16. Feb. 2005, zuletzt geändert am 21. Jan. 2013. BGBl. I S. 95 (zitiert vom 18. März 2013) <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/bartschv_2005/gesamt.pdf>.

Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia*. 2007;163:191-202.

Arca-Ruibal B, Wernery U, Zachariah R, Bailey TA, Di Somma A, Silvanose C. Assessment of a commercial sandwich ELISA in the diagnosis of aspergillosis in falcons. *Vet Rec*. 2006;158:442-4.

Atasever A, Gümüşsoy KS. Pathological, clinical and mycological findings in experimental aspergillosis infections of starlings. *J Vet Med A*. 2004;51(1):19-22.

Bailey TA. Raptors: respiratory problems. In: Chitty J, Lierz M, Hrsg. *BSAVA Manual of raptors, pigeons and passerine birds*. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association; 2008. p. 223-34.

Barbon AR, Smith S, Forbes N. Radiographic evaluation of cardiac size in four falconiform species. *J Avian Med Surg*. 2010;24(3):222-6.

Baumgartner WA, Sanchez-Migallon Guzman D, Hollibush S, Gaschen L, Hodgins EC, Mitchell MA. Bronchogenic adenocarcinoma in a hyacinth macaw (*Anodorhynchus hyacinthinus*). *J Avian Med Surg*. 2008;22(3):218-25.

Beernaert LA, Pasmans F, Haesebrouck F, Martel A. Modelling *Aspergillus fumigatus* infections in racing pigeons (*Columba livia* f. domestica). *Avian Pathol*. 2008;37(5):545-9.

Bertram C. Retrospektive Analyse von Datensätzen über Erkrankungen und Todesursachen von Greifvögeln in Zoologischen Gärten unter besonderer Berücksichtigung der Haltung [Dissertation med. vet.]. Gießen: Justus Liebig Universität Gießen; 2003.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Blanco JM, Hofle U. Plasma protein electrophoresis as diagnostic and prognostic tool in raptors. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 2003 Aug 26-28; Pittsburgh, Pennsylvania, USA. 2003. p. 256-61.

Bochmann M. Vergleichender Einsatz einer hochauflösenden Film-Folienkombination mit einem digitalen Detektorsystem zur röntgenologischen Untersuchung bei Vögeln und Reptilien [Dissertation med. vet]. Leipzig: Universität Leipzig; 2011.

Buchheidt D, Hummel M. *Aspergillus* polymerase chain reaction (PCR) diagnosis. Med Mycol Suppl I. 2005;43:139-45.

Bund-/Länder-Arbeitsgemeinschaft Naturschutz, Landschaftspflege und Erholung (LANA) 2010. Vollzugshinweise zum Artenschutzrecht. Stand 19.11.2010. (zitiert vom 27. Jan. 2013) <<http://www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/themen/cites/Vollzugshinweise.pdf>>.

Bundesamt für Natur- und Artenschutz (BfN). Datenbank „Vollzug im internationalen Artenschutz“ zum Washingtoner Artenschutzabkommen. 2012 (zitiert vom 09. Dez. 2012) <<http://www.wa-jahresstatistik.de>>.

Burco JD, Ziccardi MH, Clemons KV, Tell LA. Evaluation of plasma (1 → 3) β-D-glucan concentrations in birds naturally and experimentally infected with *Aspergillus fumigatus*. Avian Dis. 2012;56:183-91.

Campbell TW, Ellis CK. Comparative cytology. Cytology of the respiratory tract. In: Campbell TW, Ellis CK, Hrsg. Avian and exotic animal hematology and cytology. Iowa: Blackwell Publishing Professional; 2007a. p. 180-9.

Campbell TW, Ellis CK. Hematology of birds. In: Campbell TW, Ellis CK, Hrsg. Avian and exotic animal hematology and cytology. Iowa: Blackwell Publishing Professional; 2007b. p. 3-50.

Clubb SL, Schubot RM, Joyner K, Zinkl JG, Wolf S, Escobar J, et al. Hematologic and serum biochemical reference intervals in juvenile macaws (*Ara* spp.). J Assoc Avian Vet. 1991;5(3):154-62.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Converse KA. Aspergillosis. In: Thomas NJ, Hunter DB, Atkinson CT, Hrsg. Infectious diseases in wild birds. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2007. p. 360-74.

