

Angepasste Fütterung für gesunde Leistung – A"fee"(d) for health in turkeys

Konzeptionelle Untersuchungen zu Fütterungsstrategien in der Putenmast zum Erhalt der Tiergesundheit bei unvermeidlichen, infektiionsbedingten Entgleisungen der Lebergesundheit trotz hervorragender Haltungsbedingungen

Abschlussbericht

L. MIDDENDORF, J. B. LINGENS U. C. F. VISSCHER

Inhaltsverzeichnis

1. Hintergrund und Zielsetzung	2
2. Zeitplan und Ablauf	3
3. Durchführung und Ergebnisse	4
3.1 Aufarbeitung von vorhandenen Proben (Teil1)	4
3.1.1 Ergebnisse des ersten Teils.....	4
3.1.2 Rohfett-, Rohprotein- und Aminosäure-Gehalte in den Lebern	5
3.1.3 Spurenelement- und Vitamin-Gehalte in den Lebern	5
3.2 Verlaufsuntersuchung während der Erkrankungsphase auf verschiedenen Betrieben (Teil 2)....	6
* Potentielle Methioninhydroxyanalog-Gehalte im Futter sind nicht angegeben.....	6
3.2.1 Rohfett-, Rohprotein- und Aminosäure-Gehalte in den Lebern	6
3.2.2 Freie Aminosäure-Gehalte im Blut	8
3.2.3 Spurenelement- und Vitamin-Gehalte in den Lebern	9
3.2.4 Akute Phase Proteine	9
3.3 Überprüfung diätetischer Einflüsse auf die hepatische Lipidose im Rahmen eines Modellversuchs (Teil 3)	10
3.3.1 Versuchsaufbau	10
3.3.2 Ergebnisse.....	11
3.3.2.1 Parameter im Lebergewebe der verschiedenen Versuchsgruppen	11
3.3.2.2 Freie Aminosäure im Blut	13
4. Diskussion der Ergebnisse und Nutzen	14
5. Literatur	17
6. Anhang.....	20
6.1 Veröffentlichte und eingereichte Fachpublikationen	20
6.2 Fachbeiträge auf Fachkonferenzen	20

1. Hintergrund und Zielsetzung

Die Management-, Haltungs- und Fütterungsbedingungen in der Putenmast sind in den letzten Jahren durch professionelle Strukturen in der Geflügelhaltung zum Wohle der Tiergesundheit immer weiter verbessert worden. Dies führt zu einem verbesserten Gesundheitsstatus der Herden und spiegelt sich mitunter in einer verbesserten Leistung in den Mastdurchgängen wider (FERKET 2001; HAVENSTEIN et al. 2004). Trotzdem gibt es nach wie vor Erkrankungen, die Putenbetriebe trotz guter Haltung betreffen und besonders aus Sicht des Tierschutzes aufgrund hoher Mortalitätsraten von bis zu 15 % ein Problem darstellen können (POPP et al. 2014). Die Hepatische Lipidose der Mastpute (hpts. weibliche Tiere betroffen) ist ein derartiges Problem. Diese Erkrankung wird charakterisiert durch eine exzessive Akkumulation von Lipiden in den Hepatozyten (AZIZ 2009). Triglyceride sind dabei die wichtigsten Fettverbindungen, die zu nennen sind (AZIZ 2009). Klinisch ist das Problem schon seit langem bekannt (Legehennen, Puten etc.; GAZDZINSKI et al. 1994). Auch in Deutschland wird in den letzten Jahren immer wieder von Fällen bei Puten berichtet, einige sind in der Literatur dokumentiert (POPP et al. 2014). Die Erkrankung tritt nur in der Mittel- bis Endmast auf. Bei Krankheitsausbruch wirken die Herden meist hyperaktiv und nervös, klinisch auffällige Tiere zeigen Dyspnoe und Zyanosen und sind fast immer unfähig zu laufen. Bei der pathologischen Untersuchung fallen vor allem die geschwollen Lebern mit multifokalen Einblutungen und weißlich/gelblichen Bereichen auf. Es wird eine Vielzahl von Ursachen diskutiert (infektiös und nicht-infektiös), wobei letztendlich bisher nicht ätiologisch geklärt werden konnte, welche Faktoren zusammen kommen müssen, damit das Phänomen „Hepatische Lipidose“ auftritt bzw. vielmehr, was konkret vermieden werden muss, um eine Lipidose der Leber bei einzelnen Tieren in betroffenen Beständen zu verhindern. Lange Zeit fehlten Konzepte, da die Ursachen bzw. Auslöser für die Erkrankung nicht geklärt sind. Es ist als relativ sicher anzusehen, dass die Tiere an einer massiven Veränderung des Leberstoffwechsels leiden, wenn man die Ergebnisse weiterführender Untersuchungen betrachtet (VISSCHER et al. 2015) und folglich daran verenden.

Hohe Energieaufnahmen bei gleichzeitig niedrigen Gehalten an lipotropen Faktoren wie u.a. Methionin und Cystein im Futter können zu einer Fettleber führen (POPP et al. 2014) bzw. zu einer Akkumulation von Fettsäuren in der Leber (HAZEL 2009), so die gängigen Hypothesen. Um diese mögliche Prädisposition des Futters näher zu untersuchen, kann im Modell untersucht werden, ob sich bestimmte Kennzahlen, die Hinweise auf einen intakten Leberstoffwechsel geben, bei angepasster Futterzusammensetzung (gegenüber dem üblichen Standard), besser darstellen. Die Prävention des Auftretens der hepatischen Lipidose bei der Mastpute mit höheren Vitamin E Gehalten im Alleinfutter ist eine heute mehr oder weniger erfolgreiche im Feld praktizierte Strategie. Von dem erfolgreichen Einsatz von hoch dosierten Vitamin E Gaben wurde mehrfach berichtet (GAZDZINSKI et al. 1994; POPP et al. 2014). In Beständen, die in vorhergehenden Mastdurchgängen von einem Auftreten der hepatischen Lipidose betroffen waren, wird dieses Konzept in der Praxis mitunter angewandt. Der systematisch erarbeitete Beweis, dass von höheren Vitamin E Gaben ein Effekt ausgeht, fehlt allerdings noch.

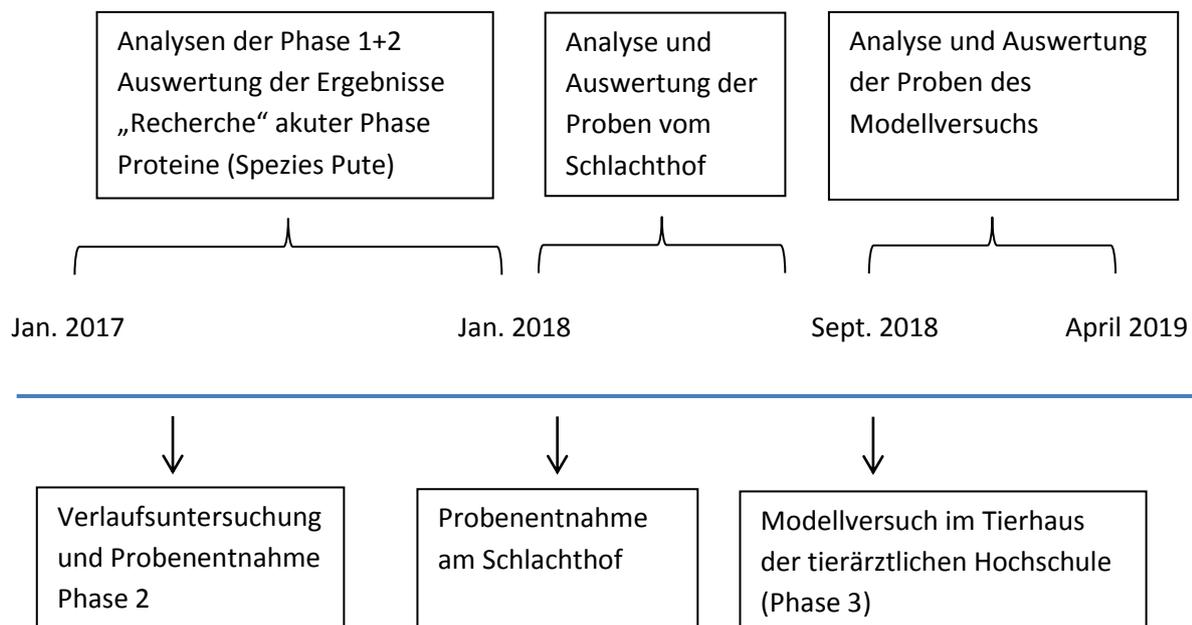
Der Krankheitskomplex "Fettleber bzw. hepatische Lipidose" ist bei anderen Tierarten wie beispielsweise Kleinpferden oder Milchkühen sehr gut bekannt und erforscht, allerdings stellt sich der Verlauf der Erkrankung bei diesen Tierarten anders dar als bei der Pute. Es ist anzunehmen, dass bei der Pute bestimmte Stoffwechselforgänge anders verlaufen. Eine mögliche Insulinresistenz wird im Zusammenhang mit der Entwicklung einer Fettleber immer wieder diskutiert (HEBBARD u. GEORGE

2011). Um verstehen zu können, was bei der Spezies Pute anders ist im Vergleich zu anderen Tierarten, ist es notwendig den Glucose- und Fettstoffwechsel der Tiere näher zu untersuchen. Zu diesem Zweck ist eine Untersuchung entsprechender Parameter im Blut notwendig.

