

Aus dem Institut für Tierernährung
der Tierärztlichen Hochschule Hannover

**Untersuchungen an Ziervögeln (*Agapornis spp.*)
zur Verträglichkeit unterschiedlich hoher
Vitamin-K₃-Gehalte im Alleinfutter**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer
DOKTORIN DER VETERINÄRMEDIZIN
(Dr. med. vet.)
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

vorgelegt von
Carolin Hupfeld
aus Braunschweig

Hannover 2003

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. J. Kamphues

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. J. Kamphues
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. K. Pohlmeier

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.2003

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Einleitung	11
II. Schrifttum	13
1. Vitamin K	13
1.1 Vorkommen und Bedeutung	13
1.1.1 Vitamin K ₁ (Phyllochinon)	13
1.1.2 Vitamin K ₂ (Menachinon)	14
1.1.3 Vitamin K ₃ (Menadion)	14
2. Stoffwechsel und Verwertung von Vitamin K	16
2.1 Vitamin K ₁	17
2.2 Vitamin K ₂	17
2.3 Vitamin K ₃	18
3. Biologische Aktivität von Vitamin K-Verbindungen	18
3.1 Vitamin K ₁ , K ₂ und K ₃ im Vergleich	18
3.2 Vitamin K ₃ -Verbindungen	19
4. Bedarfswerte für Geflügel und Ziervögel	20
5. Vitamin K-Mangel bei Tieren	21
6. Toxizität von Vitamin K	22
6.1 Vitamin K ₁	22
6.2 Vitamin K ₂	23
6.3 Vitamin K ₃	23
6.3.1 Menschen	23
6.3.2 Mäuse, Ratten, Kaninchen, Hunde, Schweine, Pferde, Fische, Hühner, Katzen und Affen	24
6.4 In vitro – Toxizität	31
6.5 Lebensmittelrechtliche Bestimmungen	33
6.6 Futtermittelrechtliche Bestimmungen	33
7. Blutproben	34
7.1 Hämatokrit	34
7.2 Gesamtleukozyten	35
7.3 Differentialblutbild	36
7.3.1 Differenzierung der Zellen	36
7.3.1.1 Erythrozyten	36
7.3.1.2 Thrombozyten	36
7.3.1.3 Lymphozyten	37

7.3.1.4	Granulozyten	37
7.3.1.5	Monozyten	38
7.4	Retikulozytenfärbung und Heinz Innenkörper	39
7.5	Blutchemische Parameter	39
III.	Eigene Untersuchungen	45
A.	Material und Methodik	45
1.	Versuchstiere	46
2.	Haltung der Agaporniden	46
3.	Versuchsfutter	47
4.	Versuchsablauf	50
5.	Versuchdauer	50
6.	Allgemeinbefinden	51
7.	Futteraufnahme und –rückwaage	51
8.	Wasseraufnahme und –rückwaage	51
9.	Körpermasseentwicklung	52
10.	Qualität der Exkremete	52
11.	Blutbild und blutchemische Parameter	52
11.1	Blutentnahme	52
11.2	Blutprobenaufbereitung	53
11.3	Hämatokrit	53
11.4	Gesamtleukozyten	53
11.5	Differentialblutbild und Färbungen	55
11.6	Blutchemische Parameter	56
11.6.4	Gesamtprotein, Albumin, Globulin	56
11.6.1	GLDH, LDH, AST, CK	56
11.6.2	Harnsäure	57
11.6.3	Natrium, Kalium, Gesamtkalzium, ionisiertes Kalzium	57
11.7	Erstellung von Ausgangswerten	58
11.8	Überprüfung der Präzision der Leukozyte ndifferenzierung	58
12.	Pathologische Anatomie und Histologie	59
12.1	Untersuchungsmaterial	60
12.2	Probenaufbereitung für die Lichtmikroskopie	61
12.3	Färbemethoden	62

13. Bestimmung des Gehaltes an Vitamin K ₃ in den Lebern	63
14. Statistische Auswertung	63
B. Ergebnisse	64
1. Allgemeinbefinden	64
2. Futteraufnahme	65
3. Tägliche Aufnahme von Vitamin K ₃	68
4. Energieaufnahme	68
5. Körpermasseentwicklung	69
6. Wasseraufnahme	72
7. Qualität der Exkremente	74
8. Blutbild und blutchemische Parameter	74
8.1 Hämatokrit	74
8.2 Gesamtleukozyten	75
8.3 Differentialblutbild	78
8.4 Heinz-Innenkörper (Retikulozytenfärbung)	83
8.5 Blutchemische Parameter	83
9. Pathologisch-anatomische und histologische Befunde	87
9.1 Makroskopische Befunde	87
9.2 Mikroskopische Befunde	89
9.2.1 Ausstriche des Drüsenmagen- und Darminhaltes	89
9.2.2 Abklatschpräparate	89
9.2.3 Immunfluoreszenztest	90
9.2.4 Histologische Präparate	90
10. Mikrobiologische Befunde	97
11. Bestimmung des Vitamin K ₃ -Gehaltes in den Lebern	97
IV. Diskussion	99
1. Kritik der Methodik	100
2. Vergleichbarkeit der Dosierungen und Applikationen von Vitamin K ₃	105
3. Klinischer Gesundheitszustand und labordiagnostische Resultate	107

4. Blutparameter	109
4.1 Hämatologische Parameter	109
4.1.1 Vergleich der Gruppen miteinander und mit Ausgangswerten	109
4.1.2 Vergleich mit Referenzwerten anderer Autoren	110
4.2 Blutchemische Parameter	112
4.2.1 Vergleich der Gruppen miteinander und mit Ausgangswerten	112
4.2.2 Vergleich mit Referenzwerten anderer Autoren	115
5. Pathologisch-anatomische und histologische Befunde	116
6. Vitamin K₃- Gehalte in den Lebern	119
7. Schlussfolgerungen	120
V. Zusammenfassung	121
VI. Summary	124
VII. Literaturverzeichnis	127
VIII. Anhang	142
1. Tabellenanhang	142

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Alb	Albumin
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
Ca ²⁺	ionisiertes Kalzium
Ca ges.	Gesamtkalzium
CK	Kreatin Kinase
cm	Zentimeter
d	Tag
DIG	disseminierte intravasale Gerinnung
dl	Deziliter
EDTA	Aethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
et. al	und andere
g	Gramm
G	Giga
ggr.	geringgradig
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Glob	Globulin
HE	Hämalaun Eosin
I.E.	Internationale Einheit
i.p.	intraperitoneal
I.U.	International Unit
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
l	Liter
LD ₅₀	Letale Dosis für 50% der Probanden
LDH	Laktatdehydrogenase
m	männlich
MAB	Menadion Aminopyrimidinol Bisulfit
max.	maximal
MDB	Menadion Diaweridin Bisulfit
ME	umsetzbare Energie
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
min	Minuten
min.	minimal
MJ	Megajoule
MK	Menachinon
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MNB	Menadion Nicotinsäureamid Bisulfit
MPB	Menadion Dimethylpyrimidinol Bisulfit
MSB	Menadion Natrium (= Natrium) Bisulfit
MSBC	Menadion Natrium (= Natrium) Bisulfit Komplex

MTB	Menadion Trimethoprim Bisulfit
MW	Mittelwert
n	Anzahl
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
o.g.	oben genannt
pH	potentia Hydrogenii
s.	siehe
S.	Seite
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung
Std.	Stunde/n
Tab.	Tabelle
TP	Gesamtprotein
TS	Trockensubstanz
U	Unit
URICA	Harnsäure
uS	ursprüngliche Substanz
w	weiblich
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
%	Prozent
Ø	Durchschnitt
®	Eingetragenes Warenzeichen

Die chemischen Elemente werden gemäß dem internationalen Periodensystem abgekürzt.

I. Einleitung

Vitamin K gehört zu den fettlöslichen Vitaminen, sein Name wurde von der ursprünglichen Bezeichnung „Koagulationsvitamin“ abgeleitet.

Es fungiert als Kofaktor eines Enzyms, welches die Bildung von so genannten gla-Proteinen katalysiert. Zu den gla-Proteinen gehören neben den in der Leber synthetisierten Gerinnungsfaktoren Prothrombin, Faktor VII, IX, X, Protein C und S weitere Proteine, welche beispielsweise im Knochen- bzw. Kalziumstoffwechsel sowie bei der Zellatmung und dem Zellwachstum eine Rolle spielen. Darüber hinaus wirkt Vitamin K als Antioxidans der Zerstörung von Zellen durch freie Radikale entgegen (MARCHETTI et al. 2000).

Vitamin K existiert in drei verschiedenen, chemisch ähnlichen Verbindungen.

Vitamin K₁ (Phyllochinon), welches in grünen Pflanzenteilen synthetisiert wird, so dass diese die natürliche Quelle darstellen, Vitamin K₂ (Menachinon), das von Bakterien im Intestinum oder in verdorbenem Futter gebildet wird sowie Vitamin K₃ (Menadion), ein synthetisch hergestelltes Vitamin, welches insbesondere als Futterzusatzstoff Bedeutung hat.

In der Nutzgeflügelhaltung kommt es zum einen durch Erkrankungen wie Kokzidiose zu Blutungen im Darm, damit zu einem höheren Verbrauch an Gerinnungsfaktoren und einem höheren Vitamin K-Bedarf, andererseits wird durch antibiotische Behandlungen die mikrobielle Synthese im Darm gehemmt, so dass unter diesen Bedingungen Mangelsituationen entstehen können.

Für die orale Vitamin K-Applikation über das Futter wurden bisher überwiegend wasserlösliche Vitamin K₃-Derivate verwendet, da nur diese bis dato zugelassen waren. Seit dem Jahr 2000 ist auch Vitamin K₁ futtermittelrechtlich als Vitamin K-Quelle zugelassen.

Es wird neben einer verminderten Wirksamkeit gegenüber Vitamin K₁ und Vitamin K₂ (RYNCA 1984) auch die Verträglichkeit von Vitamin K₃ in Frage gestellt.

So wurde in den vergangenen Jahren vor allem in verschiedenen Zeitschriften für Vogelliebhaber und in einem Internetforum, aber auch in tiermedizinischen Fachzeitschriften wiederholt die Vermutung geäußert, dass Vitamin K₃ in hohen Dosen ein toxisches Potential für Ziervögel besitzen soll, welches für Vitamin K₁ nicht nachgewiesen werden konnte (VON LÜTTWITZ und SCHULZ 1997, SCHULZ und VON LÜTTWITZ 2000). Verschiedene der hier geäußerten Meinungen, Mutmaßungen und Befürchtungen waren kaum substantiiert, zumindest nicht mit wissenschaftlichen Untersuchungen an Ziervögeln oder am Geflügel zu belegen.

Aufgrund dieser Diskussion schien es notwendig, der Frage der Toxizität von Vitamin K₃ für Ziervögel nachzugehen, um eventuell längerfristig auftretende Schädigungen nach unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃-Aufnahme zu erkennen bzw. sicher ausschließen zu können.

Dazu wurden adulte Agaporniden (Kleinpapageien) ausgewählt, die hinsichtlich ihrer Ernährung bzw. üblichen Futtermittel sowohl den Großpapageien (Basis: größere fett- und eiweißreiche Samen und Saaten) als auch den Kanarien und Sittichen (Grundlage: kleinsämige und stärkereiche Produkte aus der Gruppe der Hirsen) vergleichbar sind.

II. Schrifttum

1. Vitamin K

1.1 Vorkommen und Bedeutung

Die Bezeichnung „Vitamin K“ beschreibt laut ENSMINGER et al. (1995) eine chemische Gruppe von Quinonen (deutsch: Chinonen, REUTER und REUTER 1995), die charakteristischerweise antihämorrhagische Eigenschaften besitzt. Darüberhinaus wird sie als Bezeichnung aller an C3 substituierten Derivate von 2-Methyl-1,4-Naphtochinon verwendet, die bei Tieren, welche eine Vitamin K-Mangeldiät erhalten, eine antihämorrhagische Aktivität zeigen (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987).

Vitamin K wurde 1929 von DAM in Untersuchungen an Hühnern nachgewiesen, denen gereinigte Nährstoffe gefüttert wurden und bei denen daraufhin Blutungen auftraten. Diese Blutungen konnten einige Jahre später auf das Fehlen eines fettlöslichen Faktors in der Nahrung zurückgeführt werden, der als Vitamin K (Koagulationsvitamin) bezeichnet wurde (KOLB et al. 1999). 1939 wurde das Vitamin in Reinform isoliert und konnte im selben Jahr erstmalig synthetisiert werden (ENSMINGER et al. 1995).

In der Gruppe der natürlich vorkommenden K-Vitamine unterscheidet man folgende Formen:

1.1.1 Vitamin K₁ (Phyllochinon)

Wie der Name erwarten lässt, kommt Phyllochinon in Pflanzen, insbesondere in grünen Pflanzenteilen, in relativ hohen Konzentrationen vor. Es stellt ein visköses Öl dar, welches unter dem Einfluss von Licht, Sauerstoff sowie Säuren oder Laugen instabil ist. Außer in grünen Blättern ist Vitamin K₁ auch in Pflanzenölen und in geringen Mengen in Rüben, Getreide sowie in Fleisch und Milch enthalten.

Chemisch handelt es sich um ein 2-Methyl-3-phytyl-1,4-Naphtochinon (KOLB et al. 1999), dessen Strukturformel in Abbildung 1 dargestellt ist.

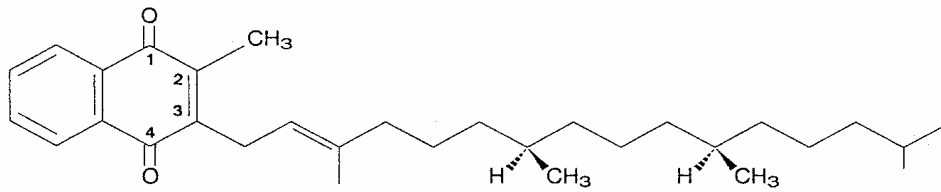


Abb. 1: Strukturformel von Vitamin K₁ (Phyllochinon)

1.1.2 Vitamin K₂ (Menachinon)

Eine Vielzahl chemischer Verbindungen, die sich alle vom Methyl-Naphtochinon ableiten und in Stellung 3 eine Multiisoprenyl-Seitenkette enthalten, werden unter dem Namen Vitamin K₂ zusammengefasst (s. Abbildung 2). Hierbei erfolgt die Bezeichnung „Menaquinon-n“ (NESTOR und CONRAD 1990, SHEARER et al. 1996, SUZUKI und OKAMOTO 1997) nach der Anzahl der Isopreneinheiten, welche zwischen 3 und 13 (z.B. Menachinon 4 oder MK 4, KOLB et al. 1999) bzw. sogar zwischen 2 und 14 variieren kann (SUZUKI und OKAMOTO 1997). Die Menachinone werden nur von Bakterien, beispielsweise auch im Darm, gebildet (MANDEL und COHN 1985, NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987, FRYE et al. 1991, ENSMINGER et al. 1995, KOLB et al. 1998 b, 1999, LEWIS und SOUTHERN 2001).

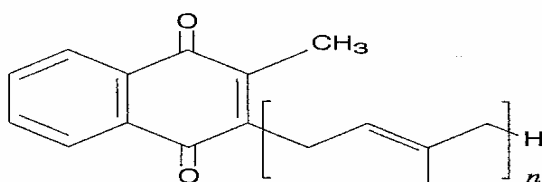


Abb. 2: Strukturformel von Vitamin K₂ (Menachinon, MK-n)

1.1.3 Vitamin K₃ (Menadion)

Vitamin K 3 ist ein von Natur aus fettlösliches 3-Methyl-Naphtochinon mit zwei Ketogruppen (s. Abbildung 3), das unter Licht- und Sauerstoffeinfluss zerfällt. Menadion ist chemisch einfach zu synthetisieren und wird in der Tierernährung in Form verschiedener, z. T. wasserlöslicher Additionsverbindungen eingesetzt.

Hierbei spielen neben Menadion-Natrium-Bisulfit (MSB, s. Abbildung 4) vor allem der Menadion-Natrium-Bisulfit-Komplex (MSBC), das Menadion-Nicotinsäureamid-Bisulfit (MNB) und das Menadion-Dimethylpyrimidinol-Bisulfit (MPB) eine Rolle (KOLB et al. 1999).

Diese Verbindungen weisen unterschiedliche Gehalte an Menadion auf, die in der Literatur widersprüchlich angegeben sind (s. Tabelle 1).

**Tab. 1: Gehalt an Menadion in verschiedenen Vitamin K₃-Verbindungen
(Angaben in %)**

MSB	MSBC	MNB	MPB	Autor(en)
33,0	50,0		45,0	NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1994)
50,0	33,0	43,7	22,5	KOLB et al. (1999)
		45,7		MARCHETTI et al. (2000)
50,0	33,0		45,4	LEWIS u. SOUTHERN (2001)

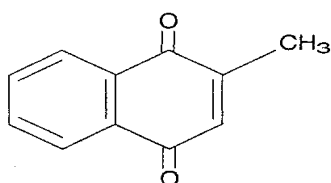


Abb. 3: Strukturformel von Vitamin K₃ (Menadion)

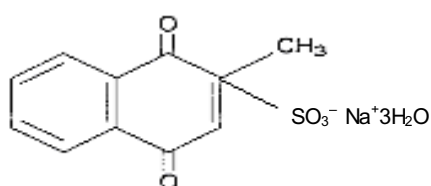


Abb. 4: Strukturformel von Menadion-Natrium-Bisulfit

MARCHETTI et al. (2000) stellen die Rolle des Vitamin K als Kofaktor eines Enzyms (Gamma-glutamylcarboxylase, KOLB et al. 1999) dar, welches die posttranslationale Konversion spezifischer Glutamyreste zu Gamma-carboxyglutamyl (gla)-Resten in verschiedenen Proteinen katalysiert.

Zu den gla-Proteinen gehören neben einer Anzahl von Blutgerinnungsfaktoren (Prothrombin, Faktor VII, IX, X, Protein C und S) auch Osteokalzin (= Bone-gla

Protein BGP) und das Matrix-gla Protein (MGP), die außer in kalzifizierten, auch in vielen anderen Geweben vorkommen (BINKLEY und SUTTIE 1995).

Vitamin K ist aufgrund der fehlenden Synthesemöglichkeit des 1,4-Naphtochinons in Säugerzellen ein essentielles Vitamin (LEWIS und SOUTHERN 2001) und wird zur Sicherung der Versorgung als Futterzusatz bei Vögeln und Tieren mit einhöhligen Magen eingesetzt. Wiederkäuer sind in der Lage, mit Hilfe der Mikroflora in den Vormägen größere Mengen an Vitamin K₂ zu bilden (KOLB et al. 1998 a, b) und weiter distal zu verwerten (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987). Andere Autoren vertreten allerdings die Meinung, dass die Absorption vor allem in den hinteren Darmabschnitten limitiert ist (ENSMINGER et al. 1995, LEWIS und SOUTHERN 2001). Vögel haben einen kurzen Magendarmtrakt - das Verhältnis von Körper- zu Darmlänge beträgt bei Agaporniden nur 1:1,9 (POHLMAYER und WENTHE 1997), im Vergleich zum kleinen Wiederkäuer mit 1:25 (NICKEL et al. 1987) - und beherbergen so wenige Mikroorganismen, dass sie im Futter eine Vitamin K-Quelle benötigen (ENSMINGER et al. 1995). Die Höhe der über das Futter zugeführten Dosis an Vitamin K ist jedoch von der durch Koprophagie aufgenommenen Menge des Vitamins abhängig, da Tiere einen Großteil des im Kot enthaltenen Vitamin K verwerten können (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987, ENSMINGER et al. 1995).

2. Stoffwechsel und Verwertung von Vitamin K

Die Absorption von Vitamin K findet laut ENSMINGER et al. (1995) hauptsächlich im oberen Dünndarm statt, wo 10 bis 70% absorbiert werden und nach unveränderter Passage über das Lymphsystem ihren Weg ins Blut finden. Dort wird das Vitamin an β -Lipoproteine gebunden und zur Leber und zu anderen Geweben (v. a. Haut und Muskulatur) transportiert, wo es in Form von Vitamin K₁ und Vitamin K₂ gespeichert wird. Zur Absorption ist die Anwesenheit von Gallensalzen und Pankreassaft für die Bildung der Mizellen notwendig (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987). Die Exkretion findet sowohl über die Nieren als auch via Faeces statt (KOLB et al. 1999, FRYE et al. 1991, ENSMINGER et al. 1995).

2.1 Vitamin K₁

Phyllochinon wird durch einen energieabhängigen, aktiven Prozess im proximalen Dünndarm absorbiert, und anschließend hauptsächlich über das lymphatische System transportiert (FRYE et al. 1991). Hierzu wird Vitamin K₁ im Dünndarmmesenchym in Mizellen eingebaut, so in die Epithelzellen geschleust und dort in Chylomikronen integriert, welche über die Lymphe ins Blut und von dort aus in die Leber transportiert werden (KOLB et al. 1999).

In Versuchen mit Hühnern zeigte sich, dass Vitamin K₁ in der Leber - neben der dort möglichen unveränderten Speicherung - hauptsächlich zu MK 4 verstoffwechselt wird. Bei Ratten hingegen findet nur eine geringere Umwandlung zu MK 4 statt, hier wurde nach Fütterung von Vitamin K₁ in der Leber auch hauptsächlich Vitamin K₁ nachgewiesen (WILL et al. 1992)

MK 4 wird wiederum zum Teil in die Gammaglutamat-Carboxylase eingebaut bzw. über VLDL (very low density lipoproteins) und LDL (low density lipoproteins) zu den Zielzellen (Knochen, Knorpel, Niere, Herzmuskel, Lunge) transportiert oder aber metabolisiert und dann über die Galle mit den Faeces oder über den Harn ausgeschieden (KOLB et al. 1999). Andere Autoren gehen davon aus, dass Vitamin K₁ nach oraler Verabreichung und Absorption nicht in Vitamin K₂ umgewandelt wird, sondern unverändert bleibt (NESTOR und CONRAD 1990).

2.2 Vitamin K₂

Gegenüber Phyllochinon wird Menachinon im Dünndarm (FRYE et al. 1991, KOLB 1998) bzw. im Dün- wie auch im Dickdarm (HOLLANDER 1973) passiv absorbiert. Auch Vitamin K₂ wird zur Resorption zunächst in Mizellen eingebaut und mittels Chylomikronen über die Lymphe ins Blut transportiert (KOLB et al. 1999). Die Speicherung findet ebenfalls hauptsächlich in der Leber statt, wobei die Speicherfähigkeit allerdings gering ist (KOLB 1998). In der Leber von Hühnern fanden WILL et al. (1992) neben einer großen Menge an MK 4 auch MK 5, 8, 9, 10 und 11.

2.3 Vitamin K₃

Vitamin K₃ wird bei Hühnern sowohl in proximalen als auch in distalen Darmabschnitten resorbiert (BERDANIER und GRIMMINGER 1968), wohingegen der Transport bei Ratten überwiegend durch passive, bidirektionale Diffusion im distalen Dünndarm stattfindet (HOLLANDER und TRUSCOTT 1974).

In Versuchen mit Kälbern stellte sich heraus, dass MSBC bei oraler Aufnahme (evtl. durch die intestinale Flora) in MK 4 (Vitamin K₂) umgewandelt, als solches absorbiert und in der Leber gespeichert wird (NESTOR und CONRAD 1990). ENSMINGER et al. (1995) gehen generell davon aus, dass Menadion immer zunächst in Vitamin K₂ umgewandelt werden muss, bevor es biologisch aktiv sein kann. Nach neueren Untersuchungen gelangen wasserlösliche Vitamin K₃-Verbindungen nach passiver Aufnahme in die Dünndarmschleimhaut entweder zum Teil direkt ins Blut oder sie werden zunächst durch die intestinale Flora in MK 4 umgewandelt, um nach Digestion der Bakterien freigesetzt und resorbiert zu werden (KOLB et al. 1999).

In Versuchen mit Hühnern wurde nach Fütterung einer Vitamin K₃ - haltigen Diät in der Leber hauptsächlich MK 4 nachgewiesen (WILL et al. 1992).

Bei Legehennen wurde nach Zufuhr von radioaktiv markiertem Vitamin K₃ im Eidotter nur radioaktiv markiertes Vitamin K₂ gefunden (GRIMMINGER u. BRUBACHER 1966).

3. Biologische Aktivität von Vitamin K-Verbindungen

In vielen Studien wurde die Wirksamkeit der verschiedenen Formen von Vitamin K anhand unterschiedlichster Prüfparameter untersucht. Die Resultate widersprechen sich zum Teil.

3.1 Vitamin K₁, K₂ und K₃ im Vergleich

QUICK und STEFANINI (1948) bewerten **Vitamin K₁** auf molarer Basis als geringfügig effektiver als **Vitamin K₃** (Menadion). Dem widersprechen andere Autoren (PERDUE et al. 1957), welche die Wirksamkeit von **Vitamin K₃** (MSB) auf molarer Basis als 1,7fach so hoch wie die von **Vitamin K₁** einschätzen.

Bei Hühnern hatten **Vitamin K₁ und K₂** - gemessen an der Synthese von Fibrin und der Menge des darin enthaltenen Proteins - die höchste Wirksamkeit.

In einer früheren Studie, in welcher die Stimulation der Transformation von Präprothrombin in Prothrombin die Bewertungsgrundlage bildete, zeigte sich ebenfalls, dass **Vitamin K₁ und K₂** nahezu gleichwertig und allen **Vitamin K₃**-Verbindungen überlegen waren (RYNCA 1983).

In Studien zum Vitamin-K-Bedarf von Hühnern, in denen die Körpermassenzunahme, der Futteraufwand sowie die Prothrombinzeit Prüfkriterien waren, zeigte sich hingegen, dass **Vitamin K₁ und Vitamin K₃** (MNB) auf molarer Basis nahezu gleich stark wirkten (NELSON und NORRIS 1960).

Im Hinblick auf eine Aktivitätssteigerung der Gammaglutamatcarboxylase sowie der Normalisierung von verlängerten Gerinnungszeiten bei Hühnern besaß allerdings wiederum **Vitamin K₃** eine höhere Wirksamkeit als **Vitamin K₁** (ALMQUIST 1954, WILL et al. 1992). Auch nach Verabreichung von Sulfachinoxalin - einem Antivitamin K - zeigten **Vitamin K₃**-Verbindungen bezüglich der anschließenden Synthese von Fibrin und des darin enthaltenen Proteinanteils die höchste therapeutische Effektivität (RYNCA 1984).

3.2 Vitamin K₃-Verbindungen

Auf molarer Basis ist die Wirksamkeit von **MSB und MSBC** beim Geflügel etwa 18-mal so hoch wie die von **Menadion** (SHELTON et al. 1956). In Studien an Puten zeigte sich jedoch, dass **MSB** auf molarer Basis nur 3mal so wirksam war wie **Menadion** (GRIMINGER 1957).

Bei gleicher Dosis erzielte **MPB** bei Hühnern eine, anhand der Prothrombinzeit bestimmte, etwas höhere Wirksamkeit gegenüber **MNB** (DUA und DAY 1965).

In neueren Untersuchungen wird die biologische Aktivität von **MSB, MSBC und MPB** im Geflügelfutter als nahezu gleichwertig angegeben (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987).

RYNCA (1983) beurteilte die Vitamin K₃-Verbindungen bezüglich ihrer Aktivität - gemessen an der Stimulation der Prothrombinbildung - folgendermaßen:

Menadion > MPB > MAB* > MDB** > MTB*** > MSB
--

* (Menadion Aminopyrimidinol Bisulfit)

** (Menadion Diaweridin Bisulfit)

*** (Menadion Trimethoprim Bisulfit)

In einer später durchgeführten Studie (RYNCA 1984), in welcher als Kriterium der Wirksamkeit die Fibrinmasse sowie der Proteingehalt im Fibrin überprüft wurden, kam der Autor hingegen zu folgender Rangierung:

Menadion > MPB > MTB > MAB > MDB > MSB
--

4. Bedarfswerte für Geflügel und Ziervögel

Der Bedarf eines Tieres an Vitamin K hängt von einer Vielzahl äußerer Einflüsse ab. Besonders Stresssituationen oder die Behandlung mit Antibiotika, Sulfonamiden oder Antikokkizidien bringen einen erhöhten Bedarf mit sich, da es hierbei zu einer Hemmung der intestinalen Flora und damit zu einer verminderten Synthese von Vitamin K₂ kommt. Darüber hinaus beeinflussen diese Medikamente die Absorption und den Transport ins Blut sowie die Aufnahme in die Gewebe nachteilig (MARCHETTI et al. 2000, GREEN 1966).

Unphysiologisch hohe Supplementierungen des Futters mit Vitamin A (220 000 IE/kg uS) erhöhen den Bedarf ebenfalls (GRIMINGER 1965).

Da die Aufnahme von Vitamin K - wie bei allen fettlöslichen Vitaminen - die Anwesenheit von Nahrungsfett, Pankreassekret bzw. Gallensaft erfordert, ist jede Störung der Resorptionsmechanismen (wie beispielsweise durch eine Gallengangsobstruktion) Ursache einer verminderten Verfügbarkeit (FRYE et al. 1991, KOLB et al. 1999). Die Möglichkeit zur Caeco-/Koprophagie und damit zur Aufnahme von bakteriell synthetisiertem Vitamin K₂, wie beispielsweise bei Kaninchen, beeinflusst entscheidend den Bedarf an diätetisch zugeführtem Vitamin K (ENSMINGER et al. 1995, LEWIS und SOUTHERN 2001).

Tabelle 2 enthält empfohlene Richtwerte zum **Vitamin K₃**-Gehalt im Futter für das Nutzgeflügel und für Ziervögel.

Tab. 2: Empfehlungen zum Vitamin K₃-Gehalt in Futtermitteln für das Nutzgeflügel bzw. für Ziervögel

K ₃ * (mg/kg uS)		Autor(en)
Geflügel	Ziervögel	
0,3 - 1,0		NELSON und NORRIS (1960)
0,5 - 1,5		NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1987)
1,0 - 2,0		ANONYM (1991)
Jungtiere: 2,0 - 5,0		
0,5 - 2,0		PULS (1994)
Puten: 1,0 - 4,0		
0,5 bis 1		NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1994)
Pute: 1,75	1,0 - 2,0	KOLB und SEEHAWER (2002)

*ungeachtet der Form

Bezüglich **Vitamin K₁** wird für das Nutzgeflügel ein Gehalt von 0,5 mg Vitamin K₁/kg Alleinfutter empfohlen (NELSON und NORRIS 1960).

5. Vitamin K-Mangel bei Tieren

Neben einer unzureichenden Versorgung über das Futter - vor allem bei Tieren, die haltungsbedingt (Flatdecks) keinen Kontakt zu ihren Faeces haben und denen somit die Möglichkeit zur Aufnahme von mikrobiell gebildetem Vitamin K₂ über den Kot bzw. die Einstreu fehlt (HOPPE 1987) - gibt es eine Vielzahl an Ursachen für eine Vitamin K-Mangelsituation.

So konnte bei Rindern nach Aufnahme von verpilztem Süßkleeheu das darin enthaltene Dicumarol als Antikoagulant und Vitamin K-Antagonist identifiziert werden (STAHLMANN et al. 1941). Auch Mykotoxine können einen sekundären Vitamin K-Mangel verursachen (FRYE et al. 1991).

Bei ungenügender Versorgung mit Vitamin K treten Hämorrhagien auf, die bei Hühnern in den Lungen, an den Ständern, serösen Häuten und am Darm beobachtet werden können (RYNCA 1984). Als Symptome einer Gerinnungsstörung sind eine verlängerte Prothrombinzeit oder eine verlängerte Blutungszeit möglich, die Folgen davon können Hämaturie bzw. Anämie sein (LEWIS und SOUTHERN 2001).

Grundsätzlich soll das Geflügel eher als andere Tierarten dazu neigen, Mangelsymptome zu entwickeln (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987). Unter normalen Haltungs- und Fütterungsbedingungen scheinen Vögel jedoch autark, das heißt nicht auf eine exogene Zufuhr von Vitamin K₃ angewiesen zu sein. Diese

Annahme bestätigt sich durch die Praxis, da im Futter anerkannter Futtermittelhersteller keinerlei Zusatz von Vitamin K enthalten ist (KAMPHUES 2003).

6. Toxizität von Vitamin K

Die potentielle Toxizität von Vitamin K-Verbindungen wird in der Literatur seit Jahrzehnten kontrovers diskutiert. Mitunter wird auch trotz nachgewiesener Schäden durch Applikation von Vitamin K-Verbindungen in zum Teil exzessiven Dosen das Risiko für die Gesundheit als gering eingestuft.

6.1 Vitamin K₁

Phyllochinon gilt bei jeglicher Form der Applikation - selbst in massiven Dosen - als nicht toxisch (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1987, FRIEDRICH 1987, ENSMINGER et al. 1995, BAYER und SCHMIDT 1991).

Beim Menschen wurden allerdings Fälle von allergischen Reaktionen, Hypertension bzw. Herzbeschwerden sowie Hautreaktionen an der Injektionsstelle nach **intravenöser** Applikation beschrieben (MILLER und HAYES 1982). Als Ursache wird die Verwendung pharmazeutischer Hilfsstoffe in den Injektionslösungen vermutet (BAYER und SCHMIDT 1991). Obwohl BARASH (1978) in einem Fallbericht über einen Patienten mit bestehender Lebererkrankung einen Kollaps der peripheren Gefäße nach **intravenöser** Gabe von Vitamin K₁ beschreibt, hält der Autor Vitamin K₁ im Vergleich zu K₃ für eine Verbindung mit minimaler Toxizität. Das NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1987) bestätigte seine Vermutung, dass die beschriebene Nebenwirkung eine Reaktion auf die pharmakologischen Hilfsstoffe war. OLSON (1994) berichtet von keinerlei toxischen Effekten von Phyllochinon nach 500facher **oralen** Überdosierung bei Menschen.

Auch in Tierversuchen konnte kein gesundheitsschädlicher Effekt nachgewiesen werden. Bei Fütterung von Vitamin K₁ bzw. MNB an Seelachse stellte sich die Mortalitätsrate bei den Fischen, die mit Vitamin K₁ supplementiertes Futter erhielten, als signifikant niedriger dar (GRISDALE-HELLAND et al. 1991). Bei der **oralen bzw. parenteralen** Verabreichung von bis zu 25 g Vitamin K₁/kg KM an Labortiere bzw.

25 g/kg KM an Hühner traten keine schädlichen Wirkungen von Vitamin K₁ auf (MOLITOR und ROBINSON 1940).

Da sich jedoch nach **oralen bzw. subkutanen** Applikation von Vitamin K₁ an Hunde in Dosen von bis zu 10 mg/kg KM bei einem von sieben Hunden Schäden in Form von Heinz-Körperchen entwickelten, schlossen FERNANDEZ et al. (1984) potentiell oxidative Effekte durch Vitamin K₁ an den Erythrozyten nicht aus.

6.2 Vitamin K₂

Selbst in hohen, von den Autoren nicht näher quantifizierten Dosierungen, ist Vitamin K₂ als nicht toxisch zu bewerten (ENSMINGER et al. 1995, FRYE et al. 1991), wobei die Autoren keine Angabe über die Art der Applikation machten.

6.3 Vitamin K₃

6.3.1 Menschen

Seit langer Zeit ist bekannt, dass nach **intramuskulären** Injektionen hoher Dosen von wasserlöslichen Vitamin K₃-Verbindungen vor allem bei unreifen Säuglingen Gesundheitsstörungen in Form von hämolytischer Anämie, Hyperbilirubinämie und Kernikterus (Schädigung der Ganglienzellen durch Bilirubineinlagerungen mit nachfolgenden Hirnschäden) eintreten können (ALLISON 1955, MEYER und ANGUS 1956, CROSSE et al. 1959, FRIEDRICH 1987, BAYER und SCHMIDT 1991, ULLREY 1991).

Darüber hinaus kann es zu einer Vermehrung der Retikulozyten und zur Bildung von Heinz-Innenkörpern in den Erythrozyten (BOUND und TELFER 1956, NITSCH 1957, VEST 1958, GLEIS 1958) sowie in schweren Fällen zu akuter hämolytischer Anämie mit Methämoglobinbildung und Hämoglobinurie kommen (WILLI 1956). Das Entstehen von hämolytischen Symptomen bei Frühgeborenen nach hohen **intramuskulären** Dosen synthetischer Vitamin K-Analoga wurde erstmals 1953 von GASSER beobachtet. Später wurde nach hohen Menadiongaben bei Säuglingen ein Anstieg des Serumbilirubins mit daraus resultierendem Kernikterus und nachfolgenden Todesfällen beschrieben (LAURENCE 1955).

Vermutlich werden die Schädigungen durch die Fähigkeit des Menadions verursacht, sich im Körper an Sulfhydrylgruppen zu binden, den Glutathion-Spiegel zu senken

und durch Interferenz mit dem Redoxsystem der Erythrozyten zur Bildung von Methämoglobin mit nachfolgender Hämolyse zu führen. Vor allem bei Neugeborenen und bei Patienten mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel wirkt Menadion toxisch (MILLER und HAYES 1982, BAYER und SCHMIDT 1991).

6.3.2 Mäuse, Ratten, Kaninchen, Hunde, Schweine, Pferde, Fische, Hühner, Katzen und Affen

Im Gegensatz zu den für Menschen durch **parenterale** Applikation von Vitamin K₃-Verbindungen beschriebenen Schädigungen sind in der Tiermedizin nur einige wenige klinische Fallberichte veröffentlicht.

So wurde eine bei einem Hund diagnostizierte Warfarinvergiftung mit einer **intramuskulär** verabreichten Dosis von zunächst 600 mg Vitamin K₁ (an zwei aufeinander folgenden Tagen) und danach 600 mg Vitamin K₃ (ebenfalls an zwei aufeinander folgenden Tagen) zu therapieren versucht. Diese Applikationen entsprachen einer 8,6- bzw. 11fachen Überdosierung. Daraufhin entwickelten sich eine Anämie mit Bildung von Heinz-Innenkörpern, eine Polychromasie und Anisozytose sowie eine Thrombozytopenie, eine Neutrophilie und eine Monozytose (FERNANDEZ et al. 1984). Im selben Jahr wurde in einem Fallbericht bei 5 Rennpferden von Störungen des Allgemeinbefindens und schweren irreversiblen Schädigungen der Nieren berichtet. Die entsprechenden histopathologischen und labordiagnostisch nachgewiesenen Veränderungen traten dabei nach **intramuskulärer** bzw. **intravenöser** Applikation von Vitamin K₃ (200 mg/Tier) auf, welches zur Prävention von Lungenbluten bzw. Epistaxis verwendet werden sollte (REBHUHN et al. 1984).

