Aus dem Institut für Tierernährung
des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

# Einfluss eines Hefezellwandproduktes auf die zootechnische Leistung sowie verdauungsphysiologische, mikrobiologische und immunologische Parameter bei Masthühnern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heike Vodde
Tierärztin aus Lohne

Berlin 2014

Journal-Nr.: 3771

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

| | |
|---|---|
| Dekan: | Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek |
| Erster Gutachter: | Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek |
| Zweiter Gutachter: | Univ.-Prof. Dr. Hafez Mohamed Hafez |
| Dritter Gutachter: | Univ.-Prof. Dr. Jörg. R. Aschenbach |

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*
broilers, performance, microbiology, immune system, yeasts, cell walls, *Saccharomyces cerevisiae*, mannans, beta-glucan, digestibility

Tag der Promotion: 23.09.2015

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-666-1
**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2015**
Dissertation, Freie Universität Berlin
**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.
Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.
No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved
© Mensch und Buch Verlag 2015
Choriner Str. 85 - 10119 Berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

**Für meine Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

**1 Einleitung ... 1**

**2 Literaturübersicht ... 2**

**2.1 Mastgeflügel ... 2**

2.1.1 Wirtschaftliche Bedeutung von Mastgeflügel ... 2

2.1.2 Bedeutung von Futterzusatzstoffen und Einzelfuttermitteln ... 3

**2.2 Hefezellwandpräparate ... 4**

2.2.1 Aufbau und Struktur der Hefezellwand ... 4

2.2.2 Hefezellwandbestandteile von *Saccharomyces cerevisiae* ... 4

2.2.3 Einsatz von Hefezellwandbestandteilen in der Tierernährung ... 6

**2.3 Aufbau, Funktion und Mikrobiota des aviären Verdauungstraktes ... 7**

2.3.1 Oberer Verdauungstrakt ... 7

2.3.2 Unterer Verdauungstrakt ... 8

**2.4 Wirkungen von Hefezellwandbestandteilen im aviären Gastrointestinaltrakt 10**

2.4.1 Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota ... 10

2.4.2 Nährstoffverdaulichkeit und histologische Veränderungen an der Darmschleimhaut ... 19

**2.5 Aufbau und Funktion des aviären Immunsystems ... 20**

2.5.1 Angeborenes und erworbenes Immunsystem ... 20

2.5.2 Darmassoziiertes lymphatisches Gewebe (GALT) ... 23

**2.6 Immunmodulierende Wirkungen von Hefezellwandbestandteilen ... 24**

2.6.1 Intestinales IgA ... 25

2.6.2 Immunorgangewichte ... 26

2.6.3 Zellgehalte und Phagozytoseaktivität der Abwehrzellen im Vollblut ... 30

2.6.4 Antikörper gegen das Virus der Newcastle-Krankheit (NDV) ... 31

**2.7 Zootechnische Parameter ... 35**

**2.8 Versuchsziel und Fragestellung ... 36**

**3 Material und Methoden ... 37**

**3.1 Versuchstiere ... 37**

**3.2 Haltungsbedingungen ... 37**

**3.3 Versuchsfutter und Fütterung ... 37**

**3.4 Versuchsdurchführung ... 38**

**3.5 Probengewinnung und Sektionsgang ... 39**

**3.6 Futtermitteluntersuchung ... 40**

3.6.1 Rohnährstoffe ... 40

3.6.2 Mineralstoffe und Spurenelemente ... 40

3.6.3 Aminosäuren ... 40

3.6.4 Stärke ... 41

3.6.5 Gesamtzucker ... 42

3.6.6 Glucan-, (1→3), (1→6)-β-D-Glucan- und Mannangehalt ... 42

3.6.7 Keimzahl-, Schimmelpilz- und Hefegehalt ... 42

**3.7 Zootechnische Parameter ... 42**

3.7.1 Futteraufnahme und Futteraufwand ... 42

3.7.2 Lebendmassezunahme ... 42

3.7.3 Mortalitätsrate ... 43

**3.8 Verdauungsphysiologische Parameter ... 43**

3.8.1 pH-Wert der Digesta ... 43

3.8.2 Trockensubstanzgehalt der Ileumdigesta ... 43

3.8.3 Praecaecale Verdaulichkeit der Nährstoffe ... 43

**3.9 Mikrobiologische Parameter ... 44**

3.9.1 Bakterielle Metaboliten ... 44

3.9.2 Quantifizierung von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. mittels qPCR ... 47

**3.10 Immunologische Parameter ... 49**

3.10.1 Intestinales IgA ... 49

3.10.2 Immunorgangewichte ... 51

3.10.3 Quantifizierung von Zellgehalten im Vollblut ... 51

3.10.4 Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut ... 51

3.10.5 Antikörpertiter gegen NDV ... 54

**3.11 Statistische Auswertung ... 54**

**4 Ergebnisse ... 55**

**4.1 Versuchsdiäten ... 55**

**4.2 Gesundheitsbeurteilung ... 55**

**4.3 Zootechnische Parameter ... 58**

4.3.1 Futteraufnahme und Futteraufwand ... 58

4.3.2 Lebendmasse und Lebendmassezunahme ... 58

4.3.3 Mortalitätsrate ... 59

**4.4 Verdauungsphysiologische Parameter ... 61**

4.4.1 pH-Wert der Digesta ... 61

4.4.2 Trockensubstanzgehalt der Ileumdigesta ... 61

4.4.3 Praecaecale Verdaulichkeit der Nährstoffe ... 61

**4.5 Mikrobiologische Parameter ... 63**

4.5.1 Bakterielle Metaboliten ... 63

4.5.2 Quantifizierung von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. mittels qPCR ... 67

**4.6 Immunologische Parameter ... 70**

4.6.1 Intestinales IgA ... 70

4.6.2 Immunorgangewichte ... 70

4.6.3 Quantifizierung von Zellgehalten im Vollblut ... 72

4.6.4 Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut ... 75

4.6.5 Antikörpertiter gegen NDV ... 75

**5 Diskussion ... 77**

**5.1 Diskussion der Versuchsbedingungen und des Studiendesigns ... 77**

**5.2 Diskussion der Ergebnisse ... 78**

5.2.1 Vergleichbarkeit der Ergebnisse ... 78

5.2.2 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die zootechnischen Parameter ... 78

5.2.3 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die praecaecale Verdaulichkeit ... 83

5.2.4 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die mikrobiologischen Parameter ... 84

5.2.5 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die immunologischen Parameter ... 88

**5.3 Schlussfolgerung und Ausblick ..... 91**

**6 Zusammenfassung ..... 93**

**7 Summary ..... 96**

**8 Literaturverzeichnis ..... 99**

**9 Anhang ..... 119**

**10 Publikationsverzeichnis ..... 126**

**11 Danksagung ..... 127**

**12 Selbstständigkeitserklärung ..... 128**

## Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---|---|
| ® | eingetragenes Warenzeichen |
| ANOVA | Varianzanalyse (analysis of variance) |
| bp | Basenpaare |
| BSA | bovines Serumalbumin |
| c | Konzentration |
| CD | cluster of differentiation |
| cT-Wert | concentration threshold |
| d | Tag |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid) |
| dsDNA | Doppelstrang DNA |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| ELISA | Enzymimmunoassay (enzyme linked immunosorbent assay) |
| Em. | Mast-/Endmastfutter |
| FACS | fluorescence-activated cell sorting |
| FITC | Fluoreszeinisothiozyanat |
| FSC | Vorwärtsstreulicht (forward scatter) |
| g | Gramm |
| GALT | Darmassoziiertes lymphatisches Gewebe (gut associated lymphoid tissue) |
| GC | Gaschromatographie |
| GMT | Geometrischer Mitteltiter |
| HA | Hämagglutination |
| HI | Hämagglutination-Inhibition |
| HPLC | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography) |
| HRP | Horseradish Peroxidase |
| HZW | Hefezellwand |
| HZWP | Hefezellwandprodukt |
| *i.m.* | intramuskulär |
| IEL | intraepitheliale Lymphozyten |
| Ig | Immunglobulin |
| IL | Interleukin |
| KbE | Koloniebildende Einheit |
| kg | Kilogramm |
| MALT | Schleimhaut-assoziiertes lymphatisches Gewebe (mucosa associated lymphoid tissue) |
| MHC | Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex) |
| MOPS | 3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure |
| MOS | Mannanoligosaccharide |
| n.a. | nicht angegeben |
| NADPH | Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat |
| NaOH | Natriumhydroxid |

| | |
|---|---|
| NDV | Virus der Newcastle-Krankheit |
| n.n. | nicht nachgewiesen |
| p.a. | pro analysi |
| PAMP | Pathogen-assoziierte molekulare Muster (pathogen-associated molecular pattern) |
| PBS | Phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline) |
| PCR | Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction) |
| PE | Phycoerythrin |
| pH | negativer dekadischer Logarithmus des Zahlenwerts der $H^+$-Aktivität |
| PRR | pattern recognition receptor |
| qPCR | quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion |
| RNase | Ribonuklease |
| *S. c.* | *Saccharomyces cerevisiae* |
| *s.c.* | subkutan |
| spp. | Spezies (plural) |
| SSC | Seitwärtsstreulicht (side scatter) |
| St. | Starterfutter |
| t | Tonne |
| $T_H$-Zelle | T-Helfer-Zelle |
| $TiO_2$ | Titandioxid |
| TMB | 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine |
| TNE | Tris-Natriumchlorid-EDTA |
| TS | Trockensubstanz |
| uS | ursprüngliche Substanz |
| VDLUFA | Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten |
| x *g* | Erdbeschleunigung |

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Erzeugung von Hähnchen in der Europäischen Union und den USA (ZDG 2013).. 2
Tabelle 2: Pro-Kopf-Verbrauch von Hähnchenfleisch in der Europäischen Union und Amerika (ZDG 2013) ..... 2
Tabelle 3: Hauptbestandteile der Hefezellwand von *Saccharomyces cerevisiae* ..... 4
Tabelle 4: Mittlere Retentionszeiten im Gastrointestinaltrakt von Broilern (Dänicke *et al.* 1999) ..... 7
Tabelle 5: Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen ..... 13
Tabelle 6: Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen ..... 17
Tabelle 7: Immunologischer Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen ..... 27
Tabelle 8: Immunorgangewichte von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen ..... 28
Tabelle 9: NDV-Antikörpertiter von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen ..... 33
Tabelle 10: Futterzusammensetzung der Versuchsdiäten ..... 38
Tabelle 11: Verwendete primäre und sekundäre Antikörper ..... 53
Tabelle 12: Rohnährstoff-, Mineralstoff-, Spurenelement-, Mannan- und Glucangehalte sowie Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse der verschiedenen Versuchsdiäten und des Hefezellwandproduktes ..... 56
Tabelle 13: Aminosäurenkonzentrationen [g/kg uS] der verschiedenen Versuchsdiäten und des Hefezellwandproduktes ..... 57
Tabelle 14: Mortalitätsrate nach 35 Versuchstagen [%] der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum); n = 8 ..... 59
Tabelle 15: Mittlere Leistungsdaten der fünf Versuchsgruppen [g] (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8 ..... 60
Tabelle 16: Mittlere pH-Werte der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8[1] ..... 62
Tabelle 17: Scheinbare ileale Verdaulichkeit des Rohproteins, Rohfetts und Stärke [%] sowie prozentualer Trockensubstanzgehalt der uS im Ileum der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8 ..... 62
Tabelle 18: D- und L-Laktat Konzentrationen [µmol/g uS] der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)) ..... 64
Tabelle 19: Konzentration des Ammoniums [µmol/g uS] der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)) ..... 64
Tabelle 20: Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren [µmol/g uS] in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)) ..... 65

Tabelle 21: Mittlere Kopienzahl [$log_{10}$ Kopienzahl/g uS] von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Shigella/Hafnia* spp. in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)) ..... 68
Tabelle 22: Gehalt von intestinalem IgA [mg/L] in der Duodenumdigesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8 ..... 71
Tabelle 23: Relative Immunorgangewichte [%] der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8 ..... 71
Tabelle 24: Ergebnisse der Blutbildanalyse [Zellzahl/µl Blut] der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8[1] ..... 73
Tabelle 25: Ergebnisse der Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut und Antikörpertiter im Serum gegen das NDV der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8 ..... 76
Tabelle 26: Leistungsdaten von männlichen Cobb 500 Broilern [g] (Cobb 2012) ..... 79
Tabelle 27: Mittlere Leistungsdaten der fünf Versuchsgruppen [g] (Mittelwert); n = 8 ..... 79
Tabelle 28: Geräte und Chemikalien für die Futteruntersuchung ..... 119
Tabelle 29: Geräte und Chemikalien für die Bestimmung der scheinbaren ilealen Verdaulichkeit, des pH-Wertes und prozentualen Trockensubstanzgehaltes ..... 120
Tabelle 30: Geräte und Chemikalien für Bestimmung von D- und L-Laktat ..... 121
Tabelle 31: Geräte und Chemikalien für die Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren ..... 122
Tabelle 32: Geräte und Chemikalien für die Bestimmung von Ammonium ..... 122
Tabelle 33: Geräte und Chemikalien für die DNA-Extraktion, Bestimmung der DNA-Konzentration und qPCR ..... 123
Tabelle 34: Verwendete Primer für die qPCR ..... 124
Tabelle 35: Mengenverhältnisse eines Reaktionsansatzes für die qPCR ..... 124
Tabelle 36: Reaktionsbedingungen für die qPCR ..... 124
Tabelle 37: Geräte und Chemikalien für die Bestimmung von intestinalem IgA ..... 125
Tabelle 38: Geräte und Chemikalien für die durchflusszytometrische Untersuchung ..... 125

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Density Plot mit Zweifarbendarstellung einer auf Eis gelagerten Blutprobe als Negativkontrolle (A) sowie einer bei 37°C inkubierten Blutprobe (B) ..... 53

# 1 Einleitung

Der Einsatz von Futterzusatzstoffen und auch von Einzelfuttermitteln mit besonderer biologischer Aktivität gewinnt zunehmend an Bedeutung in der Mastgeflügelproduktion. Die stetig steigende Nahrungsnachfrage bei gleichzeitiger Nahrungsmittelknappheit, das Verbot der antibiotisch wirksamen Leistungsförderer in der Europäischen Union im Jahr 2006 und die erhöhte Nachfrage des Verbrauchers nach sicheren Lebensmitteln aus artgerechter Tierhaltung haben dazu beigetragen, dass Futteradditive vermehrt eingesetzt werden, um die Tiergesundheit zu verbessern und gleichzeitig eine effiziente Tierproduktion zu ermöglichen.