Cooper JE. Introduction. The history of raptor medicine. In: Cooper JE, Hrsg. Birds of prey. Health and disease. 3. Aufl. Oxford: Blackwell Science Ltd; 2002. p. 1-8.

Cray C, Harris D. Plasma protein electrophoresis: principles and diagnosis of infectious disease. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 1995 Aug 29-Sep 2; Philadelphia, USA. 1995. p. 55-9.

Cray C, Zielezienski-Roberts K. Application of *Aspergillus* antigen assay in the diagnosis of aspergillosis. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 1997 Sep 10-12; Reno, Nevada, USA. 1997. p. 219-21.

Cray C, Tatum LM. Applications of protein electrophoresis in avian diagnostics. J Avian Med Surg. 1998;12(1):4-10.

Cray C, Rodriguez M, Zaias J. Protein electrophoresis of psittacine plasma. Vet Clin Pathol. 2007;36(1):64-72.

Cray C, Reavill D, Romagnano A, Van Sant F, Champagne D, Stevenson R, et al. Galactomannan assay and plasma protein electrophoresis findings in psittacine birds with aspergillosis. J Avian Med Surg. 2009a;23(2):125-35.

Cray C, Watson T, Rodriguez M, Arheart KL. Application of galactomannan analysis and protein electrophoresis in the diagnosis of aspergillosis in avian species. J Zoo Wildlife Med. 2009b;40(1):64-70.

Cray C, Watson T, Arheart KL. Serosurvey and diagnostic application of antibody titers to *Aspergillus* in avian species. Avian Dis. 2009c;53:491-4.

Cray C, King E, Rodriguez M, Decker LS, Arheart KL. Differences in protein fractions of avian plasma among three commercial electrophoresis systems. J Avian Med Surg. 2011;25(2):102-10.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Dahlhausen RD. Implications of mycoses in clinical disorders. In: Harrison GJ, Lightfoot TL, Hrsg. Clinical avian medicine. Palm Beach: Spix Publishing; 2006. p. 691-704.

Deem SL. Fungal diseases of birds of prey. Vet Clin North Am Exotic Anim Pract. 2003;6(2):363-76.

Di Somma A, Bailey T, Silvanose C, Garcia-Martinez C. The use of voriconazole for the treatment of aspergillosis in falcons. J Avian Med Surg. 2007;21(4):307-16.

Eckersall PD. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, Hrsg. Clinical biochemistry of domestic animals. 6. Aufl. San Diego: Academic Press Elsevier; 2008:117-55.

Femenia F, Fontaine JJ, Lair-Fulleringer S, Berkova N, Huet D, Towanou N, et al. Clinical, mycological and pathological findings in turkeys experimentally infected by *Aspergillus fumigatus*. Avian Pathol. 2007;36(3):213-9.

Forbes NA. Aspergillosis in raptors. Vet Rec. 1991;128(11):263.

França M, Cray C, Shivaprasad HL. Serologic testing for aspergillosis in commercial broiler chickens and turkeys. Avian Dis. 2012;56:160-4.

Fuchs A, Hochleithner M, Kuttin ES. Endomykosen bei Vögeln – klinische und pathomorphologische Aspekte. Wien Tierärztl Mschr. 1991;78:269-76.

Garcia-Montijano M, Garcia A, Lemus JA, Montesinos A, Canales R, Luaces I, et al. Blood chemistry, protein electrophoresis, and hematologic values of captive spanish imperial eagles (*Aquila adalberti*). J Zoo Wildlife Med. 2002;33(2):112-7.

Génbsbøl B, Thiede W, Hrsg. Greifvögel - Alle europäischen Arten, Bestimmungsmerkmale, Flugbilder, Biologie, Verbreitung, Gefährdung, Bestandsentwicklung. 3. Aufl. München: BLV Verlagsgesellschaft mbH; 1997.

Geringer J. Todesursachen bei Zier- und Wildvögeln. Kleintierpraxis. 1973;18:238-42.

7 LITERATURVERZEICHNIS

German AC, Shankland GS, Edwards J, Flach EJ. Development of an indirect ELISA for the detection of serum antibodies to *Aspergillus fumigatus* in captive penguins. Vet Rec. 2002;150:513-8.

Graczyk TK, Cockrem JF. *Aspergillus* spp. seropositivity in new zealand penguins. Mycopathologia. 1995;131:179-84.

Graczyk TK, Cranfield MR, Klein PN. Value of antigen and antibody detection and blood evaluation parameters in diagnosis of avian invasive aspergillosis. Mycopathologia. 1998;140:121-7.