Daraufhin wurden verschiedene Toxizitätsstudien durchgeführt. Hierbei traten - unabhängig von der jeweiligen Tier- und Applikationsart - vor allem Schädigungen der Nieren, Leber und Milz sowie Störungen des Blutbildes, Verschiebungen im Elektrolythaushalt sowie Veränderungen in den blutchemischen Parametern auf. ANSBACHER et al. (1942) fanden allerdings heraus, dass eine **subkutane** Applikation von Vitamin K-Präparaten schädlicher ist als eine **orale** Verabreichung. Den Tabellen 3 bis 10 sind bisher ermittelte Symptome und Schäden bei den einzelnen Tierarten zu entnehmen:

Tab. 3: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Mäusen

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikations- Art*	Dauer	Symptome	Autor(en)
MB-Anhydrat	250	i.v.	einmalig	Mortalität: 50 %, Atemlähmung, Krämpfe, Tränenfluss, Exophthalmus	RICHARDS und SHAPIRO (1945)
Menadion	620 138	oral s.c.		Mortalität: 50 % Mortalität: 50 %	ANSBACHER et al. (1942)
Menadion	400-1200 620 50-250 138	oral oral i.p. s.c.	einmalig einmalig einmalig einmalig	Mortalität: 35 - 100 % Mortalität: 50 % Mortalität: 10 - 100 % Mortalität: 50 %	MOLITOR und ROBINSON (1940)
Menadion - Bisulfit	250	i.v.	einmalig	Mortalität: 50 %	

*i.v. = intravenös, i.m. = intramuskulär, s.c. = subkutan

Tab. 4: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Ratten

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikations- art	Dauer	Symptome	Autor(en)
Menadion	ansteigend: 5 - 40	oral	6 Wochen, 5 x pro Woche	Splenomegalie, Blutdruckabfall Christolysis in Mitochondrien, Disorganisation der Myofibrillen	MELGAR et al. (1991)
Menadion	350 500	oral oral	30 d 30 d	Anämie Mortalität: 100 %	MOLITOR und ROBINSON (1940)
Menadion- Bisulfit	175	s.c.	einmalig	Mortalität: 50 %	SMITH et al. (1943)
Menadion	10-100	oral	1-12 Monate	Anämie, Splenomegalie, Niere: zelluläre Infiltration (Retikulum- und Plasmazellen, Lymphozyten), Atrophie der Tubuli <i>Milz, Lymphknoten und Thymus:</i> Sinuserweiterung, Hämosiderose	SUNAGA et al. (1959)

	250	oral	1 Monat	Retikulozytenproliferation, Endothelzellvergrößerung, Anämie, Splenomegalie, Hepatomegalie, Thymusatrophie, Niere: Hämosiderose, Hyalin- ablagerungen, trübe Schwellung Milz: Sinuserweiterung, Hämo- siderose,	SUNAGA et al. (1959)
	500 und 1000	oral	3 d	Retikulozytenproliferation, Endothelzellvergrößerung, Mitosen, Lymphfollikelatrophie, Markinvolution, Trabekel- verdickung, Störung des Allgemeinbefindens, Erschöpfung, Gewichtsverluste, Todesfälle, Splenomegalie, Leber: fettige Infiltration, Vergrößerung der Kupfferschen Sternzellen, Milz: Sinuser- weiterung, Hämosiderose, Retikulozytenproliferation, Endothelzellvergrößerung	

Tab. 5: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Kaninchen

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikations- art	Dauer	Symptome	Autor(en)
MB- Anhydrat	120	i.v.	einmalig	Letale Dosis, Tod unter Krämpfen, Herzdilatation	RICHARDS und SHAPIRO (1945)
Menadion	230 - 280 40	oral s.c.	einmalig wiederholt	Tod durch Blutdruckabfall Anämie	ANSBACHER et al. (1942)

Tab. 6: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Hunden

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikationsart	Dauer	Symptome	Autor(en)
MSB	26	s.c./i.m.	3 d	Auftreten von Heinz-Innenkörperchen, Retikulozytose, Polychromasie, Anisozytose, hämolytische Anämie, Neutrophilie, Monozytose	FERNADEZ et al. (1984)
MS-Anhydrat	100 - 150	i.v.	einmalig	Salivation, Vomitus, Ruhelosigkeit, Zyanose, Methämoglobinämie, Todesfälle	RICHARDS und SHAPIRO (1945)
MS-Anhydrat	25 - 50 dann 80	i.v.	5 d	Letale Dosis, Anämie, beginnende Lebernekrose	
	15 - 40	i.v.	einmalig 15 d	Anämie, fettige Leberinfiltration, degenerative Nierenveränderungen, Zellveränderung der Nebennierenrinde	
Menadion	20 und 50 90	s.c. s.c.	7d einmalig	Anämie, verschorfende Wunden, Todesfälle Anämie, Hämoglobinurie, Urobilinogenurie	ANSBACHER et al. (1942)

Tab. 7: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Katzen

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikationsart	Dauer	Symptome	Autor(en)
Menadion	20 - 25 20	s.c. s.c.	5 d - 7 d 7 d	Anämie, Schorfbildung Todesfälle	ANSBACHER et al. (1942)

Tab. 8: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Schweinen

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikationsart	Dauer	Symptome	Autor(en)
MNB	500 - 2500	oral	28 d	AST und ALT erhöht nach 14 d	MARCHETTI et al. (2000)

Tab. 9: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Pferden

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikationsart	Dauer	Symptome	Autor(en)
MSB	2,5 - 5,0	i.m. / i.v.	einmalig	<p>Depressionen, Kolik, Hufrehe, Fieber, Anorexie, Polydipsie, Polyurie, Strangurie, Ödeme, vergrößerte Nieren, Hämaturie, Proteinurie, Azotämie, Hyponatriämie, Hypochloridämie, Hyperkaliämie, Hypercalciämie, Urämie, Creatinin erhöht,</p> <p><i>Nieren:</i> blass, diffuse Tubulusnekrosen und -dilatationen, Protein und Zelltrümmer in den Tubuli, interstitielle Ödeme, Fibrosen, Lymphozyteninfiltrationen, DIG*</p>	REBHUN et al. (1984)

* = disseminierte intravasale Gerinnung

Tab. 10: Effekte unterschiedlich hoher Dosierungen von Vitamin K₃ bei Hühnern

Präparat	Dosis (mg/kg KM)	Applikationsart	Dauer	Symptome	Autor(en)
Menadion	100 - 500	i.p.	einmalig	Mortalität: 70 - 90 %	MOLITOR und ROBINSON (1940)
Menadion	804	oral		Mortalität: 50 %	ANSBACHER et al. (1942)
MNB	1600	oral	14 d	reduzierte Gewichtszunahmen, erhöhte Mortalität	
MNB, MPB	1600	oral			
MNB	3000 bzw. 6000	oral	14 d	reduzierte Futteraufnahme und Gewichtszunahme, erniedrigte Hämoglobinkonzentration	ODUHO et al. (1993)
MNB	12	oral	25 Wochen	erhöhter Anteil spongöser Knochen bei Küken	FLEMING et al. (1998 a)

Nach einem 28wöchigen Einsatz eines **Futters** mit 30 mg MSB/kg uS konnten GRISDALE-HELLAND et al. (1991) bei Fischen keine Veränderungen bezüglich des Hämatokrits oder der Hämoglobinkonzentration feststellen. Bei Fütterung des mit MSB versetzten Futters wurde jedoch neben einem geringeren Wachstum eine signifikant höhere Verlustrate als bei Verwendung von Vitamin K₁ beobachtet.

Zudem wurde eine direkte synergetische Interaktion zwischen Vitamin A und Vitamin K ermittelt; bei Seelachsen, die eine Diät mit hoher Vitamin A-Supplementierung (50.000 IE/kg Futter) sowie Vitamin K₁ erhielten, war die Mortalität signifikant höher als bei Diäten ohne Vitamin A-Supplementierung.

Eine 93tägige **Fütterung** von bis zu 2000 mg MNB/kg Futter an Forellen führte hingegen zu keinen Veränderungen des Gewichts bzw. hämatologischer oder biochemischer Parameter (Hämoglobingehalt, Bilirubingehalt, AST, ALT). Zudem konnten keine histologischen Veränderungen an Leber, Niere oder Milz beobachtet werden (MARCHETTI et al. 1995 a, b).

Als Ursache der entstehenden Splenomegalie bei Ratten nach **oralen** Menadionapplikation wird die Beteiligung des retikuloendothelialen Gewebes der Milz an der Prothrombinsynthese diskutiert, die eventuell physiologisch durch Vitamin K₃ angeregt wird (SUNAGA et al. 1959).

Nach wiederholten **oralen** Gaben von 1 mg Menadion/kg KM wurden bei Affen ebenfalls keinerlei toxische Anzeichen festgestellt (ANSBACHER et al. 1942). Infolge einer 6wöchigen **oralen** Applikation von Menadion (bis zu 40 mg/kg KM) an Ratten konnten MELGAR et al. (1991) außer den oben genannten Veränderungen keine relevanten Schäden wie hämatologische Abweichungen, Veränderungen im EKG oder Störungen des Allgemeinbefindens ermitteln. Die Autoren schlussfolgerten daraus ein geringes Potential der gesundheitlichen Schädigung durch Menadion.

Oral verabreichte Mengen von täglich 2 mg Menadion/kg KM über einen Zeitraum von 72 Tagen bzw. 50 mg/kg KM an 13 Tagen verursachten bei Katzen keine toxischen Effekte (ANSBACHER et al. 1942).

Nach **Fütterung** von 100 bis 2500 mg MNB/kg KM an Schweine zeigten sich nach 28 Tagen im Vergleich zur Kontrollgruppe weder Veränderungen in der

Futteraufnahme, noch in der Körpermasseentwicklung. Auch der Hämoglobin- und Bilirubingehalt des Blutes blieben unbeeinflusst, woraus die Autoren eine hohe Toleranz von Schweinen gegenüber MNB schlussfolgerten (MARCHETTI et al. 2000). Dosen bis zu 1600 mg MNB/kg KM führten auch bei Hühnern zu keiner Erkrankung oder gar zu Todesfällen (ODUHO et al. 1993).

Trotz ihrer oben genannten Resultate (s. Tabelle 6) kommen RICHARDS und SHAPIRO (1945) zu dem Schluss, dass eine toxische Wirkung durch Menadion-Natrium-Anhydrat bei Hunden sehr selten vorkommt und nur in hohen Dosen möglich ist. Das letale Agens in Menadion-Bisulfit-Verbindungen ist nach ihren Angaben das Chinonradikal.

Da MSB seit langer Zeit weltweit in der Geflügel- und Ziervogelfütterung Einsatz findet und bislang keinerlei negative Auswirkungen festgestellt werden konnten, wurde die übliche Zulage von 1 bis 5 mg Vitamin K₃/kg Futter in der Ziervogelernährung als unproblematisch beurteilt (KOLB et al. 1998 a).

Laut Einschätzung des NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1987, 1994) hat Menadion nach **parenteraler** Applikation bei allen Tierarten - außer dem Pferd - eine LD₅₀ im Bereich von mehreren 100 mg/kg KM und kann **oral** ohne nachteilige Effekte in mindestens 1000facher Menge der benötigten Tagesdosis aufgenommen werden.

6.4 In vitro-Toxizität

Neben den oben beschriebenen Beobachtungen an Mensch und Tier sind zahlreiche Toxizitätsstudien an Zellkulturen und Organen veröffentlicht. Viele davon haben gezeigt, dass Menadion zelltoxisch wirken kann (THOR et al. 1982).

Zu den Gemeinsamkeiten der Chinone, zu denen auch die Vitamin K-Verbindungen gehören, zählen Eigenschaften wie Oxidationsvermögen, Elektrophilie und Farbigkeit, das heißt Lichtenergieabsorptionsvermögen (MONKS et al. 1992). Diese Besonderheiten können zu direkter Destruktion von Zellen durch Reduktion, Arylierung, Interkalierungen (Einschiebungen), DNA-Strangbrüchen sowie durch die Erzeugung von Radikalen und Interferenz mit der mitochondrialen Atmung führen

(KAPPUS und SIES 1981, SMITH et al. 1985, GAUT und COHEN 1987, BRUNMARK und CADENAS 1988). Ursache für die Toxizität von Vitamin K ist laut SMITH et al. (1985) die Entstehung von oxidativem Stress. Dabei können bereits geringe Differenzen in chemischen Eigenschaften zu enormen Unterschieden hinsichtlich der Toxizität führen (MONKS et al. 1992).

In Versuchen an isolierten Hepatozyten bzw. Lebergewebe von Ratten, welche mit Menadionlösung perfundiert wurden, konnte eine deutliche Störung der intrazellulären Ca^{2+} -Homöostase mit Anstieg des freien Ca^{2+} im Zytosol bzw. einer Ca^{2+} -Akkumulation in den Zellen festgestellt werden (MEHENDALE et al. 1985, NICOTERA et al. 1988).

In anderen Studien zeigte sich eine Emission von zellulären Thiolen (DI MONTE et al. 1984, BELLOMO et al. 1987, MIRABELLI et al. 1988), die zu einem Verlust der Lebensfähigkeit von Zellen (TOXOPEUS et al. 1993), einer Verringerung des ATP-Gehaltes (REDEGELD et al. 1989) sowie zur Oxidation der mitochondrialen Pyridinnukleotide führten (BELLOMO et al. 1982).

Die Inkubation von kortikalen Rattenastrozyten mit Menadion-Natrium-Bisulfit führte - ausgelöst durch die Bildung von reaktiven Sauerstoffverbindungen - zu einem zeit- und dosisabhängigen progressiven Zelltod (ABE und SAITO 1996).

Nach Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels in Rattenthrombozyten durch Menadion (MIRABELLI et al. 1988) kam es zur Lysis der Zellen und Abnahme der Thrombozytenzahlen sowie zu einer Freisetzung von intrazellulärem LDH (KIM et al. 1996).

CHUNG et al. (1999) zeigten ebenfalls an Rattenthrombozyten bzw. Ratten, dass das toxische Potential von Menadion gegenüber Thrombozyten durch die Anwesenheit von Plasma erhöht wird und schlussfolgerten, dass Menadion aufgrund der Anwesenheit von Plasma in vivo schädlicher sei als in vitro.

Menadion rief in Rattenfibroblasten Mutationen hervor, am häufigsten kam es hierbei zu Transversionen (57%) und Transitionen (39%), weiterhin trat ein gehäufter Zelltod in den Kulturen auf (ANDREW et al. 1999).

Auch der nachgewiesene positiv inotrope Effekt auf das Myocard von Meerschweinchen mit nachfolgend erhöhter Ruhespannung und systolischem

Stillstand wurde von den Autoren auf einen durch Menadion verursachten oxidativen Stress und damit verbundene erhöhte Freisetzung von Katecholaminen zurückgeführt (FLOREANI und CARPENEDO 1991, FLOREANI et al. 1989, 2000).

6.5 Lebensmittelrechtliche Bestimmungen

Die Food and Drug Administration der USA erlaubt in Nahrungszusätzen und Vitaminkapseln, die von Schwangeren eingenommen werden, kein Menadion (ENSMINGER et al. 1995).

6.6 Futtermittelrechtliche Bestimmungen

Nach § 16 (FMG) und Anlage 3 (FMVO) sind Vitamin K₁ und Vitamin K₃ als Dimethylpyrimidinolbisulfit-Präparate, Menadion-Natriumbisulfit-Präparate, Menadion-Natriumbisulfitreinsubstanzen sowie Menadion-Nicotinsäureamid-Bisulfit-Präparate für alle Tierarten in allen Futtermitteln ohne Mengenbegrenzungen zugelassen (WEINREICH et al. 2002).

Wie den Tabellen 3 bis 10 zu entnehmen ist, manifestieren sich die Schäden, die durch eine hohe orale Applikation von Menadion beobachtet wurden, neben Störungen des Allgemeinbefindens vor allem in Abweichungen der hämatologischen und blutchemischen Parameter sowie in pathologischen Organveränderungen. Vor dem Hintergrund, dass die Untersuchung von Blutproben ein auf dem Ziervogelsektor noch sehr unzureichend dokumentierter Bereich ist, scheint für die in dieser Studie durchgeführten Analysen ein Vergleich der empfohlenen Untersuchungsparameter sowie entsprechender Referenzwerte notwendig.

7. Blutproben

Die Erstellung von Referenzwerten ist vor allem bei selteneren Psittaciden schwierig, da die Population häufig aus verschiedenen Beständen mit unterschiedlichen Umwelteinflüssen rekrutiert wird und die Methoden nicht immer vergleichbar sind oder nicht angegeben werden. Dies führte zu weiten und schlecht definierten Referenzbereichen (SCOPE et al. 2002). Da Referenzwerte darüber hinaus von Individuen einer Gruppe gesunder Probanden unter exakt definierten Bedingungen erstellt werden sollten, sind diese nicht für alle Individuen einer Population gleichermaßen gültig (KRAFT 1997).

7.1 Hämatokrit

Der Hämatokrit wird als das Verhältnis der festen Blutbestandteile zum Gesamtblutvolumen (WEDEL 1999) bzw. der prozentuale Anteil der Erythrozytenmasse am Gesamtblut definiert (KRAFT 1997).

Werte unterhalb des Referenzbereiches sind Anzeichen für eine Anämie, Werte oberhalb dieses Bereiches sprechen für eine Dehydratation bzw. eine primäre oder sekundäre Polyglobulie des Vogels (LUMEIJ 1996, KRAFT 1997, WEDEL 1999).

Die Färbung der Plasmasäule gibt Hinweise auf Hämolyse, Ikterus und/oder Hyperlipidämien (SCOPE 1999).

In Tabelle 11 sind in der Literatur beschriebene Referenzwerte für Agaporniden bzw. Vögel im Allgemeinen aufgeführt.

Tab. 11: Referenzwerte für den Hämatokrit (Angaben in %) bei Agaporniden bzw. Vögeln allgemein

Art	Hämatokrit (%)	Autor
Agaporniden	38 - 50	FUDGE (1997)
Agaporniden	44 - 55	FUDGE (2000)
Vögel	32 - 58	LUMEIJ (1996)
Vögel	35 - 55	WEDEL (1999)
Vögel	35 - 55	SCOPE (1999)

7.2 Gesamtleukozyten

In der folgenden Tabelle 12 sind Referenzwerte für die Gesamtleukozytenzahl bei Agaporniden angegeben.

Tab. 12: Referenzwerte für die Gesamtleukozytenzahl (Angaben in G/l)

Art	Gesamtleukozyten (G/l)	Autor
Agaporniden	3,0 - 8,5	FUDGE (1997)
	3,0 - 8,0	CAL* (1998)
	7,0 - 16,0	FUDGE (2000)
	3,0 - 8,0	WEDEL (1999)

* = California avian laboratory

7.3 Differentialblutbild

7.3.1 Differenzierung der Zellen

Aufgrund der morphologischen Unterschiede zu Zellen des Säugerblutes soll hier eine Übersicht über die Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten des Vogels gegeben werden. Die Angaben der Kern- und Zytoplasmafarbe variiert je nach Färbemethode.

7.3.1.1 Erythrozyten

Vogelerythrozyten sind ovale Zellen mit einem zentralen, ovalen Kern und orangerosa gefärbtem Plasma (LUMEIJ 1996, WEDEL 1999), welches Chromatinverklumpungen zeigt (LUMEIJ 1996).

Unreife Erythrozyten stellen sich als basophile, polychromatische oder orthochromatische Erythroblasten dar (HAWKEY und DENNETT 1990), die rundlich sind und ein blaues Zytoplasma besitzen (LUMEIJ 1996). Retikulozyten sind geringfügig größer als reife Zellen und ihre zytoplasmatischen Strukturen sind netzförmig um den Kern angeordnet (WEDEL 1999). Die meisten Retikulozyten enthalten dunkle zytoplasmatische Einschlüsse oder retikuläre Strukturen (SCOPE 1999).

7.3.1.2 Thrombozyten

Häufig in Gruppen vorkommend, sind Thrombozyten ovale Zellen, die kleiner als Erythrozyten sind und ein größeres Kern-Zytoplasmaverhältnis besitzen. Ihr Kernchromatin ist dicht und klumpig, das Zytoplasma farblos (WEDEL 1999, LUMEIJ 1996), blaugrau oder hell violett (SCOPE 1999).

7.3.1.3 Lymphozyten

Bei den Lymphozyten der Vögel unterscheidet man zwischen großen, mittleren und kleinen Lymphozyten. Es sind runde Zellen mit einem zentral gelegenen runden Kern und einem dichten, dunklen Chromatin. Bis heute gibt es keinen Hinweis darauf, dass die Größe eine funktionelle Bedeutung hat (SCOPE 1999). Der Plasmasaum ist entsprechend der Größe der Lymphozyten unterschiedlich groß, das schwach basophile Plasma ist blau (WEDEL 1999). Lymphozyten sehen in gefärbten Blutaussstrichen häufig deformiert aus (HAWKEY und DENNETT 1990).

7.3.1.4 Granulozyten

Bei Vögeln werden die Granulozyten aufgrund des Färbeverhaltens der zytoplasmatischen Granula in Heterophile (Pseudoeosinophile), Eosinophile und Basophile eingeteilt, wobei die Heterophilen funktionell den Neutrophilen der Säuger entsprechen (SCOPE 1999).

- Heterophile Granulozyten

Heterophile sind runde Zellen mit farblosem oder schwach rosafarbenem (LUMEIJ 1996) bzw. bläulichem Plasma. Der Kern ist stäbchenförmig oder segmentiert und färbt sich purpurrot an (WEDEL 1999). Die sehr dicht liegenden azidophilen kristallinen Granula sind stäbchen-, sichel- oder spindelförmig (SCOPE 1999).

- Eosinophile Granulozyten

Hierbei handelt es sich um runde Zellen mit blassblauem Plasma und runden eosinophilen, kräftig gefärbten Granula. Die Färbung ist speziesabhängig (WEDEL 1999), für die meisten Papageienarten ist die Basophilie der eosinophilen Granula charakteristisch (HAWKEY und DENNETT 1990). Der Kern der Eosinophilen ist

meist zweilappig, intensiv gefärbt und stärker verklumpt als bei den Heterophilen, er wird häufig von runden Granula überdeckt (SCOPE 1999).

- Basophile Granulozyten

Basophile sind rund mit einem zentral gelegenen, runden oder selten zweigepalten Kern, der häufig von stark basophilen Granula überdeckt wird und sich intensiv purpur bis blau (WEDEL 1999) bzw. schwach basophil anfärbt (SCOPE 1999). Das Auftreten von Metachromasie wird für diese Zellart als typisch beschrieben (SCOPE 1999).

7.3.1.5 Monozyten

Monozyten kommen in Vogelblutausstrichen sehr selten vor (FUDGE 1997), es handelt sich um sehr große, unregelmäßig geformte Zellen mit nierenförmigem oder zweifach gelapptem Kern (WEDEL 1999), der durch die lockere Verteilung des Chromatins relativ schwach angefärbt ist (SCOPE 1999). Das Zytoplasma ist graublau und enthält manchmal feine Granula oder Vakuolen (WEDEL 1999).

Referenzwerte für Leukozyten bei Agaporniden sind der Tabelle 13 zu entnehmen.

Tab. 13: Referenzwerte (Angaben in %) für Leukozyten bei Agaporniden

Lymphozyten in %	Heterophile in %	Basophile in %	Monozyten in %	Eosinophile in %	Autor
25 – 50	50 - 75	0 - 1	0 - 2	0 - 1	FUDGE (1997)
20 – 55	40 - 75	0 - 6	0 - 2	0 - 1	WEDEL (1999)
20 – 53	40 - 56	0 - 2	0 - 1	0 - 2	FUDGE (2000)
28 – 52	41 - 71	0 - 1	0 - 1	0 - 1	CAL* (1998)

* = California avian laboratory

7.4 Retikulozytenfärbung und Heinz-Innenkörperchen

Heinz-Innenkörperchen sind fokale Präzipitate von denaturierten Hämoglobinketten innerhalb der Erythrozyten, die durch Oxidationsprozesse entstehen (GORDON - SMITH und WHITE 1974, HAWKEY und DENNETT 1990). Sie bilden sich nach Einwirkung bestimmter Verbindungen auf der Basis einer oxidativen Denaturierung des Hämoglobins und führen bei anhaltender Einwirkung der giftigen Verbindungen durch frühzeitige Elimination der funktionell minderwertigen Erythrozyten zur Anämie (WIESNER und RIBBECK 1991).

Die Darstellung von Heinz-Innenkörpern erfordert eine spezielle Färbung, die auch als Vitalfärbung bezeichnet wird. Dabei handelt es sich allerdings nur um die Färbung unfixierter, nicht aber um die lebender Zellen. Am häufigsten wird die alkoholische Brillantkresylblaulösung verwendet. Heinz-Innenkörper sind an ihrem kräftig mittelblau gefärbten, klumpigen Hämoglobinanteil zu erkennen (KRAFT 1997). Nur Katzen besitzen physiologischerweise einige Heinz-Innenkörper (KRAFT 1997). Sie sind auch bei Vögeln beschrieben worden und hier pathologisch zu werten (HAWKEY und DENNETT 1990).

7.5 Blutchemische Parameter

Aus der Reihe biochemischer Untersuchungsparameter sind mangels entsprechend notwendiger Erfahrungen und physiologischer Besonderheiten nur einige wenige beim Vogel sinnvoll zu bestimmen. Die Entwicklung der Trockenchemie ermöglicht die Verwendung sehr geringer Blutmengen (MC CRACKEN 1993). Abhängig von der Art des Analysengerätes werden nur 10 – 30 µl Plasma pro Bestimmung benötigt (WEDEL 1999).

Variationen der Werte sind stets im Zusammenhang mit anderen Diagnoseverfahren zu beurteilen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Referenzwerte sich abhängig von Spezies, Alter, Geschlecht, Reproduktionsphase, Klima und Jahreszeit sowie der jeweiligen Futteraufnahme unterscheiden (WEDEL 1999). Als Faustregel gilt, dass

bei Veränderungen um mehr als 50 % ein Indiz für pathologische Prozesse vorliegt (HOCHLEITHNER 1991).

- Gesamtprotein, Albumin und Globulin

Die Blutproteine teilen sich in die Albumin- und die Globulinfraction. Da beim Vogel keine verlässliche Methode zur Albuminbestimmung existiert, wird dieses durch Subtraktion des Globulinwertes vom Gesamteiweiß allgemein nur errechnet. Ein Anstieg von TP ist bei einem entzündlichen Geschehen zu beobachten, eine reduzierte Proteinkonzentration weist auf Blutverluste, Hunger oder Enteropathien mit Proteinverlusten hin (FUDGE 1997).

- Glutamatdehydrogenase, GLDH

Dieses Enzym kommt nur in den Mitochondrien der Hepatozyten vor, ist dort fest verankert und laut LUMEIJ (1994) auch beim Vogel leberspezifisch. Erhöhte GLDH-Aktivitäten treten einzig bei schweren hepatozellulären Schädigungen auf (FUDGE 1997, LUMEIJ 1996, HOCHLEITHNER 1999).

- Laktatdehydrogenase, LDH

LDH kommt in Erythrozyten und Zellen von Herz- bzw. Skelettmuskel, Leber und Nieren vor (LUMEIJ 1994). Aus einer Verletzung von somatischen Zellen resultiert also eine Erhöhung der LDH-Konzentration, wobei die Konzentration dieses Enzyms schnell ansteigt und wieder abfällt (LUMEIJ und WOLFSWINDEL 1987, LUMEIJ 1994, 1996). Obwohl LDH nicht leberspezifisch ist, kann eine akute oder chronische Leberschädigung zu höheren LDH-Werten führen (LUMEIJ 1994, HOCHLEITHNER 1999). Darüber hinaus steigen bei Muskeltraumata oder Hämolyse die Werte möglicherweise an (FUDGE 1994), weshalb immer auch die Creatinkinase als Absicherung eines Verdachtes auf eine Leberschädigung mitbestimmt werden sollte (FUDGE 1997, WEDEL 1999).

- Aspartat - Transaminase, AST

Obwohl auch AST nicht leberspezifisch ist (LUMEIJ und WOLFSWINKEL 1987, LUMEIJ 1994, WEDEL 1999), wird dieses Enzym häufig als Indikator für Leberprobleme bestimmt (FUDGE 1997). Wie bei der LDH steigt die AST-Konzentration im Plasma bei Verletzung von Leber-, Herz- und Skelettmuskelzellen an, bleibt jedoch langfristiger hoch als LDH (LUMEIJ 1994, LUMEIJ und WOLFSWINKEL 1987). Ein Anstieg bedeutet nicht unbedingt eine Leberschädigung, so wie das Abfallen der Plasmawerte nach einem Anstieg nicht bedeutet, dass die Leber gesund ist, sondern lediglich das Ende der aktuellen Schädigung anzeigt (FUDGE 1997). Bei einigen Vögeln kam es nach der Fibrosierung von Lebergewebe zu niedrigen Enzymaktivitäten von AST (LUMEIJ 1994).

- Kreatin-Kinase, CK

Kreatin-Kinase wird in Herz- und Skelettmuskulatur sowie in Nervengewebe gefunden, erhöhte Aktivitäten sind meistens eine Folge von Muskelerkrankungen oder Traumata (LUMEIJ 1994, LUMEIJ und WOLFSWINKEL 1987). Die Messung dieses Enzyms ist wichtig zur Unterscheidung einer muskel- bzw. leberbedingten Erhöhung von AST und LDH (FUDGE 1997, WEDEL 1999)

- Harnsäure, UA

Die Erhöhung der Harnsäurekonzentration gilt als typisches Anzeichen für eine Nierenerkrankung, bei mittlerer bis stärkerer Erhöhung der Konzentration im Plasma hat bereits eine Tubulusschädigung stattgefunden (LUMEIJ u. WOLFSWINKEL 1987). Verringerte Werte kommen gelegentlich bei Leberfunktionsstörungen vor (FUDGE 1997). Ein normaler Harnsäurewert beweist hingegen nicht eine normale Nierenfunktion. Erhöhte Harnsäurekonzentrationen deuten auf eine renale Dysfunktion, eine Dehydratation oder auch auf einen postprandialen Zustand hin (LUMEIJ 1996). Anderen Autoren zufolge steigen die Harnsäurewerte erst an, wenn

die Ausscheidungsfähigkeit der Nieren auf 20 – 30 % des Normwertes reduziert ist, deshalb sei die Kontrolle dieses Wertes nur eingeschränkt brauchbar (WEDEL 1999). Darüber hinaus bestehe ein deutlicher Einfluss der Proteinaufnahme auf den Harnsäurespiegel im Plasma (OTTE 1997), weshalb die Werte immer im Zusammenhang mit dem Proteingehalt im Futter zu werten sind.

- Kreatinin, CREA

Kreatinin dient zur Diagnostik von Nierenerkrankungen (CAMPBELL 1997). Die Plasmakonzentration steigt bei einer eingeschränkten Nierenfunktion an (WEDEL 1999). Im Gegensatz dazu halten andere Autoren Kreatinin allerdings für keinen verlässlichen Indikator einer Nierenfunktionsstörung (FUDGE 1997).

- Harnstoff, UREA

Für die Diagnostik von Störungen im Wasserhaushalt (KUMMERFELD et al. 1985) sowie zur Aufdeckung prärenalere Ursachen eines Nierenversagens ist die Bestimmung des Blutharnstoffs beim Vogel ein sinnvoller Parameter (LUMEIJ 1993). Allerdings wird möglicherweise durch eine Erschöpfung der Ausscheidungskapazität der Niere bei bedarfsüberschreitender Proteinversorgung auf Harnstoff als Ausscheidungsprodukt zurückgegriffen (OTTE 1997). Zur Überprüfung der Nierenfunktion ist die Messung der Harnstoffkonzentration bei Vögeln jedoch nicht geeignet (FUDGE 1997, HOCHLEITHNER 1999).

- Natrium

Natrium kommt hauptsächlich in der extrazellulären Flüssigkeit vor und ist für die Volumenkonstanz und die Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes verantwortlich. Abnormale Werte sind selten (straff reguliert), weisen aber auf schwere pathologische Veränderungen hin (HOCHLEITHNER 1999).

- Kalium

Eine Erhöhung der Plasmakaliumwerte spricht für eine renale Dysfunktion oder einen Mineralokortikoidmangel (LUMEIJ 1996). Eine unsachgemäße Behandlung der Blutproben kann hingegen zu niedrigen Werten führen (HOCHLEITHNER 1999, LUMEIJ 1996), artifiziell kann daneben eine Hämolyse erhöhte Kaliumwerte bewirken (FUDGE 1994).

- Gesamtkalzium und ionisiertes Kalzium

Kalzium kommt im Blut in ionisierter und proteingebundener Form vor, wobei nur der ionisierte Anteil physiologisch aktiv ist (WEDEL 1999). HOCHLEITHNER (1999) beschreibt darüber hinaus das Vorkommen von chelatgebundenem Kalzium wie Ca-Phosphat oder Ca-Citrat. Niedrige Werte des proteingebundenen Kalziums seien nicht von klinischem Interesse.

In seinen Versuchen an Graupapageien zeigte der Autor, dass eine Hypokalzämie als Begleiterscheinung einer Hypalbuminämie auftreten kann (LUMEIJ 1990). Dies kann damit erklärt werden, dass das meiste Kalzium proteingebunden ist (FUDGE 1994). LUMEIJ (1996) empfiehlt deshalb grundsätzlich die gemeinsame Bestimmung von TP und Kalzium.

Kalziumimbalancen aufgrund ernährungsbedingter oder metabolischer Probleme treten bei Vögeln häufig auf (FUDGE 1997), ein kurzfristiger Anstieg der Ca-Konzentration kann Folge einer Legeaktivität sein (WEDEL 1999).

In Tabelle 14 wird eine Übersicht zu Referenzwerten bei Agaporniden gegeben.

Tab. 14: Referenzwerte verschiedener Plasmaparameter bei Agaporniden

Parameter	Einheit	Wert	Einheit	Wert	Quelle
TP	g/l	28 – 44	g/dl	2,8 - 4,4	FUDGE (1997)
		18 - 37		1,8 - 3,7	FUDGE (2000)
Alb	g/l	12 - 21	g/dl	1,2 - 2,1	FUDGE (2000)
		20 – 28		2,0 - 2,8	FUDGE (1997)
		3 - 9		0,3 - 0,9	CAL* (1998)
Glob	g/l	6 - 16	g/dl	0,6 - 1,6	FUDGE (2000)
GLDH	U/l	0,9 – 9,0			FUDGE (1997)
LDH	U/l	105 - 355			FUDGE (1997)
		225 - 354			FUDGE (2000)
		230 – 345			CAL (1998)
AST	U/l	110 - 345			FUDGE (1997)
		130 - 360			FUDGE (2000)
		130 – 343			CAL (1998)
CK	U/l	52 - 245			FUDGE (1997)
		160 - 392			FUDGE (2000)
		160 – 320			CAL (1998)
URICA	µmol/l	208 – 654	mg/dl	3,5 - 11,0	FUDGE (1997)
		196 – 654		3,3 - 11,0	FUDGE (2000)
		190 – 607		3,2 - 10,2	CAL (1998)
Na	mmol/l	132 - 168	mg/dl	303 - 386	FUDGE (1997)
K	mmol/l	2,1 - 4,8	mg/dl	8,19 – 18,72	FUDGE (1997)
Ca			mg/dl	8,0 - 14,0	FUDGE (1997)
				8,4 - 11,7	FUDGE (2000)
				8,6 - 11,5	CAL (1998)

* = California avian laboratory

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Insbesondere durch einige in Zeitschriften für Vogelliebhaber, aber auch tierärztlichen Fachzeitschriften veröffentlichte Meldungen über mögliche nachteilige Effekte einer Vitamin K₃-Supplementierung von Futtermitteln für Ziervögel kam es in jüngster Zeit zu einer erheblichen Verunsicherung bei Vogelbesitzern, Mischfutterherstellern und Tierärzten. In Folge dieser Entwicklung häuften sich Anfragen an das Institut für Tierernährung, in denen um eine Stellungnahme zu diesen Behauptungen gebeten wurde. Zur Klärung dieser Fragen sollte mit der vorliegenden Untersuchung die Verträglichkeit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Dosierungen im Futter für Ziervögel eruiert werden. Modellhaft wurden hierfür Agaporniden ausgewählt, die in 3 Gruppen unterschiedlich mit Vitamin K₃ versorgt wurden: ohne Vitamin K₃-Zusatz, ca. 12faches bzw. ca. 75faches des Bedarfs.

Hierbei wurde ein möglichst praxisnahes Vorgehen angestrebt, weshalb nicht die Effekte einer einmalig extrem hohen oralen Dosierung, sondern vielmehr erst die nach längerfristiger Applikation eventuell auftretenden nachteiligen Auswirkungen einer hohen Vitamin K₃-Aufnahme aufgedeckt werden sollten. Aus diesem Grunde wurde eine Dauer der Fütterungsversuche von mindestens 6 Monaten festgelegt, in denen das Allgemeinbefinden und der gesundheitliche Status der Probanden klinisch und mit Hilfe diverser labordiagnostischer Untersuchungen beurteilt wurden. Darüber hinaus sollten am Versuchsende einzelne Tiere aus jeder Gruppe einer näheren pathologisch-anatomischen sowie histologischen Untersuchung unterzogen werden, um mögliche negative Effekte (Organ- bzw. Gewebeveränderungen etc.) erkennen zu können. Nach dem eigentlichen Versuchsende (nach 6 Monaten) erhielten die verbliebenen Vögel aus der Kontrollgruppe (ohne Vitamin K₃-Zusatz) sowie der Versuchsgruppe V2 (Vitamin K₃-Zusatz 200 mg/kg Futter) zur Dokumentation der Verträglichkeit noch für bis zu 4 Monaten das pelletierte Alleinfutter, so dass am Ende die Auswirkungen einer hohen Vitamin K₃-Aufnahme über eine Dauer von etwa 10 Monaten beurteilt werden konnten.

1. Versuchstiere

Zur Durchführung der Versuche standen 36 adulte Agaporniden (*Agapornis spp.*) beiderlei Geschlechts zur Verfügung. Die Versuchstiere stammten aus dem institutseigenen Vogelbestand und wurden zufällig auf drei verschiedene Gruppen (Kontrollgruppe = K, Versuchsgruppe 1 = V1 und Versuchsgruppe 2 = V2) aufgeteilt. Die Probanden der Gruppe K wogen zu Beginn der Versuche durchschnittlich $50,4 \pm 5,20$ g, die der Gruppe V1 $50,6 \pm 3,25$ g und die Agaporniden der Gruppe V2 hatten eine mittlere KM von $48,8 \pm 5,10$ g.

2. Haltung der Agaporniden

Die Versuchstiere wurden während des gesamten Versuches zu zweit in speziellen Bilanzkäfigen gehalten. Diese waren aus Kunststoff gefertigt und zu drei Seiten geschlossen (Länge x Höhe x Tiefe = 80 x 40 x 40 cm). Die Front bestand aus einem Metallgitter, in dem jeweils zwei Sitzstangen und ein Wasserspender angebracht waren. Um das Sammeln der Futterreste während der Versuche zu ermöglichen, bestand der Boden der Käfige aus herausnehmbaren Kunststoffschubladen. Auf dem Boden stand pro Käfig ein Kunststoffnapf für das Futter.

Während der gesamten Versuchsphase erhielten die Agaporniden keine Einstreu.

Die Käfige waren so aufgestellt, dass die Vögel Sichtkontakt zueinander hatten.

Die Raumtemperatur betrug über die gesamte Versuchszeit 19 – 29 °C, die absolute Luftfeuchtigkeit variierte zwischen 48 und 66%.

Die Hellphase betrug 14 Stunden (6.00 bis 20.00 Uhr), die Dunkelphase 10 Stunden (20.00 bis 6.00 Uhr). Die Beleuchtung erfolgte über „day-light“ - Röhren.

3. Versuchsfutter

Die Agaporniden erhielten während der Versuche ein eigens hergestelltes Alleinfutter in pelletierter Form (Vermeidung von Selektion und somit Sicherung der Vitamin K₃-Aufnahme), welches aus für Sämereienmischungen üblichen Komponenten bestand und die in Tabelle 15 dargestellte Zusammensetzung aufwies:

Tab. 15: Botanische Zusammensetzung (Grundmischung) des für den Versuch hergestellten Alleinfutters für Agaporniden (Angaben in %)

Komponente	Anteil (%)
Haferkerne	60,00
Maiskörner	30,00
Sonnenblumenöl, raffiniert	2,00
Futterkalk	1,40
Sonnenblumenkerne	5,00
L-Lysin	0,50
Korvimin©*	0,40
hydrolysiertes Federmehl	0,35
NaCl	0,18
DL-Methionin	0,17

*Spezialmischung, daher Vitamin K frei

Diese Grundmischung wurde in drei Portionen aufgeteilt und diesen entsprechend der einzelnen Versuchsgruppen verschiedene Gehalte an Menadion-Natrium-Bisulfit (50 % Menadiongehalt, Firma Hoffmann La Roche AG, Grenzach - Wyhlen) zugefügt (s. Tabelle 16). Anschließend wurde das Futter pelletiert, die Pellets hatten 1,5 mm Durchmesser und eine durchschnittliche Länge von 6 mm. Sie wurden in geschlossenen, lebensmittelechten Säcken in einem dunklen Raum bei ca. 6 °C gelagert.