Durch analytische Arbeiten an bereits vorhandenen Proben (Teil 1 – Cases punktuell) und neu zu generierenden Proben (Teil 2 – Cases longitudinal) sollten im Rahmen des Projektes weitere Hinweise auf die Genese der Erkrankung gefunden werden. Auf diese Basis aufbauend, war es Ziel, ein Fütterungskonzept für die Praxis zu entwickeln und zu testen (Teil 3 – Interventionsstudie; siehe zu Anpassungen im Versuchsdesign Punkt 2 und Punkt 3.3). Ziel war und ist es, die durch die hepatische Lipidose bedingten Tierverluste zu minimieren. Auf diesem Wege soll verhindert werden, dass bei optimalen Haltungsbedingungen und sehr guter Leistung, keine oder kaum noch oben beschriebene Krankheitsverläufe auftreten. Im Folgenden werden die relevanten erzielten Ergebnisse dargestellt. Bei Bedarf können Rohdaten im Institut für Tierernährung der tierärztlichen Hochschule Hannover erfragt werden.

2. Zeitplan und Ablauf

Die vorliegende Studie setzt sich aus drei Teilen bzw. Phasen zusammen. In Teil 1 wurden etwa 100 Leberproben aus einer vorausgegangenen Studie (VISSCHER et al. 2017) aufgearbeitet, die mehr als 20 Case- und Kontrollfälle enthält. Die im Rahmen der Studie untersuchten zusätzlichen Parameter waren Aminosäuren-, Vitamin- und Spurenelement-Gehalte in den Lebern. Der zweite Teil bestand aus Verlaufsuntersuchungen während einer typischen Erkrankungsphase auf drei verschiedenen Betrieben, d.h. entgegen den Beschreibungen in der Skizze zum Projekt konnte noch ein dritter Betrieb mit in die Untersuchungen aufgenommen werden. Sowohl klinisch auffällige, als auch klinisch unauffällige Tiere wurden untersucht. Zudem wurden vergleichende Untersuchungen an Tieren eines nicht betroffenen Bestandes vorgenommen. Neben den bereits aus Teil 1 bekannten Parametern wurden auch Transferrin und Ferritin im Blut analysiert (Akute-Phase-Proteine). Für den dritten Teil war ursprünglich eine Interventionsstudie vorgesehen, die im Feld auf mindestens drei Kontroll- und Versuchsbetrieben/-ställen stattfinden sollte. Trotz intensiver Suche und Vor-Ort-Gesprächen mit Tierärztinnen und Tierärzten in den relevanten Geflügelpraxen, konnten keine passenden Betriebe gefunden werden. In Rücksprache mit dem Fördergeber wurde für die Phase 3 ein Modellversuch durchgeführt. Prädisponierende Faktoren der Fütterung bzw. auch eine mögliche Prävention durch diätetische Maßnahmen in Hinblick auf die Hepatische Lipidose bei der Mastpute wurden untersucht. Für diesen Zweck wurde ein Futter mit einem relativ geringen Proteingehalt bei hohen Energiegehalten (analog dem Vorziehen von Futterphasen) im Hinblick auf die Faktoren Methionin-Gehalt und Vitamin E-Gehalt im Futter als Variablen geprüft. Letzterer Faktor war von besonderem Interesse, weil in der Praxis gehäuft von einer erfolgreichen Therapie und Prävention bei zusätzlicher Gabe von Vitamin E berichtet wird. Ergänzend zu den Tieren im Modellversuch wurden ebenfalls Tiere aus dem Herkunftsbestand weitergemästet und zeitgleich mit Ende des Modellversuches untersucht. Diese Gruppe diente als Referenz, um eine Einschätzung zu bekommen, wie sich das „Vorziehen“ der Fütterungsphasen und die Haltung im Modell insgesamt auf die Leberparameter auswirkt.



3. Durchführung und Ergebnisse

3.1 Aufarbeitung von vorhandenen Proben (Teil1)

Von Januar 2015 bis April 2016 wurden insgesamt 85 Proben (Lebern) aus 20 von hepatischer Lipidose betroffenen Herden im Rahmen einer voraus gegangenen Studie gesammelt (VISSCHER et al. 2017). Zum Vergleich wurden weitere Proben von 16 gesunden Schlachttieren aus zwei nicht betroffenen Beständen gesammelt. Alle Tiere waren von der Genetik B.U.T. Big 6. Von den 20 untersuchten Herden waren 18 weiblich. Zusätzlich wurden Futterproben entnommen und analysiert. Die Probenentnahme erfolgte in Kooperation mit verschiedenen bestandbetreuenden Geflügelpraktikern. Neben den bereits analysierten Parametern Rohfett-, Fettsäuren und Eisengehalten in den Lebern, wurden im Zuge der vorliegenden Studie Rohprotein, Methionin, Cystein, Vitamin A und E, Kupfer, Mangan und Zink in den Lebern analysiert. Dies war notwendig, um das anvisierte Fütterungskonzept weiter zu entwickeln.

3.1.1 Ergebnisse des ersten Teils

Auf allen Betrieben war die Erkrankung hepatische Lipidose bekannt und war in vorangegangenen Mastphasen bereits aufgetreten. Vor dem Krankheitsausbruch waren die Herden unauffällig und zeigten eine übliche Mastleistung. Die Analyse der Futterproben ergab eine gewöhnliche Zusammensetzung (Tabelle 1).

Tabelle 1: Zusammensetzung der Futterproben (N=8, 88 % Trockensubstanz) aus Teil 1

Parameter	g/kg Futter	Parameter	g/kg Futter
ME [MJ/kg Futter]	12.4 ±0.15	Cystein	2.94 ±0.35
Rohasche	45.8 ±7.58	Lysin	11.4 ±0.95
Rohfett	64.0 ±7.10	DL-Methionin*	3.39 ±1.16
Rohfaser	29.1 ±3.65	Eisen [mg/kg Futter]	226 ±42.9
Rohprotein	177 ±15.0	Kupfer [mg/kg Futter]	24.0 ±17.0
Stärke	414 ±15.6	Zink [mg/kg Futter]	112 ±18.4
Zucker	37.9 ±4.36	Mangan [mg/kg Futter]	117 ±25.4

* Potentielle Methioninhydroxyanalog-Gehalte im Futter sind nicht angegeben

3.1.2 Rohfett-, Rohprotein- und Aminosäure-Gehalte in den Lebern

Die Rohfett-Gehalte im Lebergewebe auffälliger Tiere haben die Diagnose hepatische Lipidose bestätigt und zeigten, dass in den Lebern dieser Puten durchschnittlich doppelt so viel Fett eingelagert war, der Rohprotein-Gehalt dagegen deutlich niedriger war (Tabelle 2). Auch die Gehalte von Methionin und Cystein, wie auch der Anteil von Methionin am Rohprotein in den Lebern der betroffenen Tiere waren niedriger.

Tabelle 2: Rohfett-, Rohprotein- und Aminosäuregehalte in den Lebern

Parameter	g/kg Leber TS*		Parameter	g/kg Leber TS*	
	Kontrolle	Fall		Kontrolle	Fall
Rohprotein	788 ^a ±18.4	599 ^b ±89.6	Rohfett	124 ^b ±36.6	345 ^a ±103
Methionin	15.9 ^a ±1.85	8.61 ^b ±2.12	% Methionin in fettfreier TS*	2.05 ^a ±0.17	1.57 ^b ±0.23
Cystein	13.9 ^a ±3.29	7.99 ^b ±2.30	Met/Rp (%)	2.03 ^a	1.48 ^b

*TS= Trockensubstanz

3.1.3 Spurenelement- und Vitamin-Gehalte in den Lebern

Bezüglich der Spurenelement- und Vitamin-Gehalte im Lebergewebe gab es ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und den Fällen. Sowohl die Zink-, als auch die Mangan-Gehalte waren niedriger bei den Tieren mit hepatischer Lipidose, die Kupfer-Gehalte unterschieden sich dagegen nicht. Besonders auffällig waren die Eisen-Gehalte, die bei den betroffenen Tieren mehr als dreimal so hoch waren. Die Spurenelement-Gehalte werden in der folgenden Tabelle (Tabelle 3) in fettfreier Trockensubstanz angegeben, da man davon ausgehen kann, dass sich im Fett keine Spurenelemente befinden und das eingelagerte Fett in der Leber das Ergebnis verfälschen würde. Die Gehalte von Vitamin A und E waren deutlich niedriger in den Lebern der betroffenen Tiere.

Tabelle 3: Spurenelement- und Vitamingehalte in den Lebern

Parameter	Kontrolle		Fall		
	mg/kg fettfreie TS*		mg/kg fettfreie TS*		
Kupfer	19.4 ±2.71	20.2 ±19.7	Eisen	311 ^b ±64.7	1084 ^a ±249
Zink	136 ^a ±48.4	99 ^b ±84.3	Vitamin E [mg/kg TS*]	23.3 ^a ±14.1	15.7 ^b ±16.2
Mangan	17 ^a ±1.86	7.91 ^b ±4.33	Vitamin A [mg/kg TS*]	516 ^a ±301	366 ^b ±162

*TS= Trockensubstanz

3.2 Verlaufsuntersuchung während der Erkrankungsphase auf verschiedenen Betrieben (Phase 2)

Von April bis Mai 2017 fanden die Verlaufsuntersuchungen von drei Fällen der hepatischen Lipidose auf drei verschiedenen Mastbetrieben in Kooperation mit den jeweiligen bestandsbetreuenden Geflügeltierärzten statt. Futterproben (Tabelle 4) und sowohl klinisch auffällige als auch klinisch unauffällige Mastputen einer Herde wurden untersucht. Insgesamt wurden von 73 Tieren Blut- und Leberproben genommen, von denen 42 Tiere eine Fettleber aufwiesen und 31 Tiere unauffällig waren. Die Herden bestanden aus 4000 bis 5200 weiblichen Tieren. Zum Zeitpunkt der Erkrankung waren die Tiere 13 bzw. 14 Wochen alt. Zwei Herden waren von der Genetik B.U.T Big 6 und eine Herde von der Genetik TP7. Zusätzlich wurden im Januar 2018 von 15 gesunden Schlachtputen Blut- und Leberproben gewonnen und diese analysiert. Diese Probenentnahme wurde vor dem Hintergrund zusätzlich durchgeführt, um auch für alle in Phase 2 erhobenen Parameter Material von völlig unauffälligen Beständen zu bekommen. Die Proben stammen aus einer Schlachtung von weiblichen Puten, die in der konventionellen Putenmast auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe der tierärztlichen Hochschule Hannover aufgezogen wurden. Im Lebergewebe wurden die Parameter Rohfett, Rohprotein, Aminosäuren und Spurenelemente analysiert. In den Blutproben wurden neben den freien Aminosäuren auch Transferrin und Ferritin gemessen. Zudem wurde bei jedem Fall, sowie von der Herde, die am Schlachthof beprobt wurde, eine Futterprobe entnommen und analysiert.