Gumpenberger M, Henninger W. The use of computed tomography in avian and reptile medicine. Sem Avian Exotic Pet Med. 2001;10(4):174-80.

Gümüşoğlu KS, Uyanik F, Atasever A, Cam A. Experimental *Aspergillus fumigatus* infection in quails and results of treatment with itraconazole. J Vet Med B. 2004;51(1):34-8.

Harr KE. Clinical chemistry of companion avian species: a review. Vet Clin Pathol. 2002;31(3):140-51.

Hatt JM, Ohlert S. Bildgebende Diagnostik an den unteren Atemwegen beim Vogel. Prakt Tierarzt. 2012;93:1078-86.

Heidenreich M. Aspergillose. In: Heidenreich M, Hrsg. Greifvögel: Krankheiten, Haltung, Zucht. Berlin: Blackwell Wissenschaftlicher Verlag; 1996a. p. 125-8.

Heidenreich M. Artbestimmung. Hybriden. In: Heidenreich M, Hrsg. Greifvögel: Krankheiten, Haltung, Zucht. Berlin: Blackwell Wissenschaftlicher Verlag; 1996b. p. 245-57.

Hochleithner M. Endoscopy. In: Altmann R, Clubb S, Dorrestein G, Quesenberry K, Hrsg. Avian medicine and surgery. Philadelphia: WB Saunders Company; 1997. p. 800-7.

Hrubec TC, Whichard JM, Larsen CT, Pierson FW. Plasma versus serum: specific differences in biochemical analyte values. J Avian Med Surg. 2002;16(2):101-5.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Ivey, ES. Serologic and plasma protein electrophoretic findings in 7 psittacine birds with aspergillosis. *J Avian Med Surg.* 2000;14(2):103-6.

Jones MP, Orosz SE. The diagnosis of aspergillosis in birds. *Sem Avian Exotic Pet Med.* 2000;9(2):52-8.

Joseph V. Aspergillosis in raptors. *Sem Avian Exotic Pet Med.* 2000;9(2):66-74.

Kaleta EF, Drüner K. Hepatosplenitis infectiosa strigum und andere Krankheiten der Greifvögel und Eulen. *Fortschritte der Veterinärmedizin.* 1976;25:173-80.

Kinne J, Wernery U. Amyloidosis – an emerging disease in hunting falcons in the middle east. *Falco.* 2006;27:12-5.

Korbel R, Bauer J, Gedek B. Pathologisch-anatomische und mykotoxikologische Untersuchungen zur Aspergillose bei Vögeln. *Tierärztl Praxis.* 1993;21:134-9.

Krautwald-Junghanns ME, Schumacher F, Tellhelm B. Evaluation of the lower respiratory tract in psittacines using radiology and computed tomography. *Vet Radiol Ultrasound.* 1993;34:382-90.

Krautwald-Junghanns ME. Computertomographie des aviären Respirationstraktes [Habilschr. med. vet]. Gießen: Justus Liebig Universität Gießen; 1997.

Krautwald-Junghanns ME, Kostka VM, Dörsch B. Comparative studies on the diagnostic value of conventional radiography and computed tomography in evaluating the heads of psittacine and raptorial birds. *J Avian Med Surg.* 1998a;12(3):149-57.

Krautwald-Junghanns ME, Valierius KP, Duncker HR, Sohn HG. CT-assisted versus silicone rubber cast morphometry of the lower respiratory tract in healthy amazons (genus *Amazona*) and grey parrots (genus *Psittacus*). *Res Vet Sci.* 1998b;65:17-22.

Krautwald-Junghanns ME, Schroff S, Bartels T. Lagerung und Ebenen. In: Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Reese S, Tully T, Hrsg. Atlas der bildgebenden Diagnostik bei Heimtieren. Vögel, Kleinsäuger, Reptilien. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2009. p. 3-13.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Krautwald-Junghanns ME. Respirationstrakt. In: Krautwald-Junghanns ME, Pees M, Reese S, Tully T, Hrsg. Atlas der bildgebenden Diagnostik bei Heimtieren. Vögel, Kleinsäuger, Reptilien. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2009. p. 92-103.

Krautwald-Junghanns ME. Mykosen des Respirationstrakts. In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns ME, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. Papageien, Tauben, Sperlingsvögel. 4. Aufl. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2011. p. 231-4.

