Futtermittelhygiene zum Schutz von Tier und Mensch

*Von **Vaibhav Gawande**, Assistant Manager Technical Services, **Dr. Inge Heinzl**, Editor, and **Marisabel Caballero**, Global Technical Manager Poultry, EW Nutrition*

Der Nutzwert von Futtermitteln setzt sich aus dem reinen Nährwert und der Qualität zusammen. Erstere bezieht sich auf die essenziellen Nährstoffe und ist wichtig für die Futtermittelformulierung und damit die angemessene Versorgung der Tiere.

Die Futtermittelqualität umfasst alle Merkmale eines Futtermittels, die durch Behandlung, Lagerung, Konservierung, Hygiene und den Gehalt an spezifischen (unerwünschten) Stoffen beeinflusst werden. Da einige unerwünschte Stoffe auf tierische Erzeugnisse wie Fleisch, Eier und Milch übertragen werden können, gibt es für viele Faktoren Leitlinien und Schwellenwerte, die eingehalten werden sollten, um die Gesundheit und das Wohlergehen der Tiere sowie den Schutz der öffentlichen Gesundheit zu gewährleisten,

In diesem Artikel konzentrieren wir uns auf die Futtermittelhygiene. Wir werden über Folgen schlechter Futterqualität sprechen, wie man sie erkennt, sowie über Ursachen und mögliche Lösungen.

Wie wirkt sich mangelnde Futtermittelhygiene aus?

Eine mangelhafte Futtermittelhygiene kann zweierlei Konsequenzen haben: Verunreinigung und Verderb.

Verunreinigung umfasst

- das Enthalten von Erde, Sand oder Staub
- die Kontamination mit oder Rückstände von Schwermetallen, PCB, Dioxinen, Pestiziden,

Düngemitteln, Desinfektionsmitteln, Giftpflanzen oder verbotenen Futtermittelzutaten

Im Falle des Verderbs sehen wir:

- Abbau von organischen Bestandteilen durch Schimmelpilze und Bakterien
- Wachstum von Krankheitserregern wie *E. coli*, Salmonellen, usw.
- Anhäufung von Toxinen wie Mykotoxinen oder Bakterientoxinen (Hoffmann, 2021)

Schlechte Futtermittelhygiene kann sich auch negativ auf den Nährwert des Futters auswirken, da sie zu Energieverlusten führt und die Bioverfügbarkeit der Vitamine A, D3, E, K und B1 verringert.

Doch wie lassen sich alle Anzeichen einer schlechten Futtermittelhygiene erkennen? In vorschriftsmäßig entnommenen Proben sind Erde, Sand und wahrscheinlich auch Staub zu sehen, auch Verunreinigungen können analysiert werden. Aber ist es möglich, Verderb zu erkennen? In diesem Fall sind verklumpte Partikel, ranziger Geruch, Feuchtigkeit und Verfärbung klare Anzeichen. Manchmal steigt auch die Temperatur des Futters oder der Rohstoffe. Verderb ist jedoch nicht immer offensichtlich, und eine Futtermittelanalyse kann mehr Informationen über vorhandene Verderb fördernde Organismen liefern. Sie hilft auch zu entscheiden, ob das Futter für die Tiere sicher ist oder nicht. Bei offensichtlichen Veränderungen sollte das Futter auf keinen Fall an die Tiere verfüttert werden.

Verschiedene Organismen mindern die Futterqualität und beeinträchtigen die Gesundheit

Mehrere Organismen können für eine Verschlechterung der Futterqualität verantwortlich sein. Neben sichtbaren Schädlingen wie Ratten, Mäusen oder Käfern, die leicht zu erkennen und zu bekämpfen sind, gibt es Organismen, deren Bekämpfung sich sehr viel schwieriger gestaltet. Im folgenden Teil werden unterschiedliche Schädlinge und Schadstoffe beschrieben und Lösungen vorgestellt.

Enteropathogene können Durchfall und Produktionsverluste verursachen

Bei Geflügel können verschiedene Bakterien, die für hohe Produktionsverluste verantwortlich sind, über das Futter übertragen werden. Die wichtigsten von ihnen sind *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* und einige Salmonella-Stämme.

Clostridium perfringens: Ursache der nekrotisierenden Enteritis

Clostridium perfringens ist ein Gram-positives, anaerobes Bakterium. Es ist äußerst widerstandsfähig gegen Umwelteinflüsse, kann mehrere Jahre lang im Boden, in Futtermitteln und in der Einstreu überleben und sich dort sogar vermehren. *Clostridium perfringens* verursacht die nekrotisierende Enteritis vor allem bei 2-16 Wochen alten Hühnern und Puten, die 3-6 Wochen alten Küken sind dabei am gefährdetsten.

Nekrotisierende Enteritis tritt in einer klinischen und subklinischen Form der. Die klinische Form kann aufgrund der eindeutigen Symptome und einer Sterblichkeitsrate von bis zu 50 % sehr gut identifiziert werden. Die subklinische Form ist schwieriger zu erkennen. Durch deutliche Leistungseinbrüche erhöht sie die Produktionskosten. Die beste Prophylaxe gegen Clostridien ist der Erhalt der Darmgesundheit durch unter anderem eine optimale Futtermittelhygiene.

Wie in der folgenden Tabelle dargestellt, können Clostridien in Futternebenprodukten gefunden werden:

Sr. Nein.	Details zur Probe	Kontamination mit Clostridium perfringens		Gesamtzahl der Proben	Positivität %
		Positiv	Negativ		

1	Fleisch- und Knochenmehl	39	52	91	42.86
2	Sojaschrot	0	3	3	0
3	Rapsschrot	0	1	1	0
4	Fischmehl	21	17	38	55.26
	Legemehl	21	71	93	22.58
	Trockenfisch	5	8	13	38.46
	Entölte Reiskleie	0	2	2	0
	Mais	0	2	2	0
	Knochenmehl	13	16	29	44.83

Tabelle 1: Isolierung von Clostridium perfringens aus verschiedenen Geflügelfutterbestandteilen in Tamil Nadu, Indien (Udhayavel et al., 2017)

Salmonellen: Schädlich für Tier und Mensch

Salmonellen sind gramnegative Enterobakterien und können in Futtermitteln vorkommen. Es gibt nur zwei Arten – S. enterica und S. bongori (Lin-Hui und Cheng-Hsun, 2007), aber fast 2700 Serotypen. Die bekanntesten geflügelspezifischen Salmonella-Serotypen sind *S. pullorum*, der Küken befällt, und *S. gallinarum* erwachsene Tiere. Die beiden anderen bekannten Serotypen, *S. enteritidis* und *S. typhimurium*, sind die wirtschaftlich wichtigsten, da sie auch auf den Menschen übertragbar sind.

Vor allem *Salmonella enteritidis* kann über Eier auf den Menschen übertragen werden. Das Ei-Innere kann vertikal, durch eine Besiedlung des Fortpflanzungstrakts der Henne, infiziert werden (De Reu, 2015). Die andere Möglichkeit ist eine horizontale Infektion, da einige Erreger aus kontaminierter Umgebung oder durch unsachgemäße Behandlung der Eier durch die Eischale eindringen können.

Salmonellen können auch durch Fleisch übertragen werden. Wegen zahlreicher Produktionsschritte, bei denen es zu Kontamination kommen kann (Elterntier- und Masthähnchenbetriebe, Schlachthöfe, Verarbeitungsbetriebe, Lebensmittellagerung usw.), ist die Rückverfolgbarkeit komplizierter. Da Futtermittel Überträger sein können, ist Futtermittelhygiene entscheidend.

Darüber hinaus konnten bei verschiedenen Studien (Ricke und Mitarbeiter, 2019) dieselben Salmonella-Typen, die in Futtermitteln gefunden wurden, auch – Wochen später – in Geflügelfarmen und noch weiter in der Lebensmittelkette nachgewiesen werden. Andere Untersuchungen deuten sogar darauf hin, dass die Salmonellenkontamination von Schlachtkörpern und Eiern durch eine Minimierung des Salmonellenvorkommens im Futter deutlich reduziert werden könnte (Shirota et al., 2000).

E. coli – einige sind krankmachend

1. *coli* ist ein gramnegatives, nicht säurebeständiges Bakterium, und die meisten Stämme sind Bewohner der normalen Darmflora von Vögeln, Warmblütern und Menschen. Nur einige Stämme verursachen Krankheiten. Um infektiös zu sein, müssen die Bakterien über Fimbrien verfügen, die sich an die Darmwand anheften können, oder der Wirt muss, vielleicht aufgrund von Stress, eine Immunschwäche haben. *E. coli* kann über verunreinigtes Futter oder Wasser sowie über mit Fäkalien kontaminierten Staub übertragen werden.

Escherichia coli-Infektionen können bei Geflügel aller Altersgruppen und Kategorien und dann fast überall im Organismus vorkommen. *E. coli* befällt den Nabel von Küken, Fortpflanzungsorgane von Hühnern, verschiedene Teile des Darms, die Atemwege, Knochen und Gelenke sowie die Haut und wird deshalb standardmäßig kontrolliert.

Das Mikrobiom im Futter kann zu einer ausgewogenen mikrobiellen Gemeinschaft im Darm beitragen. Pathogene *E. coli* in einem Bestand können oft auf eine Futtermittelkontamination zurückgeführt werden (Stanley & Bajagai, 2022). Insbesondere bei Pre-Starter und Starter kann eine *E. coli*-Kontamination kritisch sein, da der Darm des Eintagskükens gerade erst besiedelt wird. In dieser Phase ist dementsprechend eine niedrige Keimzahl im Futter besonders entscheidend.

Schimmelpilze – Futtermittelverderb und verminderter Nährwert

Schimmelpilze kontaminieren Getreide. Die Kontamination findet schon auf dem Feld statt, setzt sich fort in den Lagerhäusern, und geht weiter auf dem Tierhaltungsbetrieb.