Mannanoligosaccharide (MOS) und (1→3), (1→6)-β-D-Glucane sind Bestandteile der Hefezellwand und wurden in mehreren *in vivo* Studien beim Masthuhn untersucht. Durch den Einsatz von MOS aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* konnte die Population von *Escherichia coli* reduziert und die Population der Laktobazillen und Bifidobakterien in den Caeca von Masthühnern erhöht werden (Baurhoo *et al.* 2007, Baurhoo *et al.* 2009). Es liegen jedoch bisher keine Untersuchungen von Effekten von Hefezellwandbestandteilen auf die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota im Kropf von Masthühnern vor. Die β-Glucane fungieren als Immunmodulatoren und können das angeborene (Lowry *et al.* 2005) und erworbene Immunsystem von Hühnern (An *et al.* 2008, Zhang *et al.* 2008) beeinflussen. Darüber hinaus führt der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen zu verbesserten zootechnischen Leistungen der Masthühner (Hooge 2004, Hooge und Conolly 2011). In Ihrer Gesamtheit sind die Ergebnisse der verschiedenen Studien jedoch uneinheitlich. Die unterschiedlichen Hefezellwandpräparate unterliegen individuellen Herstellungsprozessen und unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Gehalte an β-D-Glucanen und MOS (Ganner *et al.* 2013) und folglich in ihrer Wirkungsweise im Tier. Das lässt eine Vereinheitlichung der Effekte von Hefezellwandpräparaten nicht zu.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollte der Effekt eines Hefezellwandproduktes auf die zootechnische Leistung, die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota entlang des Gastrointestinaltraktes sowie auf verdauungsphysiologische und immunologische Parameter von Masthühnern untersucht werden. Die Untersuchung von Dosis-Wirkungsbeziehungen stand hierbei im Fokus der Arbeit.

# 2 Literaturübersicht

## 2.1 Mastgeflügel

### 2.1.1 Wirtschaftliche Bedeutung von Mastgeflügel

Die Mastgeflügelproduktion erfährt aufgrund einer stetig steigenden Weltbevölkerung und dem damit implizierten steigenden Nahrungsbedarf eine zunehmend größere Rolle und wächst stetig. Schätzungen der Vereinten Nationen zufolge wird die Weltbevölkerung in den kommenden vier Jahrzehnten um zwei Milliarden Menschen ansteigen (DESA 2011). In der Fleischindustrie stellt die Geflügelfleischproduktion einen äußerst schnell wachsenden Sektor dar, der im Jahr 2000 weltweit 25 % der gesamten Fleischproduktion ausgemacht hat (Apata 2009). Der Pro-Kopf-Verbrauch sowie die Erzeugung von Geflügelfleisch weist dabei sowohl in der Europäischen Union als auch in Amerika in den letzten Jahren einen steigenden Trend auf (Tabelle 1 und Tabelle 2).

**Tabelle 1:** Erzeugung von Hähnchen in der Europäischen Union und den USA (ZDG 2013)

| | Hähnchen [1000 t] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
| EU-27 | 9160 | 9478 | 9639 | 9914 |
| USA | 15935 | 16563 | 16694 | 16621 |

**Tabelle 2:** Pro-Kopf-Verbrauch von Hähnchenfleisch in der Europäischen Union und Amerika (ZDG 2013)

| | Hähnchen [kg] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 v |
| EU-27 | 17,1 | 17,4 | 17,6 | 17,8 |
| USA | 42,1 | 43,4 | 43,6 | 42,2 |
| Brasilien | 40,4 | 46,4 | 47,9 | 46,7 |
| Mexiko | 29,1 | 29,7 | 30,3 | 30,7 |

v = vorläufig

Um dieser steigenden Nachfrage gerecht zu werden, sind weiterhin Tierhaltungssysteme mit hohen Besatzdichten üblich, die ein erhöhtes Risiko von Infektionskrankheiten nach sich ziehen (Kogut und Klasing 2009). Demzufolge wird in der heutigen Geflügelproduktion nach Möglichkeiten zur Verbesserung der Tiergesundheit und dadurch zu einer Verbesserung der zootechnischen Parameter der Tiere gesucht (Röhe 2013).

### 2.1.2 Bedeutung von Futterzusatzstoffen und Einzelfuttermitteln

Antimikrobiell wirksame Leistungsförderer wurden in den letzten Jahrzehnten in der Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere eingesetzt, um die Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt zu beeinflussen (Ferket *et al.* 2002) und die zootechnische Leistung der Tiere zu verbessern (Huyghebaert *et al.* 2011). Neben den für die Tierproduktion sichtbaren förderlichen Effekten wie einer Verbesserung des Futteraufwandes (Miles *et al.* 1984), der Lebendmasseentwicklung (Moore *et al.* 1946, Miles *et al.* 1984, Woodward *et al.* 1988), der Mortalitätsrate und der Produktionskosten (Ferket 2004) kann der Einsatz von subtherapeutischen Dosierungen von antimikrobiell wirksamen Leistungsförderern im Futter bei landwirtschaftlichen Nutztieren jedoch zu bakteriellen Resistenzen führen, die für den Menschen ein Risiko darstellen (Wegener 2003, Apata 2009). Es wurde in Studien festgestellt, dass durch ein Verbot oder reduzierten Einsatz von antimikrobiell wirksamen Leistungsförderern die Resistenz von *Enterococcus faecium* gegen Avilamycin und Virginiamycin in Broilern deutlich gesenkt werden konnte (Aarestrup *et al.* 2000, Aarestrup *et al.* 2001). Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden im Hinblick auf die Sicherheit der menschlichen Gesundheit die antimikrobiell wirksamen Leistungsförderer mit Wirkung vom 01.01.2006 in der Europäischen Union von der Europäischen Kommission auf Grundlage des Artikel 11 der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 verboten (EP 2003). Auf der einen Seite führt dieses Verbot in intensiven Tierhaltungssystemen zu einer Verminderung einer unkontrollierten Ausbreitung von antibiotikaresistenten Genen, jedoch sind auf der anderen Seite die Tiere einer vermehrten Anzahl von pathogenen Bakterien ausgesetzt, die gesundheitliche Risiken für den Mensch und das Tier darstellen (Ganner und Schatzmayr 2012) und durch die gastrointestinalen Probleme zu Einbußen in der Leistung der Tiere führen können (Becker 2005). Daher sind die Wissenschaft und die Geflügelwirtschaft bestrebt, nach adäquaten Alternativen für die antimikrobiell wirksamen Leistungsförderer zu suchen, um weiterhin eine gleichwertig effiziente Tierproduktion zu ermöglichen und die Tiergesundheit zu stabilisieren (Ferket *et al.* 2002, Dibner und Richards 2005, Gunal *et al.* 2006, Huyghebaert *et al.* 2011).

Dabei finden Futteradditive in der Tierernährung Anwendung, um neben einer Qualitätssteigerung des Futters und der Endprodukte der Tierproduktion eine Steigerung der Leistung und Gesundheit der Tiere zu erzielen (Mader 2011), wobei Futterzusatzstoffe als auch Einzelfuttermittel oftmals nicht die Effektivität von antimikrobiell wirksamen Leistungsförderern erreichen (Hahn *et al.* 2006, McCann *et al.* 2006, Ashayerizadeh *et al.* 2009). Alle Hefen und deren Teile, die aus *Saccharomyces cerevisiae* gewonnen werden […], zählen gemäß der Verordnung (EU) Nr. 68/2013 zu den Einzelfuttermitteln, während Futterzusatzstoffe in der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 definiert sind (EP 2003, EK 2013). Generell muss davon ausgegangen werden, dass sämtliche Zusatzstoffe und Pronährstoffe

eine deutlichere Wirkung auf die Tiere ausüben, wenn die Leistung vermindert ist, das Futter einen geringen Nährwert aufweist, der Gesundheitsstatus der Tiere oder die Umweltbedingungen ungünstig sind (Wenk 2005).

## 2.2 Hefezellwandpräparate

### 2.2.1 Aufbau und Struktur der Hefezellwand

Die Hefezellwand stellt ein stabiles Konstrukt dar, welches überlebensnotwendige Funktionen für den lebenden Hefeorganismus übernimmt (Klis *et al.* 2006). Die Zellwand macht zwischen 15 - 30 % der Hefetrockenmasse aus (Orlean 1997). Folgende Polysaccharide und Proteine formen als Hauptkomponenten die Hefezellwand, welche aus zwei verschiedenen Schichten besteht (Osumi 1998):

1. Die innere Schicht der Zellwand besteht aus (1→6)-β-D-Glucan, (1→3)-β-D-Glucan sowie Chitin, welche über kovalente Bindungen miteinander verbunden sind.
2. Die äußere Schicht besteht aus Mannoproteinen, die die Oberfläche der Zellwand charakterisieren und mit den Bestandteilen der inneren Zellwandschicht Verknüpfungen eingehen.

Die Hefezellwand besteht neben diesen Hauptkomponenten in geringen Anteilen aus Melanin, Polyphosphaten, anorganischen Ionen, Lipiden (Farkaš 2003) und aus Glykogen als ein Reservepolysaccharid für die Energiegewinnung des Hefeorganismus (Jährig 2007).

### 2.2.2 Hefezellwandbestandteile von *Saccharomyces cerevisiae*

Die Zellwand der Hefe setzt sich zu 85 - 90 % aus Polysacchariden und zu 10 - 15 % aus Proteinen zusammen (Jährig 2007). In der Literatur lassen sich verschiedene Angaben hinsichtlich der prozentualen Mengenverhältnisse der einzelnen Hefezellwandbestandteile finden (Tabelle 3):

**Tabelle 3:** Hauptbestandteile der Hefezellwand von *Saccharomyces cerevisiae*

| Komponente | % Anteil der Zellwandtrockenmasse | | |
|---|---|---|---|
| | (Lipke und Ovalle 1998) | (Klis *et al.* 2002) | (Klis *et al.* 2006) |
| Mannoprotein | 40 | 35 - 40 | 30 - 50 |
| (1→6)-β-D-Glucan | 10 | 5 - 10 | 5 - 10 |
| (1→3)-β-D-Glucan | 50 | 50 - 55 | 30 - 45 |
| Chitin | 1 - 3 | 1 - 2 | 1,5 - 6 |

Die Mengenverhältnisse der einzelnen Bestandteile können dabei aufgrund von äußeren Einflüssen, unterschiedlichen Wachstumsphasen, Produktionsprozessen oder genetischer Herkunft der Hefe variieren (Farkaš 2003, Ganner *et al.* 2013). In einer weiteren Studie

konnte gezeigt werden, dass bei der Alkoholfermentation für die Weinproduktion durch den Einsatz von verschiedenen *Saccharomyces cerevisiae* Stämmen und unterschiedlichen Fermentationsbedingungen die Freisetzung von Polysacchariden beeinflusst werden kann (Giovani *et al.* 2010).

β-D-Glucane

Als Polymere der Glucose sind die β-D-Glucane aus D-Glucose Molekülen aufgebaut und durch β-glycosidische Verbindungen miteinander verknüpft. Die β-D-Glucane aus der Zellwand von Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae* bestehen aus einer langkettigen, wenig verzweigten (1→3)-β-D-Glucan- sowie einer kurzkettigen, stark verzweigten (1→6)-β-D-Glucanfraktion (Klis *et al.* 2002, Jährig 2007). Im Gegensatz dazu beinhalten Hafer- und Gerstezellwände unverzweigte (1→3)-β-D-Glucan- und (1→4)-β-D-Glucanfraktionen, Zellwände von Pilzen kurzkettige (1→3)-β-D-Glucane und (1→6)-β-D-Glucane sowie einige Bakterien lineare (1→3)-β-D-Glucane (Volman *et al.* 2008). Die (1→3)-β-D-Glucane der Hefen fungieren dabei zusammen mit Chitin als Strukturbildner und Stabilisatoren der Hefezellwand (Farkaš 2003). Die (1→6)-β-D-Glucane sind für die strukturelle Organisation der Hefezellwand verantwortlich, indem diese Verbindungen mit (1→3)-β-D-Glucanen, Chitin und den Mannoproteinen eingehen (Kollár *et al.* 1997) und somit die Komponenten der inneren und äußeren Zellwand miteinander verbinden (Lipke und Ovalle 1998).

Mannoproteine

Einen weiteren wichtigen Bestandteil stellen die Mannoproteine dar, die zu den Glycoproteinen gezählt werden (Darpossolo *et al.* 2012). In dieser Kohlenhydrat-Proteinverbindung gehen die Mannane eine kovalente Verknüpfung mit den Aminosäureresten ein. Die Mannane sind Polymere der Mannose und machen zwischen 50 - 95 % der Gesamtmasse der Glycoproteine aus (Lipke und Ovalle 1998, Jährig 2007). Die Mannoseelemente sind α-(1→6)-glycosidisch miteinander verbunden und beinhalten teilweise α-(1→2)- und α-(1→3)-Verzweigungen (Jährig 2007).

Chitin

Bei dem in der Hefezellwand vorkommenden Chitin handelt es sich um ein Polymer des N-Acetylglucosamins und macht mit ca. 1 - 6 % der Zellwandtrockenmasse (Tabelle 3) einen geringen Anteil der Hefezellwand aus (Klis *et al.* 2002, Aguilar-Uscanga und François 2003).