Tabelle 4: Zusammensetzung des Futters zum Zeitpunkt des Krankheitsausbruchs

Parameter g/kg Futter	Kontrolle (N=1)	Fälle (N=3)	Parameter g/kg Futter	Kontrolle (N=1)	Fälle (N=3)
ME [MJ/kg Futter]	12.4	13.0 ±0.21	Cystein	3.14	2.30 ±0.17
Rohasche	44.5	37.0 ±3.42	Lysin	11.6	11.1 ±1.25
Rohfett	62.7	70.3 ±8.39	DL-Methionin*	2.72	3.20 ±0.79
Rohfaser	26.0	27.7 ±5.30	Eisen [mg/kg Futter]	243	191 ±22.7
Rohprotein	175	166 ±15.8	Kupfer [mg/kg Futter]	22.0	17.5 ±1.04
Stärke	420	449 ±23.3	Zink [mg/kg Futter]	96.2	86.7 ±9.26
Zucker	33.4	35.6 ±0.80	Mangan [mg/kg Futter]	156	96.0 ±8.06

* Potentielle Methioninhydroxyanalog-Gehalte im Futter sind nicht angegeben

3.2.1 Rohfett-, Rohprotein- und Aminosäure-Gehalte in den Lebern

Die Analyse der Rohfett-Gehalte in den Lebern konnte die klinische und pathologische Untersuchung bestätigen (Tabelle 5). Die klinisch und pathologisch unauffälligen Tiere einer von hepatischer

Lipidose betroffenen Herde hatten mit 152±71,7 g/kg TS halb so viel Fett in den Lebern eingelagert im Vergleich zu den erkrankten Tieren, deren Rohfett-Gehalte im Durchschnitt 304±75,9 g/kg TS betragen. Die Gehalte der Tiere vom Schlachthof waren mit 106±9,25 g/kg TS allerdings noch niedriger.

Tabelle 5: Rohprotein-, Ammoniak- und essentielle Aminosäure*-Gehalte im Lebergewebe

Parameter	Gehalt [g/kg TS [#]], MW ±STABW			Anteil [% vom Rp ^{**}], MW ±STABW		
	K ¹ (N=15)	NB ² (N=31)	HL ³ (N=42)	K ¹ (N=15)	NB ² (N=31)	HL ³ (N=42)
Rp ^{**}	816 ^a	651 ^b	591 ^c			
	±38.1	±96.1	±76.5			
Ammoniak	13.2 ^a	11.6 ^b	11.4 ^b	1.62 ^b	1.80 ^a	1.93 ^a
	±0.66	±2.00	±2.22	±0.08	±0.29	±0.35
Arginin	54.5 ^a	43.1 ^b	35.6 ^c	6.68 ^a	6.63 ^a	6.03 ^b
	±0.91	±7.06	±4.16	±0.12	±0.46	±0.30
Cystein	13.9 ^a	8.81 ^b	7.04 ^c	1.71 ^a	1.36 ^b	1.20 ^c
	±0.92	±1.29	±0.92	±0.11	±0.17	±0.13
Glutaminsäure	104 ^a	89.0 ^b	76.4 ^c	12.7 ^b	13.7 ^a	13.0 ^b
	±1.82	±13.0	±7.81	±0.26	±0.89	±0.99
Glycin	42.1 ^a	33.7 ^b	27.9 ^c	5.16 ^a	5.19 ^a	4.75 ^b
	±0.80	±4.60	±3.03	±0.10	±0.30	±0.35
Histidin	23.1 ^a	18.4 ^b	23.4 ^a	2.83 ^b	2.83 ^b	3.92 ^a
	±0.53	±3.13	±5.42	±0.06	±0.18	±0.49
Isoleucin	38.1 ^a	±29.7 ^b	±25.4 ^c	4.66 ^a	4.57 ^b	4.30 ^c
	±0.73	±4.07	±3.43	±0.10	±0.24	±0.21
Leucin	72.9 ^a	57.6 ^b	56.3 ^b	8.94 ^b	8.86 ^b	9.50 ^a
	±1.23	±8.47	±9.01	±0.15	±0.45	±0.51
Lysin	63.3 ^a	49.9 ^b	46.8 ^b	7.76 ^b	7.66 ^b	7.90 ^a
	±1.01	±7.51	±7.00	±0.13	±0.38	±0.33
Methionin	19.0 ^a	14.6 ^b	10.2 ^c	2.33 ^a	2.24 ^a	1.75 ^b
	±1.22	±2.27	±1.03	±0.15	±0.19	±0.18
Phenylalanin	40.1 ^a	31.9 ^b	31.5 ^b	4.91 ^b	4.90 ^b	5.30 ^a
	±0.60	±4.82	±5.23	±0.09	±0.25	±0.31
Prolin	36.1 ^a	28.6 ^b	24.5 ^c	4.43 ^a	4.39 ^a	4.16 ^b
	±1.11	±5.00	±3.12	±0.13	±0.41	±0.24
Threonin	34.3 ^a	27.7 ^b	24.8 ^c	4.21	4.27	4.20
	±0.60	±3.82	±3.39	±0.08	±0.20	±0.20
Valin	48.2 ^a	37.9 ^b	35.3 ^b	5.90	5.83	5.96
	±0.81	±5.77	±5.41	±0.12	±0.38	±0.29

¹K= Kontrolle; ²NB= nicht betroffene Tiere; ³HL= Tiere mit hepatischer Lipidose
a, b, c p > 0.05

*Tryptophan fehlt (im Standardverfahren nicht messbar), Cystein und Glutaminsäure sind zusätzlich gelistet

**Rp= Rohprotein

[#]TS= Trockensubstanz

Der Tabelle 5 ist zu entnehmen, dass sich der Rohprotein-Gehalt zwischen allen drei Gruppen unterschied. Das gilt auch für fast alle Aminosäure-Gehalte, wobei diese bei der Kontrolle am höchsten und bei den erkrankten Tieren am niedrigsten waren. Lediglich Histidin unterschied sich nicht zwischen der Kontrollgruppe und den „Fettleber-Tieren“ und war niedriger bei den klinisch unauffälligen Puten der betroffenen Herden. Die prozentualen Anteile am Rohprotein waren für einige Aminosäuren bei „Fettleber-Tieren“ (u.a. Histidin, Leucin) höher, für andere geringer (u.a. Methionin, Arginin). Bei fast allen Aminosäuren war allerdings kaum ein Unterschied zwischen klinisch unauffälligen Tieren aus einer Fettleber-Herde und „Schlachthof-Tieren“ zu erkennen.

3.2.2 Freie Aminosäure-Gehalte im Blut

Die Summe der freien Aminosäuren im Blut war bei den Tieren mit klinischen und makroskopischen Anzeichen einer Fettleber mehr als 3fach höher als bei den Tieren, die keine Hinweise auf eine Fettleber zeigten und bei den Tieren vom Schlachthof (Tabelle 6). Auch der Vergleich einzelner Aminosäuren wies große Unterschiede auf. Einige der Aminosäuren (u. a. Cystein, Leucin und Arginin) hatten bei den nicht betroffenen Tieren einen höheren Anteil an der Summe der freien Aminosäuren im Blut, bei anderen Aminosäuren (u.a. Glutamin, Alanin und Lysin) wiederum war der Anteil bei den „Fettleber-Tieren“ höher.