Die Belastung von Futtermitteln mit Schimmelpilzen und deren schnelles Wachstum kann zu einer Erhitzung des Futters führen. Da die Schimmelpilze auch Nährstoffe benötigen, führt ihr Wachstum zu einer Senkung des Energiegehalts und einer schlechteren Verfügbarkeit der Vitamine A, D3, E, K und B1, wodurch der Nährwert des Futters sinkt. Diese Erhitzung tritt bei den meisten Futtermitteln mit einem Feuchtigkeitsgehalt von mehr als 15/16 % auf. Außerdem neigt schimmelbefallenes Futter zu Staubentwicklung und der schlechte Geschmack beeinträchtigt die Futteraufnahme und Leistung.

Schimmelpilze produzieren Sporen, die, wenn sie eingeatmet werden, zu chronischen Atemwegserkrankungen und, wenn die Tiere über einen längeren Zeitraum kontaminiertem Futter ausgesetzt sind, sogar zum Tod führen können. Eine weitere Folge einer Kontamination des Futters mit Schimmelpilzen ist die Produktion von Mykotoxinen durch bestimmte Schimmelpilzarten. Diese Mykotoxine können auf unterschiedliche Weise das Tier beeinträchtigen, es kann zu Leistungsabfällen bis hin zu schweren Krankheiten kommen (Esmail, 2021; Government of Manitoba, 2023).

Mit einem wirksamen Futtermittelhygienemanagement wollen wir Schimmelbildung mit all ihren negativen Folgen stoppen bzw. verhindern.

Vorbeugung ist besser als Behandlung

Wenn Futter verdorben ist, muss es natürlich entfernt werden. Zusätzlich sollten Maßnahmen zur Unterstützung der Tiergesundheit ergriffen werden, jedoch ist es ist immer besser, eine Kontamination im Vorfeld schon möglichst zu verhindern. Eine ordnungsgemäße Ernte und eine angemessene Lagerung des Futters sind grundlegende Maßnahmen zur Verhinderung von Schimmelbildung. Darüber hinaus stehen verschiedene Mittel zur Verfügung, Tiere vor bakterieller und toxischer Belastung durch Futtermittel und anderen Risikofaktoren zu schützen.

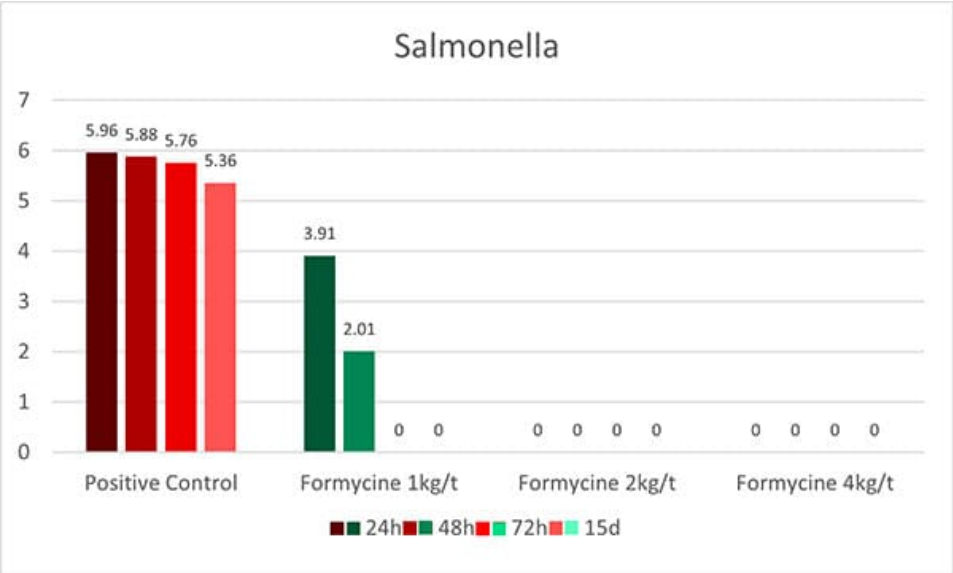
Es gibt sie – Lösungen zur Unterstützung der Futtermittelhygiene

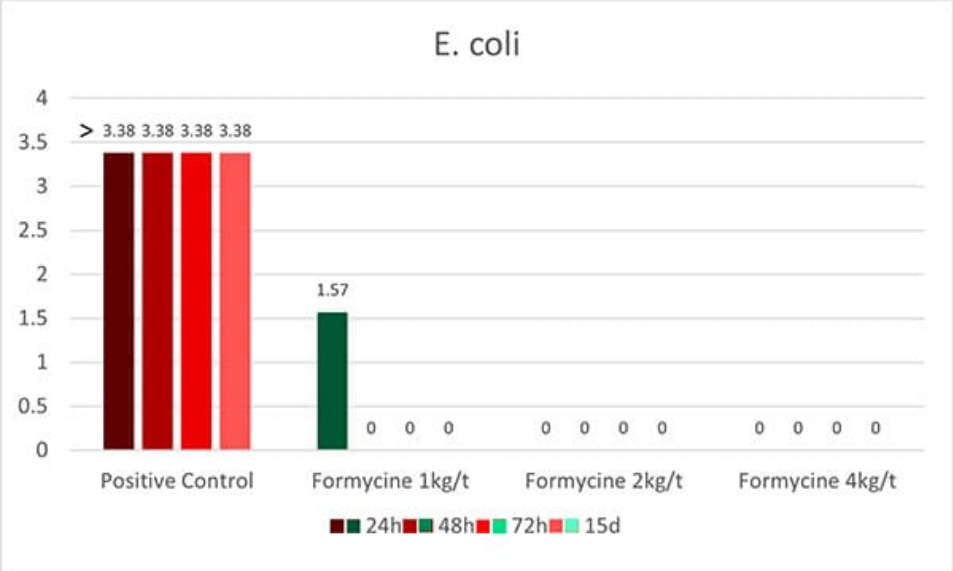
Es gibt verschiedene Lösungen, um Organismen, die die Futterqualität beeinträchtigen, zu bekämpfen. Einige wirken direkt gegen schädliche Stoffe / Krankheitserreger, andere wirken indirekt, d. h. sie verändern das Umfeld so, dass es für den Organismus „unbequem“ wird.

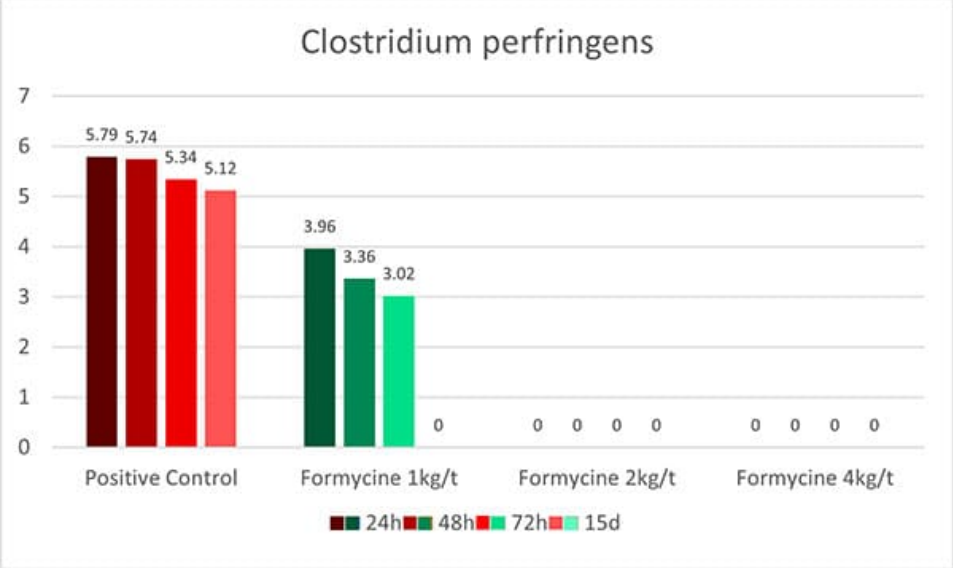
Formaldehyd und Propionsäure – ein unschlagbares Team gegen Bakterien

Eine Kombination aus Formaldehyd und Propionsäure eignet sich hervorragend zur Desinfektion von Futtermitteln. Formaldehyd führt bei Bakterien zu Schäden an der DNS und an Proteinen, während Propionsäure gegen Bakterien und Schimmelpilze wirkt. Zusammen verbessern sie die mikrobiologische Qualität des Futters und verringern im Betrieb das Risiko von Folgeerkrankungen wie nekrotisierender Enteritis oder Dysbiose. Neben dem rein hygienischen Aspekt unterstützen diese organischen Säuren die Verdauung.

In einem In-vitro-Versuch wurde die Wirkung einer solchen Kombination (Formycine Gold Px) gegen gängige Geflügelpathogene untersucht. Dazu wurde Geflügelfutter mit drei verschiedenen Bakterien versetzt, wobei für jeden Erreger eine sehr hohe Anfangskontamination von 1.000.000 KBE/g erreicht werden konnte. Eine Charge des kontaminierten Futters diente als Kontrolle (ohne Futterzusatz). Den anderen kontaminierten Partien wurden 1, 2 oder 4 kg Formycine Gold Px pro Tonne Futter zugesetzt. Die Ergebnisse (Mittelwerte aus 3 Einzelwerten) sind in den Abbildungen 1 a-c dargestellt.







Abbildungen 1 a-c: Verringerung der Keimzahl durch den Zusatz von Formycine Gold Px

Formycine Gold Px verringerte bei allen drei Erregern die Keimzahl signifikant. Dabei ist ein deutlicher Dosis-Wirkungs-Effekt erkennbar, und bei Verwendung von 2 kg Formycine Gold Px / t Futter konnten keine Krankheitserreger mehr im Futter nachgewiesen werden.

Ein weiterer Versuch zeigte die positiven Auswirkungen der Zugabe von Formycine Gold Px zu kontaminiertem Futter beim Tier. Auch hier war das Futter für beide Gruppen mit *Clostridium perfringens* – 1.000.000 KBE / g Futter kontaminiert. Dem Futter der Kontrollgruppe wurde nichts, dem Futter der Behandlungsgruppe 2 kg Formycine Gold Px pro t zugesetzt.