### 2.2.3 Einsatz von Hefezellwandbestandteilen in der Tierernährung

Hefezellwandpräparate haben in den letzten Jahren in der Tierernährung an Bedeutung zugenommen und finden in der Ernährung von diversen landwirtschaftlichen Nutztieren Anwendung. In der Literatur finden sich kontroverse Ergebnisse hinsichtlich der Verwendung von Hefezellwandbestandteilen. Studien zufolge führt der Einsatz von β-D-Glucanen und MOS der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* sowohl in der Schweine- als auch in der Fisch-, Kaninchen- und Rinderhaltung zu einer Verbesserung der zootechnischen Leistungen (Dritz *et al.* 1995, Davis *et al.* 2002, Miguel *et al.* 2004, Li *et al.* 2006, Refstie *et al.* 2010, Zhao *et al.* 2012, Rodriguez-Estrada *et al.* 2013), zu einer Beeinflussung des Immunsystems (Franklin *et al.* 2005, Li *et al.* 2006, Nochta *et al.* 2009, Che *et al.* 2012), der Nährstoffverdaulichkeit (Hahn *et al.* 2006, Nochta *et al.* 2010, Bovera *et al.* 2012, Zhao *et al.* 2012) sowie im Gastrointestinaltrakt der Tiere (Mourão *et al.* 2006, Dimitroglou *et al.* 2010, Refstie *et al.* 2010). Demgegenüber konnte in weiteren Studien gezeigt werden, dass die Leistung (Dimitroglou *et al.* 2010), das Immunsystem (Dritz *et al.* 1995, Hiss und Sauerwein 2003) sowie die Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Nutzieren bei einer Supplementierung nicht beeinflusst wurden (Terré *et al.* 2007) oder es sogar zu einer numerisch verminderten Leistung kommen kann (Sauerwein *et al.* 2007).

Darüber hinaus könnten Hefezellwandbestandteile in der Ernährung von Haustieren in den Vordergrund rücken, indem sie die Darmintegrität der Tiere verbessern (Middelbos *et al.* 2007). In einer Studie mit vier gesunden, erwachsenen Hündinnen konnte durch die Zugabe von verschiedenen Dosierungen eines Hefezellwandpräparates der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* eine tendenziell verbesserte ileale Verdaulichkeit und eine linear verminderte Besiedlung von *Escherichia coli* in der Digesta gegenüber den unsupplementierten Tieren beobachtet werden (Middelbos *et al.* 2007). Weitere Studien bestätigen eine positive Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota sowie des Immunsystems durch den Einsatz von MOS der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* bei Hunden (Swanson *et al.* 2002, Grieshop *et al.* 2004).

## 2.3 Aufbau, Funktion und Mikrobiota des aviären Verdauungstraktes

Der anatomische Aufbau des Verdauungsapparates von Galliformen weist folgende Unterschiede zu dem der Säugetiere auf (König *et al.* 2009):

- Ausbildung eines Schnabels
- Fehlende Trennung von Mund- und Schlundkopfhöhle durch ein Gaumensegel
- Abwesenheit von Zähnen, Lippen und Backen
- Existenz eines Kropfes
- Vorhandensein eines Drüsen-Muskelmagens, zweier Blinddärme und einer Kloake.

Die aufgenommene Nahrung passiert den Verdauungstrakt mit einer Dauer von circa zehn Stunden im Vergleich zu anderen landwirtschaftlichen Nutztieren schnell, was auf eine hoch effiziente Verdauung und Absorption der Nahrung schließen lässt (Larbier und LeClercq 1994). Einer Studie zufolge lassen sich folgende mittlere Retentionszeiten der Digesta bei einer roggenbasierten Diät mit unterschiedlich supplementierten Fettarten im Gastrointestinaltrakt von 24 Tage alten Broilern finden (Tabelle 4):

**Tabelle 4:** Mittlere Retentionszeiten im Gastrointestinaltrakt von Broilern (Dänicke *et al.* 1999)

| Segment im GIT | Kropf | Mägen | Duodenum | Jejunum | Ileum | Caeca | Rektum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Retentionszeit [min] | 41 - 60 | 18 - 58 | 8 - 18 | 84 - 110 | 104 - 140 | 50 - 77 | 23 - 36 |
| | Totale mittlere Retentionszeit [h] 6,4 - 8,3 | | | | | | |

### 2.3.1 Oberer Verdauungstrakt

Der Schnabel besteht aus Keratin und erlaubt neben einer Selektion über Tastpapillen eine mechanische Zerkleinerung der Nahrung. In dem sich anschließenden Oropharynx liegen verschiedene Speicheldrüsen. Diese geben bei der Nahrungsaufnahme mukösen Speichel ab, der für die Einweichung und Befeuchtung der Nahrungsbestandteile erforderlich ist.

Ein dehnbarer Ösophagus verbindet die Mund- und Schlundkopfhöhle mit dem Drüsenmagen und erweitert sich vor dem Eintritt in die Brusthöhle zu einer sackartigen Aushöhlung, dem Kropf. Dieser dient als ein temporärer Nahrungsspeicher, in dem die Nahrung eingeweicht wird und schwer fermentierbare Bestandteile vorverdaut werden (König *et al.* 2009). Zudem bestimmt der Kropf die Passagerate der Nahrung, die von dem Füllungszustand des Magens, der Partikelgröße und dem Feuchtigkeitsgrad der Nahrung abhängig ist (Larbier und LeClercq 1994). Informationen zu der bakteriellen Besiedlung im Kropf von Masthühnern sind bisher begrenzt und unterliegen Veränderungen durch die Gabe verschiedener Diäten (Rehman *et al.* 2007). In Studien wurden pH-Werte der Digesta im Kropf zwischen 4,6 - 6,5 gemessen

(Hinton *et al.* 2000, Józefiak *et al.* 2006), wobei auch pH-Werte der Kropfdigesta zwischen 10 - 25 beschrieben sind (Rehman *et al.* 2008). Laktobazillen dominieren als grampositive, fakultative Anaerobier mit Konzentrationen zwischen $10^8$ bis $10^9$ KbE/g Inhalt im Kropf von Masthühnern (Rehman *et al.* 2007). Daneben können auch Bifidobakterien, Enterobakterien, grampositive Kokken, Enterokokken sowie Clostridien im Kropf von Masthühnern detektiert werden (Dänicke *et al.* 1999, Hinton *et al.* 2000, Gong *et al.* 2007, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014). Neben der Milchsäure mit Konzentrationen zwischen 3,4 - 80,4 µmol/g Digesta sowie Ammonium werden auch kurzkettige Fettsäuren als bakterielle Metaboliten im Kropf von Broilern produziert, wobei die Essigsäure mit Konzentrationen von 3 - 14 µmol/g Digesta neben der Propion-, Butter- und Valeriansäure vorrangig vorliegt (Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014).

Der Drüsenmagen schiebt nach kurzer Verweildauer die Nahrung in den Muskelmagen und zeichnet sich durch seine zahlreichen Schlauchdrüsen aus, die bei der Nahrungsaufnahme das proteolytische Enzym Pepsinogen, Salzsäure sowie den „intrinsic factor“ als Resorptionsvektor für das Vitamin $B_{12}$ sezernieren (König *et al.* 2009). Der Muskelmagen nimmt mit seiner stark ausgebildeten Muskelschicht eine mechanisch zerkleinernde Funktion ein. Darüber hinaus finden dort mit Hilfe der Sekrete aus dem Drüsenmagen erste Aufspaltungs- und Verdauungsprozesse statt (Larbier und LeClercq 1994). Durch den im Magen vorherrschenden niedrigen pH-Wert von 3,1 - 4,4 (Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008) wird der Eintritt von Pathogenen in den unteren Verdauungstrakt verhindert (Rehman *et al.* 2007). Die bakterielle Besiedlung ähnelt jener im Kropf (Rehman *et al.* 2007), wobei die bakterielle Fermentationsrate niedriger ist (Józefiak *et al.* 2006, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014).

### 2.3.2 Unterer Verdauungstrakt

Der dreiteilige Dünndarm als Hauptverdauungs- und Resorptionsort von Vögeln ist im Vergleich zu Säugetieren kürzer, deren einzelne Abschnitte sich strukturell nicht wesentlich unterscheiden (König *et al.* 2009). Das Duodenum als u-förmige Schleife endet hinter dem Gallen- und Pankreasgang und umhüllt mit seinen beiden Schenkeln das Pankreas. Das sich anschließende Jejunum endet mit dem Meckel-Divertikel als ein Rest des embryonalen Dottersackganges und führt in das Ileum, welches am ileocaecalen Übergang abschließt (König *et al.* 2009). Die Gallenflüssigkeit in Form von Gallensalzen und Phospholipiden ist für die Fettemulsion und Vitaminresorption notwendig, während das Pankreassekret in Form von Endo- und Exopeptidasen, Trypsinogen, Amylasen und Lipasen für die Aufspaltung von Proteinen, Kohlenhydraten und Fetten zuständig ist. Daneben sezerniert die Dünndarmschleimhaut weitere Enzyme, die Oligosaccharide hydrolisieren (Larbier und LeClercq 1994), wohingegen eine bakterielle Fermentation von komplexen Kohlenhydraten

im Dünndarm aufgrund der schnellen Passagezeit der Digesta nur begrenzt stattfindet (Rehman *et al.* 2007). Durch diese schnelle Passagerate, die Verdünnung durch Gallen- und Pankreassekrete und einem niedrigen pH-Wert ist die bakterielle Besiedlung im Duodenum gering, welche sich in den unteren Dünndarmabschnitten aufgrund einer verringerten Enzymaktivität und dekonjugierter Gallensäuren wieder erhöht (Rehman *et al.* 2007). In der Literatur werden pH-Werte im Dünndarm von Masthühnern zwischen 5,6 - 7,8 beschrieben (Józefiak *et al.* 2006, Yang *et al.* 2008c, Walk *et al.* 2012). Dieser pH-Wert-Anstieg des aus dem Magen kommenden Chymus entsteht, indem Bikarbonat als Puffer aus dem Pankreassekret in das Dünndarmlumen sezerniert wird und dadurch die Enzymaktivität gewährleistet wird (Larbier und LeClercq 1994). Im Ileum dominieren die Laktobazillen und es lassen sich coliforme Bakterien sowie Enterokokken häufig nachweisen (Engberg *et al.* 2002, Yang *et al.* 2008c), wobei auch obligat anaerobe Clostridien, Enterobakterien und Bifidobakterien zugegen sind (Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014). Die Konzentration von bakteriellen Metaboliten im Dünndarm ist im Vergleich zu den Blinddärmen niedriger (Rehman *et al.* 2007). Vergleichbar mit dem Kropf finden sich in der Literatur weite Konzentrationsspannen von Laktat zwischen 3,6 - 53,4 µmol/g Ileumdigesta sowie Essigsäure als überwiegend vorkommende kurzkettige Fettsäure (Engberg *et al.* 2002, Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008, Yang *et al.* 2008c, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014).

Die höchste Dichte bakterieller Besiedlung findet sich in den beiden Blinddärmen von Masthühnern (Rehman *et al.* 2007), die sich an das Ileum anschließen. Dabei spielt die äußere Umgebung sowie die Diät für die Entwicklung der Diversität der Mikrobiota in den Caeca eine große Rolle (Svihus *et al.* 2013). In den Blinddärmen findet neben der Elektrolyt- und Wasserabsorption die Fermentation von Kohlenhydraten und Harnsäure durch die dort vorliegende Mikrobiota zu kurzkettigen Fettsäuren und Ammonium statt (Svihus *et al.* 2013). In den Caeca erwachsener Broiler lassen sich mehr Anaerobier als im Ileum nachweisen, wobei Clostridien und Milchsäurebakterien neben coliformen Bakterien, Enterokokken und Bifidobakterien quantitativ häufig nachgewiesen werden (Engberg *et al.* 2002, Yang *et al.* 2008c, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014). Weiterhin bestehen hohe Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren (Józefiak *et al.* 2006, Yang *et al.* 2008c) und Ammonium (Rehman *et al.* 2008, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014) sowie niedrige bis nicht nachweisbare Laktatkonzentrationen (Engberg *et al.* 2002, Rehman *et al.* 2008) in den Caeca von Masthühnern. Dabei weist Acetat die höchsten Konzentrationen auf, wohingegen die Propionat- und Butyratkonzentrationen in Abhängigkeit von der Diät variieren (Engberg *et al.* 2002, Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008, Yang *et al.* 2008c). Einige pH-Wert-Messungen der Caecadigesta zeigen Werte zwischen 6,1 - 7,1 (Józefiak *et al.* 2008, Rehman *et al.* 2008). Hinter dem Rektum liegt die Kloake als letzter Bestandteil des

Gastrointestinaltraktes, über welche Digesta und unlösliche Harnsalze zusammen ausgeschieden werden.

## 2.4 Wirkungen von Hefezellwandbestandteilen im aviären Gastrointestinaltrakt

### 2.4.1 Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota

#### 2.4.1.1 Laktobazillen und Bifidobakterien

Der Effekt von Hefezellwandbestandteilen auf die Zusammensetzung der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern wurde in mehreren Studien untersucht. Die Ergebnisse sind in zwei Übersichtstabellen zusammengefasst (Tabelle 5 und Tabelle 6). In einigen Studien konnte festgestellt werden, dass Hefezellwandbestandteile in der Lage sind, das Vorkommen der Laktobazillen und der Bifidobakterien im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern zu steigern (Baurhoo *et al.* 2007, Vancraeynest *et al.* 2007, Baurhoo *et al.* 2009, Kim *et al.* 2011, Abdel-Raheem *et al.* 2012, Gajewska *et al.* 2012) und somit eine präbiotische Funktion einnehmen. Dies konnte auch in einer *in vitro* Studie nachgewiesen werden (Nakashimada *et al.* 2011). Präbiotika werden als unverdauliche Nahrungsmittelbestandteile definiert, die den gastralen pH-Werten standhalten, nicht durch Enzyme hydrolysiert oder im Gastrointestinaltrakt absorbiert, durch die intestinale Mikrobiota fermentiert werden und selektiv das Wachstum und/oder die Aktivität gesundheitsfördernder Mikrobiota im Kolon stimulieren (Gibson und Roberfroid 1995, Gibson et al. 2004). Meist handelt es sich um Kohlenhydrate, die der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Monogastriern als Energiequelle für ihre Fermentationsprozesse dienen (Hajati und Rezaei 2010) und somit die Zusammensetzung als auch die Aktivität der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt beeinflussen können. Allerdings sind MOS als Kohlenhydrat-Proteinkomplexe im Gegensatz zu Fructo- und anderen Oligosacchariden nicht oder mit geringerer Effektivität in der Lage, selektiv von vorteilhaften Bakterienspezies fermentiert zu werden, daraus kurzkettige Fettsäuren zu bilden, den pH-Wert zu senken und jene Bakterienspezies anzureichern (Vickers *et al.* 2001, Patterson und Burkholder 2003, Smiricky-Tjardes *et al.* 2003, Yang *et al.* 2008b). In einem Fütterungsversuch mit 16 Wochen alten Puten und der Zugabe eines MOS-Präparates wurden keine Veränderungen hinsichtlich der Anzahl der Laktobazillen und Bifidobakterien sowie verminderte bakterielle Fermentationsleistungen in der Caecadigesta nachgewiesen, sodass die Autoren die Vermutung äußerten, dass MOS unzureichend als Substrat von den Bakterien im Gastrointestinaltrakt der Tiere fermentiert werden können (Zdunczyk *et al.* 2005).