Tab. 16: Zusatz an MNB (50 % K₃-Gehalt) zur Grundmischung und angestrebter Vitamin K₃-Gehalte der für den Versuch hergestellten Alleinfuttermittel für Agaporniden (Angaben in mg/kg TS))

Gruppe	Zusatz an MNB	angestrebter Vitamin K ₃ -Gehalt
Kontrollgruppe (K)	0	0
Versuchsgruppe 1 (V1)	40	20
Versuchsgruppe 2 (V2)	400	200

Die Ergebnisse der chemischen Analyse des Futters zu Versuchsbeginn sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tab. 17: Chemische Zusammensetzung (Nährstoff und Energiegehalt) der pelletierten Alleinfuttermittel in den einzelnen Versuchsgruppen

Nährstoff	Kontrollfutter (K)	Versuchsfutter 1 (V1)	Versuchsfutter 2 (V2)
Trockensubstanz (g/kg uS)	884,9	885,9	886,0
Rohasche (g/kg TS)	32,2	34,6	30,9
Rohprotein (g/kg TS)	149,5	142,2	137,1
Rohfett (g/kg TS)	117,1	116,7	109,8
Rohfaser (g/kg TS)	22,0	19,6	16,6
NfE (g/kg TS)	679,2	686,9	705,6
Stärke (g/kg TS)	562,1	563,2	589,1
Zucker (g/kg TS)	18,1	18,38	16,85
ME* (MJ/kg TS)	15,95	15,85	15,94
Ca (g/kg TS)	6,6	7,0	6,7
Mg (g/kg TS)	1,6	1,6	1,4
P (g/kg TS)	4,9	4,8	4,4
Na (g/kg TS)	1,3	1,3	1,1
K (g/kg TS)	4,3	4,2	4,1
Cl (g/kg TS)	3,4	3,3	3,0
Cu (mg/kg TS)	7,2	7,9	8,5
Zn (mg/kg TS)	54,6	46,7	47,8
Fe (mg/kg TS)	214,2	142,6	168,8
Mn (mg/kg TS)	50,7	49,2	47,8
Se (mg/kg TS)	0,1	0,1	0,1

kalkuliert anhand der Schätzformel: ME (MJ/kg) = 0,01551 x g Rp + 0,03431 x g Rfe
+ 0,01669 x g Stärke + 0,01301 x g Zucker

Die Analyse auf Vitamin K₃ ergab die in Tabelle 18 dargestellten Gehalte in den pelletierten Alleinfuttern:

Tab. 18: Vitamin K₃-Gehalte der für den Versuch hergestellten Alleinfuttermittel für Agaporniden (Angaben in mg/kg TS) zu Versuchsbeginn

Gruppe	Vitamin K ₃ -Gehalt
Kontrollfutter (K)	< 1,0
Versuchsfutter 1 (V1)	Ø 26,6*
Versuchsfutter 2 (V2)	170,0

* Mittelwert aus zwei Messungen

Die Abweichungen von der ursprünglich zugesetzten Menge an K₃ und den tatsächlich analysierten Gehalten in Gruppe V1 und V2 können durch eine nicht ganz homogene Mischung des zugesetzten MNB bedingt sein, eventuell sind die Verluste in Gruppe V2 aber auch durch das Pelletieren verursacht.

Der Menadion-Gehalt der drei Mischfuttermittel wurde vor Versuchsbeginn und nach Abschluss der Versuche (nach 6 Monaten) durch die Firma Hoffman la Roche AG, Grenzach-Wyhlen wie auch durch die landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Kiel bestimmt. Auch nach sechsmonatiger Lagerung waren noch folgende Gehalte im Alleinfutter der drei Gruppen nachzuweisen (s. Tabelle 19):

Tab. 19: Vitamin K₃-Gehalte in den einzelnen Gruppen des für den Versuch hergestellten Alleinfutters für Agaporniden nach sechsmonatiger Lagerung (Angaben in mg/kg TS)

Gruppe	Vitamin K ₃ -Gehalt
Kontrollfutter (K)	< 1
Versuchsfutter 1 (V1)	5,02
Versuchsfutter 2 (V2)	95,24

Zudem wurde der Gehalt an Vitamin A und Vitamin E (α-Tocopherol) im Institut für Physiologische Chemie der Tierärztlichen Hochschule Hannover ermittelt. Die Analyse des Vitamin B₂- sowie Vitamin B₆-Gehaltes erfolgte in der landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt Kiel (s. Tabelle 20).

Tab. 20: Gehalt an Vitamin E, A, B₂ und B₆ im Versuchsfutter

Vitamin A (I. E./kg TS)	Vitamin E (mg/kg TS)	Vitamin B ₂ (mg/kg TS)	Vitamin B ₆ (mg/kg TS)
4570	15,29	3,83	4,26

4. Versuchsablauf

Die Vögel wurden zunächst in einer mindestens zehntägigen Adaptationsphase an die Käfige gewöhnt. Während dieser Phase erhielten sie eine bis dato gefütterte Sämereienmischung ad libitum.

Nach der Eingewöhnungsphase wurden die Tiere klinisch untersucht und gewogen. Des Weiteren erfolgten im Abstand von einer Woche zwei Blutprobenentnahmen, um die Basalwerte (Blutchemie, Differentialblutbild) zu bestimmen.

Anschließend wurden die Agaporniden über zehn Tage an das pelletierte Futter gewöhnt (allmählicher Ersatz von Sämereien durch Pellets), welches ihnen grundsätzlich ad libitum zur Verfügung stand.

5. Versuchsdauer

Die Dauer der Versuche betrug zunächst 6 Monate. Je Gruppe waren 10 Probanden die gesamte Zeit im Versuch. Ca. 2 Monate nach Versuchsbeginn wurden zusätzlich je Gruppe 2 Tiere eingegliedert, die dann 4 Monate lang am Versuch teilnahmen.

Nach Ablauf der 6 Monate wurden die verbliebenen Vögel der Kontrollgruppe (K) und der Versuchsgruppe 2 (V2) weitere 4 Monate in Gruppen gehalten, so dass für diese Probanden die eigentliche Versuchszeit (Einwirkung hoher Vitamin K₃-Gehalte) etwa 10 Monate betrug.

6. Allgemeinbefinden

Das Allgemeinbefinden der Agaporniden wurde täglich während der Fütterung sowie anlässlich der Säuberung der Käfige beurteilt. Als Kriterien wurden Körperhaltung, Zustand des Federkleides, Aktivität, Fressverhalten und die Qualität der Exkremente beurteilt.

7. Futteraufnahme und -rückwaage

Bei generellem ad libitum Angebot wurde nur einmal wöchentlich der Futterverzehr der Vögel quantitativ bestimmt. Die tägliche Futteraufnahme ergab sich aus der Differenz der am Vortag getätigten Futtereinwaage und der am folgenden Tag etwa zur selben Zeit vorhandenen Restmenge. Mittels eines Pinsels wurden die im Napf und auf den Blechen verbliebenen Futterreste gesammelt und ausgewogen. Exkremente wurden - soweit wie möglich - entfernt und nasse Futterpartikel getrocknet. Für die Ein- und Auswaage stand eine Oberschalenwaage der Firma Sartorius AG, Göttingen (Auflösung $\pm 0,01$ g) zur Verfügung. Die so ermittelte Menge entsprach der Futteraufnahme von 2 Vögeln und wurde demzufolge durch 2 geteilt.

8. Wasseraufnahme und -rückwaage

Den Vögeln stand während der Versuche frisches Wasser ad libitum aus Selbsttränken zur Verfügung. Diese wurden vor Anbringen am Käfig gewogen und der Wasserverbrauch am darauf folgenden Tag durch Rückwaage der Wasserspender ermittelt (um den Verlust durch Verdunstung zu ermitteln, wurde ein im Raum aufgestellter Wasserspender gleichzeitig zurückgewogen und die einmal pro Woche ermittelte Aufnahmemenge um diesen Wert korrigiert). Die Ein- und Rückwaagen fanden mit einer Oberschalenwaage der Firma Sartorius AG, Göttingen statt (Auflösung $\pm 0,01$ g). Da auch die Wasseraufnahme nur für beide Vögel gemeinsam bestimmt werden konnte, wurde auch dieser Wert anschließend durch 2 geteilt.

9. Körpermasseentwicklung

Ebenfalls einmal wöchentlich wurde die Körpermasse der einzelnen Vögel ermittelt. Hierzu wurden die Vögel in einen tarierten Karton verbracht und mittels einer Oberschalenwaage der Firma Sartorius AG, Göttingen (Auflösung $\pm 0,01$ g) gewogen.

10. Qualität der Exkreme

Stichprobenartig wurden über den Versuchszeitraum hinweg 12 mal aus zufällig ausgewählten Käfigen einer jeden Gruppe frisch abgesetzte Exkreme gesammelt und in eine vorher gewogene, gewichtskonstante Aluminiumschale eingewogen. Nach 24-stündiger Trocknung im Trockenschrank (Firma Memmert) bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz erfolgte die Rückwaage nach Abkühlung der Probe im Exsikkator.

11. Blutbild und blutchemische Parameter

Vor Beginn sowie zwei, vier und sechs Monate nach Beginn des Fütterungsversuches wurden den Vögeln Blutproben entnommen. Die Blutprobenentnahme erfolgte zu den o. g. Entnahmezeitpunkten zweimal im Abstand von einer Woche, um eine ausreichende Menge Plasma gewinnen zu können.

11.1 Blutentnahme

Zur Blutentnahme wurden die Vögel durch eine Hilfsperson fixiert. Die Entnahme erfolgte an der rechten, in Ausnahmefällen auch an der linken Vena jugularis. Das Gefieder wurde angefeuchtet, gescheitelt und die Vene gestaut. Das aus der Kanüle (22 G) austretende Blut wurde in mit Lithium-Heparinat beschichteten Gefäßen (1,3 ml) aufgefangen. Zur Bestimmung der hämatologischen Parameter wurden außerdem mit EDTA beschichtete Probenröhrchen verwendet (1,3 ml).

Je Entnahmetag wurde ein Blutvolumen von ca. 1 % der Körpermasse des Vogels entnommen, dies entspricht etwa einer Menge von 0,4 ml bis 0,6 ml Blut.

11.2 Blutprobenaufbereitung

Das mit Lithium-Heparinat versetzte Blut wurde in Eppendorfgläser (0,5 ml) pipettiert und in einem Styroporkasten bei ca. 10 °C bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt. Nach dem Zentrifugieren für 10 min bei 1000 G (Varifuge F, Firma Heraeus Sepatech, Osterode) wurde das gewonnene Plasma in Eppendorfgläser (0,5 ml) pipettiert und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C eingefroren. Das mit EDTA als Antikoagulant versehene Blut wurde nach der Entnahme gekühlt in einem Styroporkasten bei 10 °C aufbewahrt und alsbald bearbeitet.

11.3 Hämatokrit

Zur Bestimmung des Hämatokritwertes wurde frisch entnommenes Nativblut in Kapillaren (Beschichtung mit Ammonium-Heparin) 2 min bei 13000 G zentrifugiert (Zentrifuge Firma Stat Spin Technologies, Massachusetts) und der Hämatokritwert anschließend mittels einer Messskala abgelesen.

11.4 Gesamtleukozyten

Zwei, vier und sechs Monate nach Versuchsbeginn wurde der Gesamtleukozytengehalt im Blut bestimmt. Die Leukozytenzählung erfolgte in der verbesserten Zählkammer nach Neubauer, wobei die Unopettenmethode (Unopette 5877 Becton Dickinson, Rutherford, NJ 07070) zur indirekten Bestimmung in leicht modifizierter Form angewandt wurde.

Zunächst wurde das Blut mittels einer Pipette (20 µl) gründlich resuspendiert. Zur Anfärbung der Granulozyten (Heterophile und Eosinophile) wurde Blut mittels der an der Unopette befindlichen Kapillare aufgezogen, mit dem Reagenz (Phloxin) vermischt (Verdünnung 1:32) und 10 min stehen gelassen. Nach erneutem Mischen

des Inhalts wurden die ersten Tropfen aus der Kapillare verworfen und anschließend die Zählkammern befüllt.

Zur Vermeidung eines Austrocknens der Zählkammern wurden diese in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Die Zählung erfolgte direkt im Anschluss. Da nicht bei allen Kammern alle 9 Quadrate gezählt werden konnten, wurden je Kammer die Granulozyten der vier Eckquadrate (insgesamt 8 Eckquadrate je Proband) gezählt und anschließend der Mittelwert (MW) gebildet.

Dieser Wert wurde zur Ermittlung des tatsächlichen **Granulozytengehaltes** in folgende Formel eingesetzt:

$$\frac{\text{MW der gezählten Granulozyten}}{3,125} = \text{G/l}$$

Ableitung: Volumen eines Eckquadrates = 0,1 mm x 0,1 mm = 0,1 mm³ = 0,1 µl
Verdünnung des Blutes in der Unopette = 1:32

$$\frac{\text{MW der gezählten Granulozyten}}{\text{Volumen der Zählkammer x Verdünnung des Blutes}} = \text{Zellen/}\mu\text{l}$$

$$\frac{\text{MW der gezählten Granulozyten}}{0,1 \mu\text{l} \times 1:32} = \text{Zellen/}\mu\text{l}$$

$$\frac{\text{MW der gezählten Granulozyten}}{0,003125} = \text{Zellen/}\mu\text{l}$$

$$\begin{aligned} \text{Zellen / } \mu\text{l} \times 10^6 &= \text{Zellen / l} \\ \text{Zellen / l} : 10^9 &= \text{G / l} \end{aligned}$$

Die Berechnung des **Gesamtleukozytengehaltes** erfolgte mit folgender Formel:

$$\text{Gesamtleukozyten (G/l)} = \frac{\text{Granulozyten gezählt (G/l)}}{(\text{Heterophile \%} + \text{Eosinophile \%})} \times 100$$

Ableitung:

$$\frac{\text{Gesamtleukozyten (G/l)}}{100 \%} = \frac{\text{Granulozyten gezählt (G/l)}}{(\text{Heterophile \%} + \text{Eosinophile \%} + \text{Basophile \%})}$$

Da die Basophilen in der Unopette® jedoch nicht angefärbt und infolgedessen auch nicht gezählt werden können, werden sie in der verwendeten Formel nicht berücksichtigt.

11.5 Differentialblutbild und Färbungen

Aus dem mit EDTA versetzten Blut wurden von jedem Vogel zu jedem Entnahmezeitpunkt zwei Blutausstriche für ein Differentialblutbild angefertigt.

Hierzu wurden etwa 3 µl Blut paramedian auf einen Objektträger aufgebracht und mit Hilfe eines zweiten Objektträgers ausgestrichen. Der zweite Objektträger wurde in einem Winkel von 45° an den Blutropfen herangeführt und nach dessen Verteilung entlang der Kante zügig in Richtung Ende gestrichen. Nach dem Lufttrocknen wurden jeweils zwei Ausstriche mit der panoptischen Färbemethode nach Pappenheim gefärbt.

Zur Darstellung eventuell vorhandener Heinz-Innenkörper in den Erythrozyten wurden nach Durchführung einer Vitalfärbung mit Brillantkresylblau (Retikulozytenfärbung) zwei weitere Ausstriche je Vogel angefertigt.

Färbung nach Pappenheim:

5 min May – Grünwald – Lösung

Abspülen mit aqua dest. (pH 7,2)

20 min Giemsa-Gebrauchslösung (5 ml Giemsalösung auf 90 ml aqua dest., pH 7,2)

Abspülen mit aqua dest. (pH 7,2)

Die Lösungen wurden für jeden Färbezeitpunkt frisch angesetzt, als pH - Puffer wurden Puffertabletten (Firma Merck, Darmstadt) verwendet.

Vitalfärbung mit Brillantkresylblau:

Es wurden 20 µl 1%ige Brillantkresylblaulösung (1 g Brillantkresylblau auf 100 ml physiologische Kochsalzlösung) in 20 µl Blut pipettiert. Darin wurden die Zellen anschließend 15 min lang angefärbt.

Die luftgetrockneten Ausstriche wurden mit einem Deckglas versiegelt, welches mit Eukitt (Firma Kindler GmbH, Freiburg im Breisgau) aufgeklebt wurde.

Die Anfertigung des Differentialblutbildes sowie die Beurteilung der Erythrozyten zur Identifizierung von Heinz-Innenkörperchen erfolgte im Lichtmikroskop bei 1000facher Vergrößerung (Okular 10x, Objektiv 100x) unter Verwendung von Immersionsöl. Ausgezählt wurden 100 bzw. 200 Leukozyten und 1000 Erythrozyten.

11.6 Blutchemische Parameter**11.7.1 Gesamtprotein, Albumin, Globulin**

Die Bestimmung von Gesamtprotein und Globulin erfolgte im Trockenanalysengeräts Vet Test (Firma IDEXX Laboratories, Inc.).

Die Albuminkonzentration im Plasma ergibt sich rechnerisch aus der Differenz der gemessenen Parameter Gesamtprotein und Globulin.

11.7.2 GLDH, LDH, AST, CK

GLDH wurde mittels UV-Test im Analysengerät Cobas Mira Plus bestimmt (Firma Roche, Mannheim).

Die anderen Blutparameter wurden mittels verschiedener biochemischer Tests im Trockenanalysengerät Vet Test (Firma IDEXX Laboratories, Inc.) nach Abschluss der Versuche aus dem aufgetauten Plasma ermittelt.

11.7.3 Harnsäure

Zur Bestimmung dieses Parameters wurde ebenfalls das Trockenanalysengerät Vet Test (Firma IDEXX Laboratories, Inc.) verwendet.

11.7.4 Kalium, Natrium, Gesamtkalzium, ionisiertes Kalzium

Die Bestimmung der Parameter **Kalium** und **Natrium** erfolgte mit Hilfe des Flammenphotometers (Firma Dr. Lange). Die Lösungen wurden mit Cäsiumchlorid-Ammoniumnitrat-Pufferlösung nach Schuhknecht und Schinkel verdünnt (Ansatz: 1:10 mit Aqua dest.), bis sich die Konzentrationen im Bereich der Eichreihe befanden (0-10 mg/l). Daraufhin wurde die Probelösung im Flammenphotometer verbrannt und so in einen atomaren oder ionisierten Zustand überführt.

Alle Elemente senden in solchem Zustand bei hohen Temperaturen Lichtquanten einer elementspezifischen Wellenlänge aus. Durch Anregung der Außenelektronen „springen“ diese in energetisch höher liegende Energieniveaus. Beim Zurückspringen der Elektronen nach der Abkühlung wird die zuvor zugeführte Energie frei und in Form eines Lichtquants ausgesandt. Die Intensität dieses Lichtes mit einer für das jeweilige Element spezifischer Wellenlänge kann photometrisch gemessen werden und ist proportional zur Menge des Elements in der Probenlösung.

Für die Bestimmung unterschiedlicher Elemente wurden im Photometer verschiedene Filterfolien verwendet.

Der Gehalt an **Gesamtkalzium** im Plasma wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie (Unicam Solar 969, Firma Unicam, Offenbach) nach der Methode von Slavin bestimmt. Nach Verdünnung der Probenlösung wurde diese fein zerstäubt und durch eine Azetylen-Luft-Flamme gesaugt. Die in der Probe enthaltenen Elemente wurden so in einen atomaren Zustand überführt.

Da Atome jeweils Strahlen einer für sie charakteristischen Wellenlänge des Lichts absorbieren, ist die zu messende Extinktion als Folge der Absorption proportional zur Konzentration dieses Elements in der Probenlösung.

Die Empfindlichkeit der Methode wird durch den Einsatz von spezifischen Hohlkathodenlampen erzielt, die Strahlung in einem engen Wellenlängenbereich aussenden.

Zur Bestimmung des **ionisierten** Kalziums fand das Trockenanalysengerät Vet Test (Firma IDEXX Laboratories, Inc.) Verwendung.

11.7 Erstellung von Ausgangswerten

Um eigene Orientierungswerte zum Vergleich mit den später im Versuch ermittelten Werten zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Blut- und Plasmauntersuchungen der Blutentnahme vor Versuchsbeginn (36 Proben) sowie die Untersuchung von Blutproben von weiteren 28 (Differentialblutbilder und Gesamtleukozytenbestimmung) bzw. 8 (Plasmauntersuchung) Referenzvögeln ausgewertet. Die Referenzvögel stammten aus derselben Gruppe, aus der zu Versuchsbeginn die Probanden ausgewählt wurden. Es fand die von LUMEIJ (1994) empfohlene Alpha-Quantilmethode Anwendung, wobei Alpha mit 0,975 (97,5%-Quantil) für den oberen Referenzwert ($P_{97,5}$) und mit 0,025 (2,5%-Quantil) für den unteren Referenzwert ($P_{2,5}$) festgesetzt wurde.

11.8 Überprüfung der Präzision der Leukozytendifferenzierung

Zur Kontrolle der Präzision (Reproduzierbarkeit) der Leukozytendifferenzierung im Blutausschrieb wurden einerseits die Blutausschriebe von 36 Probanden durch zwei verschiedene Personen differenziert, zum anderen wurde derselbe - zufällig ausgewählte - Blutausschrieb durch eine Person an verschiedenen Tagen insgesamt siebenmal differenziert und die jeweilige Standardabweichung sowie der Variationskoeffizient bestimmt (s. Tabelle 21).

Tab. 21: Angabe der Ergebnisse, der Standardabweichungen und des Variationskoeffizienten zur Überprüfung der Präzision der Leukozytendifferenzierung

	Lymphozyten	Heterophile	Basophile	Monozyten	Eosinophile
Person 1	60 ± 15	36 ± 14	3 ± 2,17	1 ± 0,86	1 ± 1,00
VK (%)	24,58	39,31	83,04	106,83	69,12
Person 2	50 ± 14	43 ± 14	5 ± 3,05	2 ± 1,72	1 ± 1,29
VK (%)	28,45	32,03	67,72	86,19	136,17
STABW *	5,09	5,35	1,50	0,38	0,76
VK (%)	12,96	9,23	65,45	264,58	264,58

± = Standardabweichung VK = Variationskoeffizient

* = Standardabweichung der Zählungen eines siebenfach differenzierten Ausstriches durch eine Person

Die Standardabweichungen und Variationskoeffizienten variierten durch die zum Teil sehr kleinen absoluten Werte bei den Monozyten, Basophilen und Eosinophilen zum Teil erheblich. Im direkten Vergleich der entsprechenden Ausstriche ergibt sich jedoch zumeist eine gute Übereinstimmung der Differenzierungsergebnisse (s. Tabelle 63 und 64, S. 165/166).

12. Pathologische Anatomie und Histologie

Zur pathohistologischen Untersuchung wurden je Gruppe vier Tiere zufällig ausgewählt und im Institut für Veterinärpathologie der Universität Utrecht weitergehend untersucht. Nachdem aus der rechten Vena jugularis etwa 2 ml heparinisiertes Blut entnommen worden waren, erfolgte eine intravenöse Injektion von 0,3 ml T 61® (Embutramid, Mebezoniumjodid und Tetrakainhydrochlorid, Firma Intervet®, Belgien). Die Körpermasse der Tiere wurde anschließend mit einer Oberschalenwaage (Firma Mettler, Auflösung ± ,01 g) bestimmt und das Gewicht der entnommenen Blutmenge addiert.

Die Sektion und Fixation der für die Histologie entnommenen Organe wurde umgehend nach der Euthanasie vorgenommen.

12.1 Untersuchungsmaterial

Während der Sektion und morphologischen Befundung wurden die Organe in folgender Reihenfolge entnommen und in 4%iger gepufferter Formalinlösung fixiert:

- Brustmuskulatur (rechter M. pectoralis)
- Schilddrüsen mit Nebenschilddrüsen
- Herz
- Milz
- Leber
- Drüsen- und Muskelmagen
- Duodenum inklusive Pankreas
- Lungen
- Nieren mit Nebennieren und Geschlechtsorganen
- Gehirn
- Oberschenkelknochen
- Knochenmark

Vor der Fixation wurden von Milz, Leber, Lunge und Enddarm je zwei Abklatschpräparate angefertigt, von denen je einer mit der Färbemethode nach Stamp und einer mit Haemacolor® (Firma Merck) gefärbt wurde. Diese Ausstriche wurden unter dem Lichtmikroskop bei 100facher Vergrößerung mit Immersionsöl auf das Vorhandensein von Chlamydien, anderen Bakterien und weiteren potentiellen Krankheitserregern sowie auf zytologische Veränderungen überprüft.

Weiterhin wurde vom Drüsenmagen- sowie Darminhalt Material entnommen, mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet und sofort unter dem Lichtmikroskop bei 10facher Vergrößerung auf das Vorhandensein von Hefen im Magen bzw. Parasiten oder Parasiteneiern untersucht.

Ein eventueller Befall mit Chlamydien wurde darüber hinaus in Abklatschpräparaten von Milz, Leber, Lunge und Darm mittels Immunfluoreszenztest untersucht. Die

Präparate wurden bis zur Weiterverarbeitung bei -20 °C in Azeton fixiert und aufbewahrt.

Weiterhin wurden vom Darminhalt bakteriologische Untersuchungen durchgeführt. Hierzu wurde steril entnommenes Probenmaterial auf Blutagar und Brillantgrünagar ausgestrichen wie auch in Serumbouillon bei 37 °C für 8-10 Stunden im Wärmeschrank (Firma Heraeus) kultiviert.

Die Auswertung erfolgte durch Mitarbeiter des Instituts für Veterinärpathologie der Universität Utrecht.

12.2 Probenaufbereitung für die Lichtmikroskopie

Die Fixierungszeit in 4%igem Formalin betrug mindestens 24 Stunden. Anschließend wurden aus den Organen ca. 1 - 2 mm breite Scheiben geschnitten und diese zur weiteren Verarbeitung wiederum in 4%igem Formalin aufbewahrt. Der Oberschenkelknochen wurde längs gespalten, weitere 8 bis 24 Stunden in 4%igem Formalin fixiert und danach das Knochenmark entnommen. Für die Anfertigung von histologischen Präparaten zur Beurteilung der Knochenstruktur wurde der Oberschenkelknochen vor der weiteren Verarbeitung mittels 10%iger gepufferter EDTA-Lösung (pH 7,4) entkalkt.

Aus dem Nassmaterial erfolgte die routinemäßige histotechnologische Aufarbeitung der Proben durch Mitarbeiter des histotechnischen Labors des Institutes für Veterinärpathologie der Universität Utrecht.

Hierzu wurden die Schnitte mittels Hämalaun-Eosin-Färbung (HE) gefärbt. Zur Beurteilung des in einigen Schnitten beobachteten bräunlichen Pigments wurde eine Färbung der Schnitte mit Berliner Blau durchgeführt, die der Sichtbarmachung von Eisenpigment Verwendung dient.

12.2 Färbemethoden

Die Färbung der Abklatschpräparate von Milz, Leber, Lunge und Enddarm erfolgte nach folgenden Schemata:

Hemacolor® (Firma Merck)

1. 60 Sekunden fixieren in Lösung I (enthält Methanol)
2. 10 Sekunden in Lösung II (Farbreagenz rot) tauchen
3. 30 Sekunden in Lösung III (Farbreagenz blau) tauchen
4. 5 Sekunden puffern in Phosphatpufferlösung (pH 7,4)

Färbemethode nach Stamp (modifizierte Ziehl-Neelson-Färbung)

1. 5 Minuten in Karbolfuchsinlösung (1:6 Verdünnung in Aqua dest.) färben
2. Abspülen unter Leitungswasser
3. 5-10 Sekunden in 3%iger Essiglösung entfärben
4. Abspülen unter Leitungswasser
5. 8 Sekunden in 3%iger Malachitgrünlösung nachfärben
6. Abspülen unter Leitungswasser

Immunfluoreszenztest

Der Immunfluoreszenztest zum Nachweis einer eventuellen Infektion mit Chlamydien wurde ebenfalls im Histotechnischen Labor durch Mitarbeiter des Institutes für Veterinärpathologie der Universität Utrecht angefertigt und ausgewertet.

13. Bestimmung des Gehaltes an Vitamin K₃ in den Lebern

Die Ermittlung des Vitamin K₃-Gehaltes in der Leber der Vögel, die für die Sektion geopfert wurden, erfolgte durch die Firma Hoffman La Roche AG (Grenzach Wyhlen). Hierzu wurden die Lebern der jeweils 4 Probanden der Kontrollgruppe bzw. der Gruppen V1 und V2 gepoolt, um eine ausreichende Menge an Probenmaterial für die Analyse zu garantieren.

14. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte im Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover unter Anleitung von Dr. Rohn mit Hilfe des Statistical Analysis Systems (SAS, Version 8.2) und den Statistikfunktionen ANOVA (Excel 5.0).

Es fanden folgende statistische Methoden Anwendung:

- Mittelwertbestimmung bei der Zusammenfassung von Einzelwerten
- Bestimmung des Minimal- bzw. des Maximalwertes von Einzelwerten einer Untersuchungsreihe
- Angabe der Standardabweichung als Maß der Streuung vom Mittelwert
- Bestimmung des Variationskoeffizienten (rel. Standardabweichung) als Streuungsmaß für quantitative Merkmale
- Prüfung auf Normalverteilung der Blutparameter mittels Kolmogorov – Smirnov – Test und nachfolgender visueller Auswertung
- Bestimmung des Alpha - Quantils von Werten zur Festlegung von Referenzwerten
- Zweifaktorielle Varianzanalyse zum Vergleich der Varianz der Mittelwerte
- t-Test (unabhängig sowie abhängig) als Post-hoc Test zur zweifaktoriellen Varianzanalyse

B. Ergebnisse

Für die Ergebnisse wurden sowohl die Untersuchungen an den 30 Probanden der 6 Monate dauernden Versuche ausgewertet als auch die der zusätzlichen 6 Probanden (2 je Gruppe), die nur 4 Monate dem Versuch angehörten. Es wird im Folgenden von jeweils 12 Probanden je Gruppe ausgegangen, ohne diese in die 10 der längeren Periode und die 2 später in den Versuch genommenen Vögel aufzuteilen.

1. Allgemeinbefinden

Die Probanden wiesen während der sechsmonatigen Versuchsdauer mit Ausnahme von zwei Vögeln keinerlei Hinweise auf eine Störung des Allgemeinbefindens auf, keines der Versuchstiere verstarb nach Versuchsbeginn. Bei zwei Vögeln der Kontrollgruppe konnte das Auftreten von so genanntem „Federpicken“ oder „Rupfen“ beobachtet werden. Dabei zeigten diese Tiere Federverluste im Bereich von Brust und Rücken.

Alle Vögel wiesen während der gesamten Versuchsphase eine rege Aktivität und Aufmerksamkeit sowie ein arttypisches Komfort- und Sozialverhalten auf.

Während der 6 Monate legten aus der Kontrollgruppe 2 Vögel zusammen 2 Eier, aus der Versuchsgruppe 1 (26,6 mg K_3 /kg TS) legte 1 Vogel insgesamt 3 Eiern und in der Versuchsgruppe 2 (170,0 mg K_3 /kg TS) waren es 2 Vögel mit insgesamt 13 Eiern. Die Eier wurden umgehend aus den Käfigen entfernt.

Alle Tiere zeigten ein ungestörtes und zügiges Futteraufnahmeverhalten. Die Beschaffenheit der Exkremeunte unterschied sich zwischen den Gruppen visuell nicht. Die Vögel der Gruppen K bzw. V2, die über die eigentliche Versuchszeit hinaus bis zum vollständigen Verbrauch des Versuchsfutters damit ernährt wurden, zeigten auch nach 10 Monaten keinerlei Hinweise auf eine Störung des Allgemeinbefindens.

2. Futteraufnahme

Beim Vergleich der Versuchsgruppen miteinander kann bezüglich der Futteraufnahme kein signifikanter Einfluss der unterschiedlichen Vitamin K₃-Konzentrationen ermittelt werden. Sowohl die Mittelwerte als auch die mittleren minimalen und maximalen Futteraufnahmemengen variieren bei den Vögeln der drei Versuchsgruppen nur leicht (s. Tabelle 22).

Tab. 22: Futteraufnahmemenge (Angaben in g TS/Tier/d) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Futteraufnahmemenge			
Gruppe (jeweils n = 12)	MW ± SD	min.	max.
K	4,96 ± 0,85	3,50	7,13
V1	4,98 ± 0,77	3,46	7,21
V2	5,03 ± 0,82	3,45	7,45

Die Angabe der Trockensubstanzaufnahme pro 100 g KM und Tag ermöglicht einen direkten Vergleich der Futteraufnahme von Tieren mit unterschiedlichen Körpermassen (s. Tabelle 23).

Tab. 23: Futteraufnahmemenge (Angaben in g TS/100 g KM/d) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Futteraufnahmemenge			
Gruppe (jeweils n = 12)	MW ± SD	min.	max.
K	9,48 ± 1,96	5,44	15,18
V1	8,95 ± 1,49	5,73	14,28
V2	9,36 ± 1,83	5,85	14,82

Zwischen den einzelnen Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der durchschnittlichen Futteraufnahmemenge. Der mittlere Futtermittelverzehr variierte zwischen 5 und 15 g TS/100 g KM/d, ohne dass es zu irgendwelchen gerichteten Effekten des Vitamin K₃-Gehaltes im Futter kam.

Zu Beginn der Versuche und während der warmen Sommermonate in den Wochen 10 – 18 nahmen die Probanden eine in engen Grenzen liegende Futtermenge zwischen 7, 5 und 9,5 g/100 g KM/d auf (s. Abbildung 5). Später konnte eine vermehrte Futteraufnahme beobachtet werden (10,5 – 12 g/100 g KM/d), in dieser Zeit sanken die Außen- und somit die Raumtemperaturen, da trotz Klimatisierung keine vollständig konstante Raumtemperatur gewährleistet werden konnte.

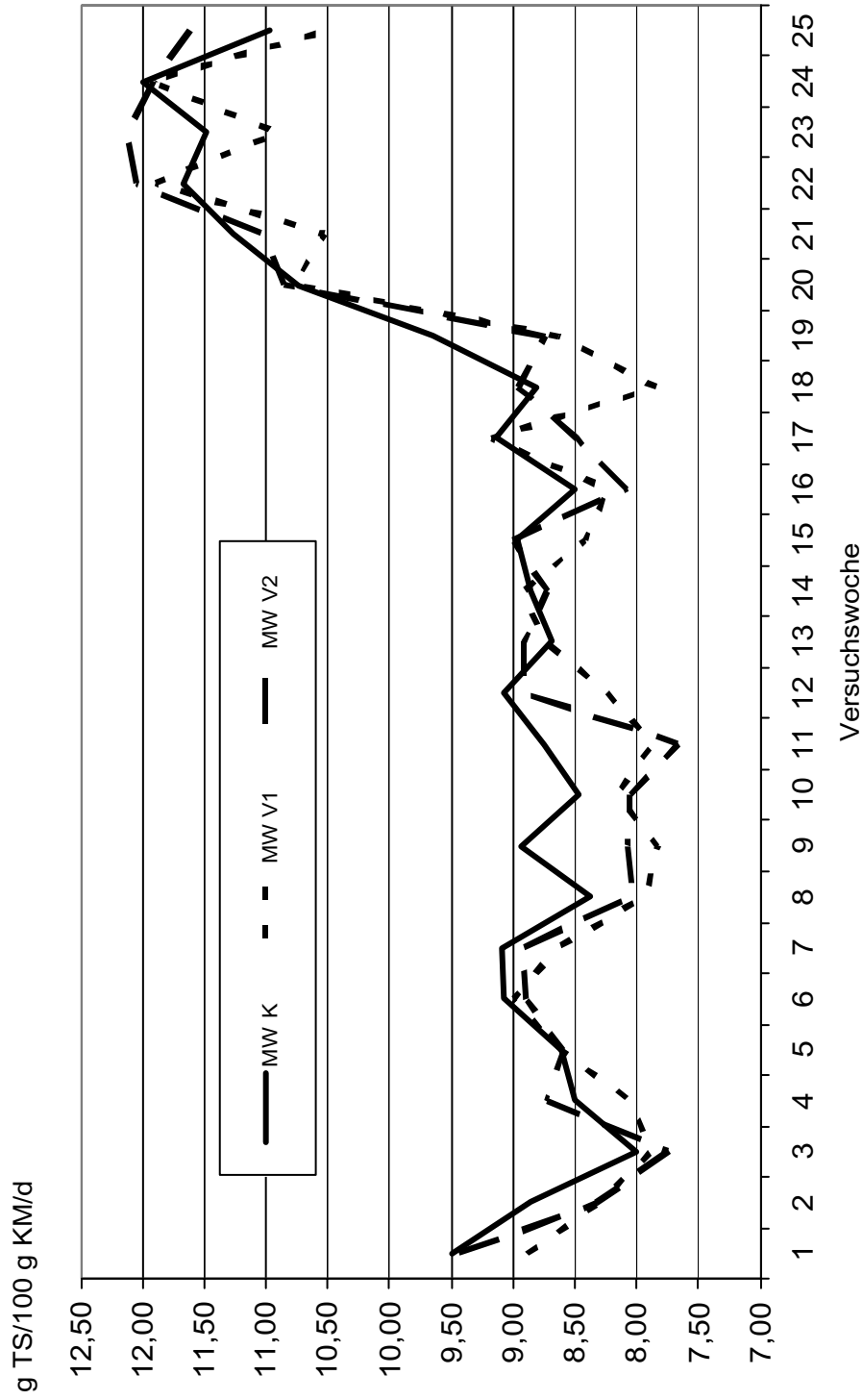


Abb. 5: Futteraufnahme von Agaporniden (g TS/100g KM/d) nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

3. Tägliche Aufnahme von Vitamin K₃

In Tabelle 24 ist die durchschnittliche tägliche Vitamin K₃-Aufnahme der Probanden der Kontrollgruppe sowie der Versuchsgruppen V1 und V2 zu Beginn und zum Ende der sechsmonatigen Versuchsdauer dargestellt. Die durchschnittliche Vitamin K₃-Aufnahme der einzelnen Vögel pro Tier und Tag sind den Tabellen 40 und 41 (S. 142/143) zu entnehmen. Da die Vitamin K₃-Konzentration nur zu Versuchsbeginn sowie nach Abschluss der Versuche bestimmt wurde, können die Angaben nur für diese Zeitpunkte gemacht werden. Der lagerungsbedingte Verlust an Vitamin K₃ im Futter war hingegen ein kontinuierlich fortschreitender Prozess.

Tab. 24: Durchschnittliche tägliche Vitamin K₃-Aufnahme (Angaben in mg/Tier) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Gruppe (jeweils n = 12)	K	V1	V2
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/Tier/d) zu Beginn der Versuche	0,000*	0,130 ± 0,010	0,840 ± 0,020
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/Tier/d) zu Ende der Versuche	0,000*	0,030 ± 0,001	0,600 ± 0,030

± = Standardabweichung

* = keinerlei Vitamin K₃-Zulage

4. Energieaufnahme

Die mittlere Energieaufnahme der Probanden wurde anhand der Energiedichte im Futter, der durchschnittlich täglich aufgenommenen TS-Menge und der wöchentlich bestimmten Körpermasse - bezogen auf die metabolische Körpermasse - rechnerisch an vier Versuchszeitpunkten ermittelt.

Hinsichtlich der täglichen Energieaufnahme im Bezug zu 1 kg KM^{0,75}, die im Durchschnitt bei Gruppe K 0,61 bis 0,80 MJ ME, bei Gruppe V1 0,53 bis 0,80 MJ ME und bei Gruppe V2 0,57 bis 0,82 MJ ME pro kg KM^{0,75} betrug, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (s. Tabelle 25).

Tab. 25: Mittlere tägliche Energieaufnahme (Angaben in MJ ME/kg KM^{0,75}/d) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

(MJ ME/kg KM ^{0,75} /d)					
Gruppe (je n = 12)	Woche 2	Woche 12	Woche 17	Woche 27	MW
K	0,71 ± 0,10	0,67 ± 0,13	0,61 ± 0,10	0,80 ± 0,10	0,70 ± 0,01
V1	0,67 ± 0,07	0,53 ± 0,20	0,61 ± 0,05	0,80 ± 0,06	0,65 ± 0,07
V2	0,70 ± 0,08	0,58 ± 0,04	0,57 ± 0,05	0,82 ± 0,06	0,67 ± 0,02

± = Standardabweichung

5. Körpermasseentwicklung

Zu Beginn der Versuche wurde die Körpermasse der Vögel bestimmt. Während der Adaptation an das Versuchsfutter in den ersten Versuchswochen nahmen aus jeder Gruppe einige Probanden ab, bis zum Abschluss der Versuche erhöhte sich jedoch die Körpermasse aller Vögel im Vergleich zum Gewicht bei Versuchsbeginn (s. Tabelle 26).

Im Durchschnitt über den gesamten Versuchszeitraum hinweg wog ein Vogel der Kontrollgruppe $53,7 \pm 5,21$ g, ein Proband der Gruppe V1 $55,3 \pm 4,06$ g und ein Vogel der Gruppe V2 hatte eine Körpermasse von durchschnittlich $53,5 \pm 6,28$ g. Die relative Körpermasseentwicklung in Prozent des Ausgangsgewichtes zeigt in den einzelnen Gruppen eine vergleichbare Tendenz, wobei die Vögel der beiden Versuchsgruppen sogar eine höhere Körpermassezunahme aufwiesen als die der Kontrollgruppe (s. Abbildung 6).