Tabelle 6: Essentielle Aminosäuren* im Blut

Parameter	Gehalte [mg/dl Serum], MW \pm STABW			Anteil [% der Summe], MW \pm STABW		
	K ¹ (N=15)	NB ² (N [#] =28)	HL ³ (N [#] =38)	K ¹ (N=15)	NB ² (N [#] =28)	HL ³ (N [#] =38)
Summe**	134 ^b \pm 11	114 ^c \pm 17.2	431 ^a \pm 110			
Arginin	7.52 ^b \pm 0.59	7.04 ^b \pm 1.27	16.5 ^a \pm 5.32	5.64 ^b \pm 0.283	6.18 ^a \pm 0.963	3.85 ^c \pm 0.814
Cystein	2.85 ^b \pm 0.449	2.71 ^b \pm 0.57	3.57 ^a \pm 0.83	2.14 ^a \pm 0.31	2.38 ^a \pm 0.49	0.89 ^b \pm 0.33
Glutamin	14.3 ^c 1.32	16.9 ^b 2.01	105 ^a 26.1	10.7 ^c 0.790	14.9 ^b 2.08	24.7 ^a 4.30
Glutaminsäure	8.15 ^b \pm 1.43	5.50 ^c \pm 1.36	13.0 ^a \pm 6.75	6.07 ^a \pm 0.70	4.78 ^b \pm 0.86	2.93 ^c \pm 1.12
Glycin	6.75 ^b \pm 0.528	4.70 ^c \pm 0.78	16.3 ^a \pm 3.85	5.06 ^a \pm 0.18	4.12 ^b \pm 0.53	3.85 ^c \pm 0.38
Histidin	1.38 ^b \pm 0.127	1.52 ^b \pm 0.31	3.27 ^a \pm 1.17	1.03 ^b \pm 0.07	1.34 ^a \pm 0.24	0.79 ^c \pm 0.30
Isoleucin	3.07 ^b \pm 0.347	1.80 ^c \pm 0.54	4.56 ^a \pm 1.50	2.30 ^a \pm 0.15	1.58 ^b \pm 0.47	1.08 ^c \pm 0.31
Leucin	4.59 ^b \pm 0.39	3.53 ^c \pm 0.68	7.94 ^a \pm 2.79	3.44 ^a \pm 0.15	3.10 ^b \pm 0.55	1.86 ^c \pm 0.49
Lysin	7.43 ^b \pm 0.79	4.47 ^c \pm 1.32	33.5 ^a \pm 14.3	5.60 ^b \pm 0.57	3.89 ^c \pm 0.99	7.40 ^a \pm 2.13
Methionin	1.06 ^c \pm 0.12	1.27 ^b \pm 0.35	5.94 ^a \pm 2.12	0.80 ^c \pm 0.08	1.11 ^b \pm 0.28	1.35 ^a \pm 0.25
Phenylalanin	2.29 ^b \pm 0.15	2.33 ^b \pm 0.30	8.66 ^a \pm 3.38	1.72 ^b \pm 0.12	2.05 ^a \pm 0.26	1.99 ^a \pm 0.48
Prolin	3.09 ^b \pm 0.32	5.77 ^b \pm 2.20	18.5 ^a \pm 5.93	2.31 ^c \pm 0.13	4.96 ^a \pm 1.47	4.23 ^b \pm 0.71
Threonin	6.88 ^b \pm 0.54	6.28 ^b \pm 1.63	22.8 ^a \pm 5.82	5.17 \pm 0.36	5.51 \pm 1.35	5.38 \pm 0.69
Tryptophan	0.31 ^c \pm 0.35	1.14 ^b \pm 0.67	2.69 ^a \pm 1.62	0.24 ^c \pm 0.27	0.99 ^a \pm 0.58	0.62 ^b \pm 0.31
Tyrosin	3.34 ^b \pm 0.31	3.33 ^b \pm 0.70	15.6 ^a \pm 4.49	2.51 ^c \pm 0.20	2.91 ^b \pm 0.59	3.61 ^a \pm 0.60
Valin	5.26 ^b \pm 0.40	4.05 ^c \pm 0.97	9.53 ^a \pm 3.04	3.95 ^a \pm 0.19	3.55 ^a \pm 0.82	2.25 ^b \pm 0.59

¹K= Kontrolle; ²NB= nicht betroffene Tiere; ³HL= Tiere mit hepatischer Lipidose
a, b, c p > 0.05

*zusätzlich wurden Cystein, Glutamin, Glutaminsäure und Tyrosin aufgeführt

**Summe der Aminosäuren, Ammoniak und Harnstoff

Mehr als die Hälfte der Aminosäuren unterschied sich in ihren Gehalten und deren Anteil an der Summe der freien Aminosäuren nicht zwischen den nicht betroffenen Tieren und den Tieren vom Schlachthof. Besonders auffällig war der Anteil von Glutamin an der Summe der freien Aminosäuren, der bei den „Fettleber-Tieren“ mit 24,7 % mit Abstand der größte war. Die Summe der verzweigtkettigen Aminosäuren (abgekürzt BCAA für die englische Übersetzung: Branched-Chain Amino Acids), bestehend aus Isoleucin, Leucin und Valin, war in der Gruppe der „Fettleber-Tiere“ ($22,0 \pm 7,29$ mg/dl Serum) am höchsten, am niedrigsten bei den nicht betroffenen Tieren ($9,38 \pm 2,06$ mg/dl Serum) und lag bei den Tieren vom Schlachthof dazwischen ($12,9 \pm 1,12$ mg/dl Serum). Die Summe der aromatischen Aminosäuren (AAS), bestehend aus Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin, war auch bei den „Fettleber-Tieren“ am höchsten ($27,0 \pm 8,18$ mg/dl Serum), allerdings am niedrigsten bei den Tieren vom Schlachthof ($5,95 \pm 0,59$ mg/dl Serum) und mittig bei den nicht betroffenen Tieren ($6,79 \pm 1,30$ mg/dl Serum). Das Verhältnis von den BCAA zu AAS war folglich am höchsten bei den Tieren vom Schlachthof ($2,19 \pm 0,21$), niedriger bei den nicht betroffenen Tieren ($1,42 \pm 0,40$) und am niedrigsten bei den Tieren mit hepatischer Lipidose ($0,85 \pm 0,26$).

3.2.3 Spurenelement- und Vitamin-Gehalte in den Lebern

Der Eisen-Gehalt unterschied sich zwischen den Lebern vom Schlachthof und den Lebern nicht betroffener Tiere nicht, war allerdings bei den „Fettleber-Tieren“ doppelt so hoch (Tabelle 7). Die Gehalte von Kupfer, Mangan und Zink wiesen einen sinkenden Gehalt auf in der Reihenfolge „Lebern vom Schlachthof“ – „Lebern von klinisch unauffälligen Tieren“ – „Tiere mit Fettleber“. Die Vitamin E Gehalte unterschieden sich nicht statistisch signifikant voneinander, wohingegen der Vitamin A Gehalt bei den Tieren vom Schlachthof deutlich höher war als bei den nicht betroffenen und den Tieren mit Fettleber.

Tabelle 7: Spurenelement- und Vitamingehalte in den Lebern

Gruppe	Eisen [mg/kg TS]	Kupfer [mg/kg TS]	Mangan [mg/kg TS]	Zink [mg/kg TS]	Vitamin A [mg/kg TS]	Vitamin E [mg/kg TS]
Schlachthof	$343^B \pm 45.3$	$19^A \pm 2.10$	$12^A \pm 0.89$	$109^A \pm 9.91$	$725^A \pm 246$	17.6 ± 4.65
NB*	$351^B \pm 132$	$14.3^B \pm 3.84$	$8.52^B \pm 2.30$	$84.2^B \pm 21.1$	$359^B \pm 115$	32.3 ± 20.1
Lipidose	$760^A \pm 262$	$10.6^C \pm 2.54$	$4.35^C \pm 1.04$	$50.5^C \pm 6.41$	$314^B \pm 72.9$	16.2 ± 24.1

*NB= nicht betroffene Tiere

3.2.4 Akute Phase Proteine

Da bereits vor Beginn dieses Projektes einige Vorarbeiten und Untersuchungen zur hepatischen Lipidose bei der Pute geleistet wurden (VISSCHER et al. 2017) (Proben aus Phase 1 des vorliegenden Projektes - Weiterverarbeitung vorhandener Proben) und bereits dort – wie in Phase 2 – sehr hohe Eisengehalte festgestellt werden konnten, war es unumgänglich den Eisenstoffwechsel näher zu untersuchen, um dieses Phänomen und ggf. auch die Erkrankung besser verstehen zu können. Leider stehen für die Spezies Pute wenig diagnostische Mittel in diesem Zusammenhang zur Verfügung. Neben anderen Universitäten wurden unzählige Labore angefragt. Ein erster Analyseversuch mit einem kommerziellen Labor verlief erfolglos. Daraufhin wurde entschieden, die Messungen selbst in Kooperation mit einem anderen Institut der Stiftung der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchzuführen und ausgewählten ELISA-Kits für die Spezies Pute zu validieren.

Nachdem die ausgewählten ELISA-Kits erfolgreich validiert waren, konnten sowohl Transferrin als auch Ferritin im Blut der drei Gruppen analysiert werden. Die Ferritin-Gehalte unterschieden sich nicht zwischen allen drei Gruppen (Kontrolle: $1,64 \pm 0,19$ ng/ml; nicht betroffene Tiere: $5,24 \pm 9,15$ ng/ml; Lipidose: $2,67 \pm 3,45$ ng/ml), die Transferrin-Gehalte dagegen waren am höchsten bei den Tieren vom Schlachthof ($31,2 \pm 1,16$ ng/ml), niedriger bei den nicht betroffenen Tieren ($18,6 \pm 1,55$ ng/ml) und am niedrigsten bei den Tieren mit hepatischer Lipidose ($17,5 \pm 1,67$ ng/ml).

3.3 Überprüfung diätetischer Einflüsse auf die hepatische Lipidose im Rahmen eines Modellversuchs (Teil 3)

Für die Phase 3 dieses Projektes war ursprünglich eine Interventionsstudie vorgesehen, die im Feld auf mindestens drei Kontroll- und Versuchsbetrieben/-ställen hätte stattfinden sollen. Es sollte ein aus den Erfahrungen aus Phase 1 und 2 entwickeltes Fütterungskonzept im Hinblick auf eine mögliche Prävention gegenüber der Hepatischen Lipidose getestet werden. Zudem sollten Synergien zwischen Fütterungskonzept und AE-Impfung untersucht werden. Die gesuchten Betriebe sollten in der Vergangenheit wiederkehrend von der Fettleber-Problematik betroffen gewesen sein und nach Möglichkeit über mehrere Ställe an einem Standort verfügen. Trotz intensiver Suche und Vor-Ort-Gesprächen mit den relevanten Geflügelpraxen, konnten keine passenden Betriebe gefunden werden. In Rücksprache mit dem Fördergeber wurde für die Phase 3 ein Modellversuch durchgeführt. Putenhennen wurden zu diesem Zweck im Tierhaus des Instituts für Tierernährung der TiHo Hannover aufgestellt. Prädisponierende Faktoren der Fütterung bzw. auch eine mögliche Prävention durch diätetische Maßnahmen in Hinblick auf die Hepatische Lipidose bei der Mastpute sollten untersucht werden. Zum einen wurde der Einfluss des im Feld häufig praktizierten „Vorziehen von Fütterungsphasen“ im Versuch nachgestellt, indem relativ früh hohe Energie-Gehalte und niedrige Protein-Gehalte im Futter eingesetzt wurden. Zum anderen sollte der Einsatz von hohen Vitamin E Dosierungen im Futter als mögliche Präventionsmaßnahme untersucht werden.