In einer weiteren Studie mit männlichen Masthühnern in Kleingruppenhaltung konnten mit der Zugabe von 2 g eines MOS-Produktes pro kg Futter auf Mais-, Soja- und Weizenbasis keine Unterschiede der Milchsäurebakterien in der Digesta vom Duodenum, Ileum oder den Caeca am 14. oder 35. Lebenstag im Vergleich zu einer unsupplementierten oder mit

Bacitracin zugesetzten Fütterungsgruppe festgestellt werden (Yang et al. 2007). Ähnliche Erkenntnisse konnten bei einem maisbasierten Fütterungsversuch mit männlichen Broilern bei der Analyse von Milchsäurebakterien in der Ileumdigesta in der sechsten Lebenswoche mit der Zugabe von 0,025 % eines β-Glucan-Produktes gezeigt werden (Józefiak *et al.* 2008). Weitere *in vivo* Versuche bestätigen das Ausbleiben eines vermehrten Vorkommens von Laktobazillen oder Bifidobakterien im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den nutritiven Zusatz von Hefebestandteilen (Tabelle 5). Diese konträren Ergebnisse verdeutlichen, dass eine Vereinheitlichung hinsichtlich der präbiotischen Wirkungsweise von Hefezellwandbestandteilen nicht möglich erscheint.

Laktobazillen sowie Bifidobakterien werden in der Literatur für das Tier als günstige oder „vorteilhafte“ intestinale Mikrobiota angesehen (Juven *et al.* 1991, Patterson und Burkholder 2003, Walter 2008). Einige im aviären Gastrointestinaltrakt vorkommende Laktobazillen zeichnen sich durch eine hohe Toleranz oder Resistenz gegenüber aviären Gallensalzen und aziden pH-Werten aus, wobei caecale Stämme eine höhere Toleranz im Vergleich zu ilealen Stämmen aufweisen (Jin *et al.* 1998). Aus dem Darm von Hühnern isolierte Laktobazillen und Bifidobakterien sind unter *in vitro* Bedingungen in der Lage, verschiedene Salmonellen Stämme als auch *Escherichia coli* Serotypen zu inhibieren (Barnes *et al.* 1979, Jin *et al.* 1996). Dabei wurden die Produktion von flüchtigen Fettsäuren durch die Laktobazillen und Bifidobakterien und niedrige pH-Werte als möglicher Grund für die Hemmung angeführt. Einige dieser Bakterien sezernieren antimikrobiell aktives Wasserstoffperoxid, produzieren Bakteriozine und Bakteriophagen oder fermentieren Kohlenhydrate zu antimikrobiellen Substanzen wie kurzkettigen Fettsäuren, den es den Milchsäurebakterien erlaubt, Schleimhautsysteme zu dominieren (Eschenbach *et al.* 1989, Carr *et al.* 2002, Gillor *et al.* 2008). Des Weiteren konnte die orale Gabe eines *Lactobacillus salivarius* Stammes als auch dessen Bakteriozine in der Caecadigesta von Hühnern eine Inhibition von *Salmonella* Enteritidis und *Campylobacter jejuni* bewirken (Pascual *et al.* 1999, Stern *et al.* 2006). Darüber hinaus zeigte ein Fütterungsversuch auf Mais-Sojabohnenbasis, dass die orale Gabe von 0,20 % eines Probiotikums (*Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Bifidobacterium bifidum* und *Enterococcus faecium*) neben einer veränderten Mikrobiota und Becherzellmorphologie zu einem erhöhten Muzin-Glycoproteinlevel und einer erhöhten Muzinexpression in Teilen des Dünndarms von 14 Tage alten Masthühnern geführt hat (Smirnov *et al.* 2005). Andererseits sind Laktobazillen und Bifidobakterien in der Lage, Gallensalze zu dekonjugieren, was wiederum zu einer verminderten Fettverdaulichkeit führen kann (Feighner und Dashkevicz 1987).

Kurzkettige Fettsäuren und Laktat sind die Hauptendprodukte von bakteriellen Fermentationsprozessen aus Kohlenhydraten und Proteinen (Salminen *et al.* 1998). Dabei

besteht zwischen der Produktion von kurzkettigen Fettsäuren im Gastrointestinaltrakt und der Futterzusammensetzung ein Zusammenhang (Józefiak *et al.* 2004). Diese bakteriellen Metaboliten können für das Tier vorteilhaft sein, indem die undissoziierte lipophile Form der flüchtigen Fettsäuren eine bakteriostatische Wirkung aufweist (Corrier *et al.* 1990). In einer Studie äußerten die Autoren die Vermutung, dass flüchtige Fettsäuren die Anzahl von Enterobakterien im Gastrointestinaltrakt von Broilern reduzieren, indem die bei niedrigen pH-Werten undissoziiert vorliegenden lipohilen Fettsäuren durch die bakterielle Zellmembran diffundieren, in die dissoziierte Form übergehen, dadurch Wasserstoffionen und Anionen freisetzen und den pH-Wert im Zellinneren reduzieren und so die Zerstörung der Zelle induzieren, wobei auch andere Faktoren wie die Kompetition um Substrate oder Bindungsstellen, eine Immunmodulation oder andere antimikrobielle Substanzen dafür verantwortlich sein könnten (Van der Wielen *et al.* 2000). Die Laktobazillen wurden nicht durch die organischen Säuren inhibiert (Van der Wielen *et al.* 2000). Die Ergebnisse aus zwei Fütterungsversuchen mit Broilern lassen darauf schließen, dass andere Faktoren als der pH-Wert und flüchtige Fettsäuren bei der Inhibition oder Reduzierung von verschiedenen Enterobakterien eine Rolle spielen (Spring *et al.* 2000, Yang *et al.* 2008b). Im Gegensatz zu den kurzkettigen Fettsäuren, die darüber hinaus eine Energiequelle für das Tier darstellen und einen trophischen Effekt auf das intestinale Epithel bewirken, ist das aus bakterieller Proteinfermentation entstehende Ammoniak zelltoxisch (Salminen *et al.* 1998, Kirchgessner *et al.* 1999).

In einigen Fütterungsversuchen mit Masthühnern wurde der Effekt von Hefezellwandbestandteilen auf den pH-Wert der Digesta und die mikrobielle Stoffwechselaktivität im Gastrointestinaltrakt untersucht. Dabei konnten überwiegend keine Effekte auf die pH-Werte oder bakteriellen Metaboliten in der Digesta durch die Zugabe von β-Glucanen oder MOS in verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes festgestellt werden (Spring *et al.* 2000, Józefiak *et al.* 2008, Yang *et al.* 2008b), wohingegen in anderen *in vivo* Versuchen mit dem nutritiven Zusatz von Hefezellwandbestandteilen die mikrobielle Stoffwechselaktivität und die pH-Werte in der Digesta beeinflusst wurden (Yang *et al.* 2007, Yang *et al.* 2008c).

**Tabelle 5:** Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen

| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektions-versuch | Probe | Mikrobieller Status | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Laktobazillen | Bifidobakterien |
| (Abdel-Raheem *et al.* 2012) | 21 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,05 Em. | nein | Digesta | → Duodenum, Jejunum, Ileum, Caeca | - |
| | 42 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,05 Em. | nein | Digesta | ↑ Duodenum | - |
| (Baurhoo *et al.* 2007) | 28/38 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,10 Em. | nein | Digesta | ↑ Caeca d 38 | → Caeca |
| (Baurhoo *et al.* 2009) | 14/24/34 | MOS von *S. c.* | 0,15 St. - 0,10 Em. | nein | Digesta | ↑ Caeca d 34 | ↑ Caeca d 24/34 |
| (Gajewska *et al.* 2012) | 42 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | ↑ Duodenum | - |
| | 42 | HZW von *S. c.* | 0,075 | nein | Digesta | → Duodenum | - |
| (Ghosh *et al.* 2012) | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Digesta | → Duodenum, Jejunum, Ileum | - |
| | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Mukosa | → Duodenum, Jejunum, Ileum | - |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Digesta | ↓ Duodenum | - |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Mukosa | ↑ Duodenum | - |
| (Khalaji *et al.* 2011) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,05/0,10/0,15 | nein | Digesta | → Caeca | - |
| (Kim *et al.* 2011) | 28 | MOS von *S. c.* | 0,10/0,20 | nein | Digesta | ↑ Ileum | - |
| (Morales-López *et al.* 2010) | 24 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | → Ileum | - |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; St. = Starterfutter; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

**Tabelle 5:** Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen

| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektions-versuch | Probe | Mikrobieller Status | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Laktobazillen | Bifidobakterien |
| (Muthusamy *et al.* 2011) | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Digesta | ↑ Duodenum, Jejunum | - |
| | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Mukosa | → Duodenum, Jejunum, Ileum | - |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Digesta | ↓ Duodenum, Jejunum | - |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Mukosa | ↑ Duodenum, Jejunum, Ileum | - |
| (Shanmugasundaram *et al.* 2013) | 42 | Hefezellprodukt (*Pichia guilliermondii*) | 0,10/0,20 | nein | Digesta | → Caeca | → Caeca |
| (Spring *et al.* 2000) | 10 | MOS von *S. c.* | 0,40 | ja | Digesta | → Caeca | - |
| (Vancraeynest *et al.* 2007) | 35 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | nein | n.a. | ↑ Dünndarm bei 0,10 % | - |
| (Yang *et al.* 2008b) | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | ja | Digesta | → Jejunum, Ileum Caeca | - |
| | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | nein | Digesta | → Jejunum, Ileum Caeca | - |
| | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | ja | Mukosa | → Jejunum, Ileum | - |
| | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | nein | Mukosa | ↑ Ileum d 21 | - |
| (Yang *et al.* 2008a) | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | nein | Mukosa | ↑ Duodenum d 21 | - |
| | 7/21 | MOS von *S. c.* | 0,20 | nein | Digesta | → Ileum, Caeca | - |
| (Yang *et al.* 2008c) | 14 | MOS von *S. c.* | 0,20 | nein | Digesta | ↓ Ileum | - |
| | 14 | MOS von *S. c.* | 0,10 | nein | Digesta | ↓ Caeca | - |
| | 14 | MOS von *S. c.* | 0,10/0,20 | nein | Mukosa | → Duodenum | - |

HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; n.a. = nicht angegeben; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae;* →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

#### 2.4.1.2 Enterobakterien

Darmerkrankungen oder Ungleichgewichte der intestinalen Mikrobiota können zu hohen ökonomischen Verlusten in der Geflügelproduktion führen (Hafez 2011). Zudem stellen einige Vertreter der Enterobakterien wie *Salmonella* spp. und *Escherichia coli* neben *Campylobacter* spp. als Kontaminanten von rohem Geflügelfleisch ein gesundheitliches Risiko für den Endverbraucher dar (Zhao *et al.* 2001).

Neben des präbiotischen Ansatzes besteht die Hypothese, dass Hefezellwandbestandteile anti-adhäsive Eigenschaften besitzen und somit in der Lage sind, die Besiedlung von einigen Bakterien an der Schleimhaut im Gastrointestinaltrakt von Hühnern zu reduzieren, indem MOS an filamentöse Strukturen von Bakterien binden. Bei diesen Strukturen handelt es sich um Mannose-sensitive Typ I Fimbrien, die an der Oberfläche von einigen Bakterien exprimiert werden. Diese proteinogenen Filamente werden zu den Adhäsinen gezählt, kommen bei grampositiven als auch bei gramnegativen Bakterien wie der Familie der Enterobakterien vor und binden mit ihrem Lektin-bindenden N-Terminus komplementäre Zuckerreste wie Glycoproteine in Zellmembranen (Hess 2003, Selbitz *et al.* 2010). Dabei überwiegen Mannose-spezifische Lektine auf der Oberfläche von intestinalen Pathogenen (Newman 1994). Die Mehrzahl der Laktobazillen exprimieren dagegen keine Typ I Fimbrien. Die Adhärenz wird durch die Bindung der bakteriellen Adhäsine an die mannosehaltigen Oberflächenrezeptoren des Wirtsorganismus vermittelt und stellt die Voraussetzung für die Kolonisation eines Wirtsorganismus und meist den ersten Schritt im Verlauf einer Infektion dar (Selbitz *et al.* 2010). Folglich könnte durch die Zugabe eines Adhäsins oder Rezeptoranalogons die Adhäsion und somit Kolonisation der Bakterien, die Mannose-spezifische Typ I Fimbrien exprimieren, an die Schleimhautoberfläche des Gastrointestinaltraktes verhindert werden (Peuranen *et al.* 2006, Ganner und Schatzmayr 2012).