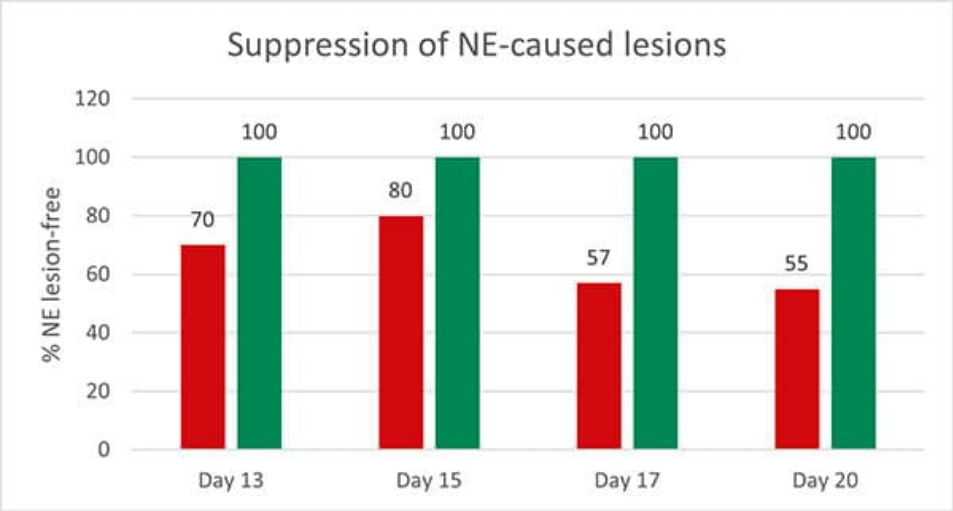


Abbildung 2: Vorbeugende Wirkung von Formycine Gold Px bei nekrotischen Darmerkrankungen

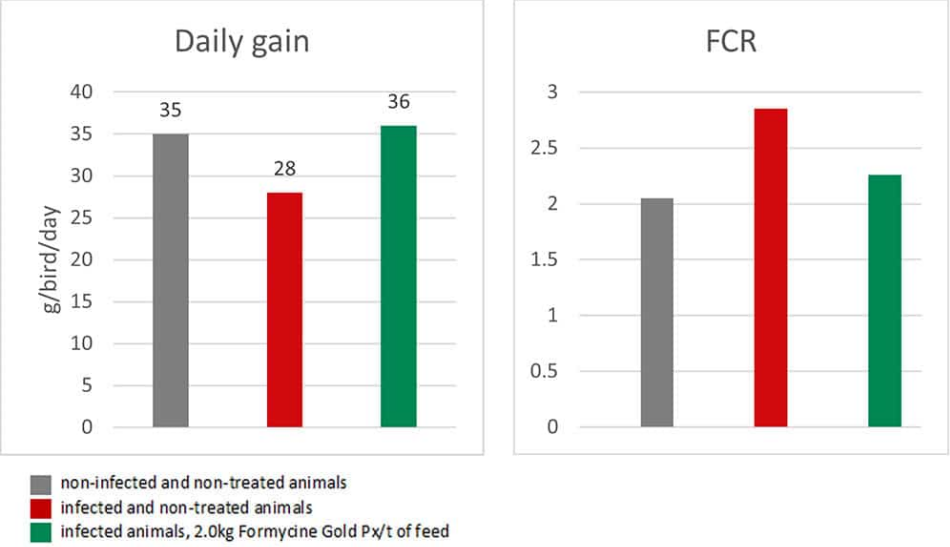


Abbildung 3a und 3b: Leistungserhaltender Effekt von Formycine Gold Px

Der Versuch zeigte, dass Formycine Gold Px zu einer geringeren Aufnahme von Clostridien führt und somit durch nekrotisierende Enteritis verursachte Läsionen verhindern kann (Abb. 2). Folgen der verbesserten Darmgesundheit sind eine bessere Futterverwertung (FVW) und höhere durchschnittliche Tageszunahmen (Abb. 3a und 3b).

Produkte, die Formaldehyd enthalten, können ein Risiko für Menschen darstellen, aber eine angemessene Schutzausrüstung hilft, die Exposition zu verringern/vermeiden.

Kombination aus freien Säuren und sauren Salzen sorgt für optimale Hygieneeffekte

Beste Wirkung gegen Vertreter relevanter futtermittelbedingter Krankheitserreger bei Geflügel zeigt eine andere Mischung organischer Säuren (Acidomix AFG). In einem Test wurden 50 µl Lösung mit verschiedenen Mikroorganismen (Referenzstämme von *S. enterica*, *E. coli*, *C. perfringens*, *C. albicans* und *A. niger*; Konzentration jeweils 105 KBE/mL) zusammen mit 50 µl ansteigender Konzentrationen eines Gemischs organischer Säuren (Acidomix) in Mikrotiterplatten pipettiert. Nach der Inkubation wurden die

minimale Hemmkonzentration (MHK) und die minimale bakterizide Konzentration (MBC) für jeden Erreger ermittelt.

Die Testergebnisse zeigen (Abbildung 4, Minimale bakterizide Konzentration – MBK), dass 0,5 % Acidomix AFG im Medium (≙ 5 kg/t Futter) ausreichen, um *S. enterica*, *C. albicans* und *A. niger* abzutöten, und sogar nur 2,5 kg/t nötig sind im Falle von *E. coli*. Wenn die Erreger nur an der Vermehrung gehindert werden sollen, ist sogar eine noch geringere Menge des Produkts erforderlich (Abbildung 5, Minimale Hemmkonzentration – MHK).

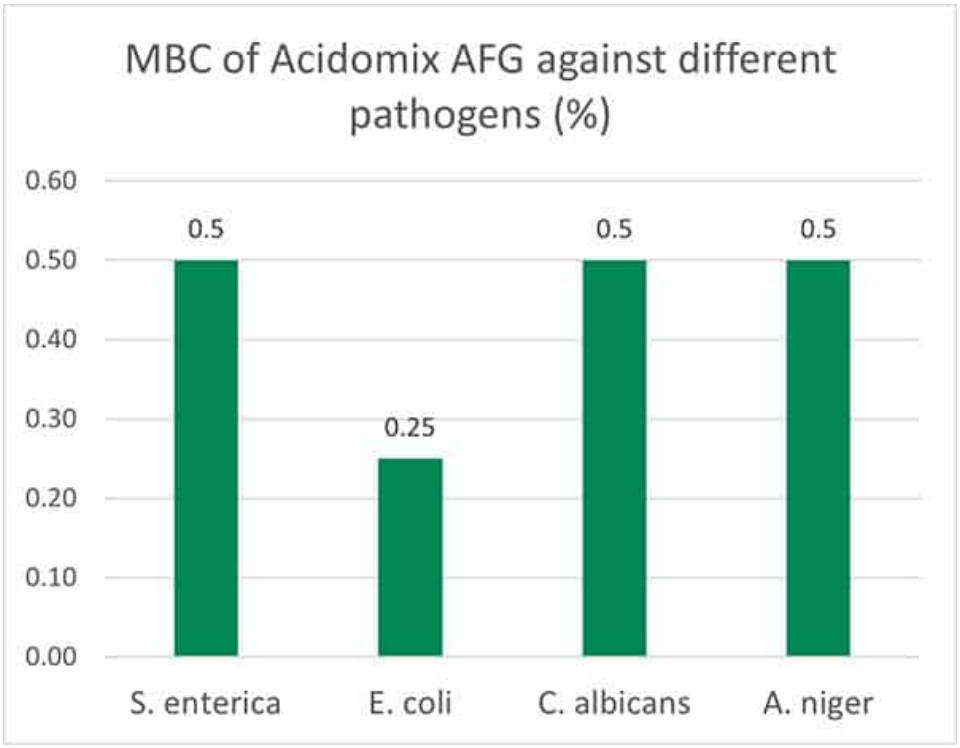


Abbildung 4: MBC von Acidomix AFG gegen verschiedene Krankheitserreger (%)

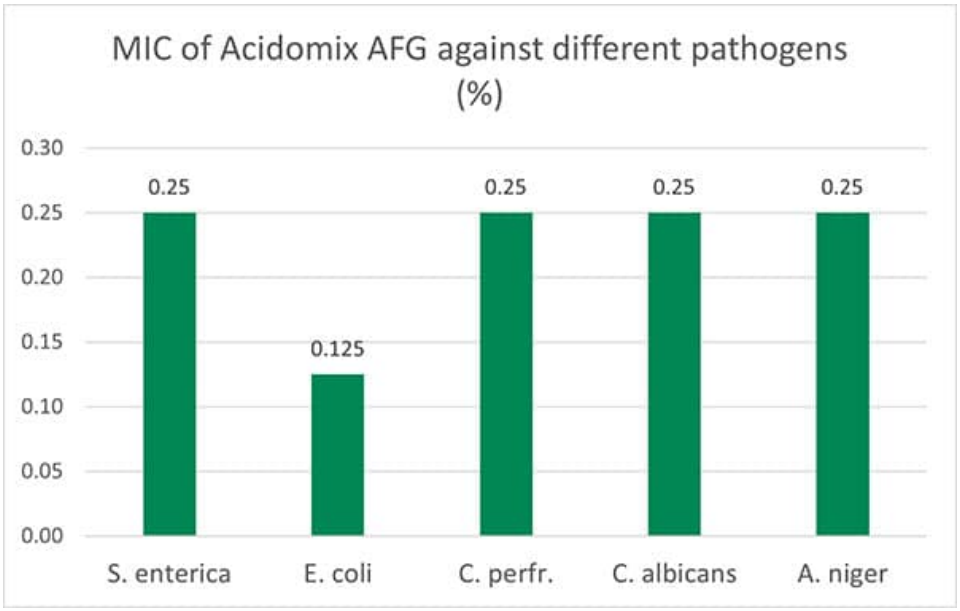


Abbildung 5: MHK von Acidomix AFG gegen verschiedene Krankheitserreger (%)

In addition to the direct antimicrobial effect, this product decreases the pH of the feed and reduces its buffering capacity. The combination of free acids and acid salts provides prompt and long-lasting effects.