3.3.1 Versuchsaufbau

Der Versuch bestand aus vier verschiedenen Gruppen, die jeweils in vier Kleingruppen (Wiederholungen) mit je 4 Putenhennen unterteilt waren – daraus ergab sich eine Gesamtanzahl von 64 Tieren. Die Putenhennen wurden im Alter von 10 Wochen eingestallt und für 5 Wochen gehalten. Am Ende des Versuchs erfolgte eine Sektion zwecks Probenentnahme. Wöchentlich wurden Leistungsdaten erhoben und zu Beginn, in der Mitte und zu Ende des Versuchszeitraumes Blutproben einzelner Tiere entnommen. Gruppe 1 stellte die „Kontrollgruppe“ dar und wurde konventionell gefüttert bzw. möglicherweise prädisponierend aufgrund üblicher relativ geringer Rohproteingehalte (Tabelle 8). Das Futter von Gruppe 2 wies einen deutlich höheren Vitamin E Gehalt auf und stellte somit die Gruppe analog der Erfahrungen von Kollegen aus der Praxis eine Präventionsmaßnahme dar. Das Futter von Gruppe 3 enthielt höhere Zulagen an Methionin, um den möglichen positiven Effekt von lipotropen Faktoren auf die Lebergesundheit zu untersuchen, und das Futter von Gruppe 4 enthielt sowohl eine Vitamin E- als auch Methionin-Zulage zur Abklärung möglicher synergistischer Effekte. Darüber hinaus wurden am Ende der fünfwöchigen Versuchsphase erneut Puten aus dem Herkunftsbestand an die TiHo verbracht, um Kontrollproben zu gewinnen, die einen Eindruck vermitteln sollten bei Verbleib der Tiere im Bestand und späterer Umstellung der Fütterungsphasen, d.h. die Proteingehalte im Futter waren für etwa 2,5 Wochen auf einem noch höheren Niveau, die Stärkegehalte geringer.

Tabelle 8: Zusammensetzung der Futter der vier verschiedenen Versuchsgruppen

Parameter [g/kg Futter]	G 1 (Kontrolle)	G2 (Vit. E)	G3 (MHA*)	G 4 (Vit.E + MHA*)
ME [MJ/kg Futter]	16.0	16.0	15.9	15.9
Rohasche	43.7	41.0	42.3	47.1
Rohfett	63.4	60.9	59.4	64.2
Rohfaser	22.3	21.6	23.0	22.9
Rohprotein	172	172	172	173
Stärke	450	458	454	439
Zucker	37.4	38.1	35.7	33.0
Cystein	3.36	3.60	3.52	3.29
Lysin	11.7	11.2	11.1	12.0
DL-Methionin	3.12	3.13	3.11	3.13
MHA*	1.70	1.60	3.40	3.10
Eisen [mg/kg Futter]	310	262	270	324
Kupfer [mg/kg Futter]	22.9	17.1	18.5	22.7
Zink [mg/kg Futter]	105	93.8	94.0	107
Mangan [mg/kg Futter]	133	115	128	146
Vitamin E [mg/kg Futter]	65.2	283	65.7	296

*MHA: Methioninhydroxyanalog

3.3.2 Ergebnisse

Insgesamt verlief der Versuch wie geplant. Alle Tiere waren über den gesamten Versuchszeitraum klinisch unauffällig bis auf ein Tier der Gruppe 4, welches in der dritten Versuchswoche verendet ist. Sowohl der Futterverbrauch, als auch der Wasserverbrauch wurden täglich auf Untergruppenbasis erfasst und ergaben keine nennenswerten Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen. Die Körpermassenentwicklung wurde zu Versuchsbeginn und dann wöchentlich auf Einzeltierbasis erfasst. Auch diese ergab keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.3.2.1 Parameter im Lebergewebe der verschiedenen Versuchsgruppen

Die Analyse der Lebern der vier Gruppen ergab nicht in dem Umfang massive Unterschiede, wie es in den vorhergehenden Phasen aus den Proben aus dem Feld (Phase 1 und 2) beschrieben wurde (Tabelle 9). Im Vergleich zu den Ergebnissen der Analysen aus den Referenzproben bei Verbleib der Tiere im Ursprungsbestand (Rohprotein: $672 \pm 39,7$ g/kg TS, Rohfett: $141 \pm 31,1$ g/kg TS, Eisen: $232 \pm 32,3$ mg/kg TS) waren durchaus Unterschiede zu sehen, d.h. der Proteingehalt war höher, der Fettgehalt geringer.

Wenngleich der der Rohfett- und der Rohproteingehalt nicht signifikant unterschiedlich zwischen den vier Gruppen waren, zeigten sich doch hinsichtlich einiger Parameter signifikante Unterschiede.

Tabelle 9: Rohfett-, Rohprotein-, Ammoniak- und essentielle Aminosäuregehalte* im Lebergewebe

Parameter	Gehalt [g/kg TS [#]], MW ±STABW				Anteil [% vom Rp ^{**}], MW ±STABW			
	K ¹	G2 ²	G3 ³	G4 ⁴	K ¹	G2 ²	G3 ³	G4 ⁴
Rohfett	163 ±47.9	180 ±64.3	199 ±71.5	163 ±43.1				
Rohprotein	562 ±50.9	557 ±45.1	519 ±47.3	566 ±60.6				
Ammoniak	11.0^a ±1.90	9.43^b ±1.23	8.78^b ±1.03	9.77^b ±1.42	1.96^a ±0.26	1.70^b ±0.24	1.69^b ±0.13	1.73^b ±0.15
Arginin	36.6 ±3.32	36.7 ±3.38	34.1 ±3.18	36.1 ±4.43	6.50^{ab} ±0.15	6.59^a ±0.16	6.56^a ±0.18	6.37^b ±0.19
Cystein	10.5^a ±1.21	10.0^{ab} ±0.75	9.48^b ±0.75	10.3^{ab} ±0.89	1.86 ±0.14	1.80 ±0.06	1.83 ±0.08	1.82 ±0.12
Glutaminsäure	75.9 ±6.92	74.0 ±6.18	69.8 ±6.63	74.7 ±9.05	13.5 ±0.34	13.3 ±0.27	13.5 ±0.49	13.2 ±0.34
Glycin	30.0 ±2.60	29.6 ±2.29	27.8 ±2.77	29.3 ±3.37	5.34^a ±0.16	5.32^a ±0.13	5.35^a ±0.14	5.18^b ±0.14
Histidin	15.1 ±1.33	15.1 ±1.25	14.1 ±1.31	15.1 ±1.91	2.69 ±0.06	2.71 ±0.06	2.72 ±0.09	2.65 ±0.09
Isoleucin	26.9 ±2.61	±26.6 ±2.33	±25.1 ±2.95	26.6 ±2.97	4.79 ±0.11	4.77 ±0.14	4.83 ±0.23	4.70 ±0.08
Leucin	52.6 ±11.7	49.8 ±4.21	46.7 ±4.38	49.8 ±5.21	9.29 ±1.32	8.94 ±0.24	8.99 ±0.24	8.81 ±0.18
Lysin	42.8 ±3.93	42.6 ±3.72	39.8 ±3.70	42.4 ±4.97	7.60^{ab} ±0.17	7.64^a ±0.15	7.67^a ±0.20	7.49^b ±0.16
Methionin	13.1 ±1.44	12.6 ±1.19	12.0 ±0.84	12.9 ±1.39	2.33 ±0.18	2.27 ±0.11	2.33 ±0.17	2.29 ±0.18
Phenylalanin	27.3 ±2.60	26.9 ±2.30	25.2 ±2.31	27.1 ±3.17	4.86 ±0.10	4.83 ±0.12	4.86 ±0.14	4.77 ±0.09
Prolin	25.9 ±2.31	25.2 ±2.36	23.9 ±2.49	25.4 ±2.87	4.61 ±0.14	4.53 ±0.17	4.60 ±0.19	4.48 ±0.13
Threonin	24.0 ±2.27	24.1 ±2.22	22.6 ±1.97	24.3 ±2.62	4.27 ±0.14	4.33 ±0.12	4.37 ±0.23	4.29 ±0.17
Valin	33.1 ±2.83	32.8 ±2.64	30.8 ±2.86	32.8 ±3.99	5.89^{ab} ±0.12	5.89^{ab} ±0.12	5.93^a ±0.14	5.79^b ±0.13

¹K= Kontrolle; ²G2= Gruppe mit Vit. E Zulage; ³G3= Gruppe mit Methioninzulage; ⁴G4= Gruppe mit Vit. E und Methionin Zulage
a, b, c p > 0.05

*Tryptophan fehlt, Cystein und Glutaminsäure sind zusätzlich gelistet

**Rp= Rohprotein

[#]TS= Trockensubstanz

Ammoniak war sowohl im Hinblick auf den Gehalt, als auch hinsichtlich des Anteils am Rohprotein signifikant höher im Lebergewebe der Kontrollgruppe als in den Lebern der anderen drei Versuchsgruppen. Der Cystein-Gehalt war auch in der Kontrollgruppe am höchsten und am niedrigsten bei der Gruppe mit Methionin-Zulage. Beim prozentualen Anteil von Arginin, Glycin, Lysin und Valin am Rohprotein waren ebenfalls signifikante Unterschiede zu erkennen, wobei alle Werte in der Gruppe mit Vitamin E und Methionin am niedrigsten waren und bei Gruppe 3 mit der lediglich der Methionin-Zulage am höchsten.