Qualitative *in vitro* Agglutinationsstudien belegen, dass Mannose als Kohlenhydratstruktur an Enterobakterien wie *Salmonella* spp. oder *Escherichia coli* bindet (Ofek und Beachey 1978, Oyofo *et al.* 1989b, Spring *et al.* 2000). Dabei weisen die bakteriellen Lektine der verschiedenen Vertreter der Enterobakterien unterschiedliche Zuckerspezifitäten auf (Firon *et al.* 1984). In einem weiteren *in vitro* Modell konnte durch ein MOS-Präparat aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* im Vergleich zu einer Mannosekontrolle eine gleichwertige Inhibition von drei verschiedenen *Escherichia coli* Isolaten an der Darmschleimhaut von Broilern beobachtet werden (Peuranen *et al.* 2006). In einem quantitativen Bindungsassay mit verschiedenen Hefederivaten konnte eine Korrelation zwischen dem Mannangehalt und der Bindungskapazität von *Escherichia coli* sowie eine Korrelation zwischen dem Glucangehalt

und der Bindung von *Salmonella* Typhimurium gezeigt werden, wobei der Produktionsprozess der Hefeprodukte im Gegensatz zum Hefestamm einen Einfluss auf die Bindungskapazität hatte (Ganner *et al.* 2013). Es wird zudem vermutet, dass die Rezeptor-Adhäsin-Koppelung neben dem Gehalt an MOS und Glucanen durch die dreidimensionale Struktur der Mannoseketten innerhalb der Hefezellwand, die Stammdiversität und weitere nicht spezifische Wechselwirkungen beeinflusst werden kann (Ofek *et al.* 2003, Ganner *et al.* 2013).

Neben *in vitro* Studien wurden einige Fütterungsversuche durchgeführt, um die Wirkung von Hefebestandteilen auf die Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in einer Übersichtstabelle zusammengefasst (Tabelle 6). Beispielsweise wurde bei der Zugabe von 0,025 % eines β-Glucan-Produktes kein Unterschied hinsichtlich der Anzahl der coliformen Bakterien bei einem maisbasierten Fütterungsversuch mit männlichen Broilern in der Ileumdigesta in der sechsten Lebenswoche festgestellt (Józefiak *et al.* 2008). Hingegen konnte durch die Applikation von 2,5 % Mannose über das Tränkwasser bei zehn Tage alten Broilern eine Reduktion der caecalen Kolonisation durch *Salmonella* Typhimurium beobachtet werden (Oyofo *et al.* 1989a). Eine Reduktion von coliformen Bakterien mit dem Zusatz von 0,20 % eines MOS-Produktes konnte auch an der Dünndarmschleimhaut von sieben Tage alten Broilern festgestellt werden (Yang *et al.* 2008b, Yang *et al.* 2008a). Demgegenüber haben selbige Autoren in weiteren Fütterungsversuchen diese Reduktion von coliformen Bakterien an der Darmschleimhaut nicht bestätigen können, sondern sowohl eine Reduktion als auch einen Anstieg von coliformen Bakterien in der Darmdigesta ermittelt (Yang *et al.* 2007, Yang *et al.* 2008c). Diese konträren Ergebnisse heben die Komplexität von *in vivo* Versuchen sowie der Wirkungsweise von Hefezellwandbestandteilen im Gastrointestinaltrakt von Tieren hervor.

Nichtsdestotrotz zeigen die vorliegenden Studien das mögliche Potential der Hefezellwandbestandteile die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern zu beeinflussen und so zu einer Verbesserung der tierischen als auch der menschlichen Gesundheit beizutragen.

**Tabelle 6:** Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen

| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektions-versuch | Probe | Mikrobieller Status | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | *Escherichia coli* | *Salmonella* spp. |
| (Abdel-Raheem *et al.* 2012) | 21/42 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,05 Em. | nein | Digesta | → Duodenum, Jejunum, Ileum, Caeca | - |
| (Abudabos und Yehia 2013) | 16 | MOS von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | → Ileum* | - |
| | 32 | MOS von *S. c.* | 0,05 | ja | Digesta | → Ileum* | - |
| (Baurhoo *et al.* 2007) | 32/35/39 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,10 Em. | nein | Digesta | ↓ Caeca d 32 | - |
| | 32/35/39 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,10 Em. | ja | Digesta | ↓ Caeca d 39 | - |
| (Baurhoo *et al.* 2009) | 14/24/34 | MOS von *S. c.* | 0,15 St. - 0,10 Em. | nein | Digesta | ↓ Caeca d 34 | - |
| (Gajewska *et al.* 2012) | 42 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | ↓ Duodenum** | - |
| | 42 | HZW von *S. c.* | 0,075 | nein | Digesta | ↓ Duodenum** | - |
| (Ghosh *et al.* 2012) | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Digesta | ↓ Duodenum | ↓ Duodenum, Jejunum, Ileum |
| | 25 | HZW von *S. c* | 0,10 | nein | Mukosa | ↑ Jejunum | → Duodenum, Jejunum, Ileum |
| | 52 | HZW von *S. c* | 0,10 | ja | Digesta | → Duodenum, Jejunum, Ileum | ↓ Duodenum, Jejunum, Ileum |
| | 52 | HZW von *S. c* | 0,10 | ja | Mukosa | ↑ Duodenum, Jejunum, Ileum | ↓ Duodenum, Jejunum |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; St. = Starterfutter; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall; *gramnegative Bazillen; **Enterobakterien.

**Tabelle 6:** Mikrobieller Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen

| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektions-versuch | Probe | Mikrobieller Status | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | *Escherichia coli* | *Salmonella* spp. |
| (Khalaji *et al.* 2011) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,05/0,10/ 0,15 | nein | Digesta | → Caeca | - |
| (Kim *et al.* 2011) | 28 | MOS von *S. c.* | 0,10/0,20 | nein | Digesta | ↓ Ileum | - |
| (Morales-López *et al.* 2010) | 24 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | → Ileum | - |
| (Muthusamy *et al.* 2011) | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Digesta | ↓ Duodenum, Jejunum, Ileum | ↓ Duodenum, Jejunum, Ileum |
| | 25 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | Mukosa | ↑ Duodenum, Jejunum, Ileum | ↑ Duodenum, Jejunum |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Digesta | ↓ Duodenum, Jejunum, Ileum | ↑ Ileum |
| | 52 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | Mukosa | ↑ Duodenum, Jejunum, Ileum | → Duodenum, Jejunum, Ileum |
| (Shanmugasundaram *et al.* 2013) | 42 | Hefezellprodukt (*Pichia guilliermondii*) | 0,10/0,20 | nein | Digesta | ↓ Caeca bei 0,20 % | → Caeca |
| (Shao *et al.* 2013) | 14/21 | β-Glucan von *S. c* | 0,01 | ja | Digesta | - | ↓ Caeca |
| (Spring *et al.* 2000) | 10 | MOS von *S. c.* | 0,40 | ja | Digesta | → Caeca* | ↓ Caeca |
| (Vancraeynest *et al.* 2007) | 14 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | nein | n.a. | ↓ Dünndarm* | - |
| | 14 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | nein | n.a. | → Dünndarm** | |
| | 35 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | nein | n.a. | ↓ Dünndarm bei 0,10 %** | - |

HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; n.a. = nicht angegeben; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae;* →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall;*coliforme Bakterien; **Enterobakterien.

### 2.4.2 Nährstoffverdaulichkeit und histologische Veränderungen an der Darmschleimhaut

Bisher wurden nur wenige Studien zum Effekt von Hefezellwandbestandteilen auf die Verdaulichkeit von Nährstoffen bei Masthühnern durchgeführt.

Die meisten Studien zeigen, dass der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen bei Masthühnern keinen Einfluss auf die ileale oder die Gesamtverdaulichkeit von Rohprotein oder Rohfett hat (Kumprecht und Zobac 1997, Yang *et al.* 2007, Yang *et al.* 2008a, Yang *et al.* 2008c, Morales-López *et al.* 2010). Hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit sind die Ergebnisse unbeständig. Ein mit weizenbasiertem Futter durchgeführter Versuch zeigte eine verbesserte ileale Stärkeverdaulichkeit bei der Addition von 2 g eines MOS-Produktes pro kg Futter bei 21 Tage alten Hühnern (Yang *et al.* 2008a). In einem anderen Versuch konnte hingegen keine abgesicherte Beeinflussung auf die Gesamtverdaulichkeit von Stärke durch den Einsatz von 0,10 % oder 0,20 % eines MOS-Produktes beobachtet werden (Yang *et al.* 2008c).

Erhöhte Zottenlängen an der Darmschleimhaut führen zu einer vergrößerten Schleimhautoberfläche. Diese wird für die Absorption und Verdauung von Nährstoffen in der Literatur als günstig betrachtet (Sims *et al.* 2004, Mourão *et al.* 2006, Yang *et al.* 2007, Zhao *et al.* 2012). Eine erhöhte Kryptentiefe kann Hinweise auf verstärkte Regenerationsprozesse an der Darmschleimhaut geben, sodass die Nährstoffe für die Regeneration verwendet werden, als dass sie dem tierischen Organismus für das Wachstum zur Verfügung stehen (Ghosh *et al.* 2012). Studien bestätigen, dass der Einsatz von Hefezellwandpräparaten die Zottenlänge steigert oder die Kryptentiefe von Masthühnern verringert und parallel die zootechnischen Leistungen der Tiere verbessert (Santin *et al.* 2001, Zhang *et al.* 2005, Morales-López *et al.* 2010, Žikic´ *et al.* 2011). In diesen Studien wurden jedoch keine Verdaulichkeitsanalysen durchgeführt. Andere Studien konnten diese histologischen Veränderungen hingegen nicht bestätigen (Yang *et al.* 2007, Ghosh *et al.* 2012, Munyaka *et al.* 2012, Yitbarek *et al.* 2012). Durch den Einsatz von Hefezellwandbestandteilen konnte zudem eine vermehrte Dichte oder Größe der Becherzellen im Gastrointestinaltrakt von Hühnern beobachtet werden (Baurhoo *et al.* 2009, Brümmer *et al.* 2010, Reisinger *et al.* 2012). Die von den Becherzellen sezernierten Muzine stellen eine erste wichtige Barriere für Bakterien dar, indem diese als Glycoproteine einige luminale Pathogene binden und somit die Adhärenz an der Darmschleimhaut verhindern können (Blomberg *et al.* 1993, Reisinger *et al.* 2012). Muzine spielen zudem eine wichtige Rolle bei dem Transport und der Absorption von Mineralien, wobei eine zu dicke Muzinschicht die Aufnahme in die Epithelzellen wiederum vermindern könnte (Brümmer *et al.* 2010). Eine verringerte Zottenlänge und erhöhte Kryptentiefe geht meist mit einer Reduktion der bürstensaumassoziierten Enzymen einher (Pluske *et al.* 1997), die wiederum bei der Verdauung einzelner Nährstoffe beteiligt sind.

Dabei konnten erhöhte Enzymaktivitäten von Maltase und alkalischer Phosphatase an der Darmschleimhaut von Broilern durch den nutritiven Einsatz von Hefezellwandbestandteilen beobachtet werden (Iji *et al.* 2001, Yang *et al.* 2008a).

Darüber hinaus bestehen die Möglichkeiten, dass eine durch MOS verringerte Besiedlung von Pathogenen an der Darmschleimhaut die Absorption und den Transport von Nährstoffen durch die Enterozyten erleichtert (Yang *et al.* 2008a) oder eine geringe Erosion der Darmschleimhautoberfläche die Verdaulichkeit von Nährstoffen begünstigt (Nochta *et al.* 2010). Ebenso könnte eine hohe Bakteriensynthese- und -besiedlung die Verdaulichkeit von Protein und Energie verringern (Middelbos *et al.* 2007). In einem Fütterungsversuch mit Absetzferkeln wurde mit der Zugabe von 0,10 % - 0,40 % eines MOS-Produktes neben einer verbesserten ilealen Phosphor- und Kalziumverdaulichkeit eine erhöhte Protein- und Aminosäurenverdaulichkeit ermittelt (Nochta *et al.* 2010). Die Produktion von kurzkettigen Fettsäuren durch vorteilhafte Bakterien führt zu einem pH-Wert-Abfall der Ileumdigesta, was eine erhöhte Proteinhydrolyse und folglich eine verbesserte Protein-, Aminosäuren- als auch Phosphor- und Kalziumverdaulichkeit ermöglichen könnte (Nochta *et al.* 2010). Die erhöhten Protein- und Aminosäurenverdaulichkeiten könnten zudem durch einen geringeren Zellaustausch an der Darmwand oder verminderte endogene Stickstoffverluste entstehen (Nochta *et al.* 2010).

## 2.5 Aufbau und Funktion des aviären Immunsystems

### 2.5.1 Angeborenes und erworbenes Immunsystem

Das Immunsystem lässt sich in ein angeborenes und adaptives Immunsystem einteilen und besteht aus Membranen, Zellen und Molekülen, die in einem komplexen Zusammenwirken in der Lage sind, körperfremde Stoffe zu beseitigen. Neben einigen Unterschieden lassen sich die grundlegenden Funktionen des Immunsystems von Hühnern mit dem der Säuger vergleichen, wobei die Kenntnisse über die immunologischen Mechanismen im Gegensatz zu einigen Säugetieren noch nicht auf dem gleichen Stand sind (Davison 2003).

Physikalische, chemische und mikrobielle Barrieren wie ziliare- und intestinale Peristaltik, azide gastrale pH-Werte oder die Mukussekretion durch Becherzellen sind Bestandteile des angeborenen Immunsystems und stellen den ersten Abwehrmechanismus gegen das Eindringen von Pathogenen dar (Davison *et al.* 2008).