Neben seiner direkten antimikrobiellen Wirkung senkt dieses Produkt den pH-Wert des Futters und damit die Pufferkapazität. Die Kombination aus freien Säuren und sauren Salzen sorgt für schnelle und langanhaltende Effekte.

Futtermittelhygiene: Essenziell für die Leistung Ihrer Tiere

Auf Futtermittel entfallen bei Masthähnchen 65-70 % der Produktionskosten und bei Legehennen 75-80 %. Deshalb ist es wichtig, die verfügbaren Futtermittel optimal zu nutzen. Die Futterqualität ist ein entscheidender Faktor für Gesundheit und Leistung Ihrer Tiere. Für eine ordnungsgemäße Ernte und Lagerung sind die Landwirte und der Futtermittelhersteller verantwortlich. Die Industrie bietet Produkte zur Bekämpfung von Krankheitserregern und Toxin bildenden Schimmelpilzen und hilft den Landwirten so, Futtermittel zu sparen UND die Gesundheit und Leistung ihrer Tiere zu schützen.

Literatur:

Dinev, Ivan. *Diseases of Poultry: A Colour Atlas*. Stara Zagora: Ceva Sante Animal, 2007.

Esmail, Salah Hamed. “Moulds and Their Effect on Animal Health and Performance.” All About Feed, June 17, 2021. https://www.allaboutfeed.net/all-about/mycotoxins/moulds-and-their-effect-on-animal-health-and-performance/.

Government of Manitoba. “Spoiled Feeds, Molds, Mycotoxins and Animal Health.” Province of Manitoba – Agriculture. Accessed March 16, 2023. https://www.gov.mb.ca/agriculture/livestock/production/beef/spoiled-feeds-molds-mycotoxins-and-animal-health.html.

Hoffmann, M. “Tierwohl Und Fütterung.” LKV Sachsen: Tierwohl und Fütterung. Sächsischer Landeskontrollverband e.V., January 25, 2021. https://www.lkvsachsen.de/fuetterungsberater/blogbeitrag/artikel/tierwohl-und-fuetterung/.

Ricke, Steven C., Kurt Richardson, and Dana K. Dittoe. “Formaldehydes in Feed and Their Potential Interaction with the Poultry Gastrointestinal Tract Microbial Community–A Review.” *Frontiers in Veterinary Science* 6 (2019). https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00188.

Shirota, Kazutoshi, Hiromitsu Katoh, Toshihiro Ito, and Koichi Otsuki. “Salmonella Contamination in Commercial Layer Feed in Japan.” *Journal of Veterinary Medical Science* 62, no. 7 (2000): 789–91. https://doi.org/10.1292/jvms.62.789.

Stanley, Dragana, and Yadav Sharma Bajagai. “Feed Safety and the Development of Poultry Intestinal Microbiota.” *Animals* 12, no. 20 (2022): 2890. https://doi.org/10.3390/ani12202890.

Su, Lin-Hui, and Cheng-Hsun Chiu. “Salmonella: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature.” *Chang Gung Med J* 30, no. 3 (2007): 210–19.

Udhayavel, Shanmugasundaram, Gopalakrishnamurthy Thippichettypalayam Ramasamy, Vasudevan Gowthaman, Shanmugasamy Malmarugan, and Kandasamy Senthilvel. “Occurrence of Clostridium Perfringens Contamination in Poultry Feed Ingredients: Isolation, Identification and Its Antibiotic Sensitivity Pattern.” *Animal Nutrition* 3, no. 3 (2017): 309–12. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.05.006.

Was Sie schon immer über die nekrotisierende Enteritis beim Geflügel wissen wollten. Ein Überblick

*by **Inge Heinzl, Marisabel Caballero, Ajay Bhoyar**, EW Nutrition*

Die Eliminierung von nekrotisierender Enteritis (NE) aus Ihrem Bestand beginnt damit, die Krankheit zu verstehen, zu wissen, wie man sie verhindern kann und ob/wie es möglich ist, Auswirkungen von NE auf den Bestand zu mildern.

Nekrotisierende Enteritis ist eine Geflügelkrankheit, die durch ein übermäßiges Wachstum von *Clostridium perfringens* Typ A und in geringerem Maße Typ C im Dünndarm verursacht wird. Die Toxine dieser Bakterien schädigen die Darmwand. Im Allgemeinen tritt nekrotisierende Enteritis bei Masthähnchen im Alter von 2-6 Wochen auf. Subklinische Formen sind gekennzeichnet durch eine beeinträchtigte Futterverwertung. Klinische Formen führen zu schweren Problemen und einer erhöhten Bestandssterblichkeit in sehr kurzer Zeit.

Nekrotisierende Enteritis ist die Ursache für jährliche Verluste in Höhe von 6 Milliarden US-Dollar weltweit in der Geflügelproduktion – und diese vormals kontrollierbare Krankheit nimmt zu. Ein Grund dafür ist der freiwillige oder gesetzlich vorgeschriebene reduzierte Einsatz von Antibiotika in der Tierproduktion. Dieser Trend ergibt sich aus einem steigenden Auftreten antimikrobieller Resistenzen und aus den Anforderungen der Verbraucher. Ein weiterer Grund für das wieder verstärkte Auftreten von NE ist die Reduktion von Ionophoren, die neben ihrer Aktivität gegen Kokzidien auch Wirksamkeit gegen Clostridien zeigen. Wenn Lebendimpfstoffe gegen Kokzidien verwendet werden, ist die Anwendung dieser Ionophore nicht möglich und Clostridien / nekrotisierende Enteritis nehmen zu (Williams, 2005).

Nekrotisierende Enteritis und Kokzidiose sind weit verbreitet bei allen Geflügelarten, für Masthähnchen im Besonderen stellt diese Krankheit jedoch ein schwerwiegendes Gesundheitsproblem dar.

Die klinische und subklinische Form von NE

Die klinische Form

(c) Rob Moore

… ist gekennzeichnet durch akuten, dunklen Durchfall, der zu nasser Eintreu führt. Die Herdensterblichkeit steigt plötzlich um bis zu 1% pro Tag nach Auftreten der ersten klinischen Symptome (Ducatelle und Van Immerseel, 2010) und summiert sich teilweise auf bis zu 50% (Van der Sluis, 2013). Die Tiere haben zerzauste Federn, sind lethargisch und zeigen keinen Appetit.

Bei der Nekropsie fallen typischerweise aufgeblähte Gedärme mit einer aufgerauten Schleimhautoberfläche, Läsionen und bräunlichen (diphtherischen) Pseudomembranen auf. Größere Mengen an wässriger, brauner, blutdurchsetzter Flüssigkeit sind zu sehen und das Tier verströmt einen üblen Geruch. Die Leber ist dunkel, geschwollen und fest, die Gallenblase ist aufgetrieben (Hofacre et al., 2018).

Bei **perakuter** nekrotisierender Enteritis können die Tiere ohne vorherige Anzeichen sterben.

Die subklinische Form

Wenn die Tiere unter der subklinischen Form leiden, führen chronische Schäden an der Darmschleimhaut und eine erhöhte Schleimmenge im Dünndarm zu einer Beeinträchtigung der Verdauung. Eine deshalb geringere Absorption von Nährstoffen hat eine schlechtere FCR und damit eine geringere Wachstumsleistung zur Folge, was sich um Tag 35 bemerkbar macht.

Da Futtermittel etwa 65-75% der Produktionskosten bei Masthähnchen ausmachen, erhöht eine schlechte Futterverwertung die Produktionskosten und beeinflusst damit die Rentabilität erheblich. Aus Mangel an klaren Symptomen bleibt diese subklinische Form der Krankheit oft unbehandelt und wirkt sich dauerhaft auf die Produktionseffizienz aus.

Krankheitserreger

Verantwortlich für die nekrotisierende Enteritis sind grampositive, anaerobe Bakterien. Dabei handelt es sich um spezifische Stämme von *Clostridium perfringens* Typ A und, in geringerem Maße, Typ C (Keyburn et al., 2008).

Clostridien kommen in erster Linie im Boden vor, wo organische Substanzen abgebaut werden, außerdem im Abwasser und im Magen-Darm-Trakt von Tieren und Menschen. Sie produzieren Sporen, die extrem widerstandsfähig gegen Umwelteinflüsse (Wärme, Bestrahlung, Austrocknung) sowie auch einige Desinfektionsmittel sind und mehrere Jahre überleben können. Unter geeigneten Bedingungen können sich diese Bakterien über *Sporen* im Futter oder in der Einstreu sogar vermehren.

Clostridium perfringens Bakterien sind natürliche Bewohner des Hühnerdarms. In gesunden Tieren findet man normalerweise eine Mischung aus verschiedenen Stämmen in Konzentrationen von 10^2-10^4 KBE/g Darminhalt (McDevitt et al., 2006). Die Krankheit beginnt, wenn *C. perfringens* sich im Dünndarm vermehrt. In der Regel geschieht dies aufgrund einer Kombination verschiedener Faktoren wie z.B hohe Mengen an Protein im Futter, geringe Immunität und ein Ungleichgewicht in der Darmflora. Dann steigt die Zahl auf 10^7-10^9 KBE/g Darminhalt (Dahiya et al., 2005).

NetB, ein wichtiger Virulenzfaktor für NE

Um sich in einem Wirt anzusiedeln sind C*lostridium* Spp. und andere Krankheitserreger auf Virulenzfaktoren angewiesen (siehe Infobox). Zu diesen Virulenzfaktoren gehören beispielsweise die *Voraussetzungen*, um sich im Wirt festzusetzen, dem Immunsystem zu entgehen oder es zu unterdrücken, um an Nährstoffe zu gelangen und um sich in die Darmzellen einzuschleusen. Jahrelang wurde angenommen, dass das von *C. perfringens* produzierte α-Toxin an der Entwicklung der Krankheit beteiligt und ein wichtiger Virulenzfaktor ist. Im Jahr 2008 fanden Keyburn und Mitarbeiter jedoch einen weiteren wichtigen Virulenzfaktor. Sie verwendeten für *ihren Versuch eine Mutante von C. perfringens.* Diese Mutante ist nicht in der Lage, α-Toxin zu produzieren, verursacht aber dennoch nekrotisierende Enteritis.