Tab. 26: Mittlere KM der Agaporniden (Angaben in g/Tier) nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage zu Beginn sowie am Ende der Versuche

Gruppe (je n = 12)	KM (g) Beginn	KM (g) Ende	KM (g) Gesamtdurchschnitt*
K	50,4 ± 5,28	54,7 ± 5,00	53,7 ± 5,21
V1	50,6 ± 3,25	57,3 ± 4,08	55,3 ± 4,06
V2	48,8 ± 5,10	54,5 ± 7,10	53,5 ± 6,28

± = Standardabweichung

* = mittlere KM im Versuchszeitraum

Die erste Versuchswoche begann Anfang Mai, die Probanden waren bis zu diesem Zeitpunkt in einer Voliere mit der Möglichkeit zum Freiflug untergebracht. Die stetigen Gewichtszunahmen in den ersten Wochen (s. Abbildung 6) sind mit dem Umstand zu erklären, dass die Vögel in den Versuchskäfigen nur eingeschränkte Bewegungsmöglichkeiten hatten. Die in Woche 12, 15 und 17 erkennbaren kurzfristigen Einbußen in der Körpermasseentwicklung sind vermutlich temperaturbedingt, in diesen Wochen (Juli und August) variierten die Temperaturen im Versuchsraum trotz der Klimatisierung zwischen 26 und 29 °C und die Vögel nahmen demzufolge weniger Futter auf. Ab der 18. Woche sank die Raumtemperatur wieder auf 24 °C ab, und betrug ab der 23. Versuchswoche (Oktober) dann konstant 20 °C.

In Versuchswoche 22 ist eine weitere Gewichtsreduktion zu erfassen. In diesem Zeitraum war ein Umstellen der Käfige innerhalb des Raumes nötig. Die Vögel hatten durch die veränderte Position der Käfige zueinander eventuell eine vermehrte Ablenkung, so dass es zunächst zu einer stagnierenden Futteraufnahme kam.

Die Probanden der Gruppe K wogen zum Abschluss der Versuche im Durchschnitt 8,5% mehr als zu Beginn, in Gruppe V1 betrug die Zunahme durchschnittlich 13,2% und bei Gruppe V2 konnte nach 6 Monaten eine durchschnittliche KM-Zunahme von 11,2% ermittelt werden.

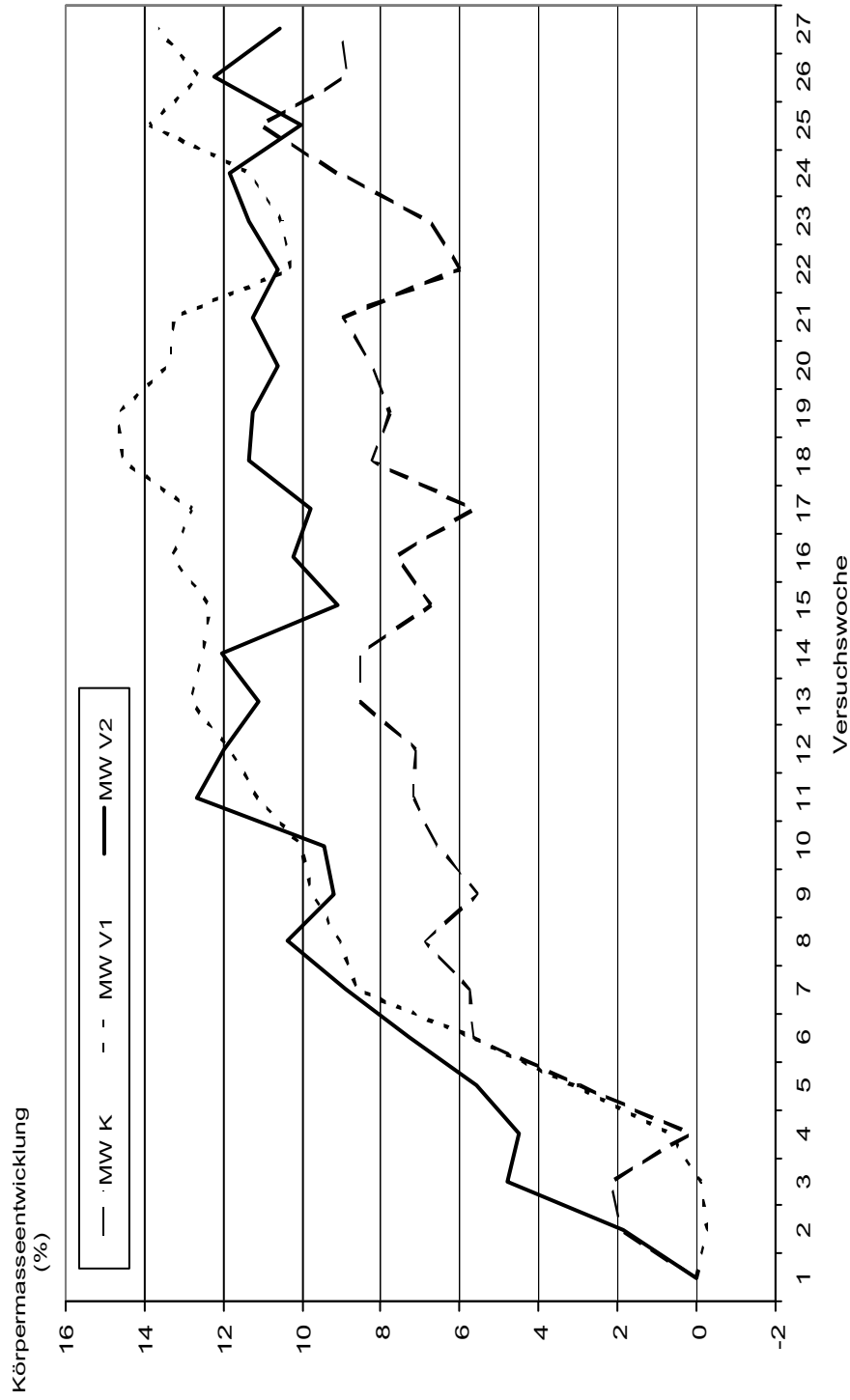


Abb. 6: Entwicklung der KM (Angaben in %) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

6. Wasseraufnahme

Wegen der bei einer Vitamin K₃-Übersorgung beschriebenen Nierenschädigungen erschien eine Quantifizierung der Wasseraufnahme zur ursächlichen Klärung sinnvoll. Zur Ermittlung des durchschnittlichen Wasserverzehrs pro Vogel und Tag wurde einmal wöchentlich die aus der Wasserrückwaage errechnete Menge pro Käfig durch die Anzahl der Vögel je Käfig (jeweils n = 2) geteilt und um die jeweilige Verdunstungsrate korrigiert. Die außerdem durchgeführte Umrechnung der täglich aufgenommenen Wassermenge auf 1 g aufgenommene Trockensubstanz je Tier und Tag wurde gewählt, um Effekte einer unterschiedlich hohen Futteraufnahme auf den Wasserkonsum auszuschließen.

Sowohl im direkten Vergleich der aufgenommenen Wassermenge pro Tier und Tag wie auch bei der Berechnung der täglich aufgenommenen Menge pro g Trockensubstanz traten keine signifikanten Unterschiede auf (s. Tabelle 27).

Tab. 27: Mittlere tägliche Wasseraufnahme (Angaben in ml/Tier/d bzw. ml/g TS/d) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Gruppe (jeweils n = 12)	ml/Tier/d	ml/g TS/d
K	7,45 ± 2,19	1,54 ± 0,55
V1	7,48 ± 1,53	1,50 ± 0,39
V2	7,58 ± 1,65	1,57 ± 0,42

Zu Beginn des Versuches war die Wasseraufnahme bei den Probanden einer jeden Gruppe relativ hoch, im Laufe der Zeit ging die Aufnahme jedoch in allen Gruppen konstant zurück. Die anfängliche Höhe der Wasseraufnahme kann mit der noch nicht vollkommen abgeschlossenen Adaptation an die neue Futterkonfektion erklärt werden, bei der die Probanden die geringere Futter- durch eine entsprechend höhere Wasseraufnahme kompensierten. In den wärmeren Sommermonaten (Woche 10 – 18) konnte eine relativ konstante Variation zwischen etwa 1,3 und 2,0 ml/ g TS/d ermittelt werden, mit Rückgang der Raumtemperaturen sank dann auch die Wasseraufnahme auf Werte von etwa 0,8 bis 1,2 ml/g TS/d (s. Abbildung 7) und die Vögel nahmen wieder mehr Futter auf (s. Abbildung 5).

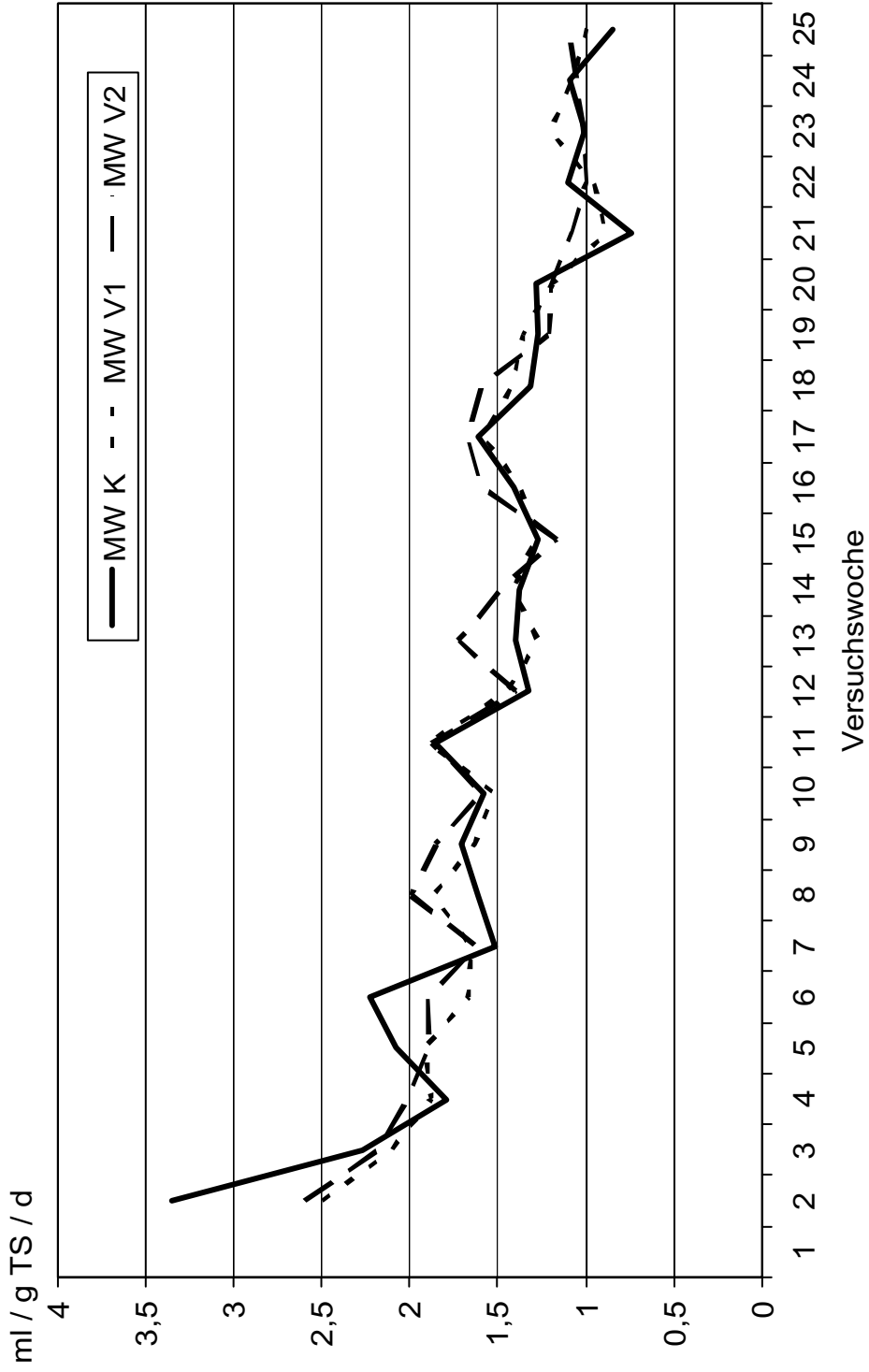


Abb. 7: Durchschnittliche Wasseraufnahme (ml/g TS/d) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

7. Qualität der Exkreme

Stichprobenhaft wurde an 12 verschiedenen Zeitpunkten während der gesamten Versuchsdauer der Trockensubstanzgehalt in frisch abgesetzten Exkrementen der Probanden bestimmt (s. Tabelle 42, S. 144) und die Werte innerhalb der Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum gemittelt (s. Tabelle 28).

Hierbei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen.

Tab. 28: Durchschnittlicher TS-Gehalt der Exkreme (Angaben in %) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Gruppe (je n = 12)	K	V1	V2
TS (%)	24,70 ± 6,19	24,48 ± 3,66	24,46 ± 5,73

± Standardabweichung

8. Blutbild und blutchemische Parameter

Den Vögeln wurde zu Versuchsbeginn, nach 2 bzw. 4 Monaten sowie nach Abschluss der sechsmonatigen Versuche Blut entnommen.

Die so vor dem erstmaligen Einsatz des Vitamin K₃ ermittelten Ausgangswerte dienten zur Orientierung, das heißt einer Einschätzung der üblichen Variationen hämatologischer bzw. blutchemischer Parameter von Agaporniden unter den im Institut für Tierernährung seit Jahren etablierten Haltungs- und Fütterungsbedingungen.

8.1 Hämatokrit

Zur Feststellung einer eventuell vorliegenden Anämie wurde der Hämatokrit der Probanden bei jeder Blutentnahme bestimmt. Die zu Versuchsbeginn ermittelten Ausgangswerte der Probanden sind der Tabelle 60 (S. 162) zu entnehmen. Die Mittelwerte der Konzentration der Blutzellen am Gesamtplasmavolumen zeigten

lediglich vereinzelt moderate Abweichungen von diesen Ausgangswerten, die zudem in allen drei Gruppen und zu allen Entnahmezeitpunkten auftraten (s. Tabelle 29). Vor Versuchsbeginn variierte der Hämatokrit der Agaporniden um ca. 51 bis 52 %, im eigentlichen Versuchszeitraum ergaben sich teilweise signifikant höhere (K) bzw. tendenziell höhere (V1 und V2) Werte, ohne dass jedoch ein Vitamin K-Einfluss erkennbar wurde.

Tab. 29: Mittelwerte des Hämatokrits (Angaben in %) von Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Gruppe (jeweils n = 12)	Hämatokrit (%)			
	vor Versuchsbeginn	nach 2 Monaten	nach 4 Monaten	nach 6 Monaten
K	51 ± 2,43 ^A	53 ± 1,83 ^B	54 ± 3,28 ^B	53 ± 2,99 ^B
V1	52 ± 4,78	55 ± 2,27	54 ± 3,62	54 ± 4,60
V2	52 ± 3,66	54 ± 5,40	53 ± 2,87	51 ± 2,84

verschiedene Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) innerhalb einer Probandengruppe zwischen den Werten der Blutentnahmezeitpunkte

8.2 Gesamtleukozyten

Vor Beginn der Versuche wurde die Gesamtleukozytenzahl nicht bestimmt, da zunächst eine in verschiedenen Quellen beschriebene Schätzmethode (MC CRACKEN 1993, LUMEJI 1996, FUDGE 1997, WEDEL 1999) Anwendung finden sollte. Da diese Methode jedoch unzuverlässige Werte lieferte, wurde im weiteren Verlauf mit der indirekten Hämozytometermethode mittels Unopette® gearbeitet. Deshalb liegen bezüglich dieses Parameters lediglich die Werte der Entnahmezeitpunkte nach 2, 4 und 6 Monaten vor (s. Abbildung 8).

In der Kontrollgruppe ergab sich nach 2 Monaten Versuchsdauer ein Mittelwert von $13,2 \pm 5,91$ G/l, nach 4 Monaten war der Wert auf $18,1 \pm 13,97$ G/l angestiegen und nach Abschluss der Versuche betrug er wieder $12,8 \pm 5,36$ G/l.

Die Vögel der Gruppe V1 hingegen hatten nach 2 Monaten mit $16,5 \pm 8,19$ G/l einen höheren Ausgangswert als die Probanden der Gruppe K, der sich nach 4 Monaten Versuchszeit auf $14,4 \pm 4,17$ G/l verringerte und zum Schluss noch leicht auf $13,7 \pm 2,86$ G/l sank. Mit $20,9 \pm 7,36$ G/l besaßen die Probanden der Gruppe V2 den höchsten Gesamtleukozytenwert, welcher sich während der gesamten Versuchsdauer (nach 4 Monaten $21,3 \pm 10,07$ G/l bzw. nach 6 Monaten $18,5 \pm 8,60$ G/l) nicht signifikant änderte. Insgesamt zeigten sich keine signifikanten fütterungsbedingten bzw. temporären Einflüsse.

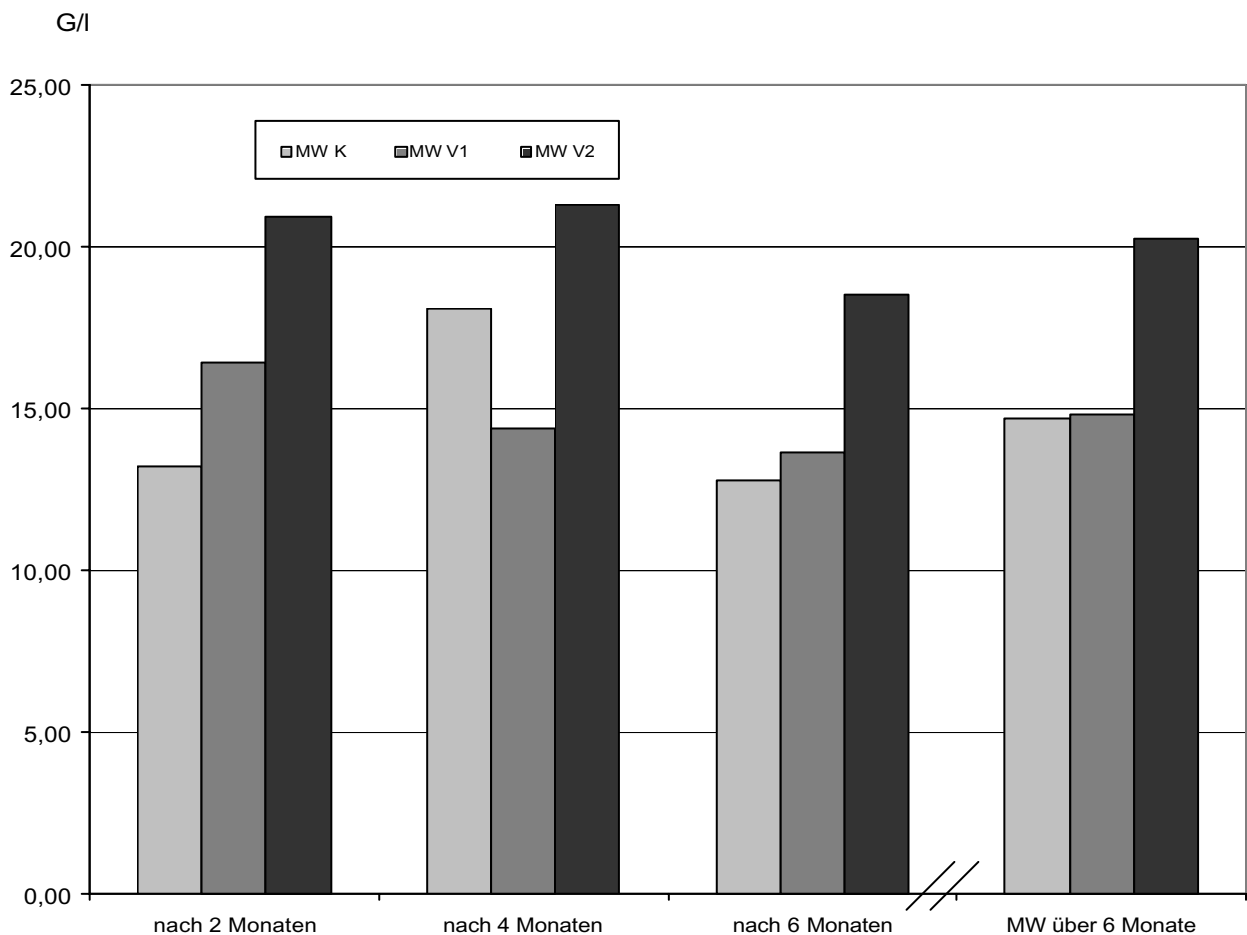


Abb. 8: Gesamtleukozytenzahl (G/l) bei Agaporniden nach fehlender bzw. unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃ - Substitution

Über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet, zeigte sich eine sehr ähnliche Gesamtleukozytenzahl in Gruppe K und V1 sowie ein insgesamt höherer Mittelwert in Gruppe V2. Grundsätzlich ließ sich jedoch kein gerichteter Effekt auf den Gesamtleukozytengehalt feststellen.

In jeder der drei Gruppen gab es zu verschiedenen Zeitpunkten während der Versuche „Ausreißer“ mit extrem hohen Gesamtleukozytenwerten (> 30 G/l). Eliminiert man diese aus jeder Gruppe, ergeben sich die in Abbildung 9 gezeigten Mittelwerte. Hierbei fällt auf, dass Gruppe V2 zwar zu jedem Zeitpunkt durchschnittlich die höchsten Gesamtleukozytenwerte besaß, die Mittelwerte der drei Gruppen jedoch insgesamt in engeren Grenzen variieren und sich kein gerichteter Effekt durch einen Vitamin K–Einfluss darstellt.

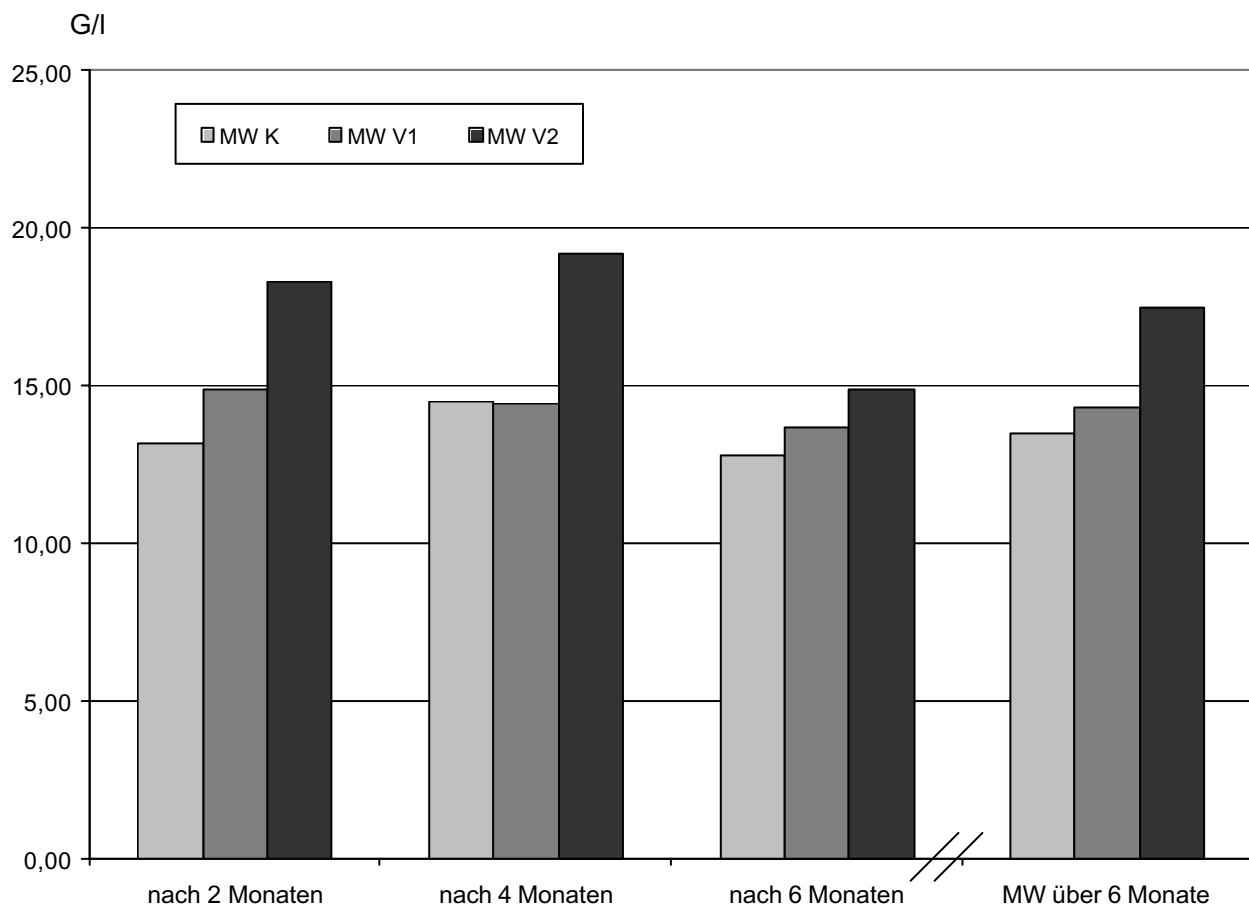


Abb. 9: Gesamtleukozytenzahl (G/l) bei Agaporniden nach fehlender bzw. unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃ - Substitution unter Eliminierung von „Ausreißern“ (> 30 G/l)

8.3 Differentialblutbild

Die Mittelwerte der Leukozytenfraktionen variierten bei allen drei Gruppen an den vier Entnahmezeitpunkten innerhalb der vor dem Versuch beobachteten Ausgangswerte (s. Tabellen 30, Tabelle 62 auf S. 164).

Bei den **Monozyten** sowie **Eosinophilen Granulozyten** zeigten sich - trotz eines teilweise signifikanten Einflusses der Versuchsdauer - innerhalb der drei Versuchsgruppen nur geringfügige Veränderungen in den absoluten Werten (0 bis 2 %, bzw. 1 bis 2 %), die im Mittel insgesamt innerhalb der vor Versuchsbeginn ermittelten Orientierungswerte (jeweils 0 bis 2 %) blieben. Vor Versuchsbeginn wichen die Monozytenzahlen eines Vogels aus Gruppe V1 von diesen Orientierungswerten ab, nach 2 Monaten waren es die von vier Probanden aus der Kontrollgruppe und jeweils einem Vogel aus den beiden Versuchsgruppen.

Die Eosinophilenanteile überstiegen die Orientierungswerte nach vier Monaten in der Kontrollgruppe bei einem und in Gruppe V2 bei drei Vögeln, nach sechs Monaten in Gruppe K bei drei, Gruppe V1 bei vier und Gruppe V2 bei zwei Probanden.

Bezüglich der **Basophilen** konnten schon vor Versuchsbeginn signifikante Unterschiede zwischen den Tieren der Gruppe K und V1 beobachtet werden, innerhalb der jeweiligen Versuchsgruppen gab es jedoch keinen Einfluss der Zeit. Die absoluten Werte der Basophilen Granulozyten wiesen im Mittel über den gesamten Versuchszeitraum hinweg jedoch nur geringfügige Variationen auf (2 bis 4 %). Die eines Agaporniden aus Gruppe V1 wichen jedoch nach zwei Monaten Versuchszeit und von zwei Vögeln aus Gruppe V2 nach vier Monaten von den Ausgangswerten (0 bis 7 %) ab.

Bei den **Lymphozyten** zeigte sich in allen drei Gruppen ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit, das heißt mit zunehmender Versuchsdauer stiegen die Werte in allen Gruppen zunächst an, um anschließend wieder geringere Anteile am

Gesamtleukozytengehalt zu bilden. Nach 6 Monaten waren die Werte im Gruppenmittel dann wiederum bei allen drei Gruppen höher als zu Beginn.

Bei der Blutentnahme nach 2 Versuchsmonaten war ein Einfluss der Dosis zu erkennen, der sich in signifikanten Unterschieden zwischen den drei Versuchsgruppen ausdrückte (K: 54 %, V1: 60 % bzw. V2: 72%). In Gruppe V1 waren vor Versuchsbeginn und nach zwei Monaten bei je einem Tier, in Gruppe V2 zu Beginn und nach vier Monaten bei einem, nach zwei Monaten bei drei und nach sechs Monaten bei zwei Probanden Werte oberhalb der Orientierungswerte von 29 bis 82 % zu beobachten.

Insgesamt war jedoch auch hier kein gerichteter Verlauf der Werte zu erkennen, der aus einem Einfluss von Vitamin K₃ hätte resultieren können.

Da die Lymphozyten und Heterophilen sich in ihren prozentualen Anteilen umgekehrt proportional zueinander verhielten, waren bei denselben Agaporniden die Anteile der **Heterophilen Granulozyten** entsprechend niedriger. Neben einem signifikanten Einfluss der Versuchsdauer auf die Werte innerhalb der drei Probandengruppen lagen bei den Heterophilen zudem Interaktionen zwischen den Einflussfaktoren Zeit und Dosis vor.

Bei den Heterophilen kam es in den drei Gruppen nach zwei Monaten zu einer Reduktion der prozentualen Anteile unter die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn (K: 41 %, V1: 39 %, V2: 36 %) und nach vier Versuchsmonaten in Gruppe K zu einem Anstieg über den Ausgangswert hinaus. Bei Gruppe V1 bzw. V2 hingegen war zwar nach 2 Monaten ebenfalls eine Steigerung der prozentualen Anteile zu beobachten, diese blieben jedoch unterhalb des Ausgangswertes.

Nach Versuchsende waren die prozentualen Anteile der Heterophilen in allen Gruppen niedriger als zu Versuchsbeginn, wobei die Vögel der Gruppe V1 eine geringere Beteiligung der Heterophilen am Gesamtleukozytengehalt besaßen als die der anderen Gruppen. In Gruppe K waren mit 27 % niedrigere Werte als in Gruppe V2 zu verzeichnen, die mit 30 % zum Versuchsende den durchschnittlich höchsten Anteil an Heterophilen hatte (s. Abbildungen 10 und 11).

Tab. 30: Mittelwerte der Leukozytenfraktionen bei Agaporniden (Angaben in %) nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage

Gruppe	vor	nach	nach	nach
	Versuchsbeginn	2 Monaten	4 Monaten	6 Monaten
	Lymphozyten			
K*	55 ± 9 ^A	60 ± 12 ^{aA}	54 ± 15 ^A	68 ± 9 ^B
V1	55 ± 17 ^A	66 ± 15 ^{abAB}	60 ± 15 ^A	68 ± 12 ^B
V2	60 ± 14 ^A	72 ± 11 ^{bB}	65 ± 14 ^{ABC}	66 ± 12 ^C
	Heterophile			
K	41 ± 10 ^A	35 ± 12 ^A	41 ± 14 ^A	27 ± 8 ^B
V1	39 ± 16 ^A	29 ± 13 ^{AB}	36 ± 14 ^A	26 ± 10 ^B
V2	36 ± 14 ^A	25 ± 12 ^B	30 ± 13 ^{ABC}	30 ± 12 ^C
	Basophile			
K	2 ± 1,7 ^a	3 ± 1,4	3 ± 1,9	2 ± 1,2
V1	4 ± 1,5 ^b	4 ± 2,4	2 ± 1,9	3 ± 1,6
V2	3 ± 1,5 ^{ab}	3 ± 1,0	3 ± 2,8	2 ± 1,6
	Monozyten			
K	1 ± 0,5 ^A	2 ± 1,3 ^B	1 ± 0,8 ^{AB}	1 ± 0,7 ^A
V1	1 ± 0,9 ^A	1 ± 1,2 ^A	1 ± 0,7 ^B	0 ± 0,4 ^B
V2	1 ± 0,7 ^{AB}	1 ± 1 ^{AB}	0 ± 0,5 ^A	0 ± 0,7 ^B
	Eosinophile			
K	1 ± 0,9 ^{AB}	1 ± 0,8 ^{AC}	1 ± 0,9 ^{BC}	2 ± 1,7 ^C
V1	1 ± 0,8 ^{AB}	1 ± 0,9 ^A	1 ± 0,9 ^{BC}	2 ± 1,6 ^C
V2	1 ± 0,8 ^B	1 ± 0,7 ^A	2 ± 1,2 ^B	1 ± 1,2 ^{AB}

* = Mittelwerte der Gruppen (je n = 12)

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05) zwischen den 3 Gruppen, verschiedene Großbuchstaben innerhalb einer Probandengruppe zwischen den Werten der Blutentnahmezeitpunkte

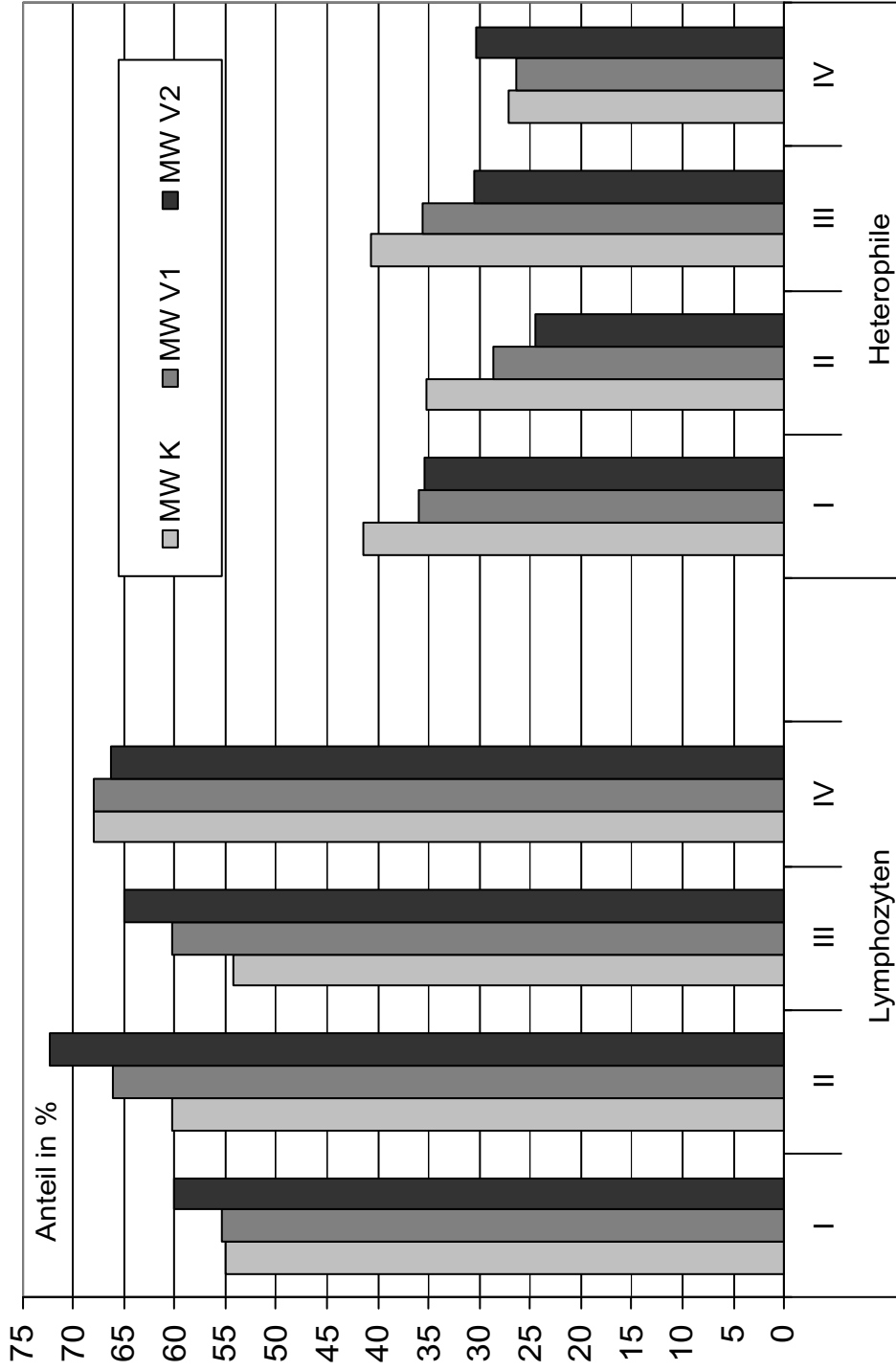


Abb. 10: Differentialblutbild: prozentualer Anteil der Lymphozyten und Heterophilen Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl (Angaben in %) bei Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfutters ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage zu den Zeitpunkten I-IV

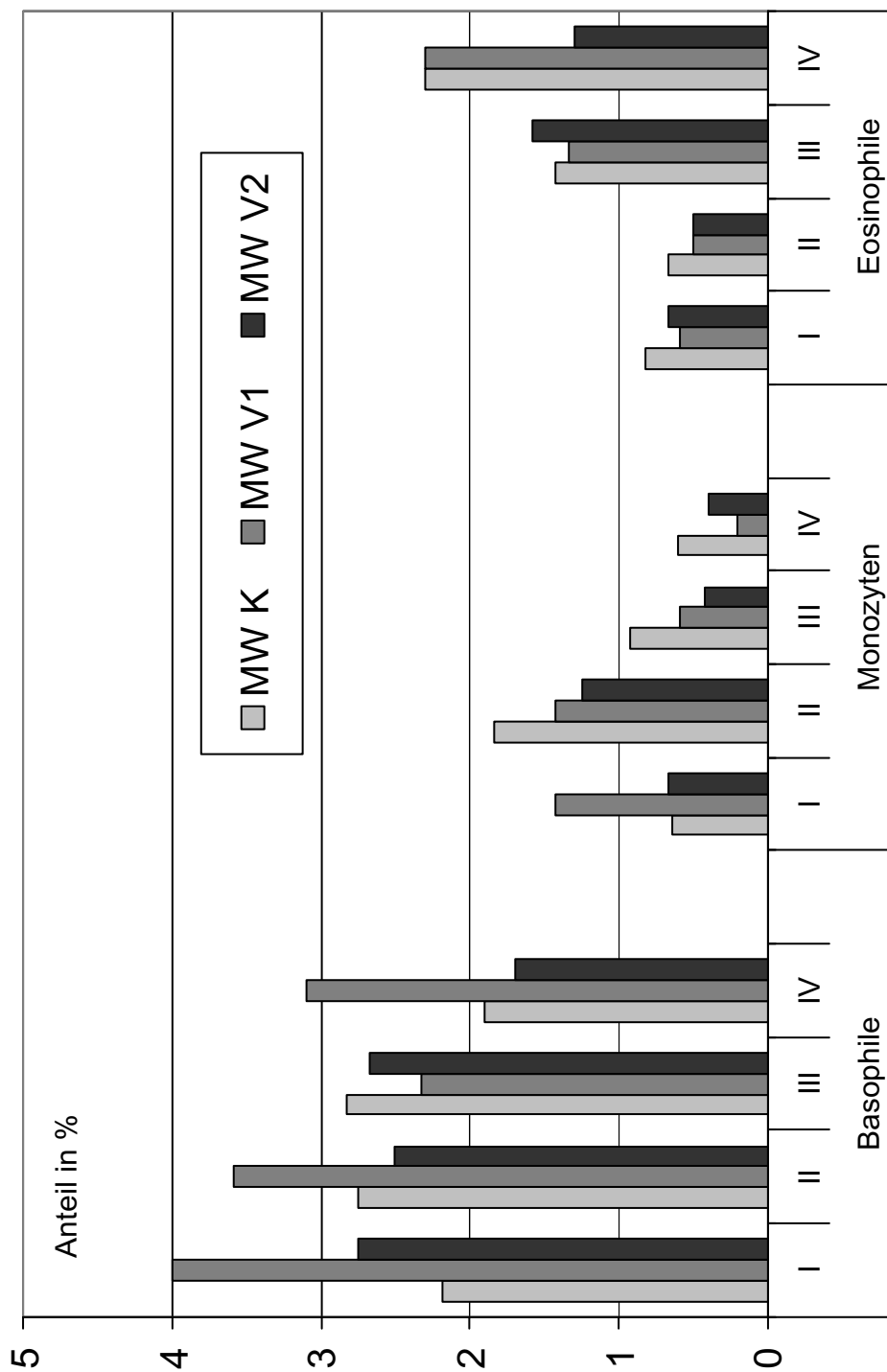


Abb. 11: Differentialblutbild: prozentualer Anteil der Basophilen, Monozyten und Eosinophilen an der Gesamtleukozytenzahl (Angaben in %) bei Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfutters ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage zu den Zeitpunkten I-IV

8.4 Heinz-Innenkörper (Retikulozytenfärbung)

Bei der Durchmusterung der mittels Brillantkresylblau gefärbten Blutaussstriche konnte bei keinem der Probanden zu irgendeinem Entnahmezeitpunkt das Auftreten von Heinz-Innenkörpern beobachtet werden.

8.5 Blutchemische Parameter

Die blutchemischen Analysen (s. Tabelle 31) zeigten bei der Überprüfung Enzymaktivitäten der so genannten „Leberparameter“ **Glutamatdehydrogenase (GLDH)** bzw. **Aspartat Transaminase (AST)** wie auch der zur Differenzierung von Leber- bzw. Muskelzellschädigungen bestimmten **Kreatinkinase (CK)** keine Auffälligkeiten.

Bei allgemein fehlender Aktivität kam es in allen drei Gruppen bei einzelnen Individuen zu leichten bis deutlichen Erhöhungen der CK von bis zu 589 U/l (s. Tabelle 54, S. 156). Dieses führte bei der Bildung von Gruppenmittelwerten dementsprechend zu hohen Variationskoeffizienten und stellt die Aussagekraft dieses Parameters in Frage.