Falls körperfremde Moleküle diese natürlichen Abwehrmechanismen überwinden, werden sie als pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMP) über Rezeptoren (PRR) erkannt (Janeway 1992). PRRs wie Lipopolysaccharid-bindende Proteine oder Mannose-bindende Lektine werden zu den in Körperflüssigkeiten vorkommenden PRRs gezählt, während

Scavenger-Rezeptoren, Toll-like-Rezeptoren oder Proteinkinase-Rezeptoren als zellassoziierte PRRs auf der Zellmembran oder im Zytoplasma von Immunzellen des angeborenen Immunsystems exprimiert werden (Davison *et al.* 2008). PAMPs sind individuelle Strukturen von Mikroorganismen wie Lipopolysaccharide von gramnegativen Bakterien, doppelsträngige RNA von RNA-Viren oder Mannose und Zymosan als Bestandteile von Hefezellwänden, die nicht im Wirt vorkommen und somit von den PRRs als fremd erkannt werden (Kogut und Klasing 2009). Dadurch werden vermehrt Zellen des angeborenen Immunsystems angelockt, um die Fremdantigene zu eliminieren oder diese den Zellen des adaptiven Immunsystems zu präsentieren (Kogut und Klasing 2009). Zu diesen Zellen zählen die Natürlichen Killerzellen, Heterophile als das Äquivalent der Neutrophilen Granulozyten der Säuger, Dendritische Zellen sowie Monozyten und Makrophagen (Davison *et al.* 2008). Einer Studie zufolge werden Natürliche Killerzellen im Knochenmark gebildet, reifen Thymus-unabhängig in der Milz und befinden sich als ausgereifte Zellen hauptsächlich im intestinalen Epithel, um ähnlich zytotoxischer T-Zellen infizierte Zellen über den Haupthistokompatibilitätskomplex I (MHC I) zu erkennen und zu eliminieren (Göbel *et al.* 2001, Davison *et al.* 2008). Heterophile besitzen phagozytierende und degranulierende Eigenschaften und produzieren nach ihrer Aktivierung Chemokine und proinflammatorische Zytokine wie Interleukin (IL) 1 und 6 (Kogut *et al.* 2006, Swaggerty *et al.* 2009).

Monozyten als phagozytierende Zellen des Blutes stammen von myeloischen Stammzellen des Knochenmarks ab, die in umliegende Gewebe auswandern und sich dort durch Wachstumsfaktoren, Zytokine und gewebespezifische Signale zu Makrophagen oder Dendritischen Zellen weiterdifferenzieren (Qureshi *et al.* 2000, Davison *et al.* 2008). Makrophagen sind in der Lage, Pathogene zu phagozytieren, mikrobizide reaktive Sauerstoffspezies und Stickstoffoxid zu sezernieren sowie Zytokine und Chemokine freizusetzen, um weitere Immunmechanismen zu aktivieren (Davison *et al.* 2008). Zudem inkorporieren, verarbeiten und präsentieren Makrophagen und Dendritische Zellen neben den B-Zellen exogene körpereigene- oder fremde Antigene über den MHC II auf ihrer Zelloberfläche und zählen daher zu den Antigenpräsentierenden Zellen. Im Gegensatz zu den körpereigenen Antigenstrukturen werden die körperfremden Strukturen von dem erworbenen Immunsystem über T-Zell-Rezeptoren der T-Helfer-Zellen ($T_H$-Zelle) erkannt, die $CD4^+$ Moleküle als Korezeptor auf ihrer Oberfläche exprimieren (Davison *et al.* 2008). $T_H$-Zellen können in $T_H1$- und $T_H2$-Zellen eingeteilt werden und vermitteln über verschiedene Zytokinausschüttungen die Produktion von Antikörpern sowie eine verstärkte Phagozytoseaktivität der Makrophagen und Proliferation von zytotoxischen $CD8^+$ T-Zellen (Röhe 2013). Endogene körperfremde Antigene werden hingegen über den MHC I auf der Oberfläche von körpereigenen Zellen präsentiert und über T-Zell-Rezeptoren mit dem Korezeptor $CD8^+$ der T-Zellen erkannt, die sich dann zu zytotoxischen T-Zellen

ausdifferenzieren und die infizierte oder entartete Körperzelle durch Apoptose eliminieren (Davison *et al.* 2008). Nach der Aktivierung von $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Zellen differenzieren diese zu T-Gedächtniszellen, um bei einer Reinfektion eine schnelle Immunantwort auslösen zu können (Erf 2004).

Die Antigenpräsentierenden Zellen stellen somit zusammen mit dem Komplementsystem die Verbindung zum erworbenen Immunsystem dar. Das Komplementsystem besteht aus einer Vielzahl von Proteinen und Rezeptoren, die durch mikrobielle Oberflächen- oder Kohlenhydratstrukturen sowie Antigen-Antikörper-Komplexe aktiviert werden und dadurch Entzündungsreaktionen hervorrufen, die Opsonierung für Phagozyten vermitteln, T- und B-Zellantworten verstärken oder die Zielzellen direkt durch Lyse zerstören (Carroll 2004, Davison *et al.* 2008). Dessen Aktivierung kann dabei über drei verschiedene Wege erfolgen: den klassischen antikörpervermittelten Weg, den antikörperunabhängigen Lektin-Weg sowie den alternativen Weg. Der Lektin-Weg wird aktiviert, sobald Lektin Proteine PAMPs wie Mannose oder Reste von N-Acetylglucosamin binden, die auf der Oberfläche von Bakterien, Viren oder Hefen vorkommen (Davison *et al.* 2008). Der alternative Weg kann über eine Vielzahl von Strukturen wie Lipopolysaccharide von Bakterien, Zymosan als Bestandteil der Hefezellwand, Inulin von Pflanzen oder durch Pilze aktiviert werden (Lachmann und Hughes-Jones 1984).

Das adaptive oder erworbene Immunsystem besteht aus dem zellvermittelten Immunsystem, welches vorrangig durch T-Zellen repräsentiert wird, und dem antikörpervermitteltem humoralen Immunsystem. Die T-Zellen exprimieren individuelle T-Zell-Rezeptoren und CD3 Rezeptormoleküle auf ihrer Oberfläche, die diesen Zelltyp eindeutig als T-Zelle charakterisieren (Erf 2004). T-Zellen stammen von hämatopoetischen Stammzellen aus dem Knochenmark ab, reifen im Thymus heran und werden dann in sekundäre Lymphorgane wie der Milz oder das schleimhaut-assoziierte lymphatische Gewebe (MALT) entlassen. Die humorale Immunantwort hingegen wird durch die B-Zellen vermittelt, die sich aus hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarkes entwickeln, in der *Bursa Fabricii* zu B-Zellen heranreifen und sich vermehren. Bevor sie in periphere Lymphorgane auswandern und dort ihre Antigen-Bindungsfähigkeit durch somatische Mutation verstärken, werden autoreaktive und defekte Zellen ausselektiert (Tizard 2002). Die *Bursa Fabricii* ist ein für Vögel einzigartiges, hohles sackartiges Gebilde, das über einen Kanal mit der Kloake verbunden ist, einige Wochen nach dem Schlupf die maximale Größe entwickelt und danach einer kontinuierlichen Rückbildung unterworfen ist (Tizard 2002). Das Epithel der *Bursa Fabricii* ragt faltenförmig in das Lumen hinein, in denen mehrere Tausend Lymphfollikel beherbergt sind und aus über 90 % B-Zellen bestehen (Sharma 1997, Tizard 2002). B-Zellen besitzen membrangebundene spezifische B-Zell-Rezeptoren für die Antigenerkennung und

differenzieren sich nach ihrer Aktivierung zu antikörperproduzierenden Plasmazellen. Um die B-Zelle zu aktivieren, werden Antigene von den B-Zell-Rezeptoren gebunden, mit Hilfe von MHC II Molekülen auf der B-Zelle präsentiert und von $CD4^+$ $T_H$-Zellen erkannt, die wiederum über CD40 Rezeptormoleküle der B-Zellen die Antikörperproduktion triggern (Davison *et al.* 2008). Vögel besitzen drei verschiedene Antikörperklassen, die antigenspezifische Produkte der B-Lymphozyten darstellen: die beiden systemischen Antikörperklassen IgM und IgG sowie die lokal relevanten Antikörper IgA, die hauptsächlich in der Galle sowie intestinalen oder respiratorischen Körpersekreten vorkommen (Tizard 2002, Davison 2003). Das aviäre IgM findet sich zusammen mit dem IgY (synonym IgG) überwiegend im Serum und wird als initialer Isotyp bei Antigenexposition sezerniert, wohingegen das IgY nach dem IgM produziert wird und den vorherrschenden Isotyp der sekundären Antikörperantwort darstellt (Davison *et al.* 2008). Die Antikörper binden die körperfremden Antigene, um eine Immunantwort hervorzurufen, das Komplementsystem zu aktivieren und andere Immunzellen anzulocken, die die gebundenen Fremdmoleküle zerstören (Davison 2003).

### 2.5.2 Darmassoziiertes lymphatisches Gewebe (GALT)

Das GALT stellt eine erste wichtige Barriere für Pathogene aus der Digesta des Gastrointestinaltraktes dar, weil aviären Spezies strukturierte Lymphknoten fehlen (Caldwell *et al.* 2004). Zum einen befinden sich zahlreiche definierte lymphoide Gewebe entlang des Gastrointestinaltraktes in Form von pharnygealen, ösophagealen, pylorischen, caecalen und kloakalen Tonsillen, der *Bursa Fabricii*, den Peyer Platten, lymphoiden Aggregaten in der Lamina propia sowie dem Meckel-Divertikel (Davison *et al.* 2008). Zum anderen sind im gastrointestinalen Schleimhautepithel Becherzellen und intraepitheliale Lymphozyten (IEL) lokalisiert. Darüber hinaus befinden sich Natürliche Killerzellen, Makrophagen, Dendritische Zellen, Heterophile sowie T- und B-Lymphozyten in der Lamina propia (Davison *et al.* 2008). Das Immunsystem ist somit bei einer Antigenbesiedlung in der Lage, eine effektive antigenspezifische IgA Sekretion gegen enterische Pathogene zu initiieren (Muir *et al.* 2000). Das GALT zeichnet sich durch die Fähigkeit aus, auf den Großteil der körperfremden Bestandteile wie Nährstoffe oder kommensale Mikroorgansimen keine Immunantwort auszulösen und zu tolerieren (Davison *et al.* 2008). Die Enterozyten können ebenfalls die intestinale Immunantwort beeinflussen, indem sie über PRRs PAMPs erkennen, über eine MHC I Expression mit $CD8^+$ zytotoxischen T-Zellen interagieren und bei einer Inflammation zur Expression von MHC II Molekülen angeregt werden können (Davison *et al.* 2008).

## 2.6 Immunmodulierende Wirkungen von Hefezellwandbestandteilen

Bei der diätetischen Immunmodulation wird versucht, durch bewusste Supplementierung das Immunsystem gezielt zu beeinflussen (Korver 2012). Eine adäquate Energieversorgung ist dabei für ein funktionierendes und intaktes Immunsystem von großer Bedeutung (Kaspers 2011). Aminosäuren wie Arginin und Methionin, Vitamin A, E und C, mehrfach ungesättigte n-3-Fettsäuren sowie Zink und Selen gelten als wichtige Nährstoffe für die Erhaltung eines effektiven Immunsystems (Światkiewicz *et al.* 2014). Im Zuge des stetig steigenden Einsatzes von diätetischen Immunmodulatoren ist daher Vorsicht bei der Beeinflussung von Immunprozessen geboten und es ist wichtig, den Aufbau und die genauen Mechanismen des Immunsystems von Hühnern zu kennen, um gezielt neue Immunmodulatoren zu entwickeln und unerwünschte Wirkungen zu vermeiden (Korver 2012, Visscher 2013).

β-Glucane als Bestandteile von Hefen, Pilzen und Bakterien weisen immunmodulierende Eigenschaften auf und gelten als Biomodulatoren, die in Vertebraten Immunantworten auslösen können (Bohn und BeMiller 1995, Brown und Gordon 2003, Brown und Gordon 2005). Diätetisch eingesetzte β-Glucane von *Saccharomyces cerevisiae* führen im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern zu einer erhöhten Immunreaktion gegenüber *Eimeria acervulina* und *Eimeria maxima* (Cox *et al.* 2010b). Auch MOS als Bestandteil von Hefezellwänden können das Immunsystem modulieren, indem sie als nicht pathogene Antigene durch die Immunzellen detektiert werden und das darmassoziierte und systemische Immunsystem triggern (Ferket *et al.* 2002). Zudem besteht die Hypothese, dass durch MOS Mannose bindende Proteine aus der Leber sezerniert werden, Bakterien an diese binden und die Komplementkaskade in Gang setzen (Newman 1994, Hooge und Conolly 2011). In einer Fütterungsstudie mit Broilern wurde beobachtet, dass durch den Einsatz von 0,50 % eines MOS-Produktes eine durch Hitzestress bedingte Entzündungsreaktion im Gastrointestinaltrakt abgeschwächt und zudem die Darmintegrität verbessert werden konnte (Ashraf *et al.* 2013). Bei der Evaluierung mehrerer Fütterungsstudien wurde abgeleitet, dass eine Stimulation des darmassoziierten Immunsystems durch Hefezellwandbestandteile erfolgt, zu einer nachfolgenden Aktivierung der angeborenen und erworbenen Immunantwort führt und sich somit positiv auf die Gesundheit und die Leistung der Tiere auswirkt (Kogan und Kocher 2007). Dabei hängt die immunmodulierende Effektivität der β-Glucane neben der Genetik und Aufzucht der Tiere von der Herkunft, dem Verknüpfungsgrad- und -muster, der Löslichkeit, Molekularmasse, Polymerladung, Isolierungs- und Herstellungsmethode, Dosierung sowie der Art und Dauer der Gabe der β-Glucane ab (Bohn und BeMiller 1995, Cleary *et al.* 1999, Shafey *et al.* 2001, Volman *et al.* 2008, Redmond *et al.* 2010, Ganguly 2013). In der Zeit nach dem Schlupf besitzen Küken noch kein vollständig entwickeltes Immunsystem, sodass Immunmodulatoren gesucht werden, die in dieser Phase das Immunsystem unterstützen können (Cox *et al.* 2010a). Andererseits kann der Einsatz von β-

Glucanen bei immunkompetenten und gesunden Tieren, die unter hohen Hygienestandards mit minimalem Infektionsdruck gehalten werden, zu einer unnötig hohen Immunstimulation mit konsekutiv verminderten Leistungen führen (Huff *et al.* 2006).