Der Versuch identifizierte ein weiteres Toxin, das nur bei Hühnern zu finden ist, die an nekrotisierender Enteritis leiden: *Das von Clostridium perfringens* produzierte NetB *(*necrotic enteritis B-like toxin). NetB ist ein porenbildendes Toxin. Porenbildende Toxine sind Exotoxine, die in der Regel von pathogenen Bakterien produziert werden, es gibt jedoch auch andere Mikroorganismen, die dazu in der Lage sind. Diese Toxine zerstören die Membranintegrität von Darmwandzellen. Ausfließende Zellinhalte können von den Bakterien als Nährstoffe genutzt werden. Wenn Immunzellen auf diese Weise zerstört werden, könnte das eine Beeinträchtigung der Immunreaktion zur Folge haben (Los et al., 2013).

Darüber hinaus produzieren pathogene Stämme von *C. perfringens* Bakteriozine, um die Vermehrung harmloser *Clostridium* Spp.-Stämme zu hemmen und die normale Darmflora von Hühnern zu verdrängen (Riaz et al., 2017). Das wichtigste davon ist Perfrin (Timbermont et al., 2014).

Beispiele für Virulenzfaktoren

1. **Adhäsine**
   Ermöglichen es dem Erreger, sich im Wirt festzusetzen, sich anzuheften, z. B. über Fimbrien. Pili ermöglichen den Austausch von RNA oder DNA zwischen Krankheitserregern.
2. **Invasionsfaktoren**
   Erleichtern dem Erreger das Eindringen und die Verbreitung (Invasions- und Verbreitungsenzyme). Beispiele: Hyaluronidase, die die Hyaluronsäure des Bindegewebes angreift oder Geißeln zur Fortbewegung der Erreger.
3. **Giftstoffe**
   Beeinträchtigen die Funktion der Wirtszellen oder zerstören sie; z.B. Endotoxine (Lipopolysaccharide), Exotoxine
4. **Maßnahmen zur Umgehung der Immunabwehr**
   Ermöglichen es dem Erreger, die Abwehrstrategien des Wirtes zu unterlaufen (z. B. Antiphagozytosefaktoren bieten Schutz vor einem Angriff durch Phagozyten; Inaktivierung spezifischer Antikörper durch Enzyme).

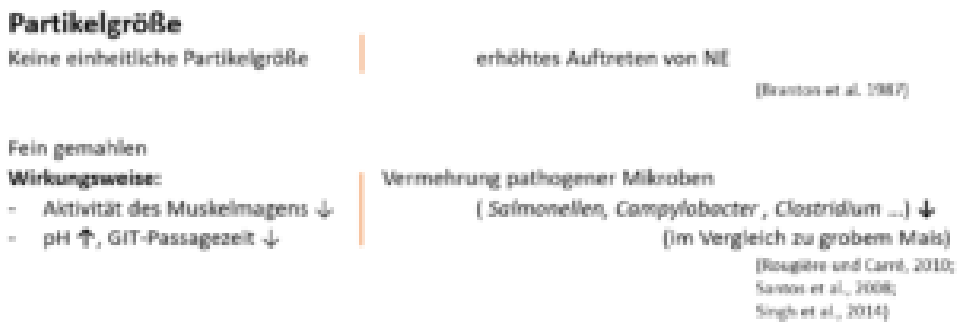
Ein Huhn mit einer **optimalen Darmgesundheit** ist **weniger anfällig für NE**.

Zusätzliche **prädisponierende Faktoren** sind notwendig: Nährstoffe müssen bereitgestellt und die Darmumgebung entsprechend vorbereitet werden, um eine Verbreitung dieser Krankheitserreger und damit den Ausbruch der Krankheit zu ermöglichen (Van Immerseel et al., 2008; Williams, 2005).

Prädisponierende Faktoren

Futter: Zusammensetzung und Partikelgröße

Die Rolle der Futtermittel bei der Entwicklung von nekrotisierender Enteritis sollte nicht unterschätzt werden. Hier sind Stoffe zu nennen, die eine für *C. perfringens* günstige Darmumgebung schaffen.



Mykotoxinkontamination

Mykotoxine schädigen die Darmintegrität und schaffen ideale Bedingungen für die Proliferation von *Clostridium perfringens*.

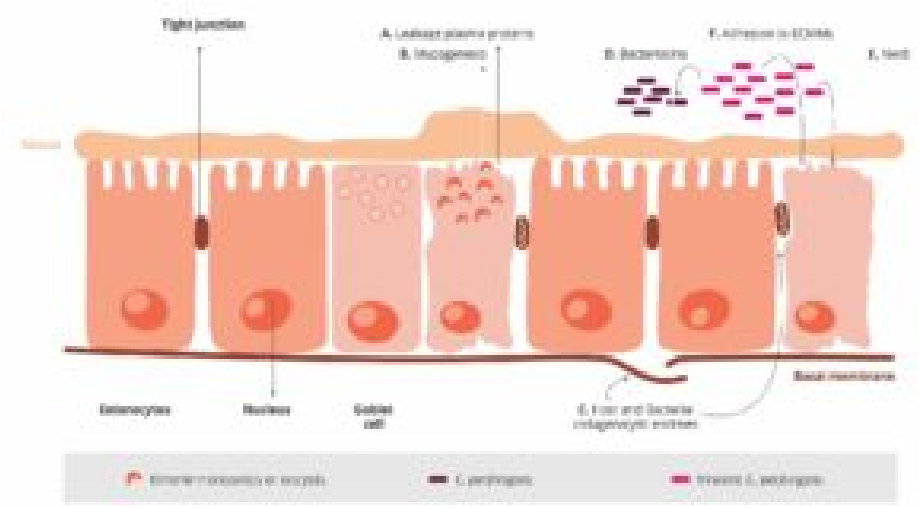
Mykotoxine haben keine direkte Wirkung auf die Verbreitung von *C. Perfringens,* die Toxinproduktion oder die NetB-Transkription. Mykotoxine beeinträchtigen jedoch die Darmgesundheit und schaffen eine günstige Umgebung für den Erreger. Beispiele:

1. Durch Angriff der Darmbarriere und die Beschädigung des Epithels schafft DON gute Bedingungen für die Proliferation von C. *Perfringens*. Die dadurch möglicherweise resultierende Durchlässigkeit des Epithels und eine verminderte Absorption von Proteinen aus dem Futter können zu einer höheren Restmenge an Proteinen im Dünndarm führen. Diese Proteine können als Nährstoffe für den Erreger dienen (Antonissen et al., 2014).
2. Fusariumtoxine verringern außerdem die Anzahl an Milchsäure produzierenden Bakterien, was zu einer Verschiebung des mikrobiellen Gleichgewichts führt (Antonissen et al., 2016.).

Eimeria ssp.

Ein intaktes Darmepithel ist die beste Abwehr gegen potenzielle Krankheitserreger wie *C. perfringens*. Hier kommen Kokzidien ins Spiel. Moore (2016) zeigte, dass Eimeria-Arten durch Schädigung des Darmepithels *C. perfringens* einen Zugang zu den Darmbasaldomänen des Schleimhautepithels liefern. Dort findet dann die erste Phase des pathologischen Prozesses statt. *C. perfringens* dringt in die Lamina propria ein und schädigt das Darmepithel (Olkowski et al., 2008). Die austretenden Plasmaproteine und der produzierte Schleim, sind reichhaltige Nährstoffquellen (Van Immerseel et al., 2004; Collier et al., 2008). Zusätzlich bewirkt die Kokzidiose eine Verschiebung des mikrobiellen Gleichgewichts im Darm. Die Anzahl von z.B. *Candidatus savagella* wird verringert, was eine Aktivierung der angeborenen Immunabwehr zur Folge hat.

.



1. *A. Eimeria* verursachen den Austritt von Plasmaproteinen durch Zerstörung von Epithelzellen
2. B. Sie erhöhen die Schleimproduktion im Darm

A+B führen zu einer Erhöhung der verfügbaren Nährstoffe und schaffen ein günstiges Umfeld für die Proliferation von *C. perfringens*

Nicht nur *Eimeria s*pp., auch andere Krankheitserreger (z.B. *Salmonella* Spp., Ascaris- Larven, Viren) und die schon erwähnten Mykotoxine, die die Darmschleimhaut schädigen, können den Weg für eine *C. perfringens-Infektion* ebnen. Prädisponierende Faktoren wie nasse Einstreu, deren Feuchtigkeit für die Sporulation von *Eimeria* Spp. Oozysten wichtig ist, müssen auch als fördernd für nekrotisierende Enteritis betrachtet werden (Williams, 2005).

Immunsuppressive Faktoren

Neben den bereits beschriebenen Einflussfaktoren Futter, Mykotoxine und Kokzidien müssen noch andere erwähnt werden. Im Allgemeinen kann man sagen, dass alles, was Stress bei den Tieren auslöst, das Gleichgewicht der Darmflora stört. Die daraus resultierende Unterdrückung des Immunsystems erhöht das Risiko einer nekrotisierenden Enteritis (Tsiouris, 2016). Zu diesen Faktoren gehören:

Bakterien: Shivaramaiah und Mitarbeiter (2011) ermittelten eine *Salmonella* Typhimurium-Infektion bei frisch geschlüpften Küken als potentiellen prädisponierenden Faktor für NE. Die frühe Infektion verursacht erhebliche Schäden am Darm (Porter et al., 1998). Weiterhin zeigten Hassan et al. (1994), dass eine Infektion mit Salmonella typhimurium die Entwicklung der Lymphozyten negativ beeinflusst, was sich zusätzlich fördernd auf eine Kolonisierung mit *Clostridium perfringens* auswirken könnte.

Viren: Infektiöse Bursitis ist dafür bekannt, die Schwere von Infektionen mit Salmonellen, Staphylokokken, aber auch Clostridien zu erhöhen. Auch die Marek-Krankheit gilt als eine Clostridien fördernde Viruserkrankung.