Die Enzymaktivitäten der **Laktatdehydrogenase (LDH)** wiesen Abweichungen in der Kontrollgruppe und Versuchsgruppe 1 in Form einer Reduzierung von den vor Versuchsbeginn ermittelten Orientierungswerten (161 bis 1588 U/l) auf.

Die Parameter **Harnsäure (URICA)** und **Kalium (K)**, die üblicherweise zur Diagnostik einer Nierenfunktionsstörung bestimmt werden, zeigten in den Mittelwerten der Gruppen keine Abweichungen von den Basalwerten.

Zu Versuchsbeginn variierten die Harnsäurewerte zwischen 450 (K), 543 (V1) und 549 (V2) $\mu\text{mol/l}$, tendenziell zeigte sich nach 2 und 4 Monaten in jeder der drei Gruppen eine Reduktion, nach 6 Versuchsmonaten stiegen die Werte in allen Gruppen wieder leicht an, blieben jedoch unterhalb der Ausgangswerte (K: 406, V1: 443, V2: 385 $\mu\text{mol/l}$).

Bei der Bestimmung des **Gesamtproteins (TP)** bzw. der Fraktionen **Albumin (Alb)** und **Globulin (Glob)** zeigten sich im Gruppenmittel ebenfalls keine signifikanten Abweichungen von den Orientierungsbereichen.

Die Konzentrationen von **Na** variierten in engen Grenzen (K: 342 bis 350, V1: 325 bis 362, V2: 345 bis 359 mg/dl) und wichen ebenfalls nicht vom Bereich der Orientierungswerte ab.

Die Werte des **Ca²⁺** betrug zu Versuchbeginn 1,71 (K) bzw. 1,81 (V1) und 1,85 (V2) mg/dl und waren somit niedriger als nach 6 Monaten (K: 2,05, V1: 2,11 und V2: 1,95 mg/dl). Es zeigte sich jedoch auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Versuchsgruppen. Dieses war ebenfalls beim Parameter **Gesamtkalzium** zu beobachten, auch wenn in der Kontrollgruppe und Gruppe V2 bei den Blutentnahmen nach zwei, vier und sechs Monaten höhere Konzentrationen als zu Versuchbeginn (K: 9,17, V1: 8,58, V2: 8,63 mg/dl) zu verzeichnen waren. Die Werte dieses Parameters wurden darüber hinaus auch durch die Versuchsdauer beeinflusst.

Die zu den vier Blutentnahmezeitpunkten ermittelten Enzymaktivitäten bzw. Konzentrationen der blutchemischen Parameter der Einzeltiere sind den Tabellen 48 bis 59 (S. 150 bis 161) zu entnehmen.

Tab. 31: Mittelwerte der blutchemischen Parameter bei Agaporniden nach Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hoher Vitamin K₃-Zulage an den Entnahmezeitpunkten I-IV

	LDH (U/l)				AST (U/l)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K*	498 ± 260 ^{A**}	428 ± 298 ^A	186 ± 61 ^B	153 ± 63 ^B	217 ± 102	181 ± 36	185 ± 26	162 ± 45
V1	526 ± 434 ^A	353 ± 147 ^A	147 ± 38 ^B	153 ± 40 ^B	187 ± 45	194 ± 63	170 ± 41	156 ± 44
V2	776 ± 597 ^A	387 ± 297 ^{AC}	184 ± 90 ^{BC}	180 ± 98 ^B	183 ± 41 ^A	174 ± 44 ^{AB}	152 ± 29 ^B	160 ± 39 ^{AB}

Fortsetzung Tab. 31:

	GLDH (U/l)				URICA ($\mu\text{mol/l}$)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K	2,84	0,80	0,71	1,27	450	378	393	406
	$\pm 2,34^A$	$\pm 0,43^B$	$\pm 0,24^B$	$\pm 2,25^{AB}$	± 127	± 83	± 149	± 88
V1	2,52	1,03	0,68	1,00	543	356	422	443
	$\pm 1,43^A$	$\pm 0,62^B$	$\pm 0,41^B$	$\pm 0,46^B$	$\pm 197^A$	$\pm 87^B$	$\pm 128^{AB}$	$\pm 171^{AB}$
V2	1,76	0,66	0,64	1,12	549	317	351	385
	$\pm 1,06^A$	$\pm 0,39^B$	$\pm 0,25^B$	$\pm 1,07^B$	$\pm 167^A$	$\pm 106^B$	$\pm 58^B$	$\pm 130^B$

	CK (U/l)				Ca^{2+} (mg/dl)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K	52	14	32	25	1,71	1,83	2,05	2,05
	± 169	± 28	± 41	± 57	$\pm 0,24$	$\pm 0,23$	$\pm 0,63$	$\pm 0,54$
V1	2	1	16	26	1,81	1,64	1,69	2,11
	$\pm 3,68^{AC}$	$\pm 2,89^A$	$\pm 23^{BC}$	$\pm 31^B$	$\pm 0,12^{AC}$	$\pm 0,17^B$	$\pm 0,15^{BC}$	$\pm 0,56^A$
V2	19	9	42	72	1,85	1,86	2,02	1,95
	± 35	± 17	± 69	± 102	$\pm 0,24$	$\pm 0,20$	$\pm 0,65$	$\pm 0,34$

	Ca ges. (mg/dl)				K (mg/dl)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K	9,17	11,58	15,51	15,87	12,04	10,56	10,44	10,10
	$\pm 2,37^A$	$\pm 6,29^{AC}$	$\pm 5,49^{BC}$	$\pm 6,52^{BC}$	$\pm 7,15$	$\pm 3,02$	$\pm 3,04$	$\pm 2,70$
V1	8,58	10,01	14,01	13,57	8,91	10,25	10,18	9,86
	$\pm 1,44^A$	$\pm 4,84^A$	$\pm 3,47^B$	$\pm 6,52^{AB}$	$\pm 2,49$	$\pm 2,85$	$\pm 2,26$	$\pm 2,45$
V2	8,63	13,36	17,22	15,71	7,85	10,54	9,55	10,04
	$\pm 1,86^A$	$\pm 4,37^B$	$\pm 6,64^B$	$\pm 10,7^{AB}$	$\pm 0,99^A$	$\pm 3,23^B$	$\pm 1,90^B$	$\pm 1,88^B$

Fortsetzung Tab. 31:

	Na (mg/dl)				TP (g/l)**			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K	342	343	348	350	29	27	24	25
	± 32	± 29	± 33	± 31	± 3,4 ^A	± 5,5 ^{AC}	± 3,9 ^{BC}	± 5,3 ^{BC}
V1	349	362	344	325	27	22	22	24
	± 35	± 33	± 55	± 51	± 4,5 ^A	± 2,4 ^B	± 2,5 ^B	± 3,6 ^B
V2	359	351	345	348	32	24	26	25
	± 26	± 33	± 37	± 37	± 5,4 ^A	± 3,9 ^B	± 4,9 ^B	± 5,7 ^B

	Alb (g/l)				Glob (g/l)**			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
K	4	4	4	3	25	23	20	21
	± 1,9 ^{ab}	± 3,2	± 1,9 ^a	± 2,9	± 4,4 ^A	± 5,8 ^{AB}	± 3,1 ^B	± 3,6 ^{AB}
V1	3	2	2	2	24	20	20	22
	± 2,1 ^a	± 1,5	± 1,2 ^b	± 1,6	± 4,2 ^A	± 1,8 ^B	± 2,1 ^B	± 3,1 ^{AB}
V2	5	3	4	3	27	21	22	22
	± 2,2 ^{bA}	± 3,4 ^{AB}	± 2,4 ^{aB}	± 2,4 ^{AB}	± 5,2 ^A	± 2,6 ^B	± 2,6 ^B	± 3,5 ^B

* = Mittelwerte der Gruppen

** = Werte gerundet

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den 3 Gruppen, verschiedene Großbuchstaben innerhalb einer Probandengruppe zwischen den Werten der Blutentnahmezeitpunkte I-IV

Zwischen der Kontrollgruppe und den zwei Versuchsgruppen gab es im Gruppenmittel lediglich bei dem Parameter Albumin bei der Blutentnahme zu Versuchsbeginn und nach vier Monaten signifikante Unterschiede.

Innerhalb der drei Probandengruppen zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Blutentnahmezeitpunktes bei LDH, AST, GLDH, Harnsäure, Kalium, Gesamtkalzium, Gesamtprotein, Albumin und Globulin.

9. Pathologisch-anatomische und histologische Befunde

Die im Institut für Pathologie der Universität Utrecht *) durchgeführten Sektionen der zufällig ausgewählten 4 Probanden einer jeden Gruppe fand sofort nach der Euthanasie durch intravenöse, in Ausnahmefällen durch intramuskuläre Injektion von T61® statt. Während der Sektion wurden Proben für parasitologische und mikrobiologische Untersuchungen entnommen und im selben Institut ausgewertet. Von den sofort fixierten Organen wurden histologische Schnitte nach HE-Färbung sowie einer speziellen Eisenfärbung beurteilt (s. Tabelle 34).

9.1 Makroskopische Befunde

Das **Federkleid** sowie **Haut**, **Schnabel** und **Krallen** wiesen bei keinem Vogel Besonderheiten auf. Alle Vögel befanden sich in einem guten **Ernährungszustand**, der anhand der Ausbildung der Brustmuskulatur und des Vorhandenseins von Fett im Mesenterium und Sulcus coronarius beurteilt wurde.

Die **Schilddrüsen** waren bei allen Vögeln ohne pathologische Veränderungen, die **Nebenschilddrüsen** von Vogel 4 (K), Vogel 7 (K) und Vogel 16 (V1) schienen makroskopisch vergrößert zu sein.

Die **Herzmuskulatur** und die **Herzklappen** sowie die großen **Gefäße** zeigten sich bei allen untersuchten Tieren makroskopisch ohne Auffälligkeiten.

Bei der Beurteilung der **Lebern** konnten keine Veränderungen hinsichtlich der Farbe, Form und Beschaffenheit festgestellt werden, die Leberränder waren bei allen 12 Probanden scharf. Im Vergleich der prozentualen Anteile der **Herz-** und **Lebergewichte** an der Gesamtkörpermasse (s. Tabelle 32) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

*) An dieser Stelle ein großer Dank für die Unterstützung an Prof. Dr. G. M. Dorrestein sowie de Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Institutes für Pathologie der Universität Utrecht!

Tab. 32: Geschlecht, Körpermasse bzw. Herz- und Lebergewicht (absolut bzw. in Relation zur Körpermasse) von Agaporniden ohne bzw. nach sechsmonatiger unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃ - Substitution

Vogel (Gruppe)	Geschlecht (m/w*)	KM (g)	Herzgewicht		Lebergewicht	
			absolut (g)	relativ (%)	absolut (g)	relativ (%)
3 (K)	m	49,2	0,61	1,24	0,77	1,57
4 (K)	m	52,8	0,63	1,19	0,85	1,61
7 (K)	m	53,0	0,74	1,37	0,70	1,32
8 (K)	w	46,7	0,64	1,37	0,86	1,84
MW (K)		50,4	0,65	1,29	0,79	1,52
15 (V1)	m	57,9	0,85	1,47	0,93	1,61
16 (V1)	m	51,9	0,70	1,35	0,67	1,29
19 (V1)	w	61,0	0,84	1,38	0,81	1,33
20 (V1)	w	57,6	0,81	1,41	0,86	1,49
MW (V1)		57,1	0,80	1,40	0,81	1,43
25 (V2)	w	49,7	0,73	1,47	0,72	1,45
26 (V2)	w	54,5	0,75	1,38	0,86	1,58
29 (V2)	m	52,7	0,68	1,29	0,73	1,39
30 (V2)	m	45,8	0,67	1,46	0,54	1,18
MW (V2)		50,7	0,70	1,40	0,71	1,40

* m/w = männlich/weiblich

Die **Milz** der Probanden stellte sich einheitlich blassrot und rund dar. Es war bei keinem der Vögel eine Aktivierung der Milz zu beobachten. Der mittlere Milzdurchmesser variierte von 2,75 mm bei Gruppe V1 bis 3,25 mm bei Gruppe V2. Die Kontrollgruppe besaß einen Milzdurchmesser von durchschnittlich 3 mm (s. Tabelle 33).

Tab. 33: Durchmesser der Milz (Angaben in mm) von Agaporniden ohne bzw. nach sechsmonatiger unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃-Substitution

K Vogel Nr.	Milzgröße (mm)	V1 Vogel Nr.	Milzgröße (mm)	V2 Vogel Nr.	Milzgröße (mm)
3	2	15	4	25	4
4	3	16	2	26	4
7	4	19	2	29	3
8	3	20	3	30	2
MW	3,0	MW	2,75	MW	3,25

Wie die **Lungen** der Vögel waren auch die **Nieren**, **Nebennieren** und **Reproduktionssorgane** ohne besonderen Befund. Im **Magendarmtrakt** zeigten sich bis auf einen Vogel keinerlei Auffälligkeiten, bei Vogel Nr. 16 (V1) war der Drüsenmagen dilatiert und enthielt eine Gasblase.

Das **Pankreas** von Vogel Nr. 3 (K) schien makroskopisch vergrößert, bei den übrigen Vögeln war dieses Organ unauffällig.

9.2 Mikroskopische Befunde

9.2.1 Ausstriche des Drüsenmagen - und Darminhalts

Es konnten bei keinem der Probanden Hefen im Mageninhalt nachgewiesen werden, ebenso wurden bei keinem Vogel Parasiten oder Parasiteneier gefunden.

9.2.2 Abklatschpräparate

In den mit Haemacolor® gefärbten Abklatschpräparaten von Leber, Milz, Lunge und Darmausstrich wurden bei keinem Vogel abnorme Parenchymzellen bzw. Zellen des hämatopoetischen Systems oder größere Mengen Entzündungszellen

nachgewiesen. Ebenso war die Überprüfung der Organe auf Chlamydien mittels Färbung nach Stamp bei allen Vögeln negativ.

9.2.3 Immunfluoreszenztest

Die Immunfluoreszenztests der Leber, Milz, Lunge und des Darmausstriches ergaben in keinem Fall einen Hinweis auf das Vorhandensein von Chlamydien.

9.2.4 Histologische Präparate

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung sind in der nachfolgenden Tabelle 34 aufgeführt. Hierbei sind Gewebe, die sich ohne besonderen Befund darstellten, nicht enthalten.

Besonderes Augenmerk wurde bei der Beurteilung der einzelnen Gewebe auf das Vorhandensein von pathologischen Befunden im Gehirn im Sinne eines Kernikterus, in der Leber auf das Auftreten von Vakuolen mit Hinweis auf eine eventuelle toxische Leberverfettung, im Nierengewebe auf Degenerationen in Form von Tubulusepithelschäden, Glomeruliaberrationen oder anderen degenerativen Erscheinungen, auf Veränderungen der Milz und der Lungen sowie auf ein abnormes Erscheinungsbild des Knochenmarkes gelegt.

Zur vollständigen Beurteilung wurden neben den oben genannten Geweben auch Muskulatur, Schilddrüsen mit Nebenschilddrüsen, Nebennieren, Herzmuskel, Drüsen- und Muskelmagen, Reproduktionsorgane und Pankreas untersucht.

Tab. 34: Histopathologische Befunde und Diagnosen von veränderten Organen bei Agaporniden ohne bzw. nach sechsmonatiger unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃-Substitution

Organ	Befund	Diagnose	Vogelnr. (Guppe)
Leber	ggr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments in den Makrophagen	Eisenablagerungen in aktivierten Makrophagen (Kupffersche Sternzellen)	3 (K) 20 (V1) 29 (V2) 30 (V2)
	ggr. multifokale mononukleäre Infiltration	chronische Hepatitis	4 (K) 25 (V1) 26 (V1)
	ggr.-mgr. multifokales Vorhandensein von bräunlichem Pigment in den Makrophagen, z. T. mit Ansammlungen mononukleärer Zellen	Eisenablagerungen in aktivierten Makrophagen mit beginnender Granulombildung	8 (K)
	ggr. diffuse Vakuolisierung der Hepatozyten	Einlagerung von Fett, Glykogen oder hyalinen Koazervaten	16 (V1) 20 (V1) 29 (V2)
Lunge	ggr. multifokales Auftreten von schwarzbraunem Pigment	Anthrakose	7 (K) 20 (V1) 29 (V2)
	mgr. fokale Ansammlungen von Erythrozyten und eosinophilem Material in den Parabronchi	euthanasiebedingte Lungenblutung mit akutem parabronchiales Ödem	4 (K) 8 (K) 16 (V1) 19 (V1) 25 (V2) 26 (V2) 30 (V2)
	perivaskuläre Ansammlungen von mononukleärem Gewebe	ggr. lymphoidzellige Bronchitis und BALT (bronchoid associated lymphoid tissue)	4 (K) 7 (K)
	Proliferation der interparabronchialen Septen	beginnende Lungenfibrose?	7 (K)

Fortsetzung von Tab. 34:

Niere	ggr.-mgr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments im Tubulusepithel vor allem der distalen Tubuli und der Sammelrohre	tubuläre Eisenablagerungen	3 (K) 8 (K) 16 (V1) 19 (V1) 20 (V1) 26 (V2) 30 (V2)
	mgr.-hgr. Ablagerungen eines bräunlichen Pigments im Tubulusepithel vor allem der Sammelrohre	Eisenablagerungen	4 (K) 25 (V2)
	ggr. multifokales Auftreten von eosinophilem Material im Mesangium mit z. T. irregulärem Erscheinungsbild des Tubulusepithels	Proteinausschwitzungen	3 (K) 8 (K) 16 (V1) 19 (V1) 25 (V2)
	ggr. eosinophiles Material im Tubuluslumen	Proteinausschwitzungen	15 (V1) 25 (V2)
	ggr. multifokale kortikale Lymphozytenansammlungen	nichteitrige interstitielle Nephritis?	3 (K)
	ggr. fokale mononukleäre Infiltrate im Interstitium	interstitielle Nephritis?	8 (K) 16 (V1)
	hyaline Membranen im Glomerulum?	Glomerulopathie mit Membranformation	26 (V2)
	Milz	ggr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments in der roten Pulpa	Eisenablagerungen in aktivierten Makrophagen
ggr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments in der roten Pulpa mit Ansammlungen von mononukleären Zellen		beginnende Granulombildung um Eisenablagerungen in aktivierten Makrophagen	25 (V2)
Große, lobulierte Makrophagen mit eosinophilem Material		Phagozytose von Protein?	26 (V2)

Fortsetzung von Tab. 34:

Schilddrüse	irreguläres Epithel der Follikel mit wenig Kolloid	Inaktivität	25 (V2) 19 (V1)
Duodenum	ggr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments in der Lamina propria	Eisenablagerungen	4 (K) 8 (K)
	ggr. multifokale Ablagerungen eines bräunlichen Pigments in den Fettzellen der Serosa	Eisenablagerungen	20 (V1)

Die lichtmikroskopischen Bilder der Organe, die keine Veränderungen bzw. oben genannte Befunde aufwiesen, sind in den nachfolgenden Abbildungen 12 bis 26 dargestellt.

Hierbei wurden zunächst Abbildungen von Organen ausgewählt, die keinerlei pathologische Veränderungen aufwiesen. Im Anschluss sind histologische Schnittbilder der entsprechenden Organe abgebildet, in denen markante Veränderungen zu erkennen waren.

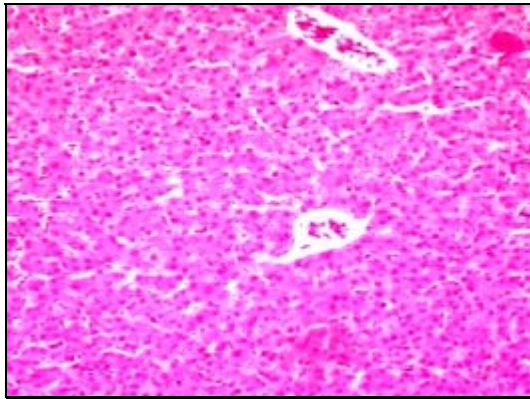


Abb. 12: Leber, HE, 100fach vergrößert, obB

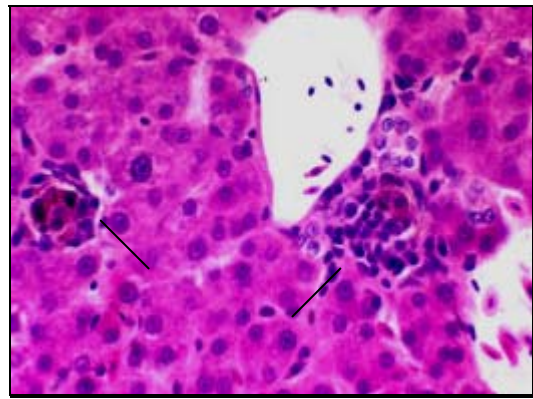


Abb. 15: Leber, HE, 400fach vergrößert, Granulome um Eisenpigment

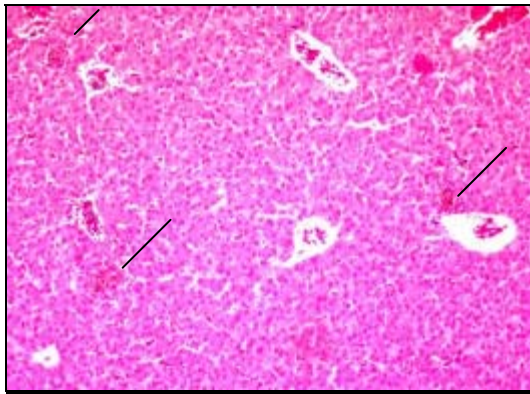


Abb. 13: Leber, HE, 100fach vergrößert, multifokale Granulome

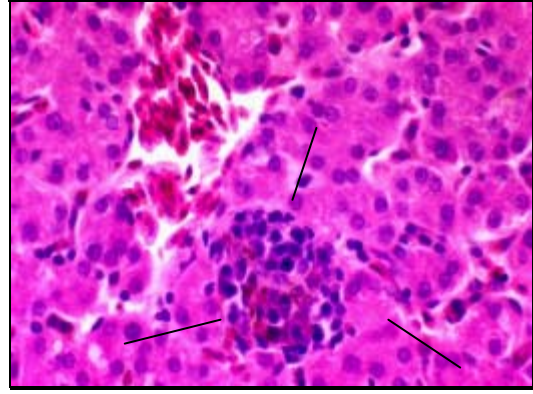


Abb. 16: Leber, HE, 400fach vergrößert, Granulom um Eisenpigment

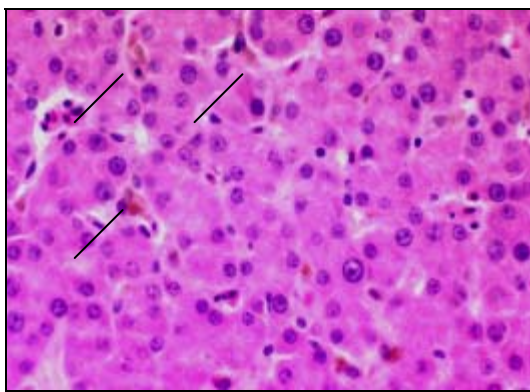


Abb. 14: Leber, HE, 400fach vergrößert, Eisenpigment in Makrophagen

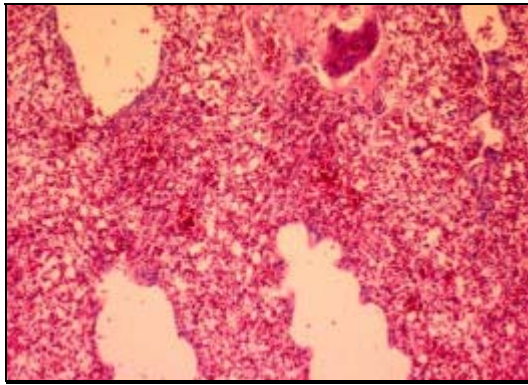


Abb. 17: Lunge, HE, 100fach vergrößert, obB

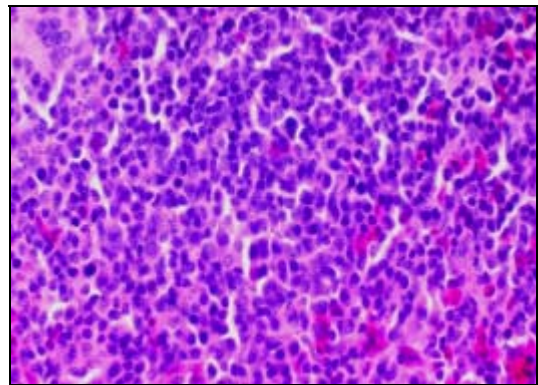


Abb. 20: Milz, HE, 400fach vergrößert, obB

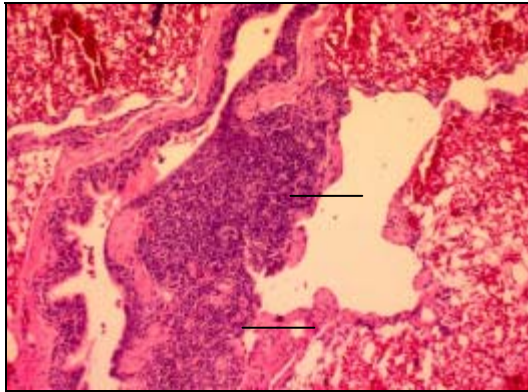


Abb. 18: Lunge, HE, 100fach vergrößert, BALT

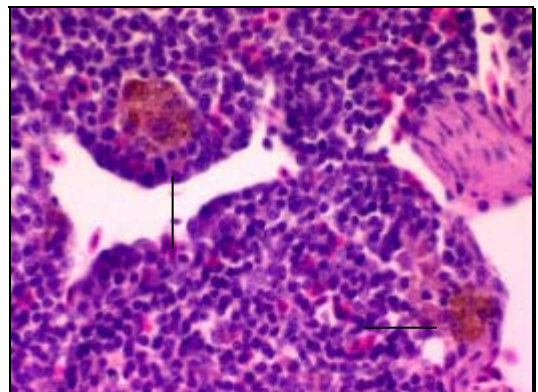


Abb. 21: Milz, HE, 400fach vergrößert, hgr. Eisenpigment in Pulpa

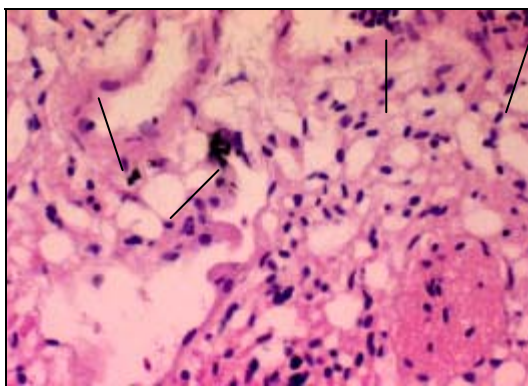


Abb. 19: Lunge, HE, 400fach vergrößert, Anthrakose

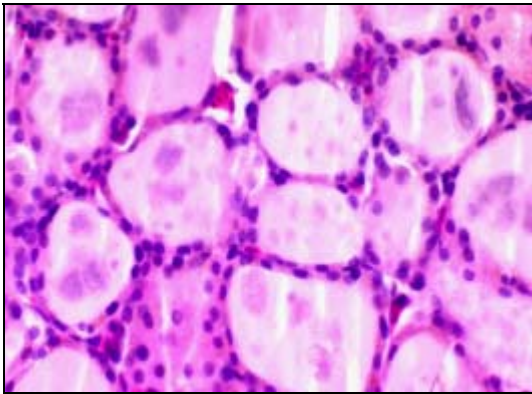


Abb. 22: Schilddrüse, HE, 400fach vergrößert, obB

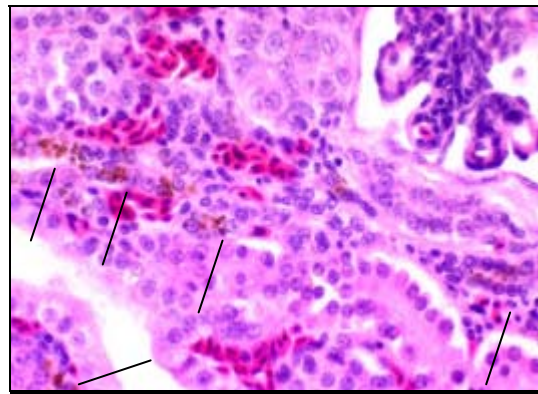


Abb. 25: Niere, HE, 400fach vergrößert, mgr. Eisenpigment im distalen Tubulus mit Glomerulum

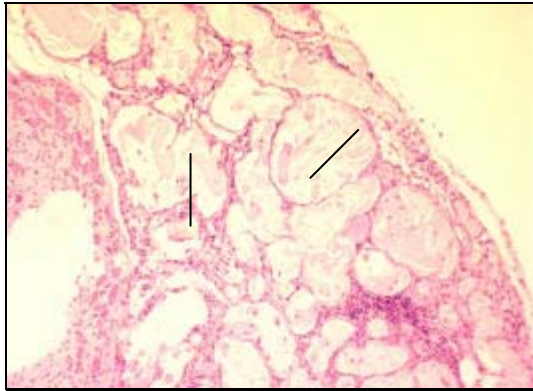


Abb. 23: Schilddrüse, HE, 100fach vergrößert, unregelmäßiges Follikelepithel

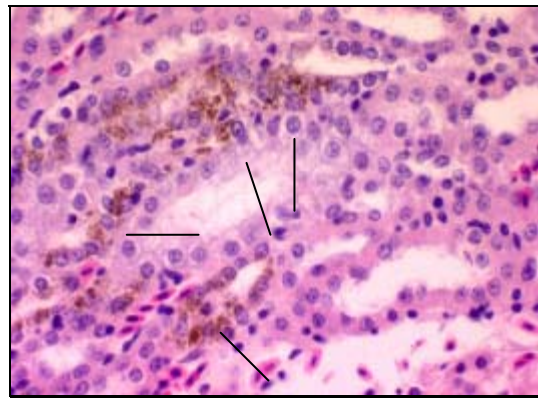


Abb. 26: Niere, HE, 400fach vergrößert, hgr. Eisenpigment im Sammelrohrepithel

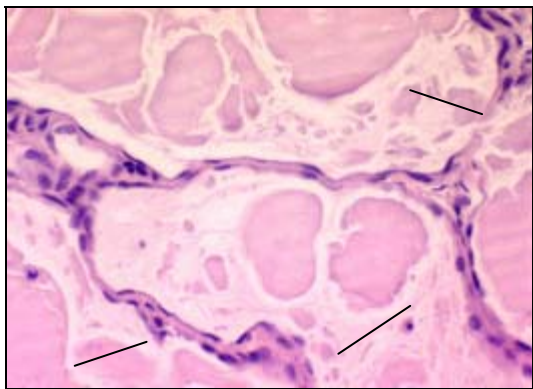


Abb. 24: Schilddrüse, HE, 400fach vergrößert, unregelmäßiges Epithel

10. Mikrobiologische Befunde

Routinemäßig wurde von allen Vögeln eine Kultur des Darminhaltes angefertigt. Auf dem hierzu benutzten Blut- bzw. Brillantgrünagar wurde in der Kontrollgruppe bei einem Vogel ein geringgradiger Gehalt an Streptokokken nachgewiesen. In Gruppe V1 fiel das sporadische Auftreten von Streptokokken bei zwei Probanden auf, in Gruppe V2 wurde bei zwei Vögeln eine geringe Besiedlung mit *Bacillus* spp., bei einem Vogel ein geringer Gehalt an Staphylokokken und bei dem vierten das sporadische Auftreten einer Mischkultur beobachtet.

Grundsätzlich konnte jedoch bei keinem Agaporniden eine gravierende Veränderung in der Zusammensetzung der Darmflora diagnostiziert werden.

11. Bestimmung des Vitamin K₃-Gehaltes in den Lebern

Ausgehend von der Überlegung, dass mit zunehmender Vitamin K₃-Aufnahme eine stärkere Einlagerung von K₃ in die Leber erfolgen könnte, wurde das tiefgefrorene Lebergewebe der 4 Probanden einer jeden Gruppe zu einer Probe vereinigt (Erlangung einer ausreichenden Probenmenge) und auf den Vitamin K₃-Gehalt untersucht. Die hierbei angewandte Analytik ist K₃-spezifisch, das heißt, sie erlaubt keine Einschätzung des Gehaltes an anderen Vitamin K-Verbindungen, die möglicherweise nach Metabolisierung in der Leber anzutreffen sind *).

Tab. 35: Vitamin K₃-Gehalt in den Lebern von Agaporniden nach sechsmonatiger fehlender bzw. unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃-Substitution (Angaben in mg/kg uS)

Gruppe (Vitamin K ₃ -Gehalt im Futter)	K (<1 mg/kg TS)	V1 (26,6 mg/kg TS)	V2 (170 mg/kg TS)
Vitamin K ₃ -Gehalt im Lebergewebe	0,53	0,54	0,37

*) Herrn P. Hoffmann sowie Herrn Dr. Seehawer, Roche-Vitamins Ltd. Basel, Schweiz, sei an dieser Stelle herzlich für diese Analytik gedankt!

Wie die Werte in Tabelle 35 belegen, wurden – unabhängig von der Vitamin K₂-Aufnahme – in allen Gruppen ähnliche Konzentrationen an Vitamin K₃ ermittelt.

Es liegt demzufolge keine gerichtete Veränderung infolge einer forcierten Vitamin K₃-Einlagerung in die Leber vor.

Andere Vitamin K- Verbindungen konnten leider mangels einer ausreichenden Menge an Lebergewebe nicht untersucht werden.

IV. Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war die Überprüfung eines eventuell toxischen Potentials üblicher Vitamin K₃-Dosierungen im Futter (2 mg/kg) für Ziervögel, da in Zeitschriften für Ziervogelfreunde sowie in einem Internetforum in den letzten Jahren wiederholt Vermutungen über eine Toxizität von Vitamin K₃ geäußert und Forderungen nach einem Verbot dieses synthetischen Vitamins in der Tierernährung laut wurden.

Grund zu Zweifeln an diesen Mutmaßungen besteht aus der Sicht der Tierernährung zum einen, da Vitamin K₃ in verschiedenen chemischen Verbindungen ein zugelassener Zusatzstoff in Futtermitteln ist und somit durch verschiedene EU-Gremien vor der Zulassung geprüft wurde und zum anderen, da diese Verbindungen beim Wirtschaftsgeflügel seit Jahren ohne nachteilige Effekte als Vitaminergänzung eingesetzt werden. Darüber hinaus wird bei den oben genannten Warnungen nicht genau zwischen den verschiedenen Applikationsarten differenziert, was aus wissenschaftlicher Sicht abzulehnen ist, weil keine Rückschlüsse von einer Schädigung durch intravenöse Applikationen auf die Wirkung infolge einer oralen Verabreichung gezogen werden können.

Da bisher keine Erfahrungen mit einer oralen Applikation bei Ziervögeln vorliegen, erschien eine entsprechende Untersuchung zur ursächlichen Klärung notwendig.

Für die vorliegende Studie erhielten Agaporniden in einem längerfristigen Versuch (bis zu 10 Monate) ein mit unterschiedlich hohen Konzentrationen an Menadion-Natrium-Bisulfit (Vitamin K₃) versetztes Futter. Hierbei handelte es sich um ein Alleinfutter mit dem Bedarf entsprechend kalkulierten Anteilen an Rohnährstoffen, Mengen- und Spurenelementen sowie Vitaminen.

Anhand verschiedener klinischer, hämatologischer, blutchemischer, pathologisch-anatomischer und histopathologischer Parameter wurden während der Versuchszeit Hinweise auf toxische Effekte durch Vitamin K₃ gesucht.

Die Agaporniden wurden als Kleinpapageien stellvertretend für Ziervögel im Allgemeinen gewählt, da sie in ihren Anforderungen an die Ernährung sowohl den

großen Papageien als auch Kanarien und Sittichen entsprechen, aufgrund ihrer Körpermassen die angestrebten Untersuchungen ermöglichten sowie darüber hinaus in institutseigenen größeren Gruppen zur Verfügung standen.

Bei der Vielschichtigkeit der Untersuchung können in der folgenden Diskussion nicht alle Ergebnisse detailliert erörtert werden. Vielmehr sollen nach einigen kritischen Anmerkungen zur Methodik Schwerpunkte auf besonders interessante Ergebnisse gesetzt und die Konsequenzen der in diesen Versuchen gewonnenen Erkenntnisse näher beleuchtet werden.

1. Kritik der Methodik

In der vorliegenden Studie wurde eine die üblicherweise empfohlene Dosierung überschreitende Konzentration an Vitamin K₃ im Futter gewählt, das heißt, es wurde neben einer nicht supplementierten Kontrollgruppe jeweils eine Versuchsgruppe mit ca. 12facher und eine Gruppe mit etwa 75facher Überdosierung versorgt. Diese Gehalte wurden gewählt, um mögliche nachteilige Effekte durch die wesentlich über dem Bedarf liegenden Dosierungen bereits in wenigen Monaten zu reproduzieren. Es handelt sich also nicht um eine Toxizitätsstudie im klassischen Sinn, in der den Probanden die empfohlene Dosierung über Jahre hinweg bzw. eine exzessive Konzentration zu wenigen Zeitpunkten appliziert wird.

Die Untersuchung sollte praxisähnliche Haltungs- und Fütterungsbedingungen simulieren. Aus diesem Grund wurden die Probanden über mindestens sechs Monate paarweise in Käfigen gehalten. Hierzu wurden jeweils 2 Vögel zu Versuchsbeginn in einem Käfig untergebracht. Aufgrund des fehlenden Geschlechtsdimorphismus konnte keine Verpaarung von getrenntgeschlechtlichen Agaporniden gewährleistet werden, was zu Beginn der Versuche zu nicht unerheblichen Auseinandersetzungen zwischen den Käfigpartnern führte.

Da den Vögeln pro Käfig sowohl Futter als auch Wasser ad libitum zur Verfügung standen, konnte die Futter- bzw. Wasseraufnahme nicht für jeden Probanden einzeln bestimmt werden, sondern es wurden die von beiden Vögeln aufgenommenen

Mengen halbiert. Es handelt sich also diesbezüglich um Durchschnittswerte zweier Individuen, was im Einzelfall eine Verfälschung der Ergebnisse bewirkt haben kann.

Neben dem eigentlichen Versuchsaufbau müssen auch die Analysen der Blutproben sowie die Bewertung der Resultate einer kritischen Betrachtung unterzogen werden. Zur Erstellung eines Differentialblutbildes und Ermittlung der Gesamtleukozytenzahl sind mehrere Methoden beschrieben, die alle von der Methodik her fehleranfällig sind (VAN DER HEYDEN 1994) und einiger Übung bedürfen. Hierauf soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Für die Anfertigung eines Blutausstriches wird wie bei Säugetieren üblicherweise Nativblut oder mit EDTA versetztes Blut verwendet (LUMEIJ 1996).

Eine Leukozytenzählung mit automatischen Zählgeräten ist aufgrund der Kernhaltigkeit der Vogelerythrozyten und -thrombozyten nicht möglich. Deshalb werden im Allgemeinen manuelle Verfahren verwendet (MC CRACKEN 1993, CAMPBELL 1995, LUMEIJ 1996, FUDGE 1997). Als gebräuchlichste und sicherste Methode bei den äußerst fragilen Vogelleukozyten wird das Ausstreichen eines Tropfen Blutes mittels eines Objektträgers auf einem weiteren beschriebenen, um einen möglichst dünnen Blutfilm mit nur einer einschichtigen Lage von Zellen zu erlangen (LUMEIJ 1996, WEDEL 1999, PRENDL 2001). Neben der Anfertigung einwandfreier Blutausstriche kommt der Färbung eine besondere Bedeutung zu, um eine klare Differenzierung der Zellen zu ermöglichen. Hierzu liefern die klassischen Methoden der panoptischen Färbung nach Pappenheim und die Färbung nach Wright die besten Ergebnisse. Beide Methoden sind allerdings mit einem hohen Zeit- bzw. Kostenaufwand verbunden (HAUSKA et al. 1998). Die Differenzierung sollte im mittleren vertikalen Drittel des Ausstriches, also im Bereich des Monolayers (REAUZ et al. 1999) erfolgen, eine Differenzierung von mehr als 100 Zellen ist zur Optimierung der Zählgenauigkeit nicht notwendig (HAUSKA et al. 1998, REAUZ et al. 1999).