Sowohl Mannose- als auch β-Glucanrezeptoren sind bei der Erkennung und Phagozytose von Hefen und deren Bestandteilen auf der Oberfläche von murinen Makrophagen (Goldman 1988, Giaimis *et al.* 1993) und humanen Natürlichen Killerzellen beteiligt (Duan *et al.* 1994). In der Literatur sind der Toll-like-Rezeptor 2, der Dectin-1-Rezeptor und der Komplementrezeptor 3 als transmembranöse Proteine sowie Lactosylceramid als ein Glykosphingolipid als PRRs auf der Oberfläche von Immunzellen identifiziert worden, die Glucanfraktionen erkennen (Ross *et al.* 1985, Brown und Gordon 2001, Willment *et al.* 2001, Taylor *et al.* 2002, Roeder *et al.* 2004, Novak und Vetvicka 2008). Das Vorkommen eines Dectin-1 ähnlichem β-Glucanrezeptors auf der Oberfläche von Heterophilen und mononukleären Blutzellen von Hühnern konnte in einer weiteren Studie untermauert werden (Nerren und Kogut 2009). Die Rezeptorspezifitäten und genauen Wirkmechanismen der Immunmodulation durch Hefezellwandbestandteile sind jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt (Ganner und Schatzmayr 2012), besonders im aviären Organismus.

### 2.6.1 Intestinales IgA

Der Haupteintrag von Mikroorganismen erfolgt zumeist über respiratorische, urogenitale und gastrointestinale Schleimhäute, sodass die antigenspezifische IgA Sekretion eine der ersten Barrieren gegenüber Pathogenen darstellt (Wieland *et al.* 2004). Intestinales IgA fördert die Integrität des Gastrointestinaltraktes und stellt eine erhöhte Absorption von Nährstoffen sicher, was wiederum zu einer Verbesserung der zootechnischen Leistung führen kann (Zhang *et al.* 2008). Studienergebnissen zufolge führt die Interaktion eines beim Haushuhn identifizierten Ig Rezeptors (GG-pIgR) mit dem IgA Polymer an der Oberfläche der basolateral gelegenen Epithelzellen zu einer Freisetzung von sekretorischen IgA in das Schleimhautlumen (Wieland *et al.* 2004).

In einer Studie mit Mäusen ergab die orale Gabe von 25 mg von (1→3), (1→6)-β-D-Glucanen pro Tag einen Anstieg von IELs im Darm bei unveränderter Anzahl der hepatischen Lymphozyten, sodass (1→3), (1→6)-β-D-Glucanfraktionen eine wichtige Rolle bei der Stimulation des darmassoziierten Immunsystems spielen können (Tsukada *et al.* 2003). Bei Masthühnern führte der Einsatz von verschiedenen Hefeprodukten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* zu einem Anstieg von intestinalem IgA (Tabelle 7). Dabei wurde vermutet, dass Zuckerbestandteile der Hefezellwände als Rezeptorliganden an spezifische PRRs oder MHCs der Immunzellen binden, Zytokine ausschütten und die Sekretion von intestinalem IgA durch Makrophagen und Lymphozyten aus der Lamina propia stimulieren (Zhang *et al.* 2008,

Gómez Verduzco *et al.* 2009b). Neben eines erhöhten Vorkommens von intestinalem IgA konnte auch eine vermehrte Expression von IgA exprimierenden Zellen im Jejunum von 21 Tage alten Masthühnern, die mit *Salmonella enterica* serovar Typhimurium oral infiziert wurden, beobachtet werden (Shao *et al.* 2013). Ein abgesicherter, mit der Dosis quadratisch korrelierter Anstieg des Immunglobulins IgG im Serum von 21 und 42 Tage alten Broilern mit steigender Dosierung eines (1→3), (1→6)-β-D-Glucanproduktes (Zhang *et al.* 2008) weist zudem auf eine systemische Immunmodulation hin. Dies kann durch erhöhte Konzentrationen von trachealem IgA bei der Zugabe eines Hefezellwandpräparates untermauert werden (Gómez Verduzco *et al.* 2009a), wobei dieses Ergebnis in einer anderen Studie derselben Autoren nicht reproduziert werden konnte (Gómez Verduzco *et al.* 2009b).

### 2.6.2 Immunorgangewichte

Der Einfluss von Hefezellwandbestandteilen auf die Immunorgangewichte wurde beim Haushuhn in mehreren Studien untersucht. Die Ermittlung der Immunorgangewichte ist eine einfache Erhebung und kann einen Hinweis auf die Bereitstellung lymphoider Zellen während einer Immunantwort (Zhang *et al.* 2012) sowie eine verbesserte T- und B-Zellreifung geben (Chen *et al.* 2008).

Eine Übersicht zeigt die Ergebnisse von den Gewichten der Milz, *Bursa Fabricii* und dem Thymus durch den nutritiven Einsatz von MOS und β-Glucanen bei Masthühnern (Tabelle 8). Bei der Mehrzahl der Studien ließen sich keine Veränderungen hinsichtlich der Immunorgangewichte beobachten. Die Milz spielt eine wichtige Rolle bei der Speicherung, Reifung und Aktivierung von weißen Blutkörperchen sowie der Produktion von Immunmediatoren (Redmond *et al.* 2010). Während in einem Fütterungsversuch keine Unterschiede hinsichtlich der Milzgewichte beobachtet wurden, zeigte sich durch den Einsatz von 0,30 % eines Hefezellwandpräparates eine vermehrte Expression der proinflammatorischen IL-1β und IL-6 im Milzgewebe von immunsupprimierten als auch immunkompetenten Masthühnern, sodass eine verbesserte systemische Immunprotektion durch den Einsatz des Hefeproduktes vermutet wurde (Zhang *et al.* 2012). Eine systemische Immunmodulation konnte in einer anderen Fütterungsstudie mit Broilern und der Zugabe eines Hefezellproduktes nicht beobachtet werden (Shanmugasundaram und Selvaraj 2012).

**Tabelle 7:** Immunologischer Status im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern durch den Zusatz von Hefebestandteilen

| | | | | | | Immunologischer Status |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektionsversuch | Probe | Intestinales IgA |
| (Gao *et al.* 2008) | 21/42 | Hefekultur von *S. c.* | 0,25/0,50/0,75 | nein | Gewebe | ↑ Duodenum |
| (Gómez Verduzco *et al.* 2009b) | n.a. | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Digesta | → Darm |
| (Gómez Verduzco *et al.* 2009a) | 21 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | Mukosa | ↑ Duodenum |
| (Shao *et al.* 2013) | 14/21 | β-Glucan von *S. c.* | 0,01 | ja | Mukosa | ↑ Jejunum |
| (Zhang *et al.* 2008) | 21/42 | β-Glucan von *S. c.* | 0,0025/0,005/0,0075/ 0,01/0,0125 | nein | Digesta | ↑ Dünndarm |

HZW = Hefezellwand; n.a. = nicht angegeben; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae;* →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

**Tabelle 8:** Immunorgangewichte von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen

| | | | | | Immunologischer Status | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektionsversuch | Thymus | *Bursa Fabricii* | Milz |
| (Abdel-Raheem und Abd-Allah 2011) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,05 Em. | nein | → | → | → |
| (An *et al.* 2008) | 35 | β-Glucan von *S. c.* | 0,025/0,05/0,10 | nein | - | - | → |
| (Awaad *et al.* 2011) | 21/35 | HZW von *S. c.* | 0,20 | nein | - | → | - |
| | 21/35 | HZW von *S. c.* | 0,20 | ja | - | → | - |
| (Cox *et al.* 2010a) | 7/14 | β-Glucan von *S. c.* | 0,02/0,10 | nein | - | → | → |
| (Elrayeh und Yildiz 2012) | 42 | β-Glucan von *S. c.* | 0,014 | nein | - | → | → |
| (Guo *et al.* 2003) | 14 | β-Glucan von *S. c.* | 0,004/0,002 | nein | → | ↑ | ↑ |
| (Houshmand *et al.* 2012) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,10 Em. | nein | - | → | → |
| (Mohamed *et al.* 2008) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,10 St. - 0,05 Em. | nein | - | → | → |
| (Morales-López *et al.* 2009) | 36 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | → | → | → |
| | 36 | MOS von *S. c.* | 0,0095 | nein | → | → | → |
| | 36 | β-Glucan von *S. c.* | 0,0145 | nein | → | → | → |
| | 36 | MOS + β-Glucan von *S. c.* | 0,0095 + 0,0145 | nein | ↑ | → | → |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; St. = Starterfutter; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

**Tabelle 8:** Immunorgangewichte von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen

| | | | | | Immunologischer Status | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Infektionsversuch | Thymus | *Bursa Fabricii* | Milz |
| (Morales-López und Brufau 2013) | 21 | HZW von *S. c.* | 0,05 | nein | - | → | → |
| | 21 | HZW von *S. c.* | 0,05 | ja | - | ↑ | → |
| (Munyaka *et al.* 2012) | 42 | HZW von *S. c.* | 0,02/0,01/0,005 | nein | - | → | → |
| (Sadeghi *et al.* 2013) | 21/42 | HZW von *S. c.* | 0,10 | nein | - | → | → |
| | 21/42 | HZW von *S. c.* | 0,10 | ja | - | → | → |
| (Yitbarek *et al.* 2012) | 22 | MOS von *S. c.* | 0,20 | ja | - | → | → |
| (Zhang *et al.* 2008) | 21/42 | β-Glucan von *S. c.* | 0,005/0,0075 | nein | ↑ | ↑ | ↑ |
| (Zhang *et al.* 2012) | 42 | HZW von *S. c.* | 0,30 | nein | ↑ | ↑ | → |
| | 42 | HZW von *S. c.* | 0,30 | ja | ↑ | ↑ | → |

HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

### 2.6.3 Zellgehalte und Phagozytoseaktivität der Abwehrzellen im Vollblut

Heterophile, Monozyten und Lymphozyten befinden sich als Immunzellen im Vollblut von Hühnern und stellen Zellen des angeborenen und erworbenen Immunsystems dar. Der Zusatz eines Hefezellwandpräparates mit einer Dosierung zwischen 0,02 % und 0,06 % hatte in mehreren Analysen keinen Einfluss auf die Blutzellgehalte von 56 Tage alten immunkompetenten Hühnern (Bolu *et al.* 2009a, Bolu *et al.* 2009b, Bolu *et al.* 2012). Diese Ergebnisse wurden in Studien, in denen ähnliche Hefeprodukte eingesetzt wurden, bestätigt (Reisinger *et al.* 2012, Shahir *et al.* 2014). Unter einer Aflatoxinexposition konnte im Blut von Masthühnern ein Anstieg der Lymphozyten sowie ein Abfall der Heterophilen durch die Zugabe von Hefezellwandbestandteilen ermittelt werden (Basmacıoglu *et al.* 2005, Gómez Verduzco *et al.* 2009b). Konträr dazu zeigte sich in einem ähnlichem Versuchsaufbau mit Legehennen ein Anstieg der Heterophilen sowie ein Abfall der Lymphozyten (Matur *et al.* 2011), wobei alle Autoren eine verbesserte Immunmodulation durch den Futterzusatz während einer Aflatoxinexposition schlussfolgerten. Ein weiterer Versuch verdeutlicht, dass β-Glucane und MOS unter Infektionsbedingungen eine verstärkte Immunantwort auslösen können, während nicht infizierte Tiere keine Veränderungen der Immunparameter aufzeigten (Sadeghi *et al.* 2013). Demgegenüber bestätigen eine verbesserte Mobilisierung von Heterophilen im Blut von 42 Tage alten immunkompetenten Broilern durch Kohlenhydrate aus Hefezellwänden (Munyaka *et al.* 2012) sowie eine erhöhte Monozytenzellzahl durch aus Pilzen gewonnenen β-Glucanen diese Beobachtung nicht (Samudovska *et al.* 2012).

Neben der Analyse der Zellgehalte im Vollblut lässt sich durch den kutanen basophilen Überempfindlichkeitstest indirekt die zellvermittelte Immunantwort nachweisen, die bei Broilern sowohl unter hohem als auch minimalem Infektionsdruck durch die orale Zugabe von Hefezellwandbestandteilen erhöht werden konnte und eine erhöhte Immunkompetenz vermuten lässt (Gómez Verduzco *et al.* 2009a, Khalaji *et al.* 2011, Morales-López und Brufau 2013). Des Weiteren konnten Hefezellwandbestandteile sowohl eine vermehrte $T_H1$-Zellantwort als auch Lymphozyten-Blastogenese in parasitären und bakteriellen Infektionsversuchen (Cox *et al.* 2010b, Yitbarek *et al.* 2012) sowie bei immunsupprimierten Masthühnern induzieren (Zhang *et al.* 2012).

(1→3), (1→6)-β-D-Glucane besitzen zudem die Möglichkeit, phagozytierende Immunzellen zu aktivieren und somit die Phagozytoseleistung der Zellen zu fördern, um Pathogene effektiv zu inkorporieren und eliminieren. Die 14-tägige Gabe von zwei verschiedenen β-Glucanpräparationen führte bei Mäusen zu einer verstärkten Phagozytoseaktivität der peritonealen Makrophagen. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Glucanpräparate im Gastrointestinaltrakt der Tiere absorbiert wurden und mit spezifischen Glucanrezeptoren

auf der Oberfläche der Makrophagen interagiert haben (Hunter *et al.* 2002). Ähnliche Ergebnisse konnten durch den Zusatz von Hefezellwänden in einer Dosierung von 0,20 % bei 40 Tage alten Broilern ermittelt werden, wobei die Supplementierung keine Verbesserung der zootechnischen Leistung zur Folge hatte (Ferreira *et al.* 2011). Die verbesserte Phagozytoseleistung von peritoneal gewonnenen Makrophagen durch verschiedene β-Glucanprodukte wurde in weiteren Analysen bei aviären Spezies belegt (Guo *et al.* 2003, Cheng *et al.* 2004, Chen *et al.* 2008). Allerdings liegen bisher nur wenige Ergebnisse hinsichtlich der Phagozytoseaktivität der Immunzellen im Vollblut von Hühnern vor. Eine erhöhte Phagozytoseleistung von Heterophilen gegenüber dem Erreger *Salmonella enterica* serovar Enteritidis im Blut sowie eine reduzierte Organinvasion des Erregers in vier Tage alten Hühnern konnte durch den Zusatz von gereinigten β-Glucanen unbekannter Herkunft erreicht werden (Lowry *et al.* 2005). In zwei weiteren Fütterungsstudien konnte eine erhöhte Phagozytoseleistung von Heterophilen (Matur *et al.* 2011) und Makrophagen (Awaad *et al.* 2011) im Blut von Hühnern unter dem Einfluss von Hefezellwandpräparaten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* festgestellt werden.