Stress: Der Darmtrakt reagiert besonders empfindlich auf jede Art von Stress. Stress wird z.B. verursacht durch zu hohe Temperaturen, hohe Besatzdichten oder einen abrupten Futterwechsel.

Behandlung

In akuten Fällen sollte der Landwirt auf jeden Fall einen Tierarzt konsultieren und seine Tiere behandeln.

Da eine Behandlung in diesem Fall immer über Futter oder Wasser erfolgt, können dementsprechend nur Tiere behandelt werden, die noch Wasser oder Futter aufnehmen.

Antibiotika

Zur Behandlung von akuter NE werden normalerweise Antibiotika, die sich gegen grampositive Bakterien richteten, verwendet. Die Wahl des Antibiotikums sollte dabei dem Tierarzt überlassen werden. Er kennt den Wirkmechanismus und kann eventuelle Resistenzprobleme auf dem Betrieb / im Bestand berücksichtigen.

Ein prophylaktischer Einsatz von Antibiotika wird nicht empfohlen. In vielen Ländern ist dieser Einsatz bereits verboten, um **Antimikrobielle Resistenz** (AMR) zu reduzieren.

Antimikrobielle Resistenz (AMR)

Einige Bakterien reagieren aufgrund genetischer Mutationen weniger empfindlich auf bestimmte Antibiotika. Sie sind in der Lage:

- die Produktion von Enzymen stimulieren, die Antibiotika abbauen oder modifizieren und damit inaktivieren (1).
- die Eintrittspforten von Antibiotika zu beseitigen oder die Entwicklung von Pumpen zu fördern, die das Antibiotikum ausschleusen bevor es wirken kann (2).
- Moleküle, an die das Antibiotikum bindet (die “Zielobjekte“) zu verändern oder zu beseitigen.

Das bedeutet, dass bei Verwendung eines bestimmten Antibiotikums Bakterien, die gegen dieses Antibiotikum resistent sind, überleben. Da sie jetzt keine Konkurrenten mehr haben, können sie sich bestens vermehren.
Leider kann diese Resistenz mit Hilfe von “Resistenzgenen” übertragen werden

- an Tochterzellen
- über deren Aufnahme von abgestorbenen Bakterien (3)
- durch Gentransfer von Bakterium zu Bakterium (4)
- durch Viren (5)

Jede Anwendung von Antibiotika fördert die Entwicklung von Resistenzen (Robert Koch Institut, 2019). Eine kurze Anwendung oder eine Anwendung mit niedriger Dosierung gibt den Bakterien die Möglichkeit, sich anzupassen.

Bakteriophagen

Experimente mit Phagen zeigten ein langsameres Fortschreiten der Krankheit und eine verminderte Ausprägung der Symptome von nekrotisierender Enteritis (Miller et al., 2010). Durch die orale Anwendung eines Bakteriophagencocktails konnten Miller et al. die Sterblichkeit bei *C. perfringens* im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle um 92 % senken.

Wirkungsweise: Mit Hilfe von hochentwickelten Enzymen, den Endolysinen, sind Bakteriophagen in der Lage, die bakterielle Zellwand zu verdauen, und ihre Nachkommen in die Wirtszelle einzuschleusen (Fischetti, 2010). Eine Genehmigung für die Anwendung von Phagen seitens der EFSA steht noch aus.

Prävention

Eine Krankheit zu verhindern ist immer besser – und kostengünstiger – als sie zu behandeln.

Aber wie?

Am besten senkt man die Wahrscheinlichkeit für NE, indem man alle Faktoren, die die Vermehrung von *Clostridium perfringens* begünstigen und die Immunantwort der Tiere beeinträchtigen, möglichst eliminiert.

Neben der Elimination dieser prädisponierenden Faktoren liegt der Fokus auch auf:

- Balance der Darmflora
- Optimierung der Darmfunktion und Integrität
- Aufrechterhaltung der Immunität

Biosicherheit

Es gibt Hinweise darauf, dass die meisten Clostridium-Stämme, die von an nekrotisierender Enteritis leidenden Vögeln isoliert wurden, die Krankheit auch im Experiment auslösen können. Stämme, die von gesunden Vögeln isoliert wurden, sind dazu nicht in der Lage. Dies bestätigt, dass nur bestimmte Stämme problematisch sind (Ducatelle und Van Immerseel, 2010).

Daher ist es von höchster Bedeutung, die Einschleusung dieser pathogenen Stämme in den Betrieb auf jeden Fall zu vermeiden.

- Strenge Biosicherheitsmaßnahmen!
- Separate Kleidung / Stiefel und in jedem Geflügelstall die Möglichkeit, Hände zu waschen und zu desinfizieren
- Mindestens 14 Tage Leerstand bis zur Neubelegung der Ställe

Spezifische Maßnahmen gegen Kokzidiose

1. **Impfung**

Laut Parasitologen können 7 bis 9 Eimeria-Arten bei Hühnern nachgewiesen werden, eine Kreuzreaktivität besteht nicht. Eine wirksame Impfung muss dementsprechend sporulierte Oozysten der kritischsten pathogenen Eimeria-Arten enthalten (*E. acervulina, E. maxima,*E. tenella, E. necatrix und E. brunetti). Je mehr Arten im Impfstoff enthalten sind, desto besser. Durch eine inkorrekte Anwendung kann die Impfung jedoch unwirksam sein oder sogar Reaktionen bei den Tieren hervorrufen, die zu NE führen können

(Mitchell, 2017).

1. **Kokzidiostatika**

Bei der Anwendung von Kokzidiostatika ist es wichtig, zwischen chemischen (synthetischen Verbindungen) und ionophoren (Polyether-Antibiotika) Kokzidiostatika mit unterschiedlichen Wirkungsweisen abzuwechseln, um die Entwicklung von Resistenzen zu vermeiden.

Ionophore haben eine spezielle Wirkungsweise: sie töten die Oozysten ab, und verhindern damit eine infektion des Geflügels. Da sie sehr klein sind, können die Moleküle der Ionophoren aufgenommen und in die äußere Membran des Sporozoits diffundiert werden. Dort senken sie den Konzentrationsgradienten. Die folgende Ansammlung von Wasser führt zum Bersten des Sporozoits.

Fütterung

Den Einsatz von Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSPs) aus Getreide minimieren

Um eine "Fütterung" von *Clostridium* perfringens zu verhindern, sollte ein hoher Gehalt an wasserlöslichen, aber unverdaulichen NSPs und damit an Weizen, Weizennebenprodukten und Gerste vermieden oder zumindest minimiert werden. Darüber hinaus ist es von Vorteil Xylanasen in die Futterformulierung einzubeziehen, um die schädlichen Auswirkungen der NSPs zu reduzieren und die Nutzung der Energie aus dem Futter zu verbessern. Anstelle der oben genannten Getreidearten könnte Mais im Futter verwendet werden. Mais gilt als eine perfekte Komponente für Masthähnchen-Rationen aufgrund seines hohen Energiegehalts und seiner hohen Nährstoffverfügbarkeit.

Formulierung von eiweißarmen Rationen/Rationen mit hochverdaulichen Aminosäuren

Zur Minderung des Risikos einer nekrotisierenden Enteritis könnte die Fütterung von proteinarmen Rationen, die mit kristallinen Aminosäuren ergänzt werden, vorteilhaft sein (Dahiya et al., 2007). Der Zusatz von Proteasen verbessert die Proteinverdaulichkeit und reduziert damit die Proliferation von *C. perfringens*.

Tierische Fette und Fette minderer Qualität im Futter vermeiden bzw. minimieren

Durch die Fütterung von tierischen Fetten und Fetten minderer Qualität erhöht sich oft die Anzahl von *Clostridium perfringens,* daher sollten sie, wenn möglich, durch pflanzliche bzw. hochwertigere Fette ersetzt werden.

Futterbeschaffenheit

In Bezug auf die Futterbeschaffenheit stellten Engberg et al. (2002) fest, dass Tiere mit Pelletfütterung eine geringere Anzahl von *Clostridium perfringens* im Zäkum und Rektum aufwiesen als mit Maischefütterung. Branton und Mitarbeiter (1987) berichteten von einer niedrigeren Mortalitätsrate durch die Fütterung von Futtermitteln aus der Walzenmühle (grob gemahlen) als aus der Hammermühle.

Zusatzstoffe

Additive können entweder verwendet werden, um direkt eine Vermehrung von *Clostridium perfringens* zu verhindern oder um die Umweltbedingungen für eine Vermehrung von *C. perfringens zu* verschlechtern.

Probiotika

Diese lebenden Mikroben werden eingesetzt, um eine neue Darmflora zu etablieren, eine bestehende zu erhalten oder die Darmflora wiederherzustellen.

Wirkungsweise:

- Probiotika konkurrieren mit pathogenen Bakterien um Substrate und Bindungsstellen
- sie produzieren antimikrobielle Substanzen, die das Wachstum pathogener Bakterien hemmen (Gillor et al., 2008)
- sie binden und neutralisieren Enterotoxine (Mathipa und Thantsha, 2017)
- sie fördern die Immunfunktion des Wirts (Yang et al., 2012)

Präbiotika

- Diese Futtermittelzusätze dienen als Substrate, um nützliche Bakterien im Darm zu fördern.

Wirkungsweise:

- D-Mannose oder Fruktose, Stärkearten, die von Vögeln nicht verdaut werden können, stimulieren selektiv das Wachstum und die Aktivität der “guten” Darmflora
- Fructooligosaccharide reduzieren *C. perfringens* und *E. coli* im Darm und erhöhen die Vielfalt von *Lactobacillus* Spp. (Kim et al., 2011)
- Galactooligosaccharide, in Kombination mit einem *B. lactis*-basierten Probiotikum, sollen nach Berichten von Jung et al. (2008), selektiv die Proliferation von *Bifidobacterium* spp. fördern.

Organische Säuren

Organische Säuren werden oft in Futterrationen verwendet, um die Darmgesundheit zu verbessern.