Grundsätzlich unterscheidet man drei Zählmethoden:

Einerseits die direkte manuelle Hämazytometermethode nach Natt und Herrick, bei der die unterschiedlichen Zelltypen angefärbt und gezählt werden können

(CAMPELL 1995, FUDGE 1997), andererseits die indirekte manuelle Hämazytometermethode mittels Unopette®, bei der sich nur Heterophile und Eosinophile Granulozyten anfärben (CAMPELL 1995, LUMEIJ 1996, FUDGE 1997, PRENDL 2001). Als dritte Möglichkeit ist eine Schätzmethode beschrieben, wobei die Leukozyten im Blutausstrich ausgezählt, mit einem Faktor multipliziert und evtl. bei einem abnormalen Hämatokritwert mit einem weiteren Faktor korrigiert werden (CAMPELL 1995, LUMEIJ 1996, FUDGE 1997, WEDEL 1999).

Die in der vorliegenden Studie angewandte Methode zur Leukozytenzählung stellt einen Kompromiss der oben genannten Möglichkeiten dar, sie erfolgte in der verbesserten Zählkammer nach Neubauer. Dabei wurde die Methode zur indirekten Bestimmung mittels Unopette® angewandt, die jedoch leicht modifiziert wurde.

Da aufgrund einer teilweise nicht ganz befriedigenden Verteilung der Zellen nicht in jedem Fall alle Felder ausgezählt werden konnten, wurden je Kammer die Granulozyten der vier Eckquadrate gezählt und anschließend der Mittelwert gebildet. Dieser Wert wurde zur Ermittlung des tatsächlichen **Granulozytengehaltes** und des **Gesamtleukozytengehaltes** in die auf Seite 54/55 beschriebene Formel eingesetzt.

Trotz der Bemühungen, mit der Differenzierung von 36 Blutausstrichen durch zwei Personen sowie Mehrfachauszählung desselben Ausstriches durch eine Person die Zählgenauigkeit zu überprüfen und optimieren, müssen die Resultate kritisch betrachtet werden. Die Kontrolle der Reproduzierbarkeit der Differenzierungen ergab jedoch zufrieden stellende Werte (s. Tabelle 21, sowie Tabellen 63/ 64, S 165/166).

Die Standardabweichungen und Variationskoeffizienten variieren zwar bedingt durch die zum Teil sehr kleinen absoluten Werte bei den Monozyten, sowie Basophilen und Eosinophilen Granulozyten teilweise erheblich (s. Tabellen 21 und Tabelle 63, S. 165). Im direkten Vergleich der entsprechenden Ausstriche ergibt sich aber zumeist eine gute Übereinstimmung der Differenzierungsergebnisse (s. Tabelle 63, S 165). Leider konnten aufgrund der Komplexität dieser labordiagnostischen Untersuchung für die Gesamtleukozytenzahl vor Beginn der Versuche keine Basiswerte erstellt werden (zunächst Anwendung einer anderen Methode mit unzuverlässigen Resultaten), so dass die während der Versuche gewonnenen Ergebnisse nicht mit Ausgangswerten verglichen werden konnten.

Zur Untersuchung der hämatologischen und blutchemischen Parameter ist anzumerken, dass auf dem Geflügel- und Ziervogelsektor im Vergleich zu Säugetieren bislang häufig noch die Etablierung verlässlicher Methoden aussteht und die Aussagekraft von Referenzwerten vorsichtig zu bewerten ist, da die Population oft aus verschiedenen Beständen mit unterschiedlichen Umwelteinflüssen rekrutiert wird und die Methoden nicht immer analog sind (SCOPE et al. 2002). Um einen besseren Vergleich zu erhalten, wurden aus den vor Versuchsbeginn ermittelten Daten entsprechende Ausgangswerte bestimmt, die allerdings lediglich die Werte von maximal 50 Vögeln zusammenfassten und nur eine Momentaufnahme darstellten, so dass bei der Beurteilung der Ergebnisse gewisse Vorbehalte angebracht sind.

Zur Sicherung einer bestmöglichen Objektivität im Hinblick auf die Beurteilung der hämatologischen und blutchemischen Parameter sollen im Folgenden zunächst die vor Versuchsbeginn bestimmten Ausgangswerte mit den in anderen Studien veröffentlichten Referenzwerten verglichen werden. Da die verschiedenen Autoren zum Teil sehr unterschiedliche Referenzbereiche ermittelt haben, werden hierzu die jeweils niedrigsten bzw. höchsten Werte verwendet.

Im Bereich der von anderen Autoren (LUMEIJ 1996, FUDGE 1997, 2000, WEDEL 1999, CALIFORNIA AVIAN LABORATORY 1998) veröffentlichten Referenzwerte (s. Tabelle 62, S. 164) variieren die vor Versuchsbeginn ermittelten Ausgangsgehalte der **Basophilen** und **Eosinophilen Granulozyten**, sowie die der **Monozyten**. Bezogen auf die blutchemischen Ergebnisse sind hier die **AST***, das **TP***, **Gesamtkalzium**, **Natrium** und **Kalium** zu nennen. Die Bereiche der **Heterophilen** weisen bei den eigenen Orientierungswerten ein vergleichsweise sehr

* AST = Aspartat-Amino-Transferase, TP = Gesamtprotein,

weites Spektrum auf. Leicht höhere Grenzen zeigten hingegen der **Hämatokrit** und die **Lymphozyten**, deutlich höhere Basiswerte lagen bei den **Gesamtleukozyten**, der **LDH*** und dem **Globulin** vor. Eher sehr niedrige Variationsbereiche konnten bei den Parametern **GLDH***, **Albumin** und **CK*** ermittelt werden. Aufgrund fehlender Referenzwerte für **ionisiertes Kalzium** kann für diesen Parameter hier kein Vergleich angestellt werden.

Diese Resultate können allgemein als sehr zufrieden stellend für eine objektive Beurteilung der im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse im Bereich der hämatologischen und blutchemischen Untersuchungsparameter gewertet werden.

Es gilt jedoch zu bedenken, dass es gerade für Enzyme nicht möglich ist, absolute Referenzbereiche zu erstellen, sondern jedes Labor für seine Methode Referenzwerte ermitteln und die Messergebnisse daran bewerten sollte (BUSH 1991).

Vor diesem Hintergrund scheint ein Vergleich der während der Versuchszeit gewonnenen Ergebnisse untereinander und mit den Ausgangswerten vor Versuchsbeginn sinnvoll. Diese stehen für alle Parameter mit Ausnahme der Gesamtleukozytenzahl zur Verfügung, so dass hier lediglich die Entwicklung der Werte zu den Blutentnahmezeitpunkten nach 2, 4 und 6 Monaten betrachtet werden kann.

Um dennoch die ermittelten Resultate mit Werten anderer Populationen in Relation setzen und dadurch einen möglichen toxischen Einfluss durch die mehrmonatige Applikation von Vitamin K₃ abschätzen zu können, sollen die zum Abschluss der Versuche bestimmten Werte wiederum mit bereits bestehenden Referenzwerten verglichen werden (s. S. 109-116).

* LDH = Laktatdehydrogenase, GLDH = Glutamatdehydrogenase,
CK = Kreatinkinase

2. Vergleichbarkeit der Dosierungen und Applikationen von Vitamin K₃

Eine Vergleichbarkeit der im vorliegenden Versuch gewählten Dosierungen mit denen, die in früheren Studien verwendet wurden, soll an dieser Stelle mit nachfolgender Kalkulation verdeutlicht werden.

Die empfohlene Dosis von Vitamin K₃ beträgt für Ziervögel 1-2 mg/kg **Futter** (KOLB und SEEHAWER 2002). Geht man von 2 mg/kg uS aus, entspricht das bei einem mittleren TS-Gehalt des Futters von 88,5 % (wie in der durchgeführten Studie) einem empfohlenen Gehalt von 2,26 mg/kg TS.

Neben der Kontrollgruppe (Vitamin K₃-freie Diät), erhielt Versuchsgruppe 1 (26,6 mg K₃/kg TS) eine etwa 12fache Überdosierung bzw. Versuchsgruppe 2 (170 mg K₃/kg TS) eine etwa 75fache Überdosierung des empfohlenen Vitamin K₃-Gehaltes.

Bei einer TS-Aufnahme von durchschnittlich 9,26 g/100 g KM (8,95 - 9,48 g/100 g KM; s. S. 65) ergäbe sich bei oben genannter Empfehlung von 2,26 mg K₃/kg TS eine tägliche Vitamin K₃-Aufnahme von 0,21 mg/kg **KM**:

mittlere TS-Aufnahme/kg KM/d:

9,26 g TS = 100 g KM
92,60 g TS = 1000 g KM

mittlere K₃-Aufnahme/kg KM/d:

1000,00 g TS = 2,26 mg K₃
92,60 g TS = 0,21 mg K₃

Auch bezüglich der tatsächlichen Vitamin K₃- Aufnahme pro kg **KM** nahmen in dieser Studie die Probanden der Versuchsgruppe 1 zu Beginn der Versuche immerhin eine ca. 10,5fach bzw. zum Ende durch lagerungsbedingte Vitaminverluste im Futter eine noch 2,6fach höhere und die der Versuchsgruppe 2 anfängliche eine ca. 70fach bzw. nach Abschluss eine noch 52fach höhere Dosierung als empfohlen zu sich (s. Tabelle 36).

Tab. 36: Durchschnittliche tägliche Vitamin K₃-Aufnahme (Angaben in mg/Tier/d bzw. mg/kg KM/d)

Gruppe (je n = 12)	K	V1	V2
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/Tier/d) zu Beginn der Versuche	0,00	0,12	0,81
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/Tier/d) zum Ende der Versuche	0,00	0,030	0,60
Durchschnittliche KM 54,2 g (53,5 – 55,3; s. S. 68)			
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/kg KM /d) zu Beginn der Versuche	0,00	2,21	14,76
Vitamin K ₃ -Aufnahme (mg/kg KM /d) zum Ende der Versuche	0,00	0,55	11,07

Demzufolge entsprechen lediglich die Untersuchungen an Ratten mit einer ansteigenden Dosis von 5 - 40 mg Vitamin K₃/kg **KM** (MELGAR et al. 1991) bzw. 10 - 100 mg Vitamin K₃/kg **KM** (SUNAGA et al. 1959), die über einen Zeitraum von wenigen Tagen bis zu 12 Monaten appliziert wurden, sowie die bei Legehennen verwendete Dosis von 20 bzw. 200 mg/kg **Futter** (SUZUKI und OKAMOTO, 1997) in etwa den Konzentrationen der vorliegenden Arbeit. Die in anderen Arbeiten beschriebenen oralen Applikationen von bis zu 6000 mg/kg **KM** (ODUHO et al. 1993) bedeuten eine fast 30.000fache Überdosierung und sind somit von rein toxikologischem Interesse, nicht aber relevant für die Frage, ob eine übliche bzw. großzügige Vitamin K₃- Dosierung im Futter für Ziervögel zum Nachteil sein könnte, da durch Handhabungs- oder Rechenfehler allenfalls Fehldosierungen im Bereich des Faktors 10 oder 100 auftreten.

Um trotzdem möglichst viele der jemals beschriebenen Veränderungen zu berücksichtigen, wurde in der durchgeführten Studie das Untersuchungsspektrum weit gefächert, das heißt eine Vielzahl Parameter untersucht und neben den infolge oraler Verabreichungen beschriebenen Schädigungen zusätzlich die nach parenteraler Applikation beobachteten Abweichungen mit einbezogen.

3. Klinischer Gesundheitszustand und labordiagnostische Resultate

In früheren Studien wurden bei Hühnern nach größtenteils extrem hoher **oralen** Applikation von Menadionverbindungen (12 - 6000 mg/kg **KM**) eine reduzierte Futteraufnahme, verringerte KM-Zunahmen sowie eine erhöhte Mortalität beobachtet (ANSBACHER et al. 1942, ODUHO et al. 1993, FLEMING et al. 1998 a). Auch bei Lachsen kam es nach langfristiger oraler Exposition von Vitamin K₃ zu verringerten Wachstums- und höheren Verlustraten (GRISDALE – HELLAND et al. 1991). An Ratten, die hohe bis exzessive Vitamin K₃ - Dosen erhielten (5 - 1000 mg/kg **KM**), wurden Erschöpfungszustände, Gewichtsverluste, Störungen des Allgemeinbefindens und Todesfälle nachgewiesen (MOLITOR und ROBINSON 1940, SUNAGA et al. 1959, MELGAR et al. 1991). Todesfälle bei Mäusen und Kaninchen nach extrem hoher oraler Vitamin K₃-Aufnahme (230 - 1200 mg/kg **KM**) traten in weiteren Untersuchungen auf (MOLITOR und ROBINSON 1940, ANSBACHER et al. 1942).

Pferde zeigten - indes nach **parenteraler** Applikation einer Menadionverbindung - Depressionen, Polydipsie und Polyurie (REBHUN et al. 1984).

Neben der täglichen Beobachtung des Verhaltens und des Habitus wurden auch die KM-Entwicklung, das Futter- und Wasseraufnahmeverhalten sowie die Kotbeschaffenheit als Kriterien zur Beurteilung des Allgemeinbefindens geprüft. Keiner der Probanden verstarb während der bis zu 10 Monate dauernden Versuchszeit.

Die adulten Vögel zeigten sowohl in der Kontroll- als auch in den zwei Versuchsgruppen (V1 und V2) nicht nur eine Gewichtskonstanz, sondern im Laufe von 6 Monaten eine leichte Zunahme der Körpermasse von 8,30 – 11,66 %, wobei die Vögel, die mit Vitamin K₃ supplementiertes Futter erhielten, im Vergleich zur Kontrollgruppe sogar einen leicht höheren Körpermassezuwachs zu verzeichnen hatten. Weiterhin zeigten die Hennen in allen drei Gruppen ein ausgeprägtes Reproduktionsverhalten, wobei die Vögel der Gruppe V2 (höchste Vitamin K₃-Dosierung) sogar die meisten Eier legten. Hierin decken sich die eigenen Ergebnisse mit den Beobachtungen aus früheren Studien, in denen eine Supplementierung mit vergleichbaren Dosierungen bzw. darüber hinaus sogar mit bis zu 1000 mg

Vitamin K₃/kg **Futter** keine nachteiligen Effekte auf die Legeleistung hatten (SUZUKI und OKAMOTO, 1997).

Diese Resultate geben also ihrerseits keinen Hinweis auf eine Störung des klinischen Gesundheitszustandes aufgrund einer langfristigen oralen Applikation von Vitamin K₃.

Eine mögliche Ursache für die in früheren Studien beschriebenen Störungen des Allgemeinbefindens wie reduzierte Futterraufnahmen oder Gewichtsverluste (ODUHO et al. 1993) stellt eventuell die ungenügende Adaptation an die Versuchskäfige und –bedingungen dar, da vor allem bei Hühnern teilweise lediglich eine Versuchszeit von 14 Tagen gewährleistet wurde.

Mit im Mittel 4,96 – 5,03 g TS/Tier/Tag bzw. 8,95 – 9,48 g TS/100 g KM/Tag variierte die Futterraufnahmemenge der Probanden im Bereich der mit etwa 4,5 g TS/Tier/Tag bzw. 7 – 9,5 g TS/100 g KM/Tag üblichen Menge für diese Spezies, wobei hierbei Faktoren wie Käfiggröße, Umgebungstemperaturen, Anzahl der Tiere pro Käfig, Reproduktionsgeschehen oder auch der Energiegehalt des Futters einen nicht unerheblichen Einfluss nehmen können (WOLF und KAMPHUES 1995, KAMPHUES und WOLF 1997).

Die aus dem Futtermittelverzehr errechnete mittlere tägliche Energieaufnahme von 0,65 – 0,70 MJ ME/kg KM^{0,75} entsprach ebenfalls nahezu den Angaben von 0,57 – 0,68 MJ ME/kg KM^{0,75} (KAMPHUES et al. 1993) für den Erhaltungsbedarf adulter Agaporniden.

Die oben genannten, für eine individuell variable Futterraufnahme verantwortlichen Faktoren beeinflussen entsprechend auch die Wasseraufnahme, die zusätzlich noch durch die Art und den Trockensubstanzgehalt des Futters bestimmt wird. Mit etwa 7,45 – 7,58 ml/Tier/Tag entsprach die ermittelte Wasseraufnahmemenge den in früheren Studien beschriebenen Durchschnittsmengen von 5,20 – 14,1 ml/Tier/Tag, die Umrechnung in ml/g TS/Tag ergab sogar Werte, die mit 1,50 – 1,57 ml/g TS/Tag unterhalb der Referenzwerte von 2,00 – 2,17 ml/g TS/Tag blieben (WOLF u. KAMPHUES 2001). Die Qualität der Exkremente zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Daten belegen also ein völlig ungestörtes Verhalten hinsichtlich der Futter- und Energieaufnahme, des Wasserverbrauchs sowie der Kotbeschaffenheit der Probanden. Auf eventuell durch Vitamin K₃ verursachte Nierenschädigungen (RICHARDS u. SHAPIRO 1945, SUNAGA et al. 1959, REBHUN et al. 1984), die oft mit Polydipsie und –urie einhergehen, gab es in der vorliegenden Untersuchung keinerlei Hinweis.

4. Blutparameter

Als hauptsächliche Schadwirkung von Vitamin K₃ werden von verschiedenen Autoren bei Tieren Schäden der Nieren, Milz und Leber sowie Veränderungen des Blutbildes nach **oralen** (MOLITOR und ROBINSON 1940, SUNAGA et al. 1959, MELGAR et al. 1991, ODUHO et al. 1993, MARCHETTI et al. 2000) bzw. **parenteralen** (ANSBACHER et al. 1942, RICHARDS und SHAPIRO 1945, FERNANDEZ et al. 1984, REBHUN et al. 1984) Aufnahme beschrieben. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Studie Untersuchungen hämatologischer und ausgewählter blutchemischer Parameter durchgeführt, die Hinweise auf eine Schädigung der genannten Organe geben können.

4.1 Hämatologische Parameter

4.1.1 Vergleich der Gruppen miteinander und mit den Ausgangswerten

Zu keinem Zeitpunkt der vorliegenden Studie wurde eine Störung des Erythrozytenstoffwechsels im Sinne einer oxidativen Denaturierung mit nachfolgender Bildung von **Heinz-Innenkörperchen** beobachtet, die in früheren Untersuchungen bei Hunden beschrieben wurde (FERNANDEZ et al. 1984).

Die Werte der **Gesamtleukozyten** zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen.

Hierbei fällt allerdings auf, dass die Probanden der Gruppe V2 zu allen Zeitpunkten tendenziell höhere Gesamtleukozytenzahlen aufwiesen, als die der beiden anderen Gruppen. Wie schon in Abbildung 9 dargestellt, nähern sich die Werte jedoch

einander an, wenn man die in jeder Gruppe vorhandenen „Ausreißer“ (> 30 G/l) eliminiert. Die These, dass die dennoch tendenziell höheren Anteile der Gesamtleukozyten in Gruppe V2 durch einen systematischen Effekt von Vitamin K₃ hervorgerufen wurden, kann auch deshalb abgelehnt werden, da am Ende des Versuchs in den Gruppen V1 und V2 sogar leicht geringere Werte als nach 2 und 4 Monaten ermittelt wurden. Wenn ein systematischer Effekt vorgelegen hätte, wäre mit zunehmender Dauer der Exposition im Gegensatz zur gezeigten Entwicklung eine Verschärfung der Problematik zu erwarten gewesen.

Die Anteile der einzelnen **Leukozytenfraktionen** zeigten im Differentialblutbild teilweise signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen auf (**Lymphozyten**: nach 2 Monaten und **Basophile**: vor Versuchsbeginn). Darüber hinaus kam es zu Variationen innerhalb der einzelnen Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum (Lymphozyten, **Monozyten** und **Eosinophile**: zu allen Zeitpunkten). Da die Mittelwerte der Gruppen jedoch zu jedem Blutentnahmezeitpunkt in der sechsmonatigen Versuchszeit innerhalb der vor Versuchsbeginn ermittelten Ausgangswerte (s. Tabelle 37) blieben, signifikante Unterschiede zwischen den drei Probandengruppen zum Teil auch schon vor Versuchsbeginn festzustellen waren (Basophile) und die Veränderungen im Differentialblutbild in keiner Gruppe einen gerichteten Verlauf aufwiesen (s. Tabelle 30), kann davon ausgegangen werden, dass die längerfristige orale Aufnahme von Vitamin K₃ selbst in bis zu 75facher Überdosierung keine massive Verschiebung der hämatologischen Parameter verursachte.

4.1.2 Vergleich mit Referenzbereichen anderer Autoren

Orientiert man sich an bestehenden Referenzbereichen (s. Tabelle 37), so sind in Bezug auf die **Gesamtleukozytenzahlen** in Gruppe K im Gruppenmittel 1 Wert (Monat 4), in Gruppe V1 ebenfalls ein Wert (Monat 2) und in Gruppe V2 die Werte zu allen Zeitpunkten zu hoch. Nach Elimination der „Ausreißer“ fällt nur noch in Gruppe V2 ein Wert (Monat 4) aus dem Referenzbereich.

Im Vergleich mit anderen veröffentlichten Referenzbereichen fällt auf, dass die Werte der **Lymphozyten** im Verhältnis zu hoch und dementsprechend die Gehalte an

Heterophilen Granulozyten zu niedrig sind. Innerhalb der Referenzbereiche variierten die **Monozyten**, die **Eosinophilen** und **Basophilen Granulozyten**.

Um die Frage nach einem Einfluss durch Vitamin K₃ letztlich zu klären, scheint es sinnvoll, die hämatologischen Parameter einer größeren Gruppe Agaporniden unter gleichen Haltungsbedingungen über einen längeren Zeitraum hinweg regelmäßig zu beproben und die so ermittelten physiologischen Variationen mit den Ergebnissen der gegenwärtigen Studie zu vergleichen.

Die Befunde der **Hämatokritwerte** in der Kontrollgruppe belegen jedoch bereits, dass auch ohne die Einwirkung einer potentiell toxischen Substanz signifikante Unterschiede zwischen allen vier Zeitpunkten der Blutentnahme vorliegen können. Eine Anämie, wie sie nach oraler Exposition bei Ratten (SUNAGA et al. 1959) beobachtet wurde, konnte in der vorliegenden Untersuchung anhand der Überprüfung des Hämatokrits bei keinem Vogel zu irgendeinem Zeitpunkt nachgewiesen werden.

Die prozentualen Anteile der zellulären Bestandteile am Gesamtblutvolumen tendierten hingegen sogar im Vergleich mit offiziellen Referenzbereichen (s. Tabelle 37) zur oberen Grenze.

Tab. 37: Vergleich der in dieser Studie ermittelten Ausgangswerte der hämatologischen Parameter mit Referenzwerten anderer Autoren

Parameter	Einheit	Ausgangswert	Referenzbereich	Autor(en)
Gesamtleukozyten	G/l	5 - 34	3,0 - 8,5 7,0 - 16,0	FUDGE (1997) FUDGE (2000)
Lymphozyten	%	29 - 82	20 - 55	WEDEL (1999)
Heterophile Granulozyten	%	14 - 68	40 - 75	WEDEL (1999)
Basophile Granulozyten	%	0 - 7	0 - 6	WEDEL (1999)
Eosinophile Granulozyten	%	0 - 2	0 - 2	FUDGE (2000)
Monozyten	%	0 - 2	0 - 2	FUDGE (2000)
Hämatokrit	%	42 - 59	32 - 58	LUMEIJ (1996)

4.2 Blutchemische Parameter

4.2.1 Vergleich der Gruppen miteinander und mit Ausgangswerten

Zur weiteren Überprüfung einer eventuellen toxischen Schädigung der Nierenfunktion wurden neben der Konzentration von **Harnsäure** auch die Parameter **Natrium** und **Kalium** bestimmt. Hierbei zeigte sich zwar ein signifikanter Einfluss der Zeit auf die Werte innerhalb der Probandengruppen bei Kalium (V2) und Harnsäure (V1 und V2), sie wiesen jedoch wie Natrium im Gruppenmittel keine Abweichungen von den vor Versuchsbeginn ermittelten Ausgangswerten (s. Tabelle 39) auf.

Die blutchemischen Analysen ergaben bei der Überprüfung der so genannten „Leberparameter“ **GLDH** und **AST** wie auch der zur Differenzierung von Leber- bzw. Muskelzellschädigungen bestimmten **CK** keine Abweichungen von den vor Versuchsbeginn ermittelten Orientierungswerten (s. Tabelle 39).

Lediglich die Betrachtung der niedrigen **LDH**-Gehalte, die im Gruppenmittel der Gruppe V1 nach 4 sowie in der Kontrollgruppe und Gruppe V1 nach 6 Monaten nachzuweisen waren, ist auffällig. Eine Verringerung der Konzentration dieses Enzyms ist ungewöhnlich, ursächlich wird eine Lebererkrankung im Endstadium vermutet (FUDGE 1997), wobei diese durch fibrotische Veränderungen oder Leberverfettung gekennzeichnet wäre. Die fehlenden entsprechenden histopathologischen Befunde führen jedoch zum Verwerfen dieser Möglichkeit, zumal eine Abnahme der LDH-Konzentrationen auch in der Kontrollgruppe auftrat und so ein toxischer Einfluss durch Vitamin K₃ ausgeschlossen werden kann. Vielmehr sollte die Möglichkeit berücksichtigt werden, dass zu Beginn durch das zunächst für die Vögel ungewohnte Einfangen zum Zweck der Blutentnahme (Muskeltraumata durch Abwehrbewegungen) sehr hohe Werte resultieren konnten (FUDGE 1994). Im Laufe der Versuchszeit gewöhnten sich die Agaporniden zum einen an das Handling, zum anderen verringerte sich die benötigte Zeit für die Blutprobengewinnung. Gegen die Vermutung von traumabedingt hohen Werten sprechen die geringen Aktivitäten der CK, die in diesem Fall ebenfalls hätten erhöht sein müssen (FUDGE 1997, WEDEL 1999).

Als weitere mögliche Ursache kann eventuell die zu Beginn länger dauernde Probennahme eine verstärkte Hämolyse bewirkt haben, was ebenfalls zu erhöhten Konzentrationen der LDH führt (FUDGE 1994). Vor diesem Hintergrund ist es durchaus denkbar, dass die scheinbare Verringerung der LDH-Aktivität in allen Gruppen lediglich das Vorliegen physiologischer Werte dokumentiert.

Abbildung 27 verdeutlicht, dass die Konzentrationen der LDH in allen drei Gruppenmittelwerten im Vergleich zum Ausgangswert (=100%) eine gleichmäßig sinkende Tendenz zeigten.

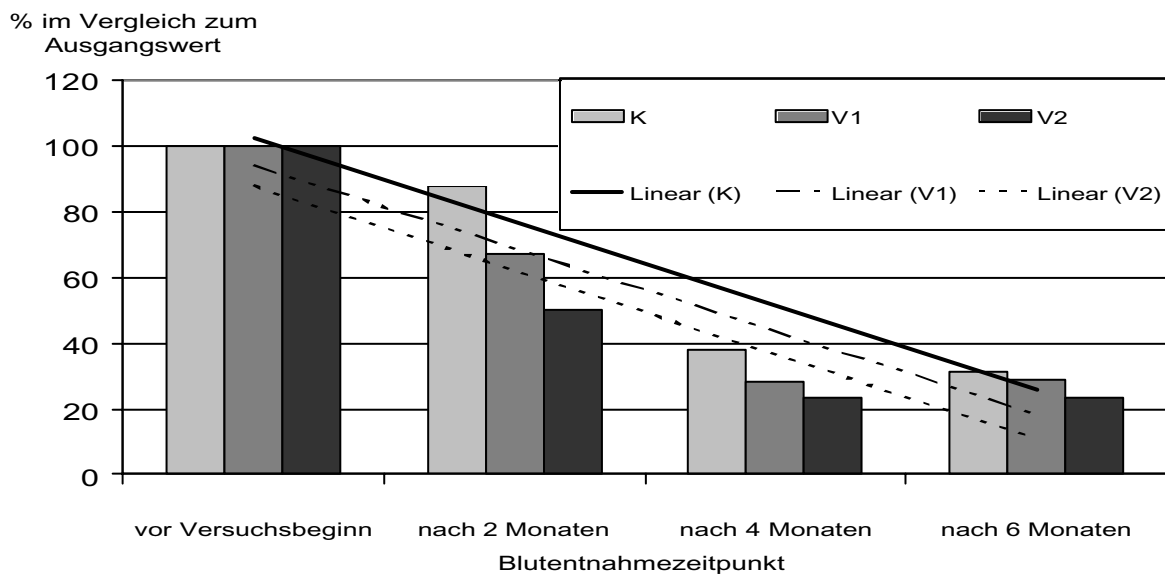


Abb. 27: Prozentuale Entwicklung der LDH – Konzentrationen bei Agaporniden nach fehlender bzw. unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃ - Substitution (Gruppen K, V1 und V2)

Weitere Signifikanzen wurden bei den Konzentrationen an **Gesamteiweiß** im Plasma bestimmt (in allen 3 Gruppen über die 4 Blutentnahmezeitpunkte). Hier kam es zwar im Gruppenmittel zu keinen Abweichungen von den Ausgangswerten, einzelne Vögel aller drei Gruppen wiesen jedoch leicht verringerte Werte auf. Dies kann zum einen durch chronische Leber- oder Nierenerkrankungen hervorgerufen werden, eine andere mögliche Ursache stellt eine Eiweißmangelernährung dar. Der Erhaltungsbedarf für adulte Ziervögel wird zwar mit 16% angegeben (ULLREY 1991), laut KAMPHUES (2003) genügen jedoch durchaus Werte von 12 % in der

Trockensubstanz. Demnach deckte der Rohproteingehalt des Versuchsfutters (14–15%) also den Erhaltungsbedarf, so dass ein Proteinmangel nicht als Ursache angesehen werden kann. Außerdem werden Leber- bzw. Nierenschäden zumeist von einer Verringerung der **Albuminfraktion** begleitet (JENKINS 1994), was in der vorliegenden Studie im Vergleich der Gruppen untereinander und mit den Ausgangswerten nicht der Fall war.

Wie zu erwarten stiegen die Anteile des **ionisierten Kalziums** und des **Gesamtkalziums** im Plasma vor allem bei den Probanden an, die während der Versuchszeit reproduktiv waren. So verwundern die signifikanten Unterschiede zwischen den Blutentnahmezeitpunkten in jeder Gruppe nicht, da im Laufe der Versuche in allen drei Gruppen einige Hennen Eier legten und ein kurzfristiger Anstieg der Kalziumkonzentration infolge einer Legeaktivität auftreten kann (WEDEL 1999). Tabelle 38 stellt eine Übersicht der legeaktiven Hennen und der insgesamt gelegten Eier pro Gruppe dar.

Tab. 38: Anzahl der legeaktiven Hennen und Eier insgesamt bei Agaporniden nach fehlender bzw. unterschiedlich hoher oraler Vitamin K₃ - Substitution

Gruppe (n 0 12)	Legeaktive Hennen	Eier insgesamt über 6 Monate
K	2	2
V1	1	3
V2	2	13

Nach Eliminierung der legeaktiven Hennen ergaben sich bei der Bestimmung der Mittelwerte von Gesamtkalzium in allen drei Gruppen Gehalte, die innerhalb der vor Versuchsbeginn bestimmten Ausgangswerte variierten (K: 12,23 mg/dl, V1: 11,13 mg/dl und V2: 12,65 mg/dl).

4.2.2 Vergleich mit Referenzbereichen anderer Autoren

Verglichen mit offiziellen Referenzbereichen (s. Tabelle 39) sind die Enzymaktivitäten der **LDH** in allen Gruppen vor Versuchsbeginn und in den Gruppen K und V2 nach 2 Monaten zu hoch, was die zuvor geäußerte Vermutung unterstreicht, dass es sich in der Tat nicht um eine Verringerung der Aktivität handelt, sondern dass die Ausgangswerte zu hoch waren und die niedrigeren Werte der folgenden Blutentnahmen eher zum physiologischen Bereich tendierten. Die Enzymaktivität der **GLDH** in den Gruppen K und V2 hingegen war nach 2 und 4 Monaten zu gering, während die **Harnsäure** und **AST** im Referenzbereich variierende Aktivitäten zeigten. Die Konzentrationen der **CK** tendieren eher zur Unterschreitung der unteren Grenze, hier ist aber die Rechtfertigung der Erstellung von Mittelwerten ohnehin anzuzweifeln, da dieses Enzym bei den meisten Probanden eine dauerhaft fehlende Aktivität aufwies.

Für **ionisiertes Kalzium** konnten keine offiziellen Referenzbereiche recherchiert werden, die Gehalte an **Gesamtkalzium** überschritten im Vergleich in Gruppe K nach 4 und 6 Monaten, in Gruppe V2 nach 2, 4 und 6 Monaten die obere Grenze (Legeaktivität). Die Parameter **Kalium** und **Natrium** zeigten bei allen Gruppen im Mittel zu allen Entnahmezeitpunkten im Bereich der Referenzwerte liegende Konzentrationen, diese Aussage trifft ebenfalls auf die Gehalte an **TP** zu.

Bei der Beurteilung der Fraktionen, die den Gesamtproteingehalt im Blut bilden, fiel im Vergleich mit veröffentlichten Referenzbereichen anderer Autoren auf, dass das **Albumin** tendenziell eher zu niedrige Werte und die **Globulinfraktion** eher einen zu hohen Anteil besaß.

Weitere Untersuchungen erscheinen sinnvoll, um eine Beurteilung von Referenzwerten zu hämatologischen und blutchemischen Parametern sicher vornehmen zu können. Hierbei sollten vor allem größere Gruppen von Vögeln ($n > 50$) über einen mehrmonatigen Zeitraum regelmäßig beprobt und so die natürliche Variation der entsprechenden Werte dargestellt werden.

Tab. 39: Vergleich der in dieser Studie ermittelten Ausgangswerte der blutchemischen Parameter mit Referenzwerten anderer Autoren

Parameter	Einheit	Ausgangswert	Referenzbereich	Autor(en)
LDH	U/l	161 - 1588	105 - 355	FUDGE (1997)
AST	U/l	119 - 354	110 - 345 130 - 360	FUDGE (2000) CAL* (1998)
GLDH	U/l	0,37 - 6,88	0,9 - 9,0	FUDGE (1997)
TP	g/l	22 - 39	28 - 44 18 - 37	FUDGE (1997) FUDGE (2000)
Alb	g/l	0 - 12	3 - 9	CAL (1998)
Glob	g/l	17 - 33	6 - 16	FUDGE (2000)
URICA	µmol/l	320 - 850	196 - 654	FUDGE (2000)
CK	U/l	0 - 116	52 - 245 160 - 392	FUDGE (1997) FUDGE (2000)
Ca ²⁺	mmol/dl	1,38 - 2,20		
Ca ges.	mg/dl	7,06 - 13,84	8,0 - 14,0	FUDGE (1997)
Na	mg/dl	300 - 401	303 - 386	FUDGE (1997)
K	mg/dl	6,70 - 17,36	8,19 - 18,72	FUDGE (1997)

* = California avian laboratory

5. Pathologisch-anatomische und histologische Befunde

Infolge einer **oralen** Applikation von hohen Vitamin K₃-Konzentrationen wurden bei Säugetieren sowohl pathologisch-anatomische als auch histologische Veränderungen der Leber, Milz und Nieren dokumentiert (SUNAGA et al. 1959, MELGAR et al. 1991). Hühner wiesen nach Fütterung von Vitamin K₃ bei Dosierungen von 12 mg/kg KM über einen Zeitraum von 25 Wochen einen vergleichsweise erhöhten Anteil spongiöser Knochen auf (FLEMING et al. 1998 a). Bei Säuglingen kam es zu Bilirubineinlagerungen im Gehirn, die sich in Form eines so genannten Kernikterus manifestierten (ALLISON 1955, CROSSE et al. 1959,

MEYER und ANGUS 1956, FRIEDRICH 1987, BAYER u. SCHMIDT 1991, ULLREY 1991).

Bei Hunden und Pferden wurden - allerdings nach **parenteraler** Verabreichung - ebenfalls Leber- und Nierenschädigungen beschrieben (RICHARDS und SHAPIRO 1945, REBHUN et al. 1984)

Zur Sicherung eines unbeeinflussten Vorgehens wurde bei der Durchmusterung und Beurteilung der histologischen Schnittpräparate der einzelnen Probanden darauf geachtet, dass die Zugehörigkeit zu der jeweiligen Gruppe vor Diagnosestellung nicht bekannt war. Die Überprüfung der Resultate fand - ebenfalls ohne diesen vorher über die Befunde zu informieren - durch einen Pathologen statt.

Die makroskopische Untersuchung aller Organe erfolgte bei allen Vögeln ohne besonderen Befund, es lag in keinem Fall ein Hinweis auf eine Splenomegalie, Hepatomegalie oder Veränderungen des Nierengewebes vor.

Bei der Auswertung der histologischen Organpräparate fand sich bei einem Vogel der Gruppe V2 eine Glomerulopathie mit Membranformation.

In Leber, Niere und Lunge einiger Versuchstiere aus Gruppe K und V1 konnten Ansammlungen von mononukleären Zellen diagnostiziert werden, bei zwei Vögeln stellte sich eine beginnende Granulombildung in der Leber (Gruppe K) bzw. Milz (Gruppe V2) dar. Ein Proband der Kontrollgruppe wies eine Proliferation der interparabronchialen Septen auf. Das Knochengewebe konnte allgemein als physiologisch beurteilt werden. Dieser Befund unterstreicht somit neueste Untersuchungen an Broilern, die über eine Periode von 7 Wochen eine mit Vitamin K₃ supplementierte Diät mit in der vorliegenden Studie vergleichbaren Dosierungen (32 mg/kg TS bzw. 128 mg/kg TS) erhielten und daraufhin sogar mit steigender Vitamin K₃-Dosis bessere Knochenstoffwechselfparameter und bessere Tageszunahmen erreichten (ZHANG et al. 2003). Auch FLEMING et al. (1998 b) berichteten bereits von positiven Effekten auf die Knochenstruktur von Legehennen durch Erhöhung der Vitamin K₃-Dosis von 2 auf 12 mg/kg Futter.

Bei Vögeln aller drei Gruppen fanden sich Eisenablagerungen in Makrophagen bzw. Epithelien von Leber, Niere und Milz. Im Duodenum konnte dies bei zwei Tieren der Kontrollgruppe und einem Probanden der Gruppe V1 diagnostiziert werden. Dieser Befund ist zuvor bereits von SUNAGA et al. (1959) nach oraler Applikation von Menadion an Ratten beschrieben worden. Die vermehrte Speicherung von Eisen in der Leber und Milz wird als Hämosiderose oder Hämochromatose bezeichnet, eine übermäßige Einlagerung kann zu einer klinisch manifesten Erkrankung führen. Als mögliche Ursache wird neben einer Überversorgung mit Eisen auch eine genetische Disposition vermutet, die vor allem bei Beos und Tukanen (BRUE 1994, HATT 1999), aber auch gelegentlich bei Psittaciden (BAUCK, 1995) beschrieben ist. Da das Versuchsfutter mit einem Eisengehalt von 142,6 bis 214,2 mg/kg TS die für das Geflügel veröffentlichte Toxizitätsgrenze von 4500 mg/kg TS (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1994) bei weitem unterschritt, scheidet eine Überversorgung mit Eisen durch das Futter aus. Aufgrund des Vorkommens in allen drei Versuchsgruppen, kann indes auch eine ursächliche Beteiligung von Vitamin K₃ ausgeschlossen werden.

Wie in jeder Toxizitätsstudie können eventuell aufgetretene Schäden oder Abweichungen von physiologischen Befunden nicht ausschließlich auf das Einwirken der zu überprüfenden Substanz zurückzuführen sein, immer auch muss bedacht werden, dass äußere, nicht zu kontrollierende Faktoren die Ergebnisse beeinflussen können. Auch wenn die Probanden von ihrem klinischen Allgemeinbild und vom Verhalten her unauffällig erschienen, konnten bereits bestehende subklinische Erkrankungen und Infektionen im Einzelfall nicht gänzlich ausgeschlossen werden, welche die Resultate der durchgeführten Untersuchungen beeinflusst haben können. Im Vergleich der pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunde zeigen sich jedoch mit Sicherheit keine durch die Applikation von Vitamin K₃ verursachten gerichteten Veränderungen an den Organen, auch nicht an Leber und Nieren, da nahezu sämtliche von der physiologischen Norm abweichenden Befunde in allen drei Gruppen auftraten.

Es sollte in zukünftigen Studien der Frage nachgegangen werden, ob bei weiteren Agaporniden ebenfalls Eisenablagerungen in den Organen nachgewiesen werden können und welche Faktoren dies beeinflussen.