Kristjansson FK, Taneja GC, Gower RS. Variations in serum proteins of the hen during egg formation. *Brit Poult Sci.* 1963;4(3):239-41.

Kummerfeld N, Temme DK. Klinik und Therapie der Aspergillose des Atemtraktes bei Zier- und Zoovögeln. *Prakt Tierarzt Collegium Veterinarium XV.* 1984;12-6.

Le Loch G, Deville M, Risi E, Bretagne S, Guillot J. Evaluation of the serological test Platelia® *Aspergillus* for the diagnosis of aspergillosis. Proceedings of the 8th European Conference of the Association of Avian Veterinarians and the 6th Scientific Meeting of the European College of Avian Medicine and Surgery; 2005 Apr 24-30; Arles, France. 2005. p. 260-6.

Lindner K. Geschichte der Falknerei. In: Brüll H, Trommer G, Hrsg. Die Beizjagd. Der Leitfaden für Falknerprüfung und Praxis. 6. Aufl. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co.KG; 2007. p. 11-5.

Loupal G. Zur Pathomorphologie von Endomykosen bei Psittaziden. *Zbl Vet Med B.* 1994;31:115-30.

Lumeij JT, Bruinje JJ, Kwant MM. Comparison of different methods of measuring protein and albumin in pigeon sera. *Avian Pathol.* 1990;19(2):255-61.

Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, Hrsg. Clinical biochemistry of domestic animals. 6. Aufl. San Diego: Academic Press Elsevier; 2008. p. 839-72.

Mackey EB, Hernandez-Divers SJ, Holland M, Frank P. Clinical technique: application of computed tomography in zoological medicine. *J Exotic Pet Med.* 2008;17(3):198-209.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Malka S, Hawkins MG, Jones JH, Pascoe PJ, Kass PH, Wisner ER. Effect of body position on respiratory system volumes in anesthetized red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*) as measured via computed tomography. *Am J Vet Res.* 2009;70(9):1155-60.

Marshall K, Daniel G, Patton C, Greenacre C. Humeral air sac mucinous adenocarcinoma in a salmon-crested cockatoo (*Cacatua moluccensis*). *J Avian Med Surg.* 2004;18(3):167-74.

Mc Millan MC, Petrak ML. Retrospective study of aspergillosis in pet birds. *J Assoc Avian Vet.* 1989;3(4):211-5.

Mebis T, Schmidt D, Hrsg. Die Greifvögel Europas, Nordafrikas und Vorderasiens. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags GmbH & Co. KG; 2006.

Mitchell EB, Johns J. Avian hematology and related disorders. *Vet Clin North Am Exotic Anim Pract.* 2008;11:501-22.

Naldo JL, Samour JH. Causes of mortality in falcons in Saudi Arabia. *J Avian Med Surg.* 2004a;18:229-41.

Naldo JL, Samour JH. Radiographic findings in captive falcons in Saudi Arabia. *J Avian Med Surg.* 2004b;18(4):242-56.

Newell, SM, Roberts GD, Bennet RA. Imaging techniques for avian lower respiratory diseases. *Sem Avian Exotic Pet Med.* 1997;6(4):180-6.

Ordonneau D, Roman Y, Chaste-Duvernoy D, Bomsel MC. Plasma electrophoresis reference ranges in various bird species. Proceedings of the 8th European Conference of the Association of Avian Veterinarians and the 6th Scientific Meeting of the European College of Avian Medicine and Surgery. 2005 Apr 24-30; Arles, France. 2005. p. 283-9.

Orosz SE, Toal RL. Tomographic anatomy of the golden eagle (*Aquila chrysaetos*). *J Zoo Wildlife Med.* 1992;23(1):39-46.

Parga ML, Pendl H, Forbes NA. The effect of transport on hematologic parameters in trained and untrained harris's hawks (*Parabuteo unicinctus*) and peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *J Avian Med Surg.* 2001;15(3):162-9.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Peden WM, Rhoades KR. Pathogenicity differences of multiple isolates of *Aspergillus*. Avian Dis. 1992;36:537-42.

Pepperberg IM, Howell KS, Banta PA, Patterson AK, Meister M. Measurement of grey parrot (*Psittacus erithacus*) trachea via magnetic resonance imaging, dissection, and electron beam computed tomography. J Morphol. 1998;238:81-91.