Wirkungsweise:

- niedriger pH-Wert fördert nützliche Bakterien
- Caprylsäure unterdrückt C. *perfringens*, aber auch *Salmonella* Spp. indem sie deren Nutzung von Glucose hemmt (Skrivanova et al., 2006)
- Lauric-, Zitronen-, Öl- und Linolsäure sowie mittelkettige Fettsäuren (C8-C14) behindern das Wachstum von C. *perfringens*

Phytomoleküle

Phytomoleküle , auch als sekundäre Pflanzenstoffe bekannt, werden seit Jahrhunderten gegen Krankheitserreger eingesetzt., Im Allgemeinen gelten zwei Untergruppen dieser Stoffe als wirksam gegen *Clostridium perfringens*:

Tannine

- Viele Studien haben die Wirksamkeit von Tanninen gegen verschiedene Krankheitserreger wie Helminthen, *Eimeria*,, Viren und Bakterien gezeigt
- Extrakte aus Kastanien- und Quebrachobäumen wirken nicht nur gegen C. *perfringens*, sondern auch gegen deren Toxine (Elizando et al., 2010)
- Tannine zeigen Wirkung gegen *Eimeria* (Cejas et al., 2011) und *Salmonella* Sp., zwei prädisponierende Faktoren für NE.

Ätherische Öle

- Da ätherische Öle hydrophob sind, können sie mit den Lipiden der Membran von *C. perfringens* interagieren.
- Sie können sich in die bakterielle Membran einlagern und ihre Integrität stören.
- Dies erhöht die Durchlässigkeit der Zellmembran für Ionen und andere kleine Moleküle wie ATP, was zur Abnahme des elektrochemischen Gradienten über der Zellmembran und zum Verlust von Energieäquivalenten führt.

Neben ihrer direkten Wirkung auf *Clostridium* Spp. verbessern viele Phytomoleküle **die Darmgesundheit** und helfen, eine Proliferation von *Clostridium* Spp. und damit nekrotisierende Enteritis zu verhindern.

Binder für Mykotoxine/bakterielle Toxine

Diese Binder wirken auf zweierlei Weise:

- Durch Bindung von Mykotoxinen können Schäden am Darmepithel – eine Voraussetzung für die Vermehrung von Clostridien – reduziert oder sogar verhindert werden.
- Durch Bindung der von *Clostridium perfringens* produzierten Toxine können Auftreten oder Schweregrad von Läsionen vermindert werden:

Alpha-Toxin (Phospholipase C) hydrolysiert Membranphospholipide, schädigt damit Erythrozyten, Leukozyten, Myozyten und Endothelzellen und verursacht ihre Zerstörung (Songer, 1996). Dies führt zu Nekrose und Gewebeschäden.

- Auch die Bindung NetB Toxin, dem wichtigsten Virulenzfaktor, könnte die Schwere der nekrotisierenden Enteritis reduzieren.

Schlussfolgerung

Der ständig wachsende Trend, den Einsatz von Antibiotika und Ionophoren in der Geflügelproduktion zu reduzieren, trägt zu einem erhöhten Auftreten von nekrotisierender Enteritis bei.

Die subklinische Form der nekrotisierenden Enteritis bleibt in der Regel unbemerkt. Die resultierende schlechtere Futterverwertung ist eine der Hauptursachen der finanziellen Verluste in der Geflügelproduktion.

Um nekrotisierende Enteritis zu verhindern, ist die Aufrechterhaltung einer optimalen Darmgesundheit unumgänglich. Im Zeitalter einer antibiotikafreien Geflügelproduktion müssen Alternativen zur Bekämpfung dieses pathogenen Bakteriums und seiner prädisponierenden Faktoren in Betracht gezogen werden, um diese verheerende Krankheit wieder unter Kontrolle zu bekommen.

References

Annett, C.B., J. R. Viste, M. Chirino-Trejo, H. L. Classen, D. M. Middleton, and E. Simko. “Necrotic enteritis: effect of barley, wheat and corn diets on proliferation of Clostridium perfringens type A.” *Avian Pathology* 31 (2002): 599– 602. https://doi.org/10.1080/0307945021000024544

Antonissen G, F. Van Immerseel, F. Pasmans, R. Ducatelle, F. Haesebrouck, L. Timbermont, M. Verlinden, G.P.J. Janssens, V. Eeckhaut, M. Eeckhout, S. De Saeger, S. Hessenberger, A. Martel, and S. Croubels. “The mycotoxin deoxynivalenol predisposes for the development of Clostridium perfringens-Induced necrotic enteritis in broiler chickens. *PLoS ONE* 9 no. 9 (2014): e108775. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108775

Antonissen, G., V. Eeckhaut, K. Van Driessche, L. Onrust , F. Haesebrouck, R. Ducatelle, R.J. Moore, and F. Van Immerseel. “Microbial Shifts Associated With Necrotic enteritis.” *Avian Pathol.* 45 no. 3 (2016): 308-312. https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1152625

Branton, S.L., F.N. Reece, and W.M. Hagler. “Influence of a wheat diet on mortality of broiler chickens associated with necrotic enteritis.” Poultry Sci. 66 (1987): 1326-1330. https://doi.org/10.3382/ps.0661326

Cejas, E., S. Pinto, F. Prosdócimo, M. Batalle, H. Barrios, G. Tellez, and M. De Franceschi. “Evaluation of quebracho red wood (Schinopsis lorentzii) polyphenols vegetable extract for the reduction of coccidiosis in broiler chicks.” *International Journal of Poultry Science* 10 no. 5 (2011): 344–349. https://doi.org/10.3923/ijps.2011.344.349

Collier, C.T., C.L. Hofacre, A.M. Payne, D.B. Anderson, P. Kaiser, R.I. Mackie, and H.R. Gaskins. “Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting Clostridium perfringens growth.” *Veterinary Immunology and Immunopathology* 122 (2008):104–115.

https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.10.014

https://www.academia.edu/12692646/Coccidia-induced_mucogenesis_promotes_the_onset_of_necrotic_enteritis_by_supporting_Clostridium_perfringens_growth

Dahiya, J.P., D. Hoehler, A.G. Van Kessel, and M.D. Drew. “Effect of different dietary methionine sources on intestinal microbial populations in broiler chickens.” *Poultry Science* 86 (2007):2358–2366

https://doi.org/10.3382/ps.2007-00133

Dahiya, J.P., D. Hoehler, D.C. Wilkie, A.G. van Kessel, and M.D. Drew. “Dietary glycine concentration affects intestinal Clostridium perfringens and Lactobacilli populations in broiler chickens.” *Poultry Science* 84 no.12 (2005):1875-85. https://doi.org/10.1093/ps/84.12.1875

Diaz Carrasco, J.M., L.M. Redondo, E.A. Redondo, J.E. Dominguez, A.P. Chacana, and M.E. Fernandez Miyakawa. “Use of plant extracts as an effective manner to control Clostridium perfringens induced necrotic enteritis in poultry.” *BioMed Research International* (2016): Article ID 3278359. https://dx.doi.org/10.1155/2016/3278359

Ducatelle, R. and F. van Immerseel. “Necrotic enteritis: emerging problem in broilers.” *WATTAgNet.com – Poultry Health and Disease* (April 9, 2010).

https://www.wattagnet.com/articles/5523-necrotic-enteritis-emerging-problem-in-broilers

Elizondo, A.M., E.C. Mercado, B.C. Rabinovitz, and M.E. Fernandez-Miyakawa. “Effect of tannins on the in vitro growth of Clostridium perfringens.” *Veterinary Microbiology* 145 no. 3-4 (2010): 308–314. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.04.003

Engberg, R.M., M.S. Hedemann, and B.B. Jensen. “The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens.” · *British Poultry Science* 43 no. 4 (2002):569-579. https://doi.org/10.1080/0007166022000004480

Fischetti, V.A. “Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens.” *J Med Microbiol.* 300 no. 6 (2010): 357–362. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.002

Gillor, O., A. Etzion and M.A. Riley. “The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics.” *Appl Microbiol Biotechnol*. 81 no. 4 (2008): 591–606. https://doi.org/10.1007/s00253-008-1726-5

Hassan, J. O., and R. Curtiss III. “Virulent Salmonella typhimurium induced lymphocyte depletion and immunosuppression in chickens.” *Infect. Immun.* 62 (1994):2027–2036 https://doi.org/10.1128/IAI.62.5.2027-2036.1994

Hofacre, C.L., J.A. Smith, and G.F. Mathis. “Invited Review. An optimist’s view on limiting necrotic enteritis and maintaining broiler gut health and performance in today’s marketing, food safety, and regulatory climate.” *Poultry Science* 97 (2018):1929–1933. https://dx.doi.org/10.3382/ps/pey082

Jung, S.J., R. Houde, B. Baurhoo, X. Zhao, and B. H. Lee. “Effects of galacto-oligosaccharides and a bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens.” *Poultry Science* 87 (2008):1694–1699. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00489

Kaldhusdal and Skjerve. “Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway.” *Preventive Veterinary Medicine* 28 (1996):1-16. https://doi.org/10.1016/0167-5877(96)01021-5

https://www.academia.edu/17521917/Association_between_cereal_contents_in_the_diet_and_incidence_of_necrotic_enteritis_in_broiler_chickens_in_Norway

Keyburn, A. L., S. A. Sheedy, M. E. Ford, M. M. Williamson, M. M. Awad, J. I. Rood, and R. J. Moore. “Alpha-toxin of Clostridium perfringens is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens.” *Infect. Immun.* 74 (2006): 6496–6500. https://doi.org/10.1128/IAI.00806-06

Keyburn, A.L., J.D. Boyce, P. Vaz, T.L. Bannam, M.E. Ford, D. Parker, A. Di Rubbo, J.I. Rood, and R.J. Moore. “NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by Clostridium perfringens.” *PLoS Pathog* 4 no. 2, e26 (2008): 0001-0011. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0040026

Kim, G.-B., Y. M. Seo , C. H. Kim , and I. K. Paik. “Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers.” *Poultry Science* 90 (2011):75–82. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00732