Tabelle 10: Spurenelement- und Vitamin-Gehalte in den Lebern

Gruppe	Eisen [mg/kg TS]	Kupfer [mg/kg TS]	Mangan [mg/kg TS]	Zink [mg/kg TS]	Vitamin A [mg/kg TS]	Vitamin E [mg/kg TS]
Kontrolle	244 ±74	11.4 ±1.79	6.21 ±1.10	68.0^A ±6.25	199^B ±43.4	10.8^C ±19.7
Gruppe 2 ¹	218 ±50.1	10.8 ±1.37	5.62 ±1.16	64.8^{AB} ±6.81	196^B ±49.6	45.1^{AB} ±41.6
Gruppe 3 ²	196 ±36.3	10.6 ±2.30	5.30 ±1.17	61.1^B ±6.96	180^B ±66.4	18.8^{BC} ±30.0
Gruppe 4 ³	205 34.7±	11.6 ±2.30	6.32 ±1.41	68.7^A ±10.8	246^A ±60.2	57.6^A ±51.3

¹G2= Gruppe mit Vit. E Zulage; ²G3= Gruppe mit Methioninzulage; ³G4= Gruppe mit Vit. E und Methionin Zulage

Bei den Eisen-, Kupfer- und Mangan-Gehalten im Lebergewebe waren keine Unterschiede zwischen den vier Gruppen zu beobachten (Tabelle 10). Der Zink-Gehalt dagegen war bei der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Vitamin E und Methionin Zulage höher als bei der Gruppe mit der alleinigen Vitamin E Zulage. Der Vitamin A Gehalt war in Gruppe 4 (Vit. E + Methionin) höher als bei den anderen 3 Gruppen. Die größten Unterschiede waren beim Vitamin E Gehalt zu sehen. Im Prinzip spiegelten die Ergebnisse im Lebergewebe die Futtergehalte wider, sodass Gruppe 4 und Gruppe 2 die höchsten Werte aufwiesen. Allerdings waren die Gehalte der Gruppe 3 (Methionin Zulage) nicht signifikant niedriger als die Gehalte der Gruppe 2, die erhöhte Vitamingehalte im Futter hatten.

3.3.2.2 Freie Aminosäure im Blut

Das Muster der freien Aminosäuren war lediglich in den Methionin- und Threonin-Gehalten und deren Anteilen an der Summe der freien Aminosäuren unterschiedlich zwischen den vier Versuchsgruppen. Die Methionin Gehalte und der Anteil von Methionin an der Summe der Gruppe 3 (Methionin Zulage) und Gruppe 4 (Vitamin E + Methionin Zulage) waren signifikant höher als in der Kontrollgruppe und der Gruppe mit lediglich erhöhtem Vitamin E (Gruppe 2) und spiegeln somit die Methionin-Gehalte im Futter wider. Sowohl der Gehalt von Threonin, als auch dessen Anteil an der Summe der freien Aminosäuren im Blut unterschied sich nur signifikant zwischen Gruppe 2 und Gruppe 4.

Tabelle 8: Essentielle Aminosäuren* im Blut

Parameter	Gehalte [mg/dl Serum], MW ±STABW				Anteil [% der Summe], MW ±STABW			
	K ¹	G2 ²	G3 ³	G4 ⁴	K ¹	G2 ²	G3 ³	G4 ⁴
Summe**	101	117	99.4	102				
	±13.2	±88.2	±7.93	±8.24				
Arginin	6.67	6.51	6.77	6.96	6.59	6.51	6.81	6.82
	±1.07	±1.24	±0.74	±0.80	±0.76	±1.59	±0.55	±0.69
Cystein	2.63	2.63	2.66	2.79	2.63	2.65	2.68	2.74
	±0.45	±0.28	±0.20	±0.24	±0.50	±0.64	±0.17	±0.25
Glutamin	16.1	15.7	15.88	15.9	16.0	15.97	16.0	15.6
	±1.80	±1.89	±1.94	±1.46	±2.04	±4.33	±1.77	±0.76
Glutaminsäure	3.79	3.67	3.80	3.70	3.80	3.68	3.84	3.64
	±0.99	±0.33	±0.57	±0.28	±1.08	±0.92	±0.61	±0.33
Glycin	4.47	4.18	4.11	4.23	4.40	4.19	4.14	4.15
	±0.70	±0.61	±0.49	±0.51	±0.29	±0.97	±0.45	±0.42
Histidin	1.38	1.38	1.31	1.38	1.35	1.38	1.31	1.35
	±0.37	±0.41	±0.34	±0.30	±0.29	±0.42	±0.29	±0.25
Isoleucin	2.02	1.85	1.91	1.94	1.96	1.83	1.90	1.89
	±0.67	±0.56	±0.43	±0.34	±0.40	±0.52	±0.31	±0.24
Leucin	3.36	2.96	3.14	3.20	3.26	2.95	3.14	3.13
	±0.99	±0.84	±0.60	±0.51	±0.55	±0.81	±0.39	±0.37
Lysin	4.07	3.87	4.13	4.90	3.98	3.81	4.13	4.77
	±1.22	±1.64	±1.10	±1.10	±0.92	±1.41	±0.93	±0.88
Methionin	1.17^b	1.04^b	1.48^a	1.64^a	1.14^b	1.04^b	1.49^a	1.61^a
	±0.24	±0.26	±0.16	±0.21	±0.11	±0.27	±0.11	±0.20
Phenylalanin	2.18	2.07	2.09	2.17	2.14	2.08	2.10	2.13
	±0.45	±0.30	±0.23	±0.21	±0.24	±0.50	±0.15	±0.17
Prolin	7.74	6.97	7.80	7.56	7.59	6.97	7.83	7.42
	±1.57	±1.83	±1.24	±1.05	±0.91	±1.83	±0.92	±0.96
Threonin	6.56^{ab}	6.14^b	6.35^{ab}	7.46^a	6.49^{ab}	6.01^b	6.38^{ab}	7.30^a
	±1.48	±1.73	±0.90	±1.19	±1.21	±1.79	±0.61	±0.93
Tryptophan	1.87	1.69	1.80	1.79	1.87	1.69	1.82	1.76
	±0.23	±0.30	±0.15	±0.21	±0.28	±0.42	±0.19	±0.17
Tyrosin	3.28	3.17	3.17	3.21	3.25	3.15	3.19	3.13
	±0.67	±0.72	±0.61	±0.55	±0.60	±0.63	±0.56	±0.40
Valin	4.70	4.35	4.51	4.69	4.61	4.33	4.52	4.59
	±0.94	±0.96	±0.66	±0.58	±0.43	±1.06	±0.44	±0.40

¹K= Kontrolle; ²G2= Gruppe mit Vit. E Zulage; ³G3= Gruppe mit Methioninzulage; ⁴G4= Gruppe mit Vit. E und Methionin Zulage

^{a, b, c} p > 0.05

*zusätzlich wurden Cystein, Glutamin, Glutaminsäure und Tyrosin aufgeführt

**Summe der Aminosäuren, Ammoniak und Harnstoff

4. Diskussion der Ergebnisse und Nutzen

Das vorliegende Projekt setzt sich aus drei aufeinander folgenden Phasen bzw. Teilen zusammen. In Teil 1 wurden etwa 100 Leberproben aus einer vorausgegangen Studie aufgearbeitet, die mehr als 20 Case- und Kontrollfälle enthielt. Die untersuchten Parameter waren Rohfett-Gehalte der Lebern, sowie Aminosäure-, Vitamin- und Spurenelement-Gehalte. Die Probenentnahme erfolgte in den Jahren 2015 und 2016 in Kooperation mit verschiedenen bestandsbetreuenden Geflügeltierärzten. Lediglich Probenmaterial von bereits an der hepatischen Lipidose verendeten bzw. notgetöteten

Tieren wurde beprobt und zum Vergleich Proben von gesunden Tieren am Schlachthof gewonnen. Diese Phase ermöglichte eine nähere Charakterisierung der Erkrankung besonders in Bezug auf die Leberzusammensetzung der betroffenen Tiere. Sehr auffällig waren die mehr als 3fach höheren Eisenwerte in den Lebern (Kontrolle: $311 \pm 64,7$ mg/kg TS; Fall: 1084 ± 249 mg/kg TS). Es gibt viele verschiedene Gründe und Wege, bei denen erhöhte Eisenwerte in den Lebern auftreten können. Im Rahmen einer Infekt-Abwehr wird das in der Blutbahn zirkulierende Eisen in die Leber eingelagert, um es weniger verfügbar für verschiedenste Pathogene zu machen (WEINBERG 1975; KLASING 1998), was dann wiederum zu hohen Eisen-Gehalten in der Leber führt. Auch die chronische Aufnahme von viel Eisen kann durch die vermutete weniger strenge intestinale Regulierung der Eisen-Absorption bei Vögeln und Geflügel zu hohen Eisen-Gehalten führen (WARD et al. 1991; DIERENFELD et al. 1994). Zudem wird bei verschiedenen Spezies im Falle von Hungerphasen und anschließendem wieder Anfütern von Eisenüberladungen der Leber berichtet (BORCH-IOHNSEN u. NILSSEN 1987; RICHARDS et al. 1987).