Petnehazy O, Benczik J, Takacs I, Petrasi Z, Sütö Z, Horn P, et al. Computed tomographical (CT) anatomy of the thoracoabdominal cavity of the male turkey (*Meleagris gallopavo*). Anat Histol Embryol. 2012;41:12-20.

Phalen DN. The use of serologic assays in avian medicine. Sem Avian Exotic Pet Med. 2001;10(2):77-89.

Pye GW, Bennett RA, Newell SM, Kindred J, Johns R. Magnetic resonance imaging in psittacine birds with chronic sinusitis. J Avian Med Surg. 2000;14(4):243-56.

Quesenberry K, Moroff S. Plasma electrophoresis in psittacine birds. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 1991 Sep 23-28; Chicago, Illinois, USA. 1991. p. 112-7.

Rahim MA, Bakhiet AO, Hussein MF. Aspergillosis in a gyrfalcon (*Falco rusticolus*) in Saudi Arabia. Comp Clin Pathol. 2013;22(1):131-5.

Redig PT, Fuller MR, Evans DL. Prevalence of *Aspergillus fumigatus* in free-living goshawks (*Accipiter gentilis atricapillus*). J Wildlife Dis. 1980;16(2):169-74.

Redig PT. Aspergillosis in raptors. In: Cooper JE, Greenwood AG, Hrsg. Recent advances in the study of raptor diseases. Proceedings of the International Symposium on Diseases of Birds of Prey; 1980 Jul 1-3; London, England. Keighley: Chiron Publications Ltd; 1981. p. 117-22.

Redig PT, Orosz S, Cray C. The ELISA as a management guide for aspergillosis in raptors. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 1997 Sep 10-12; Reno, Nevada, USA. 1997. p. 99-104.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Redig PT. Fungal diseases. Aspergillosis. In: Samour J, Hrsg. Avian Medicine. 2. Aufl. Edinburgh: Elsevier Mosby; 2008. p. 373-87.

Reidarson TH, Mc Bain J. Serum protein electrophoresis and *Aspergillus* antibody titers as an aid to diagnosis of aspergillosis in penguins. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians; 1995 Aug 29-Sep 2; Philadelphia, USA. 1995. p. 61-4.

Remple D, Gross C, Hrsg. Falconry and birds of prey in the gulf. 3. Aufl. Abu Dhabi: Motivate Publishing; 2007.

Richard JL, Cutlip RC, Thurston JR, Songer J. Response of turkey poults to aerosolized spores of *Aspergillus fumigatus* and aflatoxigenic and nonaflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. Avian Dis. 1980;25(1):53-67.

Richard JL, Peden WM, Williams PP. Gliotoxin inhibits transformation and is cytotoxic to turkey peripheral blood lymphocytes. Mycopathologia. 1994;126:109-14.

Richard JL, Thurston JR, Peden WM, Pinello C. Recent studies on aspergillosis in turkey poults. Mycopathologia. 1984;87:3-11.

Roman Y, Ordonneau D, Chaste-Duvernoy D. Early detection of an acute inflammatory condition by plasma protein electrophoresis and haematology in peafowls. Proceedings of the 8th European Conference of the Association of Avian Veterinarians and the 6th Scientific Meeting of the European College of Avian Medicine and Surgery. 2005 Apr 24-30; Arles, France. 2005. p. 290-7.

Roman Y, Bed'Hom B, Guillot A, Levrier J, Chaste-Duvernoy D, Bomsel-Demontoy MC, et al. Identification of apolipoprotein A-I in the α -globulin fraction of avian plasma. Vet Clin Pathol. 2009a;38(2):206-12.

Roman Y, Levrier J, Ordonneau D, Chaste-Duvernoy D, Bomsel-Demontoy MC, Saint Jalme M. Location of the fibrinogen and albumin fractions in plasma protein electrophoresis agarose gels of five taxonomically distinct bird species. Revue Méd Vét. 2009b;160(3):160-5.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Rübel A. Röntgenuntersuchungen bei inneren Erkrankungen von großen Psittaziden. Aufnahmetechnik, Röntgenanatomie, Röntgenbefunde [Dissertation med. vet]. Zürich: Universität Zürich; 1985.

Rüschendorf A. Schimmelpilze. In: Rüschendorf A, Hrsg. Medizinische Mykologie. Bestimmung und Differenzierung von Sprosspilzen, Schimmelpilzen, Dermatophyten und dimorphen Pilzen. Berlin: Lehmanns Media; 2008. p. 65-93.