Knap, I., B. Lund, A. B. Kehlet, C. Hofacre, and G. Mathis. “Bacillus licheniformis prevents necrotic enteritis in broiler chickens.” *Avian Diseases* 54 no. 2 *(2010)*:931-935. https://doi.org/10.1637/9106-101509-ResNote.1

Knarreborg, A., M.A. Simon, R.M. Engberg, B.B. Jensen, and G.W. Tannock. “Effects of Dietary Fat Source and Subtherapeutic Levels of Antibioticon the Bacterial Community in the Ileum of Broiler Chickensat Various Ages.” *Applied and Environmental Microbiology* 68 no. 12 (2002): 5918-5924. https://doi.org/0.1128/AEM.68.12.5918–5924.2002

Kocher, A. and M. Choct. “Improving broiler chicken performance. The efficacy of organic acids, prebiotics and enzymes in controlling necrotic enteritis.” *Australian Government-Rural Industries Research and Development Corporation*. Publ. no. 08/149 (2008).

https://www.agrifutures.com.au/wp-content/uploads/publications/08-149.pdf

Kondo, F. “In vitro lecithinase activity and sensitivity to 22 antimicrobial agents of Clostridium perfringens isolated from necrotic enteritis of broiler chickens.” *Research in veterinary Science* 45 (1988): 337-340. https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30961-5

Kubena, L.F., J.A. Byrd, C.R. Young, and D.E. Corrier. “Effects of tannic acid on cecal volatile fatty acids and susceptibility to Salmonella typhimurium colonization in broiler chicks.” *Poultry Science* 80, no. 9 (2001): 1293–1298. https://doi.org/10.1093/ps/80.9.1293

Los, F.C.O., T.M. Randis, R.V. Aroian, and A.J. Ratner. “Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases.” *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 77 (2013): 173-207 https://doi.org/10.1128/MMBR.00052-12

M’Sadeq S.A., Shubiao Wu, Robert A. Swick, Mingan Choct. “Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide.” *Animal Nutrition* 1 (2015): 1-11. https://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2015.02.004

Mathipa, M.G. and M.S. Thantsha. “Probiotic engineering: towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens.” *Gut Pathog.* 9 no. 28 (2017). https://doi.org/10.1186/s13099-017-0178-9

McDevitt, R.M., J.D. Brooker, T. Acamovic, and N.H.C. Sparks. “Necrotic enteritis, a continuing challenge for the poultry industry.” *World’s Poultry Science Journal* 62; World’s Poultry Science Association (June 2006). https://doi.org/10.1079/WPS200593

Miller, R.W., J. Skinner, A. Sulakvelidze, G.F. Mathis, and C.L. Hofacre. “Bacteriophage therapy for control of necrotic enteritis of broiler chickens experimentally infected with Clostridium perfringens.” *Avian Diseases* 54 no. 1 (2010): 33-40. https://doi.org/10.1637/8953-060509-Reg.1

Mitsch, P., K. Zitterl-Eglseer, B. Köhler, C. Gabler, R. Losa, and I. Zimpernik. “The Effect of Two Different Blends of Essential Oil Components on the Proliferation of Clostridium perfringens in the Intestines of Broiler Chickens.” *Poultry Science* 83 (2004):669–675. https://doi.org/10.1093/ps/83.4.669

Mitchell, A. “Choosing the right coccidiosis vaccine for layer and breeder chickens.” *The Poultry Site* March 21 (2017). https://thepoultrysite.com/articles/choosing-the-right-coccidiosis-vaccine-for-layer-and-breeder-chickens

Olkowski, A.A., C. Wojnarowicz, M. Chirino-Trejo, B. Laarveld, and G. Sawicki. “Sub-clinical necrotic enteritis in broiler chickens: Novel etiological consideration based on ultra-structural and molecular changes in the intestinal tissue.” *Veterinary Science* 85 (2008): 543–553. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.02.007

Pan, D. and Z. Yu. “Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet.” *Gut Microbes* 5 no. 1 (2014): 108–119. https://dx.doi.org/10.4161/gmic.26945

Porter, R., Jr. “Bacterial enteritides of poultry.” *Poult. Sci.* 77 (1998):1159–1165 https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1159

Robert Koch Institut. “Grundwissen Antibiotikaresistenz“. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Grundwissen/Grundwissen_inhalt.html#:~:text=Wenn%20ein%20neues%20Antibiotikum%20auf,%C3%BCberleben%20und%20vermehren%20sich%20weiter.

Rougière, N. and B. Carré. “Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D + and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency.” *Animal* 4 no. 11 (2010): 1861-1872.

https://doi.org/10.1017/S1751731110001266

Santos, F.B.O., B.W. Sheldon, A.A. Santos Jr., and P.R. Ferket. ”Influence of housing system, grain type, and particle size on Salmonella colonization and shedding of broilers fed triticale or corn-soybean meal diets.” *Poultry Science* 87 (2008): 405-420. https://dx.doi.org/10.3382/ps.2006-00417

Schiavone, A. , K. Guo, S. Tassone, L .Gasco, E. Hernandez, R. Denti, and I. Zoccarato. “Effects of a Natural Extract of Chestnut Wood on Digestibility, Performance Traits, and Nitrogen Balance of Broiler Chicks.” *Poult Sci.* 87 no. 3 (2008): 521-527. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00113

Shivaramaiah, S., R. E. Wolfenden, J. R. Barta, M. J. Morgan, A. D. Wolfenden, B. M. Hargis, and G. Téllez. „The role of an early Salmonella typhimurium infection as a predisposing factor for necrotic enteritis in a laboratory challenge model.” *Avian Diseases* 55 (2011): 319-323. https://doi.org/10.1637/9604-112910-ResNote.1

Singh, Y., V. Ravindran, T.J. Wester, A.L. Molan, and G. Ravindran. “ Influence of feeding coarse corn on performance, nutrient utilization, digestive tract measurements, carcass characteristics, and cecal microflora counts of broilers.” *Poultry Science* 93 (2014): 607–616. https://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03542

Skrivanova, E., M. Marounek, V. Benda, and P. Brezina. “Susceptibility of Escherichia coli, Salmonella sp. and Clostridium perfringens to organic acids and monolaurin.” *Veterinarni Medicina* 51 no. 3 (2006): 81–88. https://doi.org/10.17221/5524-VETMED

Songer, J.G. “Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals.” *Clinical Microbiology Reviews* 9 no. 2 (1996): 216-234. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172891/pdf/090216.pdf

Stanley D., Wu S.-B., Rodgers N., Swick R.A., and Moore R.J. “Differential Responses of Cecal Microbiota to Fishmeal, Eimeria and Clostridium perfringens in a Necrotic Enteritis Challenge Model in Chickens.” *PLoS ONE* 9 no. 8 (2014): e104739. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104739

Tan, L., D. Rong, Y. Yang, and B. Zhang. “Effect of Oxidized Soybean Oils on Oxidative Status and Intestinal Barrier Function in Broiler Chickens.” *Brazilian Journal of Poultry Science* 18 no. 2 (2018): 333-342. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2017-0610

Tan, L., D. Rong, Y. Yang, and B. Zhang. “The Effect of Oxidized Fish Oils on Growth Performance, Oxidative Status, and Intestinal Barrier Function in Broiler Chickens.” *J. Appl. Poult. Res.* 28 (2019): 31-41. http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfy013

ThePoultrySite. “Necrotic Enteritis. Disease Guide”. https://thepoultrysite.com/disease-guide/necrotic-enteritis

Timbermont L., A. Lanckriet, J. Dewulf, N. Nollet, K. Schwarzer, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, and F. Van Immerseel. “Control of Clostridium perfringens-induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils.” *Avian Pathol.* 39 no. 2 (2010): 117-21. https://doi.org/10.1080/03079451003610586

Tsiouris, V. “Poultry management: a useful tool for the control of necrotic enteritis in poultry.” *Avian Pathol.* 45 no. 3 (2016):323-325. https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1154502

Van der Most, P.J., B. de Jong, H.K. Parmentier and S. Verhulst. “Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments.” *Functional Ecology* 25 (2011): 74-80. https://doi.org/0.1111/j.1365-2435.2010.01800.x

Van der Sluis, W. “Clostridial enteritis is an often underestimated problem.” *Worlds Poult. Sci. J.* 16 (2000):42–43.

Van der Suis, W. “Necrotic enteritis kills birds and profits.” *Poultry World* Apr5 (2013). https://www.poultryworld.net/Health/Articles/2013/4/necrotic-enteritis-kills-birds-and-profits-1220877W/

Van Immerseel, F., J. De Buck, F. Pasmans, G. Huyghebaert, F. Haesebrouck, and R. Ducatelle. “Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat of animal and public health.” *Avian Pathology* 33 (2004): 537-549. https://doi.org/10.1080/03079450400013162

Van Immerseel, F., J.I. Rood, R.J. Moore, and R.W. Titball. “Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens.” *Trends in Microbiology* 17 no. 1 (2008):32-36. https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.005

Wade, B., A. Keyburn. “The true cost of necrotic enteritis.” *World Poultry* 31 no. 7 (2015): 16–17. https://www.poultryworld.net/Meat/Articles/2015/10/The-true-cost-of-necrotic-enteritis-2699819W/

Wade, B., A.L. Keyburn, T. Seemann, J.I. Rood, and R.J. Moore. “Binding of Clostridium perfringens to collagen correlates with the ability to cause necrotic enteritis in chickens.” *Veterinary Microbiology* 180 no. 3–4 (2015): 299-303. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.09.019

Williams, R.B. “Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity.” *Avian Pathology* 34 no. 3 (2005):159-180. https://doi.org/10.1080/03079450500112195

Yang , C.M., G.T. Cao, P.R. Ferket, T.T. Liu, L. Zhou, L. Zhang, Y.P. Xiao, and A. G. Chen. “ Effects of probiotic, Clostridium butyricum, on growth performance, immune function, and cecal microflora in broiler chickens.” *Poultry Science* 91 (2012): 2121–2129. https://dx.doi.org/10.3382/ps.2011-02131