Um diesem Phänomen näher auf den Grund zu gehen wurden in der zweiten Phase drei Fälle von Hepatischer Lipidose auf drei verschiedenen Puten-Mastbetrieben systematisch untersucht. Die Probenentnahme fand an mehreren aufeinander folgenden Erkrankungstagen statt, wobei sowohl von klinisch auffälligen Tieren als auch von klinisch unauffälligen Tieren derselben Herde Lebern und Blutproben entnommen wurden. Die klinisch unauffälligen Tiere waren auch in der Sektion unauffällig bzw. nur die auffälligen Tiere wiesen auch eine Fettleber auf. Dies lässt zum einen darauf schließen, dass nicht die ganze Herde von der Erkrankung im Hinblick auf das makroskopische Erscheinungsbild betroffen ist und zum anderen, dass es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch um ein perakutes Geschehen in der Herde handelt. Bei den geschlachteten Tieren trat keine veränderte Befundhäufigkeit (Verwurf) auf – laut Auskunft von Landwirten bzw. deren Tierärzten nach Beendigung des Mastdurchganges auf den oben genannten Betrieben. Dies könnte darauf hinweisen, dass das Erkrankungsbild nach Abflauen der klinischen Symptome vermutlich auch subklinisch nicht weiter von Bedeutung ist. Dieser Sachverhalt hat auch Auswirkungen auf Präventions- und ggf. Therapiekonzepte. Schnelles Erkennen und frühzeitiges Handeln sind die wesentlichen Punkte.

Als mögliche Ursache der Erkrankung wurde wiederholt ein Mangel an lipotropen Faktoren wie u. a. Methionin vermutet (POPP et al. 2014). Um dieser Hypothese nachzugehen, wurden die Gehalte auch in den eingesetzten Futtermitteln analysiert. Es waren keine Abweichungen erkennbar, die den Schluss zugelassen hätten, dass augenscheinlich eine mangelhafte Zusammensetzung des Futters Grund für das Auftreten der hepatischen Lipidose war in den untersuchten Fällen. Auch die Futterproben aus Phase 1 wiesen keine Auffälligkeiten auf. Die Gehalte entsprachen den Bedarfsempfehlungen. Die Untersuchung der Organproben von Lebern zeigte allerdings signifikante Unterschiede in den Gehalten von beispielsweise Methionin zwischen „gesunden Lebern“ und „Fettlebern“ (2.24, 2.33 vs. 1,75 % vom Rohprotein). Diese Analysen geben Aufschluss auf den Versorgungstatus der Tiere (HUNTER u. GRIMBLE 1994) und lassen vermuten, dass die Tiere zumindest im Rahmen der Erkrankung möglicherweise einen höheren „Verbrauch“ bzw. Bedarf an einzelnen Aminosäuren haben. Die Summe der freien Aminosäuren im Blut war bei den betroffenen Tieren mehr als dreifach höher im Vergleich zu den unauffälligen Tieren derselben Herde. Dies kann nach längerer Fastenzeit durch Abbau von Muskelgewebe erfolgen, aber auch im Zuge anti-inflammatorischer Prozesse (SEMMLER et al. 2008). Das Verhältnis von BCAA zu AAS war deutlich niedriger bei den Tieren mit Fettleber im Vergleich zu den klinisch unauffälligen Tieren und den Tieren vom Schlachthof. In der Humanmedizin wird dieses Verhältnis als Kennzeichen einer

Leberzirrhose genutzt, welches mit zunehmenden Voranschreiten weiter abnimmt (KAWAGUCHI et al. 2011). Zudem ist ein niedriges Verhältnis auch mit Enzephalopathie assoziiert und begünstigt den Eintritt von AAS durch die Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn (JAMES et al. 1979). Hohe BCAA Gehalte im Blut, welche bei erkrankten Puten nachgewiesen wurden, sind auch Biomarker für Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes (NIE et al. 2018).

Ein sehr hoher Eisen-Gehalt wurde auch in Phase 2 bei den erkrankten Tieren festgestellt, jedoch nicht bei den klinisch unauffälligen Tieren einer betroffenen Herde. Um dieses Phänomen in Bezug auf die Hepatische Lipidose verstehen und erklären zu können, wurde ein möglicher Einfluss eines entzündlichen oder infektiösen Geschehens in Form einer akuten-Phase-Reaktion untersucht. Die Parameter Transferrin und Ferritin wurden untersucht. Beide sind akute Phase Proteine, deren Konzentration sich während einer Infektion, Entzündung oder auch Stress verändert (XIE et al. 2002; MURATA et al. 2004). Zudem wird Ferritin in der Leber gebildet und ist das Haupt-Speicherprotein von Eisen, das ansteigt bei Eisenüberladung (WALTERS et al. 1973). Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden, da sich die Werte zwischen den drei Gruppen nicht signifikant unterschieden. Allerdings wurde auch berichtet, dass bei einer längeren Hungerperiode oder hochgradigem Leberschaden die Synthese der akuten Phasen Proteine vermindert ist und so der erwartete Anstieg in diesen Fällen ausbleibt (REEDS et al. 1994; GRUYS et al. 2005). Die Transferrin Gehalte waren sogar am höchsten bei den Tieren vom Schlachthof, niedriger bei den nicht betroffenen Tieren und am niedrigsten bei den Tieren mit hepatischer Lipidose. Da Transferrin sich beim Geflügel wie ein positives akute Phase Protein verhält und bei Infektionen, Entzündungen oder Stress ansteigt (TOHJO et al. 1995; XIE et al. 2002), wäre ein anderes Ergebnis zu erwarten gewesen. Die hohen Werte der Tiere vom Schlachthof sind sicherlich durch den Transport der Tiere und dem damit verbundenen Stress zu erklären, trotzdem gab es den Unterschied zwischen den nicht betroffenen und den erkrankten Tieren. Diese niedrigen Werte werden neben den oben beschriebenen Hungerphasen und Leberschädigung, auch bei Kindern beobachtet, die an Kwashiorkor leiden (MCFARLANE et al. 1970). Dies ist eine Proteinmangelernährung, die bei Kindern vor allem in Entwicklungsländern vorkommt. Zudem wird Transferrin auch als Marker für den Ernährungszustand und viszerale Proteinspeicher genutzt (FLETCHER et al. 1987).

Die Ergebnisse der erhobenen Parameter sowohl im Lebergewebe als auch im Blut des Modellversuchs (Teil 3) ergaben nicht die deutlichen Unterschiede im Vergleich zu den Ergebnissen aus Teil 1 und 2. Allerdings waren einzelne Parameter signifikant unterschiedlich, die den Einfluss der Fütterung vermuten lassen. Im Fokus des Versuches lagen die verschiedenen Gehalte an Vitamin E und Methionin im Futter. Die Vitamin E Gehalte in der Leber spiegeln die verschiedenen Gehalte im Futter wider. Wenn man dies in Zusammenhang mit den Ergebnissen aus Phase 1 und 2 setzt, wo die Vitamin E Gehalte bei den an hepatischer Lipidose erkrankten Tiere deutlich niedriger waren, könnte man davon ausgehen, dass eine Vitamin E Gabe den Verlauf der Erkrankung beeinflussen kann, wie von Praktikern berichtet. Die Methionin-Gehalte im Blut verhalten sich auch analog zu den Gehalten im Futter, sind also in den beiden Gruppen, in denen mehr Methionin im Futter war, höher. Im Lebergewebe dagegen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Bei den „Fettleber-Tieren“ waren die Methionin-Gehalte im Blut auch höher, im Lebergewebe dagegen niedriger, was für eine Mobilisierung und eventuell auch für einen höheren Bedarf sprechen könnte und durch die, wie im Versuch dargestellt, Fütterung positiv beeinflusst werden könnte.

Zusammenfassend betrachtet, lassen sich aus den Ergebnissen der Untersuchungen einige Ableitungen für die Praxis treffen:

- Das Krankheitsbild einer sogenannten hepatischen Lipidose tritt spontan auf, betrifft klinisch nur einen Anteil der Herde, geht bei diesen Tieren allerdings mit massiven Organveränderungen (Leber) einher, die letztendlich auch zum perakuten Verenden beitragen dürften.
- Auslösende Faktoren waren aus der Studie heraus nicht konsistent zu erkennen, sind aber sicherlich nicht ausschließlich dem Kontext Futter und Fütterung zuzuordnen.
- Viele Ergebnisse aus Teil 1 und 2, wie die hohe Summe der freien Aminosäuren im Blut, die hohen Eisen-Gehalte in der Leber und die niedrigen Transferrin-Werte bei den Tieren, die eine Fettleber hatten, lassen allerdings eine vorangegangene Stressphase (metabolisch, z.B. induziert durch Schwankungen in der Nahrungsaufnahme als Möglichkeit) vermuten. Die hochgradige Schädigung der Leber als Ursache für das Verenden der Tiere scheint wahrscheinlich.
- Auf der anderen Seite ergaben sich aus den mannigfaltigen Analysen aus Phase 1 und 2 Erkenntnisse, wie eine Veränderung der Futterzusammensetzung möglicherweise präventiv die Tiergesundheit erhalten kann. Im Zuge dessen wurden die Untersuchungen in Phase 3 unternommen. Der Modellversuch aus Phase 3 zeigte dabei, dass der Fettgehalt bei frühzeitigem Wechsel des Futters auf ein Alleinfutter mit reduziertem Proteingehalt verbunden mit dem Transfer in den Versuch, grundsätzlich zu erhöhten Fettgehalten in der Leber führte (Vergleich Leberfettgehalte von Tieren vom Betrieb Ruthe zu Leberfettgehalten aus dem Institutsversuch in Phase 3). Durch die beiden geprüften diätetischen Ansätze kam es allerdings zu keinen signifikanten Unterschieden im Leberfettgehalt. Die erhöhten Konzentrationen von Vitamin E im Alleinfutter konnten auch in höheren Vitamin E Gehalten in der Leber dargestellt werden, was präventiv interessant sein könnte.