Samour J, Naldo J, Hrsg. Anatomical and clinical radiology of birds of prey. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.

Schoemaker NJ, Dorrestein GM, Latimer KS, Lumeij JT, Kik MJ, Van der Hage MH, et al. Severe leukopenia and liver necrosis in young african grey parrots (*Psittacus erithacus erithacus*) infected with psittacine circovirus. Avian Dis. 2000;44(2):470-8.

Schröder HD. Diseases of birds of prey with special reference to infectious diseases. In: Cooper JE, Greenwood AG, Hrsg. Recent advances in the study of raptor diseases. Proceedings of the International Symposium on Diseases of Birds of Prey; 1980 Jul 1-3, London, England. Keighley: Chiron Publications Ltd; 1981. p. 37-9.

Scope A. Untersuchungen des Blutes. In: Kaleta EF, Krautwald-Junghanns ME, Hrsg. Kompendium der Ziervogelkrankheiten. Papageien, Tauben, Sperlingsvögel. 4. Aufl. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft; 2011. p. 71-8.

Smith SA, Smith BJ. Normal xerographic and radiographic anatomy of the red tailed hawk (*Buteo jamaicensis*), with reference to other diurnal raptors. Vet Radiol. 1990;31(6):301-12.

Smith SA, Smith BJ. Normal xerographic and radiographic anatomy of the great horned owl (*Bubo virginianus*), with special reference to the barn owl (*Tyto alba*). Vet Radiol. 1991;32(1):6-16.

Spagnolo V, Crippa V, Marzia A, Sartorelli P. Reference intervals for hematologic and biochemical constituents and protein electrophoretic fractions in captive common buzzards (*Buteo buteo*). Vet Clin Pathol. 2006;35(1):82-7.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Täschner M. Endogen gebildete Mykotoxine als Pathogenitätsfaktoren bei Aspergillosen verschiedener Vogelspezies [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1999.

Tatum LM, Zaias J, Mealey BK, Cray C, Bossart GD. Protein electrophoresis as a diagnostic and prognostic tool in raptor medicine. *J Zoo Wildlife Med.* 2000;31(4):497-502.

Taylor M. Endoscopic diagnosis of avian respiratory tract diseases. *Sem Avian Exotic Pet Med.* 1997;6(4):187-94.

Thomas JS. Protein electrophoresis. In: Feldmann BF, Zinkl JG, Jain NC, Hrsg. *Schalm's veterinary haematology*. 5. Aufl. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 899-903.

Tully TN. Avian respiratory diseases: clinical overview. *J Avian Med Surg.* 1995;9(3):162-74.

Van Waeyenberghe L, Fischer D, Coenye T, Ducatelle R, Haesebrouk F, Pasmans F, et al. Susceptibility of adult pigeons and hybrid falcons to experimental aspergillosis. *Avian Pathol.* 2012a;41(6):563-7.

Van Waeyenberghe L, Pasmans F, D'Herde K, Ducatelle R, Favoreel H, Li SJ, et al. Germination of *Aspergillus fumigatus* inside avian respiratory macrophages is associated with cytotoxicity. *Vet Research.* 2012b;43(32):1-5.

Werner LL, Reavill DR. The diagnostic utility of serum protein electrophoresis. *Vet Clin North Am Exotic Anim Pract.* 1999;2(3):651-62.

Werther K. Bewertung der Radiographie zur Diagnose der Lungen-Luftsack-Mykose bei Psittaciformes [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1993.

.

8 DANKSAGUNG

8 DANKSAGUNG

Mein erster Dank gilt Frau Professor Krautwald-Junghanns für die Überlassung dieses interessanten Themas, die ausgezeichnete Betreuung und die stetige Unterstützung dieser Arbeit.

Darüber hinaus möchte ich mich dafür bedanken, dass ich während meiner Zeit als Doktorandin in der Klinik für Vögel und Reptilien arbeiten durfte.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Thomas. A. Bailey und Frau Dr. Maya Kummrow für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Erstellung der hier präsentierten Artikel.

Allen meinen Kollegen, Freunden und meiner Familie danke ich für die immerwährende seelisch-moralische Unterstützung und anregende Diskussionen.

Nicht zuletzt gilt mein größter Dank meinen Eltern, die mir das Studium und den Beginn meiner Doktorarbeit überhaupt erst ermöglichten und mir immer Rückhalt und Unterstützung gaben.