6. Vitamin K₃-Gehalte in den Lebern

Bei der Annahme, dass Vitamin K₃ als wasserlösliches Vitamin eine in Abhängigkeit von der Aufnahme steigende Absorption aus dem Verdauungstrakt erfährt, wären direkt proportionale Gehalte in den Lebern zur Konzentrationen im Futter zu erwarten gewesen, andererseits ist die Halbwertszeit dieses Vitamins im Stoffwechsel sehr kurz und auch eine Speicherung anderer Vitamin K-Verbindungen im Körper generell sehr begrenzt (SUTTIE 1991, KOLB 2003), was im Übrigen letztlich die geringe Toxizität der Vitamin K-Verbindungen erklärt.

Die zur Absicherung trotzdem analysierten Vitamin K₃-Gehalte in der Leber standen jedoch nicht in Beziehung zur sehr stark differierenden Vitamin K₃-Aufnahme über das Futter.

Diese Beobachtung deckt sich - zumindest indirekt - mit den Ergebnissen anderer Autoren, die nach forcierter Fütterung von Vitamin K₃ an Legehennen wohl einen Anstieg der Konzentration von Vitamin K₂ im Ei, nicht aber von K₃ beobachten konnten. Die entscheidende Erklärung für diesen Zusammenhang ist der beim Geflügel (und vermutlich auch bei Ziervögeln) besonders intensive Metabolismus, das heißt die schnelle Umwandlung von K₃ in K₂ (SUZUKI und OKAMOTO 1997).

So sprechen die Befunde dieser Studie also eher für eine forcierte Elimination der vermutlich im Überschuss absorbierten Mengen an Vitamin K₃ in Form des Metaboliten K₂, was frühere Untersuchungen bestätigen würde, in denen höhere Gehalte an Vitamin K₃ im Futter - durch Metabolisierung zu K₂ - zu höheren K₂-Werten in der Leber führten (WILL et al. 1992). Aufgrund der geringen Probenmenge konnte leider keine Überprüfung der Konzentrationen von Vitamin K₁ und K₂ durchgeführt werden.

7. Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit konnten trotz einer längerfristigen oralen Applikation in bis zu 75facher Überschreitung der empfohlenen Dosierung von Vitamin K₃ über einen Zeitraum von bis zu 10 Monaten keinerlei Hinweise auf irgendwelche nachteiligen Auswirkungen auf den Gesundheitsstatus der Agaporniden festgestellt werden. Vielmehr wurden Zunahmen der Körpermasse, ein reges Reproduktionsgeschehen und eine allgemein hohe Vitalität beobachtet.

Auch unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus aufwändigen klinisch-labordiagnostischen sowie pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchungen bleibt die Einschätzung aufrechterhalten, dass Vitamin K₃ bei oraler Applikation in hohen Dosierungen weder akut noch über einen mehrmonatigen Zeitraum einen systematischen, das heißt gerichteten oder wesentlichen Einfluss auf die Gesundheit von Agaporniden hat. Bislang gibt es auch keine Hinweise darauf, dass bei anderen Ziervogelarten grundsätzlich andere Bedingungen für die Verstoffwechslung von Vitamin K₃ (Absorption, Metabolisierung sowie Exkretion) vorliegen sollten, so dass die Bewertung auch auf andere Arten zu übertragen sein dürfte.

Im Rahmen dieser Studie konnte keine - zur aufgenommenen Dosis in Beziehung stehende - forcierte Vitamin K₃-Einlagerung in der Leber ermittelt werden. Da aufgrund mangelnden Probenmaterials leider keine Analysen des Vitamin K₂-Gehaltes in der Leber erfolgen konnten, ist keine Aussage darüber möglich, ob die Resultate von WILL et al. (1992) bestätigt werden können, die nach einer Zulage von bis zu 50 mg Vitamin K₃/kg KM in der Leber von Hühnern hauptsächlich den Metaboliten MK 4 (Vitamin K₂) nachgewiesen haben.

Über die genannten Beobachtungen hinaus zeigten die Ergebnisse dieser Studie, dass bei Vögeln der Kontrollgruppe auch ohne jeglichen Zusatz eines synthetisch hergestellten Vitamin K zum Alleinfutter bei tierartgerechter Haltung (bestehende Möglichkeit zur Koprophagie), kein klinisch manifester Vitamin K-Mangel auftritt.

V. Zusammenfassung

Carolin Hupfeld

Untersuchungen an Ziervögeln (*Agapornis spp.*) zur Verträglichkeit unterschiedlich hoher Vitamin-K₃-Gehalte im Alleinfutter

In den vergangenen Jahren kam es vor allem in Zeitschriften für Vogelliebhaber, einem Internetforum und auch in tiermedizinischen Fachzeitschriften wiederholt zu Diskussionen über mögliche toxische Effekte von Vitamin K₃ für Ziervögel, dessen Gehalt im Futter üblicherweise zwischen 1 und 2 mg/kg variiert.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel, in einer entsprechenden experimentellen Studie zu überprüfen, ob und in welcher Dosis Vitamin K₃ bei einer langfristigen oralen Aufnahme Schädwirkungen entfaltet, und wie diese sich ausprägen.

Hierzu wurde ein Fütterungsversuch durchgeführt, in dem exemplarisch adulte Agaporniden Verwendung fanden, da diese einerseits bezüglich ihrer Nahrungszusammensetzung sowohl den Papageien wie auch Kanarien und Sittichen entsprechen und durch ihre Körpermasse die angestrebten Untersuchungen (z.B. regelmäßige Blutprobengewinnung und schließlich pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen der Organe) ermöglichen sowie andererseits in einer größeren Anzahl zur Verfügung standen, so dass eine entsprechende Repräsentativität gesichert war.

Die Probanden der drei Gruppen (jeweils n = 12) erhielten ein eigens hergestelltes pelletiertes Mischfutter, dem je kg unterschiedlich hohe Gehalte an Vitamin K₃ (Menadion-Natrium-Bisulfit) zugesetzt wurden: Kontrollgruppe 0 mg, Gruppe V1 20 mg und Gruppe V2 200 mg. Während des Versuchszeitraumes von 6 Monaten variierte die analysierte Vitamin K₃-Konzentration zwischen 27 und 5 mg/kg TS (V1) bzw. 170 und 95 mg/kg TS (V2).

Das Allgemeinbefinden der Agaporniden wurde täglich anhand des klinischen Gesamteindrucks und einmal wöchentlich durch Bestimmung der Körpermasse sowie Ermittlung der Futter- bzw. Wasseraufnahme protokolliert. Darüber hinaus wurde insgesamt zwölfmal während der Versuchszeit die Qualität der Exkremente untersucht. Alle 2 Monate wurden den Vögeln Blutproben entnommen. Vor dem

Hintergrund der von anderen Autoren beschriebenen Veränderungen nach oralen, aber zum Teil auch parenteralen Applikationen von Vitamin K₃ wurden im Blut der Hämatokrit, die Gesamtleukozytenzahl und das Differentialblutbild untersucht.

Die blutchemischen Analysen erstreckten sich auf: Gesamtprotein, Albumin, Globulin, Harnsäure, Gesamtkalzium, ionisiertes Kalzium, Natrium und Kalium.

Des Weiteren erfolgte die Beurteilung der Aktivitäten folgender Enzyme:

Glutamatdehydrogenase, Aspartat-Amino-Transferase, Laktatdehydrogenase und Kreatinkinase.

Nach 6 Monaten erfolgte bei 4 zufällig ausgewählten Tieren je Gruppe eine pathologisch-anatomische sowie histologische Untersuchung im Institut für Pathologie der Universität Utrecht. Hierbei wurden der Körper, die Organe sowie die Gewebe der Probanden einer eingehenden Beurteilung unterzogen. Detailliert wurden verschiedene Organe anhand histologischer Schnittpräparate untersucht, wobei vor allem auf Leber, Niere, Milz, Gehirn und das Knochenmark Augenmerk gerichtet wurde. Hierzu fanden routinemäßig die Hämalaun-Eosin Färbung sowie eine spezielle Eisenfärbung Anwendung. Von diesen Probanden wurden gruppenweise gepoolte Leberproben bezüglich ihres Gehaltes an Vitamin K₃ analysiert.

Nach dem eigentlichen Versuchszeitraum erhielten die verbliebenen Vögel der Kontrollgruppe sowie der Gruppe V2 noch etwa für weitere 4 Monate (insgesamt also ca. 10 Monate) die entsprechenden Mischfutter.

Die Ergebnisse dieser Studie lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Verhalten, Futter- und Wasseraufnahme sowie die Qualität der Exkremente blieben von der Behandlung absolut unbeeinflusst (Variationen im physiologischen Bereich, in allen Gruppen positive Körpermasseentwicklung und Legeaktivität).
2. Hinsichtlich des Blutbildes traten zwar zeitabhängig gewisse Veränderungen auf (hohe Gesamtleukozytenwerte, Anstieg der Lymphozytenzahlen und Rückgang

der Heterophilenanteile), systematische Vitamin K₃-abhängige, das heißt gerichtete Veränderungen, konnten jedoch zu keinem Zeitpunkt in irgendeiner Gruppe beobachtet werden.

3. Die blutchemischen Werte und die Aktivitäten der Enzyme variierten im normalen Bereich (Ausnahmen: Anteile von Albumin und Globulin am Gesamtprotein). Einzig der in allen drei Gruppen aufgetretene zeitabhängige Rückgang der Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase bleibt letztlich nicht ganz geklärt.
4. Einzelne Probanden einer jeden Gruppe zeigten bestimmte histologische Veränderungen (Bronchitis und Proliferation der interparabronchialen Septen, Proteinausschwitzungen und mononukleäre Infiltrate im Nierengewebe, Glomerulopathie, Inaktivität der Schilddrüse sowie Eisenablagerungen, z. T. mit Granulombildungen in Leber, Lunge, Niere, Milz und Darm). Für keine der hier beobachteten Veränderungen war hinsichtlich Frequenz oder Intensität eine Abhängigkeit zur Vitamin K₃-Aufnahme zu erkennen.
5. Es wurde keine forcierte Vitamin K₃-Einlagerung in der Leber ermittelt, die zur aufgenommenen Dosis in Beziehung stand, was für eine schnelle Metabolisierung des absorbierten Vitamin K₃ spricht.

Die mehrmonatige Verabreichung eines pelletierten Alleinfutters mit einem Zusatz von 20 bzw. 200 mg Vitamin K₃ /kg Futter blieb bei Agaporniden ohne jegliche nachteilige Auswirkungen auf die Gesundheit. Diese Einschätzung anhand der eigenen Untersuchungen deckt sich mit verschiedenen anderen wissenschaftlichen Studien, in denen mit vergleichbaren (z.B. bei Legehennen und Broilern) oder sogar wesentlich höheren Dosierungen (z.B. mit Legehennen) von Vitamin K₃ im Futter (bis 1000 mg/kg) gearbeitet wurde und ebenfalls keinerlei nachteilige Effekte auf Gesundheit und Leistung auftraten.

Zweifel an der Verträglichkeit üblicher Dosierungen von Vitamin K₃ im Futter für Ziervögel müssen vor diesem Hintergrund als absolut nicht substantiiert bewertet werden.

VI. Summary

Carolin Hupfeld

Investigations on pet birds (*Agapornis spp.*) about compatibility of various dosages of vitamin K₃ in complete feed

Over the past years repeated discussions about eventual toxic effects of vitamin K₃ fed to pet birds arose which were published in magazines for pet bird fanciers and in the internet as well as in veterinary journals. The recommended concentrations of this vitamin range from 1 to 2 mg/kg of diet.

According to that, the aim of this study was to investigate in an appropriate experiment whether and upon which dosis of vitamin K₃ any injury is caused when given orally for a longer period.

Therefore a feeding trial was carried out in which exemplarily adult agapornides were employed.

They were chosen not only because they correspond to parrots as well as to canaries and parakeets referring to their nutritional composition but also because they possess enough weight to render possible the aspired explorations (for example blood samples, pathological explorations and histological examinations).

Moreover they were disposable in larger amounts so that a representative group existed.

The birds constituting three groups (each n = 12) were fed a specially produced pelleted diet in which different doses of vitamin K₃ (menadione-sodium-bisulfite) were added: control group 0 mg/kg, group V1 20 mg/kg and group V2 200 mg/kg of diet.

The analyzed concentrations of vitamin K₃ varied during the 6 months period of the experiment between 27 and 5 mg/kg of dry matter (V1) respectively 170 and 95 mg/kg dry matter (V2).

The general condition of the agapornides was checked daily by observing the clinical appearance. In addition determination of the body weight and measurement of the feed and water intake took place weekly.

Furthermore the quality of the faeces was examined twelve times within the durance of the experiment.

Every two months blood samples of the birds were collected and investigated according to the changes in packed cell volume (microhematocrit), total white blood cell amounts and hemogram owing to oral respectively parenteral applications of vitamin K₃ reported by other authors.

The clinical biochemistry analyses of the blood included: total protein, albumin, globulin, uric acid, calcium, ionized calcium, sodium and potassium.

In addition the activity of the following enzymes was estimated: glutamatdehydrogenase, aspartat-amino-transferase, lactatdehydrogenase and creatinkinase.

After a period of 6 months, 4 birds were selected by chance and were sacrificed in order to carry out a pathological and histological examination in the Institute of Pathology of the Utrecht University. The body, inner organs and tissues were scrutinized and slides of several organs were estimated in detail, whereby special attention was paid to liver, kidneys, spleen, brain and bone marrow. Routinely the slides were dyed with hämalaun-eosin-staining and furthermore with a special iron staining. Patterns of the birds' livers were pooled corresponding to the three groups and analyzed for their content of vitamin K₃.

In addition (after the 6 months period of the experiment) the remaining animals of the reference group and group V2 (highest dosages of vitamin K₃) were fed their diets for approximately 4 more months (10 months in total).

The essential results can be summarized as follows:

1. Behaviour, feed and water intake as well as the quality of faeces were absolutely not influenced by the treatment (variations in physiological ranges, all groups showed well body weight developments and reproductive activity).
2. Concerning to the hemogram, some variations depending on an influence of time could be observed (high amounts of total leucocytes, elevations of lymphocytes, reduction of heterophils), however a systematically influence of vitamin K₃ which means linearly changes could not be determined in any group or at any time.

3. The biochemical values in plasma and the activities of the enzymes varied in normal ranges (except the albumin and globulin shares of the total protein mass). Only the time dependant decrease of LDH-activity which could be found in every group cannot completely be explained at the end.
4. Few individuals of every group showed certain histological findings (bronchitis, proliferation of the interparabronchial septums, proteinaceous precipitates and mononuclear infiltrates in the kidneys, glomerulopathy, inactivity of the thyroid gland and focal iron precipitates in the liver, lung, kidneys, spleen and gut, partly surrounded by granulomas). None of these changes indicated any dependance on the vitamin K₃ intake referring to frequency or intensity.
5. No forced accumulation of vitamin K₃ in the liver was analyzed in relation to the dosage of vitamin K₃ uptake. This result suggests a rapid metabolism of the absorbed vitamin K₃.

The application of a pelleted diet with an addition of 20 respectively 200 mg vitamin K₃/kg of diet during several months did not have any affect on the agapornides` health. This estimation referring to the results of this investigation agrees to other researches in which comparable (for example with laying hens and broilers) or even remarkable higher dosages (for example with laying hens) of vitamin K₃ were fed (up to 1000 mg/kg of diet) and also no adverse effects on health and performance resulted. According to this background any doubts about the compatibility of usual doses of vitamin K₃ in diets for pet birds must be considered as absolutely not substantiated.

VII. Literaturverzeichnis

ANONYM (1991)

Vitamine in der Tierernährung. Empfehlungen für Vitaminzusätze
ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR WIRKSTOFFE IN DER TIERERNÄHRUNG e.V.
(Hrsg.)
Bonn 16/17, 38-40

ABE, K. u. H. SAITO (1996)

Menadione Toxicity in Cultured Rat Cortical Astrocytes
Jap. J. Pharmacol. 72, 299-306

ALLISON, A.C. (1955)

Danger of vitamin K to newborn
Lancet I, 669

ALMQUIST, H. J. (1954)

Vitamin K group IX.
Requirements. A. Of animals
In: W. H. S. SEBRELL, Jr. u. R. S. HARRIS (eds.)
The vitamins
Academic Press, Inc., New York, Vol. 2
pp. 444-448

ANDREW, S. E., L. HSAIO, K. MILHAUSEN u. F. R. JIRIK (1999)

Comparison of selectable and plaque assay systems to detect menadione- and UV-
induced *lacI* mutations in mammalian cells
Mutation Research 427, 89-97

ANSBACHER, S., W. C. CORWIN u. B. G. H. THOMAS (1942)

Toxicity of menadione, menadiol and esters
J. Pharmacol. Exp. Ther. 75, 111-124

BARASH, P. G. (1978)

Nutrient Toxicities of Vitamin K
Handbook series in Nutrition Food, Sect. E 1, 97-100

BAUCK, L. (1995)

Nutritional Problems in Pet Birds
Semin. Avian Exotic Pet. Med. 4, 3-8

BAYER, W. u. K. SCHMIDT (1991)

Vitamine in Prävention und Therapie
Hippokrates, Stuttgart
S. 97-101

- BELLOMO, G., S. A. JEWELL u. S. ORRENIUS (1982)
The metabolism of menadione impairs the ability of rat liver mitochondria to take up and retain calcium
J. Biol. Chem 257, 11558-11562
- BELLOMO, G., F. MIRABELLI, D. DI MONTE, P. RICHELMI, H. THOR, C. ORRENIUS u. S. ORRENIUS (1987)
Formation and reduction of glutathione-protein mixed disulfides during oxidative stress
Biochem. Pharmacol. 36, 1313–1320
- BERDANIER, C. P. u. P. GRIMMINGER (1968)
In vitro and in vivo absorption of three vitamin K analogs by chick intestine
Int. Z. Vitaminforsch. 38, 376-382
- BINKLEY, N. C. u. J. N. SUTTIE (1995)
Vitamin K nutrition and osteoporosis
J. Nutr. 125, 1812-1821
- BOUND, J. P. u. T. P. TELFER (1956)
Effect of vitamin-K dosages on plasmabilirubin levels in premature infants
Lancet I, 720
- BRUE, R. N. (1994)
Nutrition
In: RICHIE, B. W., G. J. HARRISON u. L. R. HARRISON (eds.)
Avian Medicine: Principles and Application
Wingers publishing, Florida
pp. 61-95
- BRUNMARK A. u. E. CADENAS (1988)
Redox and inhibition chemistry of quinoid compounds and its biological implications
Free Rad. Biol. Med. 7, 435-477
- BUSH, B. M. (1991)
Enzymes
In: BUSH, B. M.
Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians
Blackwell Scientific Publications
pp. 311-349
- CALIFORNIA AVIAN LABORATORY (1998)
(<http://home.surewest.net/avianlab/BLDREF.pdf>)
Reference Ranges (A.M. FUDGE)

- CAMPBELL, T. W. (1995)
Avian Hematology and Cytology
Iowa State University Press, Ames, 2nd ed.
pp. 3-19
- CAMPBELL, T. W. (1997)
Avian chemistries
J. of the AAV 1 (3), 121-122
- CHUNG, S.-H., S.-M. CHUNG, J.-J. LEE, S.-R. KIM, K.-S. PARK u. J.-H. CHUNG
(1999)
The biological significance of non-enzymatic reaction of menadione with plasma
thiols: enhancement of menadione-induced cytotoxicity to platelets by the presence
of blood plasma
Federation of European Biochemical Societies letters 449, 235-240
- CROSSE, V. M, T. C. MEYER u. J. W. GERRARD (1959)
Kernicterus and prematurity
Arch. Dis. Child. 30, 501-508
- DACIE, J.V. u. S. M. LEWIS (1991)
Practical Hematology
Churchill Livingstone, New York, 7nd ed.
pp. 77
- DAM, H. (1929)
Cholesterinstoffwechsel in Hühnereiern und Hühnchen
Biochem. 25, 475-492
- DI MONTE, D., D. ROSS, L. EKLÖW u. S. ORRENIUS (1984)
Alterations in intracellular thiol homeostasis during the metabolism of menadione by
isolated hepatocytes
Arch. Biochem. Biophys. 235, 334-342
- DUA, P. N. u. E. J. DAY (1965)
Vitamin K activity of menadione dimethylpyrimidinol bisulfite in chicks
Poult. Sci. 45, 94-96
- ENSMINGER, A. H., M.E. ENSMINGER, J. E. KONLADE u. J. R. K. ROBSON
(1995)
Vitamin K - The concise Encyclopedia of Food and Nutrition
CRC-Press, Boca Raton FL, 2nd ed.
pp. 2270-2274

- FERNANDEZ, F. R., A. P. DAVIES, D. J. TEACUOUT, A. KRAKE, M. M. CHRISTOPHER u. V. PERMAN (1984)
Vitamin K-Induced Heinz Body Formation in Dogs
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 20, 711-720
- FLEMING, R. H., H. A. MC CORMACK u. C. C. WHITEHEAD (1998 a)
Bone structure and strength at different ages in laying hens and effects of dietary particulate limestone, vitamin K and ascorbic acid
Br. Poult. Sci. 39, 434-440
- FLEMING, R. H., H. A. MC CORMACK u. C. C. WHITEHEAD (1998 b)
Bone structure and strength at different ages in laying hens and effects of dietary particulate limestone, vitamin K and ascorbic acid
Br. Poult. Sci. 39, 434-440
- FLOREANI, M. u. F. CARPENEDO (1991)
Modifications of cardiac contractility by redox cycling, alkylating and mixed redox cycling/alkylating quinones
J. Pharmacol. Exp. Ther. 256, 243-248
- FLOREANI, M., E. NAPOLI u. P. PALATINI (2000)
Protective Action of Cardiac DT-diaphorase against Menadione Toxicity in Guinea Pig Isolated Atria
Biochem. Pharmacol. 60, 601-605
- FLOREANI, M., E. SANTI SOUCIN u. F. CARPENEDO (1989)
Effects of 2-methyl-1,4-naphtoquinon (menadion) on myocardial contractility and cardiac sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase
Naunyn Schmiedbergs Arch. Pharmacol. 339, 448-455
- FRIEDRICH, W. (1987)
Handbuch der Vitamine
Urban und Schwarzenberg, München
S. 215-218
- FRYE, T. M., S. N. WILLIAMS u. T. W. GRAHAM (1991)
Vitamin Deficiencies in Cattle
In: J. MAAS (guest ed.):
Veterinary Clinics of North America / Food Animal Practice 7(1)
W. B. Saunders Comp., Harcourt Brace Jovanovich, Inc.
pp. 217-275
- FUDGE, A. M. (1994)
Blood testing artifacts: Interpretation and prevention
Semin. Avian Exotic Pet Med. 3, 2-4

FUDGE, A. M. (1997)
Avian clinical pathology – hematology and chemistry
in: R. B. ALTMANN, S. L. CLUBB, G. M. DORRESTEIN u. K. QUESENBERRY (eds.)
Avian Medicine and Surgery
W. B. Saunders Comp., Philadelphia
pp. 142-157, 1004-1023

FUDGE, A.M. (2000)
Laboratory Medicine
Avian and exotic pets
W.B. Saunders Comp., Philadelphia
pp. 375-400

GASSER, C. (1953)
Die hämolytische Frühgeburtenanämie mit spontaner Innenkörperbildung, ein neues
Syndrom beobachtet an 14 Fällen
Helv. Paediat. Acta 8, 491

GAUT, T. W. u. G. M. COHEN (1987)
Reactions of Glutathione or amino acids with quinones forming semiquinone radicals
In: C. RICE – EVANS (ed.):
Free radicals, oxidant stress and drug action
Society for free radicals research, London
pp. 377-397

GLEIS, J. (1958)
Methyl-Naphtochinon-Gaben und Gelbsucht bei unreifen Neugeborenen
Mschr. Kinderheilkde 106, 58

GORDON-SMITH, E. C. u. J. M. WHITE (1974)
Oxidative hemolysis and Heinz Body hemolytic anemia
Br. J. Haemat. 26, 513-516

GREEN, J. (1966)
Antagonists of Vitamin K
Vitamins and Hormones 24, 619-632

GRIMINGER, P. (1957)
On the vitamin K requirement of turkey poults
Poult. Sci. 36, 1227

GRIMINGER, P. (1965)
Vitamin K activity in chickens: phyllochinone and menadione in the presence of
stress agents
J. Nutr. 87, 337-343

- GRIMINGER, P. u. G. BRUBACHER (1966)
The transfer of vitamin K and menadione from the hen to the egg
Poult. Sci. 45, 512-519
- GRISDALE-HELLAND, B., S. J. HELLAND u. T. ASGARD (1991)
Problems associated with the present use of menadione sodium bisulfite and vitamin A in diets for Atlantic salmon
Aquacult. 92, 351-358
- HATT, J.-M. (1999)
Nichtinfektiöse Erkrankungen von Leber und Milz
In: KALETA, E. F. u. M.-E. KRAUTWALD-JUNGHANNS (Hrsg.)
Kompendium der Ziervogelkrankheiten
Schlütersche, Hannover
S. 165-167
- HAUSKA, H., A. SCOPE u. B. REAUZ (1998)
Vergleichende Untersuchung zur Färbung aviärer Blutbilder
Tagungsband der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Fachgruppe Geflügelkrankheiten
XI. Tagung über Vogelkrankheiten
München, 5. - 6.3.1998
S. 8-11
- HAWKEY, C. M. and T B. DENNETT (1990)
Farbatlas der Hämatologie -
Säugetiere, Vögel, Reptilien
Schlütersche, Hannover
S. 9-15, 28-143
- VAN DER HEYDEN, N. (1994)
Evaluation and Interpretation of the avian Hemogram
Semin. Avian Exotic Pet Med. 3(1), 5-13
- HOCHLEITHNER, M. (1991)
Möglichkeiten der chemischen Blutuntersuchung bei Wild- und Ziervögeln
Verh. Ber. 33. Int. Symp. Erkrankungen der Zootiere, 1991
Verlag Liberec
S. 153-160
- HOCHLEITHNER, M. (1999)
Biochemistries
In: RITCHIE, B. W., G. J. HARRISON u. L. R. HARRISON (eds.):
Avian Medicine: Principles and application
Wingers Publishing, Inc., Lake Worth, Florida
pp. 223-245

- HOLLANDER, D. (1973)
Vitamin K1 absorption by everted intestinal sacs of the rat
Am. J. Physiol. 225, 360-364
- HOLLANDER, D. u. T. C. TRUSCOTT (1974)
Mechanism and site of vitamin K-3 small intestinal transport
Am. J. Physiol. 226, 1516-1523
- HOPPE, P. P. (1987)
Tödlicher Vitamin-K-Mangel bei Absatzferkeln
Prakt. Tierarzt 8, 32-36
- JENKINS, R. J. (1994)
Avian Metabolic Chemistries
Semin. Avian Exotic Pet Med. 3(1), 25-32
- KAMPHUES, J. u. P. WOLF (1997)
Futteraufnahmeverhalten und Trockensubstanzaufnahme bei verschiedenen
Ziervogelarten (Kanarien, Wellensittichen, Agaporniden, Papageien)
Tagungsband des 1. International symposium on pet bird nutrition
Hannover, Oktober, 3-4, 1997
S. 221-222
- KAMPHUES, J. P. WOLF, G. BAYER u. M. WENTKER (1993)
Zusammensetzung, Akzeptanz und Verdaulichkeit wichtiger Einzelfuttermittel bei
Ziervögeln (Kanarien, Agaporniden und Graupapageien)
Tagungsband des 18. Weltkongresses der World Small Animal Veterinary
Association und Jahrestagung der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG
Berlin, 1993
S. 128-135
- KAMPHUES, J. (2003)
Persönliche Mitteilung
- KAPPUS, H. u. H. SIES (1981)
Toxic drug effects associated with oxygen metabolism: Redox cycling and lipid
peroxidation
Experientia 37, 1233-1241
- KIM, K.-A., J.-Y. LEE, K.-S. PARK, M.-J. KIM u. J.-H. CHUNG (1996)
Mechanism of Menadione-Induced Cytotoxicity in Rat Platelets
Toxicol. Appl. Pharmacol. 138, 12-19
- KOLB, E. (1998)
Verwertung und Anwendung von Vitaminen bei Haustieren
Firma Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen

KOLB, E. (2003)

Persönliche Mitteilung

KOLB, E. u. J. SEEHAWER (2002)

Die optimale Versorgung mit Vitaminen

Tagungsband des XII. Int. Symposium über Haltung, Zucht und Schutz bedrohter Papageien

Bietigheim-Bissingen, 20.4.2002, S. 43-55

KOLB, E., H. WEISER u. J. SEEHAWER (1999)

Verwertung, Stoffwechsel, Bedeutung und Anwendung der K-Vitamine bei Haustieren

Tierärztl. Umsch. 54 (5), 1-8

KOLB, E., J. SEEHAWER, W. SCHLIFFKA u. H. WEISER (1998 a)

Die Wirkungen von Vitamin K

Papageien 5, 165-166

KOLB, E., J. SEEHAWER, W. SCHLIFFKA u. H. WEISER (1998 b)

Vom Nutzen der Anwendung von Vitamin K3

DSV-Nachrichten 36, 177-183

KRAFT, W. (1997)

Hämatologie

In: KRAFT, W. u. U. M. DÜRR (Hrsg.):

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin

Schattauer, Stuttgart, New York, 4. Aufl.

S. 43-77

KUMMERFELD, N., U. HARTMANN, R. DIECKMANN, J. LANGE u. C. SCHÄFER-NOLTE (1985)

Untersuchungen über Glukose und Harnstoff im Blutplasma sowie Hämatokrit zur klinischen Labordiagnostik beim Vogel

Verhandlungsbericht des Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere, St. Vincent - Torino 27, 299-308

LAURENCE, B. (1955)

Danger of vitamin K analogues to newborn

Lancet I, 819

LEWIS, A. J. u. L. L. SOUTHERN (2001)

Swine Nutrition

CRC Press, Boca Raton FL, 2nd ed.

pp. 204-212

- VON LÜTTWITZ, M. u. H. SCHULZ (1997)
Wie gefährlich ist Vitamin K₃?
Geflügel-Börse 12, 16-17
- LUMEIJ, J. T. (1990)
Relation of kalzium to total protein and albumin in the African grey parrot
Avian Pathol. 19, 661-663
- LUMEIJ, J. T. (1993)
Avian Plasma Chemistry in Health and Disease
Proceedings Association of Avian Veterinarians 7, 20-26
- LUMEIJ, J. T. (1994)
Avian clinical enzymology
Semin. Avian Exotic Pet Med. 3, 14-24
- LUMEIJ, J. T. (1996)
Biochemistry and Sampling
In: P. H. BEYNON (ed.):
Manual of Raptors, Pigeons and Waterfowl
Br. small anim. vet. assoc., Cheltenham, Gloucestershire
pp. 63-67
- LUMEIJ, J. T. u. J. WOLFSWINKEL (1987)
Tissue enzyme profiles of the budgeriar (*Melopsittacus undulatus*)
In: LUMEIJ, J. T. (ed.):
A contribution to clinical birds with Special Reference to the Raging Pigeon (*Columba livia domestica*)
Utrecht, University of Utrecht, PhD Thesis
pp. 71-77
- MANDEL, H. G. u. V. H. COHN (1985)
Fat soluble vitamins: Vitamins A, K and E
In: A. G. GILMAN (ed.):
The pharmacological Basis of Therapeutics
Macmillan Co., New York
pp. 1573-1591
- MARCHETTI, M., S. MARCHETTI u. G. BAUCHE (1995 a)
Tolerance of high dietary levels of menadione bisulfite-nicotinamide by rainbow troute
Oncorhynchus mykiss
Aquacult. 134, 137-142
- MARCHETTI, M., S. MARCHETTI u. G. BAUCHE (1995 b)
Tissue morphology of rainbow troute *Oncorhynchus mykiss* after administration of
menadione bisulfite-nicotinamide
Riv. Ital. Aquacult. 30, 139-148

- MARCHETTI, M., M. TASSINARI u. S. MARCHETTI (2000)
Menadione nicotinamide bisulphite as a source of vitamin K and niacin activities for the growing pig
Anim. Sci. 71, 111-117
- MC CRACKEN, H. E. (1993)
Avian & Reptilian Hematology and Biochemistry
In: MC CRACKEN, H. E. (1993)
Clinical Pathology
Proceedings 207 of the post graduate committee in Veterinary Science
University of Sydney
pp. 239-313
- MEHENDALE, H. M., S.-A. SVENSSON, K. BALDI u. S. ORRENIUS (1985)
Accumulation of Ca^{2+} induced by cytotoxic levels of menadione in the isolated, perfused rat liver
Eur. J. Biochem. 149, 201-206
- MELGAR, M.J., A. ANADON u. J. BELLO (1991)
Effects of Menadione on the Cardiovascular System
Vet. Hum. Toxicol. 33 (2), 110-114
- MEYER, T. C. u. J. ANGUS (1956)
The effect of large doses of Synkavit in the newborn
Arch. Dis. Childh. 31, 212
- MILLER, D. R. u. K. C. HAYES (1982)
Vitamin Excess and Toxicity
In: J. N. HATHCOCK (ed.):
Nutritional toxicology,
Academic press, New York, Vol. 1
pp. 81-133
- MIRABELLI, F., A. SALIS, V. MARINONI, G. FINARDI, G. BELLOMO u. S. ORRENIUS (1988)
Menadione-induced bleb formation in hepatocytes is associated with the oxidation of thiol groups in actin
Arch. Biochem. Biophys. 264, 261-269
- MOLITOR, H. U. J. ROBINSON (1940)
Oral and parenteral toxicity of vitamin K₁, phthiocol and 2-methyl-1,4-naphthoquinone
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 43, 125
- MONKS, T. J., R. P. HANZLIK, G. M. COHEN, D. ROSS u. D. G. GRAHAM (1992)
Contemporary Issues in Toxicology (Quinone Chemistry and Toxicity)
Toxicol. Appl. Pharmacol. 112, 2-16

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, SUBCOMITEE ON VITAMIN TOLERANCE (1987)

Vitamin tolerance of animals

National Academy Press, Washington D.C.

pp. 31-35

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, COMITEE ON ANIMAL NUTRITION (1994)

Nutrient requirements for poultry

National Academy Press, Washington D.C., 3rd ed.

NELSON, T. S. u. L. C. NORRIS (1960)

Studies on the Vitamin K requirement of the chick

J. Nutr. 72, 137-144

NESTOR JR, K. E. u. H. R. CONRAD (1990)

Metabolism of Vitamin K and Influence on Prothrombin Time in Milk-Fed Preruminant Calves

J. Dairy Sci. 73, 3291-3297

NICKEL, R., A. SCHUMMER u. E. SEIFERLE (1987)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. 2

Parey, Berlin, 6. Aufl.

S. 109

NICOTERA, P., D. J. MC CONKEY, D. P. JONES u. S. ORRENIUS (1988)

Correlation between cytosolic Ca²⁺ concentration and cytotoxicity in hepatocytes exposed to oxidative stress

Toxicology 52, 55-63

NITSCH, K. (1957)

Synkavit-Nebenwirkungen bei frühgeborenen Kindern

Klin. Wschr. 35, 363

ODUHO, G. W., T. K. CHUNG u. D. H. BAKER (1993)

Menadione Nicotinamide Bisulfite is a Bioactive Source of Vitamin K and Niacin Activity for Chicks

J. Nutr. 123, 738-743

OLSON, M. E. (1994)

Vitamin K

In: SHILS, M. E., OLSON, J. A. u. M. SNIKE (eds.)

Modern nutrition in Health and Disease

Lea & Febinger, Malvern, USA, Vol. 8

pp. 342-358

- OTTE, W. (1997)
Untersuchungen zu Parametern des Stickstoff-Stoffwechsels bei Graupapageien
(*Psittacus erithacus erithacus*) in Abhängigkeit von der Proteinversorgung
Hannover, Tierärztl. Hochschul., Diss.
- PERDUE, H. S., H. C. SPRUTH u. D. V. FROST (1957)
Comparison of vitamin K activities and Klotogen (MSBC)
Poult. Sci. 36, 633
- PRENDL, H. (2001)
Avian Haematology for Practitioners
German Veterinary Medical Society
Proceedings of the 6th European Conference of the AAV-DVG,
German Veterinary Medical Society
4. Scientific ECAMS MEETING
Munich, March 7.-10. 2001
pp. 387-400
- POHLMAYER, K. u. M. WENTHE (1997)
Anatomie des Gastrointestinaltraktes verschiedener Ziervogelspezies
First international Symposium on pet bird nutrition
Hannover, October 3.- 4. 1997
S. 23
- PULS, R. (1994)
Vitamin Levels in Animal Health
Sherpa International, Clearbrook
pp. 116-117
- QUICK, A. J. u. M. STEFANINI (1948)
Experimentally induced changes in the prothrombin level of the blood IV.
The relation of Vitamin K deficiency to the intensity of dicumarol action and to the
effect of excess Vitamin A intake
J. Biol. Chem. 175, 945
- REAUZ, B., A. SCOPE, H. HAUSKA u. L. VASCIEK (1999)
Vergleich hämatologischer Untersuchungsmethoden bei Vögeln
Tierärztl. Prax. 27 (K), 65-70
- REBHUHN, W. C., B. C. TENNANT, S. G. DILL u. J. M. KING (1984)
Vitamin K₃-induced renal toxicosis in the horse
J. Am. Vet. Med. Assoc. 184 (10), 1237-1239
- REDEGELD, F. A. M., M. W. MORRISON, A. S. KOSTER u. J. NORDHOEK (1989)
Alterations in energy status by menadione metabolism in hepatocytes isolated from
fastened and fed rats
Arch. Biochem. Biophys. 273, 215 - 222

- REUTER, P. u. C. REUTER (1995)
Medical Dictionary English-German
Thieme, Stuttgart, 1. Aufl.
- RICHARDS, R. K. u. S. SHAPIRO (1945)
Experimental and clinical studies on the action of high doses of Hykinone and other
Menadione derivates
J. Pharmacol. Exp. Ther. 84, 93-194
- RYNCA, J. (1983)
The effect of synthetic forms of Vitamin K on the stimulation of the transformation of
preprothrombin into prothrombin
Ann. Warsaw Agricult. Univ. -SGGW-AR. Vet. Med. 11, 59-64
- RYNCA, J. (1984)
The evaluation of the usefulness of new forms of vitamin K in veterinary medicine
Ann. Warsaw Agricult. Univ. -SGGW-AR, Vet. Med. 12, 51-57
- SCHULZ, H. u. M. VON LÜTTWITZ (2000)
Vitamin K₃: Keine Alternative zu Vitamin K₁!
Tierärztl. Umsch. 3, 155-161
- SCOPE, A. (1999)
Untersuchung des Blutes
In: KALETA, E. F. u. M.-E. KRAUTWALD-JUNGHANNS (Hrsg.):
Kompendium der Ziervogelkrankheiten
Schlütersche, Hannover
S. 88-95
- SCOPE, A., I. SCHWENDERWEIN u. C. GABLER (2002)
Langzeitstudie zur Variabilität klinisch-chemischer Blutparameter beim Wellensittich
Tagungsunterlagen zur XIII. DVG Tagung über Vogelkrankheiten
München, 21. - 22. Februar 2002
S. 94-101
- SHEARER, M. J., A. BACH u. K. KOHLMAYER (1996)
Chemistry, nutritional sources, tissue distribution and metabolism of Vitamin K with
special reference to bone health
J. Nutr. 126 (Suppl.), 1181 S - 1186 S
- SHELTON, D. C., G. C. ANDERSEN, T.B. CLARK u. C. E. WEAKLEY JR. (1956)
Studies on Vitamin K requirement of the chick
Poult. Sci. 35, 1171
- SMITH, J. J., A. C. IVY u. R. H. K. FOSTER (1943)
The pharmacology of two water-soluble vitamin K-like substances
J. Lab. Clin. Med. 28, 1667

SMITH, M. T., C.G. EVANS, H. THOR u. S. ORRENIUS (1985)

Quinone induced oxidative injury to cells and tissues

In: SIES, H. (ed.):

Oxidative Stress

Academic Press, London

pp. 91 - 113

STAHLMANN, M.A., C. F. HUEBNER u. K. P. LINK (1941)

Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. Identification and synthesis of the hemorrhagic agent

J. Biol. Chem. 138, 513-527

SUNAGA, I., S. TADOKORO u. S. TAKEUCHI (1959)

Studies on prolonged administration of Vitamin K3 (Menadion)

GUNMA, J. Med. Sci. 8, 357-371

SUTTIE, J. W. (1991)

Vitamin K

In: MACHLIN, L. J. (ed.)