Besonders positiv zu erwähnen ist die Zusammenarbeit mit den verschiedenen Geflügeltierärztinnen und Geflügeltierärzten, die im Zuge dieses Projektes stattgefunden hat und zu anregenden Diskussionen und Wissensaustausch im Hinblick auf die Erkrankung hepatische Lipidose und auch allgemein der Mast weiblicher Puten in Deutschland geführt hat. Nicht ausschließlich aus den Ergebnissen der Studie, aber durch die gemeinsame intensive Arbeit an der Thematik hat jede Tierärztin, jeder Tierarzt ein Stück weit für sich einfache Lösungsansätze zur Eingrenzung der Erkrankung finden können, die nun mit relativ gutem Erfolg umgesetzt werden. Um die Ursache für die hepatische Lipidose zu verstehen, bedarf es zukünftig weiterer Forschung, der Grundstein für Präventions- und Behandlungsmaßnahmen konnte allerdings gelegt werden.

5. Literatur

AZIZ, T. (2009):

Hepatic lipidosi in turkeys.

BORCH-IOHNSSEN, B., u. K. J. NILSSEN (1987):

Seasonal iron overload in Svalbard reindeer liver.

J Nutr 117, 2072-2078

DIERENFELD, E. S., M. T. PINI u. C. D. SHEPPARD (1994):

Hemosiderosis and dietary iron in birds.

The Journal of nutrition 124, 2685S-2686S

FERKET, P. (2001):

Turkey growth statistics: Growth rate continues to climb.
Poult. USA 2, 40-50

FLETCHER, J. P., J. M. LITTLE u. P. K. GUEST (1987):

A comparison of serum transferrin and serum prealbumin as nutritional parameters.
JPEN J Parenter Enteral Nutr 11, 144-147

GAZDZINSKI, P., E. SQUIRES u. R. JULIAN (1994):

Hepatic lipidosis in turkeys.
Avian diseases 379-384

GRUYS, E., M. J. TOUSSAINT, T. A. NIEWOLD u. S. J. KOOPMANS (2005):

Acute phase reaction and acute phase proteins.
J Zhejiang Univ Sci B 6, 1045-1056

HAVENSTEIN, G. B., P. FERKET, J. GRIMES, M. QURESHI u. K. NESTOR (2004):

Changes in the performance of turkeys—1966–2003.
In: Proc. 27th Tech. Turkeys Conf., Macclesfield, Cheshire, UK, S. 1-13

HAZEL, K. (2009):

Hepatic lipidosis: Is Carnitine deficiency the underlying cause.
In: Turkey production: Toward better Welfare and Health. Proceedings of the 5th International Meeting of the Working Group, S. 271-276

HEBBARD, L., u. J. GEORGE (2011):

Animal models of nonalcoholic fatty liver disease.
Nat Rev Gastroenterol Hepatol 8, 35-44

HUNTER, E. A., u. R. F. GRIMBLE (1994):

Cysteine and methionine supplementation modulate the effect of tumor necrosis factor alpha on protein synthesis, glutathione and zinc concentration of liver and lung in rats fed a low protein diet.
J Nutr 124, 2319-2328

JAMES, J. H., B. JEPSSON, V. ZIPARO u. J. FISCHER (1979):

Hyperammonaemia, plasma aminoacid imbalance, and blood-brain aminoacid transport: a unified theory of portal-systemic encephalopathy.
The lancet 314, 772-775

KAWAGUCHI, T., N. IZUMI, M. R. CHARLTON u. M. SATA (2011):

Branched-chain amino acids as pharmacological nutrients in chronic liver disease.
Hepatology 54, 1063-1070

KLASING, K. C. (1998):

Nutritional modulation of resistance to infectious diseases.
Poult Sci 77, 1119-1125

MCFARLANE, H., S. REDDY, K. ADCOCK, H. ADESHINA, A. COOKE u. J. AKENE (1970):

Immunity, transferrin, and survival in kwashiorkor.
Br Med J 4, 268-270

MURATA, H., N. SHIMADA u. M. YOSHIOKA (2004):

Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview.

Vet J 168, 28-40

NIE, C., T. HE, W. ZHANG, G. ZHANG u. X. MA (2018):
Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism.

Int J Mol Sci 19,

POPP, C., R. HAUCK, T. W. VAHLENKAMP, D. LUSCHOW, B. O. KERSHAW, M. HOFERER u. H. M. HAFEZ (2014):

Liver pathology associated with increased mortality in turkey breeder and meat turkey flocks.

Avian Dis 58, 474-481

REEDS, P. J., C. R. FJELD u. F. JAHOOR (1994):

Do the differences between the amino acid compositions of acute-phase and muscle proteins have a bearing on nitrogen loss in traumatic states?

The Journal of nutrition 124, 906-910

RICHARDS, M. P., R. W. ROSEBROUGH u. N. C. STEELE (1987):

Effects of starvation and refeeding on tissue zinc, copper and iron in turkey poults.

J Nutr 117, 481-489

SEMMLER, A., Y. SMULDERS, E. STRUYS, D. SMITH, S. MOSKAU, H. BLOM u. M. LINNEBANK (2008):

Methionine metabolism in an animal model of sepsis.

Clinical chemistry and laboratory medicine 46, 1398-1402

TOHJO, H., F. MIYOSHI, E. UCHIDA, M. NIIYAMA, B. SYUTO, Y. MORITSU, S. ICHIKAWA u. M. TAKEUCHI (1995):

Polyacrylamide gel electrophoretic patterns of chicken serum in acute inflammation induced by intramuscular injection of turpentine.

Poult Sci 74, 648-655

VISSCHER, C., R. GÜNTHER, A. ENGELS, C. LEIBFACHER u. D. RADKO (2015):

Case report: hepatic lipidosis in fattening turkeys.

Proceedings of the Society of Comparative Veterinary Nutrition accepted,

VISSCHER, C., L. MIDDENDORF, R. GÜNTHER, A. ENGELS, C. LEIBFACHER, H. MÖHLE, K. DÜNGELHOEF, S. WEIER, W. HAIDER u. D. RADKO (2017):

Fat content, fatty acid pattern and iron content in livers of turkeys with hepatic lipidosis.

Lipids in Health and Disease 16, 98

WALTERS, G. O., F. M. MILLER u. M. WORWOOD (1973):

Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects.

J Clin Pathol 26, 770-772

WARD, R. J., T. SMITH, G. HENDERSON u. T. PETERS (1991):

Investigation of the aetiology of haemosiderosis in the starling (*Sturnus vulgaris*).

Avian Pathology 20, 225-232

WEINBERG, E. D. (1975):

Metal starvation of pathogens by hosts.

Bioscience 25, 314-318

XIE, H., L. NEWBERRY, F. D. CLARK, W. E. HUFF, G. R. HUFF, J. M. BALOG u. N. C. RATH (2002):

Changes in serum ovotransferrin levels in chickens with experimentally induced inflammation and diseases.

Avian Dis 46, 122-131

6. Anhang

6.1 Veröffentlichte und eingereichte Fachpublikationen

Amino acid pattern in the liver and blood of fattening turkeys suffering from hepatic lipidosis

ist am 06.03.2019 vom Journal „Poultry Science“ zur Publikation angenommen worden

(<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez131>)

HEPATIC LIPIDOSIS: LIVER CHARACTERISTICS AND ACUTE PHASE PROTEINS IN AFFECTED TURKEYS

ist am 12.04.2019 beim „Animal Science Journal“ eingereicht worden.

6.2 Fachbeiträge auf Fachkonferenzen

12th Turkey Science and Production Conference

22.-23. März 2018, Chester, UK

L: MIDDENDORF, D. RADKO, K. DÜNGELHOEF, E. SIEVERDING, S. WEIER, H. WINDHAUS, H. MÖHLE, A. ENGELS, C. LEIBFACHER, R. GÜNTHER, C. VISSCHER

Hepatic lipidosis in turkeys: who is responsible? Infection or nutrition

Congress Proceedings, S.41-44

22nd Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition

06.-08. September 2018, München

L. MIDDENDORF, D. RADKO, K. DÜNGELHOEF, E. SIEVERDING, H. WINDHAUS, D. MISCHOK, C. F. VISSCHER

Hepatic Lipidosis: Amino acid relations in livers of healthy turkeys as well as in turkeys without/with clinical signs of disease in affected herds

Congress Proceedings, S. 174

Tierernährung für Tierärzte: Geflügelfütterung – Herausforderungen aus der Praxis

11. Oktober 2018, Hannover

L. MIDDENDORF, D. RADKO, K. DÜNGELHOEF, E. SIEVERDING, H. WINDHAUS, D. MISCHOK, C. F. VISSCHER

Lipidose der Mastpute – Fütterungseinflüsse?

Tagungsband S. 99-102

73. Jahrestagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie

März 2019, Göttingen

L. MIDDENDORF, D. RADKO, K. DÜNGELHOEF, E. SIEVERDING, H. WINDHAUS, D. MISCHOK, C. VISSCHER

Free amino acid pattern in serum of fattening turkeys suffering from hepatic lipidosis

Proc. Soc. Ntr. Physiol. 28, S. 93