Handbook of Vitamins

Marcel Dekker, New York, 2nd ed.

pp. 145-181

SUZUKI, Y. u. M. OKAMOTO (1997)

Production of hen's eggs rich in vitamin K

Nutr. Res. 17, 1607-1615

THOR, H., M. T. SMITH, P. HARTZELL, G. BELLOMO, S. A. JEWELL u. S. ORRENIUS (1982)

The metabolism of menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone) by isolated rat hepatocytes

J. Biol. Chem. 257, 12419 – 12425

TOXOPEUS, C., I. VAN HOLSTEIJN, J. W. F. THURING, B. J. BLAAUBOER u. J. NORDHOEK (1993)

Cytotoxicity of menadione and related quinones in freshly isolated rat hepatocytes: effects on thiol homeostasis and energy charge

Arch. Toxicol. 67, 674-679

ULLREY (1991)

Vitamins A and K in swine nutrition

In: MILLER, E. R., D. E. ULLREY u. A. J. LEWIS (eds.)

Swine nutrition

Butterworth – Heinemann, Stoneham

pp. 215-233

- VEST, M. (1958)
Zur Frage der Einwirkung von Naphtochinonderivaten (Synkavit) auf den Serumbilirubingehalt der Frühgeburten
Schweiz. Med. Wschr. 88, 59
- WEDEL, A. (1999)
Ziervögel - Erkrankungen, Ernährung, Haltung
Parey, Berlin, 1. Aufl.
S. 63-75
- WEINREICH, D., P. RADEWAHN u. B. KRÜSKEN (2002)
Futtermittelrechtliche Vorschriften
Agri Media
S. 61-69, 672
- WIESNER, E. u. R. RIBBECK (1991)
Wörterbuch der Veterinärmedizin
G. Fischer, Jena, Stuttgart, 3. Aufl.
S. 621
- WILL, B. H., Y. USUI u. J. SUTTIE (1992)
Comparative metabolism and requirement of Vitamin K in chicks and rats
J. Nutr. 122, 2354-2360
- WILLI, H. (1956)
Synkavit-Schädigungen bei Frühgeborenen
Helv. Paediat. Act. 11, 325
- WOLF, P. u. J. KAMPHUES (1995)
Zur Ernährung von Papageien – Fragen und Antworten
Jahrbuch für Papageienkunde 1, 143-162
- WOLF, P. u. J. KAMPHUES (2001)
Neue Erkenntnisse zur Wasseraufnahme von Ziervögeln
Kleintier Konkret 6, 15-18
- ZHANG, C., D. LI, F. WANG u. T. DONG (2003)
Effects of dietary vitamin K levels on bone quality in broilers
Arch. Anim. Nutr. 57 (3), 197-206

VIII. Anhang

1. Tabellenanhang

Tab. 40: Durchschnittliche Aufnahme von Vitamin K₃ (mg/Tier/d) in den Gruppen K, V1 und V2 zu Versuchsbeginn bei Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hohem Vitamin K₃-Zusatz über einen Zeitraum von 6 Monaten

Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)	Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)	Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)
Kontrollgruppe			Gruppe V1			Gruppe V2		
1	0,00	0,00 ± 0,00	11	0,12	0,12 ± 0,01	21	0,84	0,81 ± 0,11
2	0,00		12	0,12		22	0,84	
3	0,00		13	0,11		23	0,83	
4	0,00		14	0,11		24	0,83	
5	0,00		15	0,12		25	0,9	
6	0,00		16	0,12		26	0,95	
7	0,00		17	0,14		27	0,71	
8	0,00		18	0,14		28	0,71	
9	0,00		19	0,11		29	0,88	
10	0,00		20	0,11		30	0,88	
31	0,00		33	0,12		35	0,64	
32	0,00		34	0,12		36	0,64	

Tab. 41: Durchschnittliche Aufnahme von Vitamin K₃ (mg/Tier/d) in den Gruppen K, V1 und V2 zu Versuchsende bei Angebot eines pelletierten Alleinfuttermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hohem Vitamin K₃-Zusatz über einen Zeitraum von 6 Monaten

Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)	Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)	Vogel Nr.	MW je Tier (mg/Tier/d)	MW je Gruppe (mg/Tier/d)
Kontrollgruppe			Gruppe V1			Gruppe V2		
1	0,00	0,00 ± 0,00	11	0,030	0,030 ± 0,001	21	0,59	0,60 ± 0,03
2	0,00		12	0,030		22	0,59	
3	0,00		13	0,031		23	0,57	
4	0,00		14	0,031		24	0,57	
5	0,00		15	0,032		25	0,60	
6	0,00		16	0,032		26	0,60	
7	0,00		17	0,029		27	0,63	
8	0,00		18	0,029		28	0,63	
9	0,00		19	0,029		29	0,63	
10	0,00		20	0,029		30	0,63	
31	0,00		33	0,031		35	0,56	
32	0,00		34	0,031		36	0,56	

Tab. 42: Durchschnittlicher TS-Gehalt der Exkremente (%) der Vögel in den Gruppen K, V1 und V2 bei Angebot eines pelletierten Allein-futtermittels ohne bzw. mit unterschiedlich hohem Vitamin K₃-Zusatz über einen Zeitraum von 6 Monaten

	Gruppe K (n = 12)	Gruppe V1 (n = 12)	Gruppe V2 (n = 12)	
TS (%)	26,84	34,38	27,24	
	37,19	16,90	12,32	
	21,40	30,51	31,40	
	21,90	24,70	22,50	
	34,99	22,80	21,80	
	17,81	20,09	24,81	
	25,64	25,42	21,53	
	22,71	25,02	24,70	
	23,09	26,68	26,66	
	19,98	21,93	21,93	
	20,17	22,92	34,14	
			22,37	
	MW ± SD	24,70 ± 6,19	24,48 ± 3,66	24,46 ± 5,73

Tab. 43: Entwicklung der Hämatokritwerte (%) bei Agaporniden der Gruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		zu Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	51	54	60	58
2		50	56	50	56
3		48	54	54	54
4		54	54	58	54
5		48	50	48	48
6		50	50	52	50
7		50	54	56	52
8		52	52	54	54
9		46	55	56	56
10		52	54	56	52
31		54	54	54	
32		52	54	54	
MW		51 ± 2,43	53 ± 1,83	54 ± 3,28	53 ± 2,99
11	V1	55	56	58	60
12		52	56	58	60
13		60	56	58	48
14		52	56	58	54
15		56	52	52	54
16		50	55	54	54
17		50	54	54	46
18		52	52	54	50
19		55	58	54	54
20		51	56	48	56
33		52	54	48	
34		40	50	52	
MW		52 ± 4,78	55 ± 2,27	54 ± 3,62	54 ± 4,60
21	V2	46	40	54	46
22		44	54	50	50
23		52	50	52	50
24		50	52	54	52
25		56	54	58	54
26		54	60	52	56
27		52	56	50	50
28		54	50	58	52
29		54	54	52	50
30		56	60	54	54
35		52	58	50	
36		52	54	56	
MW		52 ± 3,66	54 ± 5,40	53 ± 2,87	51 ± 2,84

Tab. 44: Entwicklung der Gesamtleukozytenzahlen (G/l) bei Agaporniden der Gruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt		
		2	4	6
Monate nach Versuchsbeginn				
1	K	12,8	8,8	12,8
2		10,3	16,4	12,6
3		6,7	11,3	14,3
4		9,6	6,1	11,7
5		5,9	57,7	8,5
6		20,0	29,0	26,2
7		7,4	18,3	8,4
8		20,3	16,7	21,0
9		10,3	9,2	9,4
10		23,5	12,3	12,5
31		17,8	20,6	
32		14,2	10,5	
MW		13 ± 5,91	18 ± 13,97	12,8 ± 5,36
11	V1	14,8	15,9	11,2
12		11,3	24,3	15,4
13		26,5	14,5	19,6
14		21,4	12,8	15,8
15		23,1	16,5	13,7
16		14,8	11,3	18,9
17		33,7	15,2	16,4
18		9,1	16,5	12,9
19		11,9	9,5	15,6
20		15,2	11,3	11,8
33		10,8	8,8	
34		5,0	16,5	
MW		16 ± 8,19	14 ± 4,17	14 ± 2,86
21	V2	21,7	23,8	15,0
22		15,4	18,9	37,4
23		18,8	10,3	11,4
24		16,0	21,1	21,4
25		11,7	9,5	11,7
26		32,4	22,1	18,2
27		26,2	19,4	21,9
28		18,3	6,4	12,0
29		26,4	27,1	16,1
30		14,3	25,6	30,4
35		35,5	44,4	
36		14,4	26,9	
MW		21 ± 7,63	21 ± 10,07	18,5 ± 8,60

Tab. 45: Entwicklung der Anteile an Lymphozyten am Gesamtleukozytengehalt bei Agaporniden in den Gruppen K, V1 und V2 (Angaben in %)

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		zu Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	52	59	37	66
2		63	59	42	60
3		36	64	72	82
4		56	70	47	75
5		45	60	66	73
6		63	44	49	66
7		65	71	69	78
8		54	66	44	58
9		48	56	49	64
10		65	35	36	58
31		57	80	82	
32				60	57
MW		55 ± 9,24	60 ± 11,95	54 ± 14,90	68 ± 8,55
11	V1	39	34	41	46
12		62	55	61	70
13		39	70	55	69
14		34	45	35	65
15		69	82	76	77
16		52	75	58	80
17		56	75	64	55
18		74	72	79	81
19		45	69	55	79
20		35	73	50	58
33		76	86	66	
34		83	58	83	
MW		55 ± 17,30	66 ± 15,31	60 ± 14,58	68 ± 11,94
21	V2	62	74	70	57
22		47	73	41	56
23		66	73	52	61
24		83	87	89	83
25		61	84	79	75
26		43	58	54	50
27		45	66	63	54
28		78	87	81	84
29		63	82	60	69
30		59	66	72	73
35		76	67	57	
36		39	51	61	
MW		60 ± 14,41	72 ± 11,41	65 ± 13,74	66 ± 12,28

Tab. 46: Entwicklung der Anteile an Heterophilen Granulozyten am Gesamtleukozytengehalt bei Agaporniden in den Gruppen K, V1 und V2 (Angaben in %)

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		zu Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	45	36	55	24
2		31	37	53	35
3		62	31	22	14
4		37	23	47	22
5		50	33	30	26
6		34	53	48	27
7		32	27	23	16
8		44	31	48	39
9		51	40	46	30
10		30	62	59	39
31		40	17	17	
32			33	40	
MW		41 ± 10,06	35 ± 12,26	41 ± 14,16	27 ± 8,73
11	V1	56	55	56	46
12		32	38	33	25
13		53	25	41	28
14		57	50	60	32
15		25	15	20	15
16		40	23	36	17
17		38	19	30	34
18		23	23	19	15
19		49	26	38	17
20		60	21	44	35
33		21	13	34	
34		14	36	15	
MW		39 ± 15,96	29 ± 13,34	36 ± 13,82	26 + 10,48
21	V2	33	23	26	39
22		49	24	55	41
23		31	23	35	33
24		13	9	9	13
25		34	12	16	18
26		54	41	37	47
27		50	32	34	42
28		21	11	13	15
29		34	14	35	29
30		35	30	26	27
35		21	30	42	
36		57	45	37	
MW		36 ± 13,99	25 ± 11,69	30 + 13,10	30 ± 12,07

Tab. 47: Entwicklung der Anteile an Basophilen Granulozyten am Gesamtleukozytengehalt bei Agaporniden in den Gruppen K, V1 und V2 (Angaben in %)

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate	4 Monate	6 Monate
1	K	1	3	5	4
2		5	3	1	1
3		2	3	3	3
4		4	4	4	1
5		3	6	2	1
6		3	2	2	3
7		1	3	6	2
8		0	2	5	0
9		0	1	2	2
10		4	1	3	2
31		1	2	0	
32			3	1	
MW		2 ± 1,72	3 ± 1,36	3 ± 1,85	2 ± 1,20
11	V1	5	9	1	4
12		4	5	3	4
13		4	4	2	3
14		5	3	4	2
15		5	1	1	4
16		6	2	4	0
17		4	4	4	6
18		2	1	0	2
19		6	3	5	3
20		2	4	4	3
33		3	1	0	
34		2	6	0	
MW		4 ± 1,48	4 ± 2,35	2 ± 1,87	3 ± 1,60
21	V2	4	1	1	1
22		1	2	2	2
23		2	3	8	3
24		4	4	2	2
25		4	3	1	5
26		1	1	8	0
27		4	2	1	3
28		1	2	4	1
29		2	4	4	0
30		5	2	1	0
35		1	2	0	
36		4	4	0	
MW		3 ± 1,54	3 ± 1,09	3 ± 2,81	2 ± 1,64

Tab. 48: Entwicklung der Anteile an Eosinophilen Granulozyten am Gesamtleukozytengehalt bei Agaporniden in den Gruppen K, V1 und V2 (Angaben in %)

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	2	0	1	5
2		1	0	3	4
3		0	2	2	0
4		2	2	2	2
5		2	1	1	0
6		0	1	0	2
7		1	0	0	3
8		0	0	1	2
9		0	0	2	4
10		0	1	2	1
31		1	1	1	
32				0	2
MW		$1 \pm 0,87$	$1 \pm 0,78$	$1 \pm 0,90$	$2 \pm 1,70$
11	V1	0	1	0	3
12		0	1	2	1
13		2	1	1	0
14		1	1	1	1
15		0	1	3	4
16		0	0	2	2
17		1	0	1	5
18		1	0	1	2
19		0	1	2	1
20		0	0	1	4
33		0	0	0	
34		2	0	2	
MW		$1 \pm 0,79$	$1 \pm 0,52$	$1 \pm 0,89$	$2 \pm 1,64$
21	V2	0	0	3	3
22		2	0	1	1
23		0	1	4	3
24		0	1	0	1
25		0	0	3	0
26		2	0	1	2
27		1	2	2	1
28		1	1	1	0
29		1	0	0	2
30		1	0	1	0
35		0	1	1	
36		0	0	2	
MW		$1 \pm 0,78$	$1 \pm 0,67$	$2 \pm 1,24$	$1 \pm 1,16$

Tab. 49: Entwicklung der Anteile an Monozyten am Gesamtleukozytengehalt bei Agaporniden in den Gruppen K, V1 und V2 (Angaben in %)

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	0	2	2	1
2		0	1	1	0
3		1	2	1	1
4		1	3	0	0
5		0	2	1	0
6		0	1	1	2
7		1	0	2	1
8		1	1	2	1
9		1	3	1	0
10		1	3	0	0
31		1	0	0	
32				4	0
MW		1 ± 0,50	2 ± 1,27	1 ± 0,79	1 ± 0,70
11	V1	2	1	2	1
12		2	1	1	0
13		2	2	1	0
14		2	2	0	0
15		1	2	0	0
16		2	0	0	1
17		1	2	1	0
18		1	4	1	0
19		0	1	0	0
20		3	2	1	0
33		1	0	0	
34		0	0	0	
MW		1 ± 0,90	1 ± 1,61	1 ± 0,67	0 ± 0,42
21	V2	1	2	0	0
22		1	1	1	0
23		1	2	1	0
24		1	1	0	1
25		1	2	1	2
26		0	2	0	1
27		0	0	0	0
28		1	0	1	0
29		0	3	1	0
30		0	2	0	0
35		2	0	0	
36		0	0	0	
MW		1 ± 0,65	1 ± 1,06	0 ± 0,51	0 ± 0,70

Tab. 50: Entwicklung der Laktatdehydrogenase (LDH, U/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	252	180	167	125
2		429	343	144	153
3		474	404	216	63
4		479	365	83	108
5		236	227	127	181
6		281	538	163	252
7		355	1273	245	89
8		923	227	178	130
9		394	441	240	179
10		1005	493	224	251
31		739	134	304	
32		305	508	143	
MW		489 ± 260,30	428 ± 298,09	186 ± 61,29	153 ± 63,59
11	V1	425	676	113	94
12		510	436	193	135
13		452	365	172	190
14		173	378	142	152
15		1609	202	129	153
16		165	218	174	148
17		387	453	135	137
18		1205	396	87	158
19		438	466	139	120
20		218	268	143	244
33		324	227	113	
34		411	156	224	
MW		526 ± 434,92	353 ± 147,57	147 ± 38,00	153 ± 40,62
21	V2	2232	190	164	158
22		1057	165	102	76
23		461	612	112	148
24		164	63	99	64
25		1156	195	91	106
26		181	1201	225	208
27		550	336	260	126
28		318	306	209	288
29		614		172	364
30		848	384	172	265
35		393	260	182	
36		1335	241	415	
MW		776 ± 597,15	387 ± 297,55	184 ± 90,41	180 ± 98,71

Tab. 51: Entwicklung der Aspartat-Amino-Transferase (AST, U/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	217	165	173	133
2		189	258	147	197
3		119	182	175	106
4		216	140	156	146
5		187	152	193	193
6		114	153	209	159
7		201	195	170	81
8		184	134	161	200
9		265	194	224	189
10		173	187	179	218
31		512	188	202	
32		228	227	228	
MW		217 ± 102,08	181 ± 36,01	185 ± 26,40	162 ± 45,09
11	V1	149	145	116	71
12		175	184	199	175
13		259	194	141	170
14		121	173	134	210
15		137	143	115	170
16		208	154	200	181
17		162	140	167	110
18		251	156	144	202
19		228	364	173	156
20		146	241	247	111
33		213	191	191	
34		200	238	216	
MW		187 ± 45,72	194 ± 63,64	170 ± 41,56	156 ± 44,44
21	V2	267	157	171	145
22		145	114	97	104
23		217	186	169	194
24		165	144	167	165
25		203	155	132	207
26		120	130	117	145
27		140	153	118	96
28		208	185	184	209
29		164		151	156
30		221	267	153	181
35		191	233	184	
36		159	190	183	
MW		183 ± 41,85	174 ± 44,92	152 ± 29,68	160 ± 39,34

Tab. 52: Entwicklung der Glutamatdehydrogenase (GLDH, U/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	3,22	1,54	0,82	0,60
2		2,71	0,28	0,84	7,64
3		1,05	1,05	0,70	0,52
4		6,88	0,94	0,64	0,65
5		1,62	0,41	0,43	1,01
6		0,37	0,27	0,78	0,43
7		1,92	0,70	0,39	0,24
8		1,18	0,86	0,41	0,48
9		1,62	1,56	1,17	0,75
10		7,92	0,50	0,92	0,38
31		1,77	0,91	0,50	
32		3,76	0,61	0,93	
MW		2,84 ± 2,34	0,80 ± 0,43	0,71 ± 0,24	1,27 ± 2,25
11	V1	0,52	0,63	1,75	1,20
12		1,07	1,05	0,45	1,60
13		2,44	1,81	0,78	0,57
14		1,01	0,67	0,87	0,46
15		2,56	2,11	0,39	1,19
16		2,91	1,76	0,39	1,05
17		5,49	1,22	0,68	0,70
18		4,39	0,30	0,62	0,36
19		1,52	0,43	0,34	1,26
20		3,29	0,23	1,08	1,64
33		2,51	1,20	0,42	
34		2,51	0,92	0,43	
MW		2,52 ± 1,43	1,03 ± 0,62	0,68 ± 0,41	1,00 ± 0,46
21	V2	2,55	0,34	0,83	0,56
22		1,44	0,80	0,59	1,00
23		0,43	0,47	0,49	2,3
24		1,27	0,91	0,84	0,49
25		1,94	0,91	0,45	0,59
26		1,82	1,49	0,54	0,51
27		1,30	0,13	0,56	3,72
28		2,33	0,49	1,28	0,55
29		4,57	0,79	0,58	0,40
30		1,26	1,00	0,48	1,11
35		1,22	0,26	0,43	
36		0,93	0,33		
MW		1,76 ± 1,06	0,66 ± 0,39	0,64 ± 0,25	1,12 ± 1,07

Tab. 53: Entwicklung der Harnsäure (URICA, $\mu\text{mol/l}$) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	472	376	271	313
2		372	317	387	348
3		561	310	795	512
4		658	400	464	458
5		405	490	521	479
6		391	363	317	396
7		355	317	220	333
8		599	335	366	439
9		333	334	307	265
10		228	485	363	520
31		443	272	334	
32		585	535	369	
MW		450 \pm 127	378 \pm 83	393 \pm 149	406 \pm 88
11	V1	321	341	639	719
12		799	448	475	645
13		746	337	415	283
14		408	567	600	631
15		854	343	314	425
16		564	380	347	247
17		385	315	345	297
18		674	345	385	501
19		674	205	225	321
20		370	292	398	356
33		331	364	328	
34		390	337	588	
MW		543 \pm 197	356 \pm 87	422 \pm 128	443 \pm 171
21	V2	424	224	300	300
22		600	223	403	379
23		722	463	330	418
24		636	418	402	509
25		899	366	391	577
26		385	350	333	168
27		365	474	312	348
28		341	201	264	353
29		593		482	547
30		512	351	332	253
35		448	221	327	
36		665	201	335	
MW		549 \pm 167	317 \pm 106	351 \pm 58	385 \pm 130

Tab. 54: Entwicklung der Kreatinkinase (CK, U/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	0	0	2	19
2		0	0	104	0
3		589	92	4	0
4		0	0	20	180
5		0	0	0	0
6		0	0	0	0
7		0	9	67	0
8		0	0	109	0
9		0	49	0	0
10		0	12	0	54
31		35	0	54	
32		0	5	24	
MW			52 ± 169	14 ± 28	32 ± 41
11	V1	0	0	0	0
12		0	0	1	0
13		0	0	0	0
14		0	0	44	61
15		11	0	12	74
16		0	0	43	3
17		6	0	0	0
18		0	0	0	12
19		6	0	0	38
20		0	0	0	71
33		0	0	22	
34	0	10	67		
MW		2 ± 3	1 ± 29	16 ± 23	26 ± 31
21	V2	120	0	0	0
22		0	0	0	3
23		18	57	11	26
24		0	0	10	27
25		0	0	4	121
26		0	4	36	32
27		12	2	241	63
28		56	27	74	343
29		0		0	90
30		24	0	51	18
35		0	11	81	
36	0	0	0		
MW		19 ± 35	9 ± 17	42 ± 69	72 ± 102

Tab. 55: Entwicklung von Gesamtprotein (TP, g/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	29	30	28	28
2		29	36	32	33
3		29	28	20	19
4		25	29	19	34
5		28	18	20	19
6		33	31	21	21
7		36	30	25	24
8		31	25	22	22
9		27	34	26	23
10		34	23	26	24
31		27	20	24	
32		25	22	28	
MW		29 ± 3,48	27 ± 5,59	24 ± 3,98	25 ± 5,33
11	V1	31	17	19	15
12		28	26	23	25
13		30	22	17	21
14		37	20	22	23
15		25	21	22	26
16		28	23	26	27
17		27	22	23	24
18		28	25	23	23
19		29	22	21	26
20		25	22	25	27
33		22	20	25	
34		19	24	22	
MW		27 ± 4,54	22 ± 2,41	22 ± 2,53	24 ± 3,62
21	V2	28	23	20	17
22		34	21	28	28
23		37	20	22	27
24		28	20	28	22
25		30	22	24	19
26		26	24	20	18
27		34	29	36	33
28		43	32	28	32
29		27		19	25
30		39	22	27	29
35		32	24	30	
36		27	28	27	
MW		32 ± 5,43	24 ± 3,94	26 ± 4,96	25 ± 5,77

Tab. 56: Entwicklung von Albumin (Alb, g/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	6	3	5	3
2		5	5	5	9
3		4	10	1	0
4		8	5	3	6
5		5	6	1	1
6		0	9	4	0
7		5	0	5	3
8		3	1	5	5
9		5	4	8	6
10		5	5	3	4
31		3	1	4	
32		3	0	6	
MW		4,33 ± 1,97	4,08 ± 3,29	4,17 ± 1,99	3,70 ± 2,91
11	V1	5	0	0	0
12		0	4	1	3
13		7	1	2	1
14		4	1	0	0
15		1	3	1	5
16		3	2	3	2
17		3	2	2	1
18		5	2	3	4
19		5	1	2	1
20		6	4	3	2
33		2	1	4	
34		2	5	3	
MW		3,58 ± 2,11	2,17 ± 1,53	2,00 ± 1,28	1,90 ± 1,66
21	V2	5	1	1	0
22		9	2	5	5
23		7	2	2	5
24		6	3	6	3
25		6	2	2	1
26		1	0	0	0
27		8	11	8	5
28		3	9	5	7
29		3		1	4
30		7	1	5	5
35		6	3	6	
36		6	3	4	
MW		5,58 ± 2,27	3,36 ± 3,44	3,75 ± 2,49	3,50 ± 2,42

Tab. 57: Entwicklung von Globulin (Glob, g/l) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	23	27	23	25
2		24	31	27	24
3		25	18	19	19
4		17	24	16	28
5		23	12	19	18
6		33	20	17	21
7		31	30	20	21
8		28	24	17	17
9		22	30	18	17
10		29	18	23	20
31		25	19	20	
32		22	22	22	
MW		25 ± 4,43	23 ± 5,85	20 ± 3,18	21 ± 3,65
11	V1	26	17	19	15
12		28	22	22	22
13		23	21	15	20
14		33	19	22	23
15		24	18	21	21
16		25	21	23	25
17		24	20	21	23
18		23	23	20	19
19		24	21	19	25
20		19	18	22	25
33		20	19	21	
34		17	19	19	
MW		24 ± 4,20	20 ± 1,80	20 ± 2,15	22 ± 3,19
21	V2	23	22	19	17
22		25	19	23	23
23		30	18	20	22
24		22	17	22	19
25		24	20	22	18
26		25	24	20	18
27		26	18	28	28
28		40	23	23	25
29		24		18	21
30		32	21	22	24
35		26	21	24	
36		21	25	23	
MW		27 ± 5,27	21 ± 2,61	22 ± 2,63	22 ± 3,57

Tab. 58: Entwicklung von Gesamtkalzium (Ca ges., mg/dl) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	5,87	9,75	14,17	31,79*
2				31,39*	14,74
3		9,06	6,58	10,33	15,29
4		9,39	11,58	16,43	12,16
5		10,62	6,80	18,96	20,55
6		8,15	8,12	12,49	15,72
7		8,26	11,48	13,52	14,39
8		7,44	18,40	12,74	13,17
9		7,49	8,18	11,95	7,02
10		8,81	8,89	13,84	13,91
31		14,85	27,83	14,41	
32		10,94	9,81	15,90	
MW		9,71 ± 2,37	11,85 ± 6,29	15,51 ± 5,49	15,87 ± 6,52
11	V1		17,59	12,79	10,77
12		8,33	5,59	18,07	14,72
13		9,47	5,09	9,09	10,97
14		7,46	6,21	9,08	11,50
15		9,60	16,61	12,45	3,98
16		9,05	5,70	12,63	12,52
17		8,29	5,86	15,38	10,63
18		8,04	17,62	16,80	10,97
19		12,10	10,73	18,35	24,76
20		7,62	11,20	17,91*	24,91*
33		7,09	9,68	11,55	
34		7,34	8,23		
MW		8,58 ± 1,44	10,01 ± 4,84	14,01 ± 3,47	13,57 ± 6,52
21	V2	8,32	17,42	23,20	8,65
22		9,14	17,12	29,91	33,06
23		8,27	7,95	19,43	13,92
24		7,21	20,76	13,93	10,40
25		7,50	12,43	14,99	10,91
26		13,81	10,70	8,84	8,51
27		8,26	18,84*	22,84*	38,29*
28		7,78	11,03	10,93	11,25
29		7,63	10,53	10,42	11,96
30		7,77	8,73	24,59*	10,15
35		10,44	11,45	14,56	
36		7,43		12,97	
MW		8,63 ± 1,86	13,36 ± 4,37	17,22 ± 6,64	15,71 ± 10,71

* = legeaktive Vögel, Werte nicht ausgliedert, da in jeder Gruppe vorkommend

Tab. 59: Entwicklung von ionisiertem Kalzium (Ca^{2+} , mg/dl) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	1,34	1,96	1,89	3,59
2		1,98	1,98	3,95	1,93
3		1,83	1,95	1,86	1,89
4		1,96	1,88	1,79	1,91
5		1,54	2,11	1,84	1,86
6		1,38	1,82	1,60	1,95
7		1,72	2,16	1,78	1,92
8		1,83	1,52	1,76	1,80
9		1,87	1,77	2,42	1,91
10		1,81	1,60	1,84	1,75
31		1,38	1,41	1,95	
32		1,91	1,76	1,94	
MW		1,71 ± 0,24	1,83 ± 0,23	2,05 ± 0,63	2,05 ± 0,54
11	V1	1,83	1,64	1,76	1,85
12		1,80	1,82	1,41	1,88
13		1,87	1,78	1,80	1,85
14		2,06	1,76	1,70	1,86
15		1,80	1,67	1,78	1,95
16		1,84	1,48	1,74	1,83
17		1,84	1,82	1,57	1,71
18		1,84	1,54	1,60	1,85
19		1,84	1,70	1,47	3,18
20		1,74	1,72	1,71	3,16
33		1,55	1,43	1,86	
34		1,69	1,30	1,91	
MW		1,81 ± 0,12	1,64 ± 0,17	1,69 ± 0,15	2,11 ± 0,56
21	V2	1,88	1,90	1,50	1,53
22		2,20	1,87	2,79	2,74
23		1,93	1,66	1,81	2,07
24		1,88	1,64	1,82	1,88
25		1,81	1,86	1,64	1,94
26		1,38	2,04	1,53	1,70
27		2,29	2,32	2,40	>4,0
28		1,61	1,88	1,77	2,01
29		1,69		1,53	1,81
30		1,80	1,91	3,70	1,83
35		1,80	1,70	1,96	
36		1,88	1,63	1,74	
MW		1,85 ± 0,24	1,86 ± 0,20	2,02 ± 0,65	1,95 ± 0,34

Tab. 60: Entwicklung von Natrium (Na, mg/dl) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	320	312	318	354
2		386	322	318	318
3		380	350	382	402
4		322	364	400	374
5		364	310	402	322
6		308	386	376	360
7		300	374	316	392
8		340	316	340	318
9		326	342	324	332
10		394	342	326	328
31		318	318	318	
32		368	318	354	
MW		342 ± 32	343 ± 28	348 ± 33	350 ± 31
11	V1	362	386	396	368
12		306	388	364	340
13		336	336	316	204
14		332	322	364	340
15		300	402	202	308
16		380	364	312	322
17		406	336	414	282
18		330	318	364	346
19		374	368	340	376
20		400	404	344	362
33		344	396	328	
34		320	322	384	
MW		349 ± 35	361 ± 33	344 ± 54	324 ± 51
21	V2	308	308	306	354
22		366	322	290	322
23		366	338	364	286
24		316	392	346	400
25		348	400	386	382
26		386	340	372	382
27		362	320	364	304
28		378	318	342	352
29		364	382	364	330
30		386	340	322	368
35		384	368	290	
36		338	386	404	
MW		358 ± 26	351 ± 32	345 ± 37	348 ± 36

Tab. 61: Entwicklung von Kalium (K, mg/dl) im Plasma von Agaporniden der Versuchsgruppen K, V1 und V2

Vogel Nr.	Gruppe	Blutentnahmezeitpunkt			
		vor Versuchsbeginn	2 Monate nach Versuchsbeginn	4 Monate nach Versuchsbeginn	6 Monate nach Versuchsbeginn
1	K	8,00	7,72	15,29	10,96
2		7,49	11,62	7,49	7,49
3		32,41	12,52	6,28	7,14
4		10,37	5,77	12,79	9,24
5		11,27	10,06	10,80	12,83
6		8,31	11,47	9,28	12,40
7		8,31	12,25	7,72	14,82
8		12,36	5,34		10,76
9		14,70		7,80	8,54
10		11,78	13,73	14,90	6,86
31				11,51	11,23
32			7,45	14,20	11,31
MW			12,0 ± 7,15	10,6 ± 3,02	10,4 ± 3,04
11	V1	8,70	14,47	11,74	11,51
12		11,93	11,27	10,84	
13		13,22	7,72	9,32	7,49
14		6,83	6,98	11,58	11,93
15		13,03	9,63	5,42	12,52
16		7,14	15,02	11,62	10,92
17		8,85	8,78	9,56	6,94
18		8,89	10,57	12,36	
19		7,18	12,17	10,06	11,04
20		8,31	6,98	6,98	6,51
33		6,01	7,14		
34		6,90	12,25	12,48	
MW			8,9 ± 2,49	10,3 ± 2,85	10,2 ± 2,26
21	V2	7,57	15,29	7,29	6,98
22		9,59	7,49	7,68	10,84
23		7,25	6,51	9,17	11,19
24		7,68	10,65	12,48	10,41
25		8,27	9,32	9,67	13,38
26		7,41	7,53	11,47	9,56
27		6,90	12,75	10,88	9,28
28		8,70	14,86	7,49	7,37
29		9,67	10,73	11,86	10,22
30		6,86	9,32	10,49	11,19
35		7,14	14,90	9,01	
36		7,10	7,10	7,10	
MW			7,9 ± 0,99	10,5 ± 3,23	9,6 ± 1,99

Tab. 62: Ausgangswerte (Variationsbereiche und Mittelwerte) für ausgewählte hämatologische und blutchemische Parameter bei Agaporniden ermittelt anhand der Alpha-Quantilmethode mit 97,5 % für den oberen und 2,5 % für den unteren Referenzwert

Parameter	Einheit	Mittelwert	Variationsbereich	n*
Gesamtleukozyten	G/l	15	5 - 34	28
Lymphozyten	%	58	29 - 82	63
Heterophile Granulozyten	%	38	14 - 68	63
Basophile Granulozyten	%	3	0 - 7	63
Eosinophile Granulozyten	%	1	0 - 2	63
Monozyten	%	1	0 - 2	63
Hämatokrit	%	52	42 - 59	64
LDH	U/l	527	161 - 1588	44
AST	U/l	192	119 - 354	44
GLDH	U/l	1,89	0,37 - 6,88	41
TP	g/l	30	22 - 39	44
Alb	g/l	5	0 - 12	44
Glob	g/l	24	17 - 33	44
URICA	µmol/l	527	320 - 850	44
CK	U/l	23	0 - 116	44
Ca ²⁺	mmol/dl	1,81	1,38 - 2,20	44
Ca ges.	mg/dl	8,82	7,06 - 13,84	35
Na	mg/dl	350	300 - 401	35
K	mg/dl	9,53	6,70 - 17,36	35

* = Anzahl der Probanden

Tab. 63: Ergebnisse der Leukozytendifferenzierung (Angaben in %) von 36 Ausstrichen durch zwei Personen

Vogel-Nr.	Lymphozyten		Heterophile		Basophile		Monozyten		Eosinophile	
	P 1*	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2	P 1	P 2
1	37	39	55	54	5	4	2	1	1	2
2	42	41	53	50	1	6	1	0	3	3
3	72	65	22	34	3	0	1	1	2	0
4	47	51	47	45	4	0	0	3	2	1
5	66	44	30	53	2	0	1	0	1	3
6	49	23	48	69	2	3	1	4	0	1
7	69	47	23	39	6	6	2	6	0	2
8	44	43	48	51	5	6	2	0	1	0
9	49	31	46	65	2	4	1	0	2	0
10	36	38	59	57	3	5	0	0	2	0
11	82	77	17	19	0	1	0	2	1	1
12	57	61	40	34	1	3	0	2	2	0
13	41	41	56	52	1	1	2	0	0	6
14	61	52	33	39	3	4	1	5	2	0
15	55	42	41	47	2	8	1	3	1	0
16	35	29	60	59	4	6	0	3	1	3
17	76	52	20	39	1	3	0	6	3	0
18	58	46	36	45	4	6	0	2	2	1
19	64	54	30	37	4	8	1	0	1	1
20	79	64	19	31	0	3	1	2	1	0
21	55	51	38	36	5	9	0	3	2	1
22	50	35	44	51	4	11	1	2	1	1
23	66	53	34	45	0	1	0	1	0	0
24	83	80	15	18	0	1	0	1	2	0
25	70	59	26	36	1	2	0	1	3	2
26	41	34	55	60	2	4	1	0	1	2
27	52	49	35	40	8	8	1	2	4	1
28	89	72	9	19	2	6	0	2	0	1
29	79	71	16	19	1	9	1	1	3	0
30	54	59	37	32	8	7	0	2	1	0
31	63	34	34	56	1	9	0	1	2	0
32	81	68	13	24	4	5	1	3	1	0
33	60	41	35	48	4	5	1	5	0	1
34	72	67	26	31	1	1	0	1	1	0
35	57	35	42	62	0	0	0	3	1	0
36	61	53	37	35	0	7	0	4	2	1
MW	60	50	36	43	3	5	1	2	1	1
	± 15	± 14	± 14	± 14	±2,17	±3,05	±0,68	±1,72	±1,00	±1,29

* P 1 = Person 1, P 2 = Person 2

Tab. 64: Ergebnisse der Leukozytendifferenzierung (Angaben in %) von demselben Ausstrich durch eine Person an sieben Tagen

Zählung	Lymphozyten	Heterophile	Basophile	Monozyten	Eosinophile
1	36	59	3	0	2
2	42	57	1	0	0
3	46	50	3	1	0
4	35	63	2	0	0
5	33	66	1	0	0
6	45	54	1	0	0
7	38	57	5	0	0
MW ± Sd	39 ± 5,09	58 ± 5,35	2 ± 1,50	0 ± 0,38	0 ± 0,78

Veröffentlichungen

Teilergebnisse dieser Dissertation wurden wie folgt zur Veröffentlichung eingereicht:

Hupfeld, C., P. Wolf, G. Dorrestein, J. Kamphues (2003)

Investigations in pet birds (*Agapornis* spp.) on tolerance of various dosages of vitamin K₃ in complete diets

Proc. of the 9th Symposium of Vitamins and Additives in the Nutrition of Man and Animal

Jena, 24 - 25.09.2003, in prep.

Wolf, P., C. Hupfeld, G. Dorrestein, J. Kamphues (2003)

Investigations in pet birds (*Agapornis* spp.) fed different vitamin K₃ contents in the diet

Proc. of the 7th ESVCN-Conference

Hannover, 3. - 4.10.2003, p. 40

Dankeschön...

An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. J. Kamphues für die Überlassung des Themas dieser Dissertation und für seine sehr freundliche und engagierte Unterstützung bei der Anfertigung danken.

Frau Dr. P. Wolf danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei der Lösung praktischer und inhaltlicher Probleme sowie für die Durchsicht des Manuskriptes.

Dem Team aus Labor und Tierhaus spreche ich ein großes Dankeschön für das stetige Bemühen aus, mir bei Fragen und Anliegen schnell und kompetent zur Seite zu stehen, Probleme kurzerhand aus der Welt zu schaffen und dabei immer ein Lächeln im Gesicht zu bewahren.

Prof. Dr. G. M. Dorrestein sowie seiner Frau M. van der Hage aus Utrecht danke ich vielmals für die großzügige Unterstützung bei der Anfertigung und Auswertung der histologischen Präparate sowie für die selbstverständliche Aufnahme in ihrem Haus und Institut.

Großer Dank gilt Prof. Dr. M. Ganter und allen Mitarbeiterinnen des Institutes für Labordiagnostik für die Hilfe bei der Anfertigung und Auswertung der Differentialblutbilder und für den bereitgestellten Arbeitsplatz. Vor allem Antje Müller danke ich herzlich für die fortwährend freundliche Hilfestellung und Unterstützung.

Bei den Mitarbeitern der Ziervogelklinik möchte ich mich für die Bereitschaft bedanken, mich bei allen Fragen zu beraten und mir die umfangreiche Bibliothek zur Verfügung zu stellen.

Meinen Mitdoktoranden gebührt ein herzliches Dankeschön für die Unterstützung „wenn es mal eng wurde“, hier ist besonders Christina Pötter zu nennen, ohne die ein Großteil der Arbeit gar nicht zu bewältigen gewesen wäre. Ohne Euch hätte ich viele fröhliche Stunden während und nach der Arbeit und eine sehr gute Gemeinschaft vermisst.

An meine Schwestern Henrike und Sibylle, an Andreas sowie alle Freunde und Freundinnen und meine Mitbewohnerinnen Annette, Katrin und Mareke geht mein spezieller Dank für das entgegengebrachte Verständnis, die Hilfe bei den kleinen und großen technischen Katastrophen (vielen Dank für die „mal eben“ eingebauten Strukturformeln und die Aktion 5 vor 9, Boris!), Motivierungen zur richtigen Zeit und viele unvergessliche Stunden fernab vom Schreibtisch.

Dr. Laube und seiner Familie möchte ich nicht nur für die Möglichkeit danken, mir in der Praxis einen Teil meines Lebensunterhaltes während der Anfertigung dieser Arbeit verdienen zu können und einen guten Einstieg in das Berufsleben zu finden.

Mein ganz besonderer Dank allerdings gilt meinen Eltern Luise und Rudolf Hupfeld, die mir das Studium ermöglicht und mich darüber hinaus während der Doktorarbeit immer großzügig unterstützt und ermutigt haben!