### 2.6.4 Antikörper gegen das Virus der Newcastle-Krankheit (NDV)

In der Literatur wird beschrieben, dass Hefezellwandbestandteile Antikörperantworten gegenüber verschiedenen Vakzinen bei Hühnern verstärken können (Shashidhara und Devegowda 2003, Tohid *et al.* 2010). Auch *in vitro* gehen verschiedene Hefemannane mit Antikörpern aus den Antiseren von Kaninchen eine Antigen-Antikörper-Reaktion ein (Ballou 1970). Außerdem wird vermutet, dass Zuckerstrukturen aus Hefezellwänden als Impfadjuvantien fungieren können (Newman 1994) oder als nicht pathogene Antigene erkannt werden und eine humorale Immunantwort initiieren (Ferket *et al.* 2002, Ghosh *et al.* 2012).

Die Newcastle-Krankheit zählt zu einer der wichtigsten Tierseuchen und ist eine kontagiöse septikämisch verlaufende Infektion bei Hühnern und Puten, dessen Ausbruch zu hoher Morbidität und Mortalität in den Herden führt (Siegmann und Neumann 2012). Daher schreibt die Geflügelpestverordnung eine Impfung aller Hühner- und Putenbestände vor (BMJV 2007). Erhöhte Antikörpertiter gegen das NDV lassen sich mit der oralen Zugabe von Hefezellwandbestandteilen beobachten, wobei die Verabreichungsform der Vakzine in den Versuchen variierte. Die Ergebnisse der einzelnen Fütterungsstudien sind in einer Übersichtstabelle zusammengefasst (Tabelle 9). Einige dieser Studien wurden als Infektionsversuche durchgeführt oder es wurde toxinbelastetes Futter eingesetzt. Dabei konnte eine Erhöhung der Antikörpertiter durch die Supplementierung von Hefeprodukten beobachtet werden (Awaad *et al.* 2011, Mogadam und Azizpour 2011, Li *et al.* 2012, Sadeghi *et al.* 2012). In der Mehrzahl der aufgelisteten Fütterungsversuche konnten erhöhte

Antikörpertiter gegen das NDV nachgewiesen werden, sodass der Einsatz von MOS und β-Glucanen hilfreich bei der Potenzierung einer Antikörperantwort gegenüber viralen Vakzineerregern sein kann.

**Tabelle 9:** NDV-Antikörpertiter von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen

| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Impfung [d] | Applikation | Analyse | Immunologischer Status<br>NDV-Antikörpertiter |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (An *et al.* 2008) | 28 | β-Glucan von *S. c.* | 0,025/0,05/ 0,10 | 14 | *i.m.* | ELISA | ↑ bei 0,05/0,10 % |
| (Awaad *et al.* 2011) | 1/7/14/21/ 28/35 | HZW von *S. c.* | 0,20 | 7/10/14 | okulär, *s.c.* | HI-Test | ↑ d 7/28/35 |
| (Elrayeh und Yildiz 2012) | 26/42 | β-Glucan von *S. c.* | 0,014 | 10/26 | spray | HI-Test | → |
| (Gómez Verduzco *et al.* 2009a) | 17/24 | HZW von *S. c.* | 0,05 | 10 | okulär, *s.c.* | HI-Test | ↑ |
| (Gómez Verduzco *et al.* 2009b) | 17/20 | HZW von *S. c.* | 0,05 | 10 | okulär, *s.c.* | HI-Test | ↑ |
| (Ghosh *et al.* 2012) | 5/21/42 | HZW von *S. c.* | 0,10 | 5/22 | okulär, *s.c.* | ELISA | ↑ d 42 |
| (Houshmand *et al.* 2012) | 42 | MOS von *S. c.* | 0,20 St. - 0,10 Em. | 7/21 | okulär | ELISA | → |
| (Li *et al.* 2012) | 14/28/42 | HZW von n.a. | 0,20 | 7/21 | *i.m.* | HI/HA-Test | ↑ d 28/42 |
| (Mehdi und Hasan 2012) | 7/14/21/ 35/42 | MOS von *S. c.* | 0,10/0,20/0,30 | 10 | okulär | HI-Test | ↑ d 21/35 |
| (Mogadam und Azizpour 2011) | 21/28/25/ 42 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | 1/10/21 | oral, okulär | HI-Test | ↑ d 42 bei 0,10 % |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HA = Hämagglutination; HI = Hämagglutination-Inhibition; HZW = Hefezellwand; *i.m.* = intramuskulär; MOS = Mannanoligosaccharide; n.a. = nicht angegeben; St. = Starterfutter; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*. *s.c.* = subkutan; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall.

.

**Tabelle 9:** NDV-Antikörpertiter von Masthühnern nach Zusatz von Hefebestandteilen

| | | | | | | | Immunologischer Status |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Referenz | Alter [d] | Präparat | Dosierung [%] | Impfung [d] | Applikation | Analyse | NDV-Antikörpertiter |
| (Morales-López *et al.* 2009) | 23/36 | HZW von *S. c.* | 0,05 | 9 | oral | HI-Test | → |
| | 23/36 | MOS von *S. c.* | 0,0095 | 9 | oral | HI-Test | → |
| | 23/36 | β-Glucan von *S. c.* | 0,0145 | 9 | oral | HI-Test | → |
| | 23/36 | MOS + β-Glucan von *S. c.* | 0,0095 + 0,0145 | 9 | oral | HI-Test | → |
| (Muthusamy *et al.* 2011) | 5/21/42 | HZW von *S. c.* | 0,10 | 5/22 | okulär, *s.c.* | ELISA | ↑ d 21/42 |
| (Oliveira *et al.* 2009) | 7/14/21/28/ 25/42 | MOS von *S. c.* | 0,10 St. - 0,05 Em. | 14 | oral | ELISA | ↑ d 21/28/35 |
| (Sadeghi *et al.* 2012) | 21/28/35/42 | MOS von *S. c.* | 0,05/0,10 | n.a. | n.a. | HI-Test | ↑ |
| (Sadeghi *et al.* 2013) | 21/42 | HZW von *S. c.* | 0,10 | 10/19/32 | oral, okulär | ELISA | → |
| (Santin *et al.* 2003) | 7/18/25/35 | HZW von *S. c.* | 0,20 | 21 | okulär | HI-Test | → |
| (Shafey *et al.* 2001) | 7/14/21/28/ 35 | MOS von *S. c.* | 0,15/0,30 | 1/14 | spray, *s.c.*, oral | ELISA | → |
| (Shahir *et al.* 2014) | 28/42 | MOS von *S .c.* | 0,10 | 21/35 | okulär, *s.c.* | HI-Test | → |
| (Silva *et al.* 2009) | 7/14/21/28/ 35/42 | MOS von *S. c.* | 0,15* | 8 | okulär | HI-Test | → |
| (Vancraeynest *et al.* 2007) | 35 | MOS/β-Glucan von *S. c.* | 0,05/0,10 | 13/26 | oral | n.a. | ↑ Trend |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HI = Hämagglutination-Inhibition; HZW = Hefezellwand; MOS = Mannanoligosaccharide; n.a. = nicht angegeben; St. = Starterfutter; *S. c.* = *Saccharomyces cerevisiae*. *s.c.* = subkutan; →/↑/↓ = keine signifikanten Veränderungen/signifikanter Anstieg/signifikanter Abfall; *d 1-7.

## 2.7 Zootechnische Parameter

Die Effekte auf die zootechnischen Parameter von Masthühnern in Fütterungsversuchen mit Hefezellwandbestandteilen variieren. In zwei Metaanalysen konnte gezeigt werden, dass der Einsatz von zwei verschiedenen Hefezellwandpräparaten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* eine Verbesserung der Lebendmasse, der Futterverwertung und eine geringere Mortalität bei Masthühnern im Gegensatz zu unsupplementierten Tieren zur Folge hatte und äquivalente Ergebnisse im Hinblick auf antibiotisch wirksame Leistungsförderer lieferte (Hooge 2004, Hooge und Conolly 2011). Demgegenüber konnte in anderen Studien kein leistungssteigernder Effekt beobachtet werden (Hofacre *et al.* 2003, McCann *et al.* 2006, Elmusharaf *et al.* 2007, Yalçinkaya *et al.* 2008, Houshmand *et al.* 2012).

In der Literatur (siehe 2.4 und 2.6) werden mehrere Wirkungsweisen der Hefezellwandbestandteile, die zu einer Leistungssteigerung führen können, aufgeführt. Die Verteilung und Aktivität enterischer Bakterien (Kim *et al.* 2011, Muthusamy *et al.* 2011, Ghosh *et al.* 2012), histologische Veränderungen an der Darmschleimhaut (Santin *et al.* 2001, Zhang *et al.* 2005, Solis de los Santos *et al.* 2007, Muthusamy *et al.* 2011, Reisinger *et al.* 2012) oder ein verbesserter Immunstatus der Tiere (Basmacıoglu *et al.* 2005, Vancraeynest *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2008, Gómez Verduzco *et al.* 2009a, Gómez Verduzco *et al.* 2009b, Muthusamy *et al.* 2011) können die zootechnischen Leistungen verbessern, wobei zu hohe Dosierungen von Hefeprodukten als auch der Einsatz unter hohen hygienischen Standards zu Einbußen in der Leistung durch eine Überstimulation des Immunsystems führen können (Huff *et al.* 2006, Gao *et al.* 2008). Andererseits konnte in einer Fütterungsstudie mit einem MOS-Produkt trotz einer erhöhten Laktobazillenpopulation sowie einer reduzierten *Escherichia coli* Besiedlung in den Caeca keine Verbesserung der Leistungsparameter bei den Masthühnern erreicht werden (Baurhoo *et al.* 2007). Eine erhöhte Bakterienbesiedlung kostet Energie, die dem Wirt für eigene Stoffwechselprozesse nicht zur Verfügung steht.

## 2.8 Versuchsziel und Fragestellung

Die Literaturübersicht veranschaulicht, dass der Zusatz von Hefezellwandbestandteilen eine Möglichkeit darstellt, positive Wirkungen auf die Darmgesundheit, das Immunsystem, die Verdaulichkeit von Nährstoffen und auf die zootechnischen Leistungen von Masthühnern auszuüben, wobei die Ergebnisse uneinheitlich sind. Die Effektivität der verschiedenen Hefezellwandpräparate hängt neben den Aufzuchtbedingungen der Tiere von der genetischen Herkunft, dem Herstellungsprozess, der Dosierung sowie der Art und Dauer der Applikation ab. Die eigene Fütterungsstudie wurde demnach mit den Zielen durchgeführt:

1. Eine wirksame Dosierungsangabe des Hefezellwandproduktes für Masthühner
2. Eine mögliche Dosis-Wirkungsbeziehung durch konstante Intervalle ab 1000 ppm
3. Effekte des Hefezellwandproduktes auf die zootechnische Leistung der Tiere
4. Effekte des Hefezellwandproduktes auf die Besiedlung und Stoffwechselaktivität der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern
5. Effekte des Hefezellwandproduktes auf die pH-Werte der Digesta im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern
6. Effekte des Hefezellwandproduktes auf die ileale Verdaulichkeit der Nährstoffe bei Masthühnern
7. Effekte des Hefezellwandproduktes auf das angeborene sowie erworbene Immunsystem von Masthühnern

zu ermitteln.

# 3 Material und Methoden

Der Versuch erfolgte am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin in Deutschland im Rahmen der Genehmigungsnummer A 0100/13.

## 3.1 Versuchstiere

Für die Untersuchung wurden insgesamt 669 männliche Eintagsküken von einer kommerziellen Brüterei (Cobb Germany Avimex GmbH, Wiedemar, Deutschland) eingesetzt. Es wurden zwei Mastdurchgänge konsekutiv mit 340 und 329 Tieren durchgeführt. Die Dauer der Mastperiode betrug 35 Tage.

## 3.2 Haltungsbedingungen

Die Haltung der Tiere erfolgte in einem Stallraum mit 20 einzelnen Bodenboxen (175 cm x 120 cm). Die Boxen wurden mit Weichholzspänen eingestreut (GOLDSPAN®, Brandenburg Unternehmensgruppe, Goldenstedt, Deutschland). Beim Einstallen betrug die Raumtemperatur 33°C und wurde wöchentlich um 3°C bis auf 24°C reduziert. In den ersten sieben Tagen der Mastperiode wurden zusätzlich Rotlichtlampen eingesetzt. Ein Lichtprogramm gewährleistete 24 Stunden Licht in den ersten drei Tagen sowie eine 16-stündige Licht- und achtstündige Dunkelphase bis zum Ende der Mastperiode. Die Tiere wurden täglich von einem Veterinärmediziner in Augenschein genommen. Den Tieren stand zu jeder Zeit frisches Wasser in Form von fünf Nippel- und einer zusätzlichen Stülptränke (d 1 - 9) pro Box zur Verfügung (Siepmann GmbH, Herdecke, Deutschland). Die Fütterung erfolgte *ad libitum* über Futterteller und Futterautomaten (Siepmann GmbH, Herdecke, Deutschland).

## 3.3 Versuchsfutter und Fütterung

Als Basisdiät wurde den Tieren ein Starter- (d 1 - 14) sowie ein Mast-/Endmastfutter (d 15 - 35) gefüttert (Tabelle 10). Eine der fünf Versuchsgruppen stellte die Kontrollgruppe (0 % Zusatz) dar, während den weiteren vier Versuchsgruppen das Produkt Immunowall® in aufsteigenden Konzentrationen von 0,05 %, 0,10 %, 0,20 % und 0,30 % in dem Starter- sowie Mast-/Endmastfutter zugesetzt wurde. Bei dem Produkt Immunowall® handelt es sich nach Herstellerangaben (ICC, São Paulo, Brasilien) um ein Hefezellwandprodukt der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Die verwendete Flüssighefe stammt aus einer Zuckerrohr-Ethanol-Vergärung. Im Anschluss wird die durch Zentrifugation gewonnene Zellwandfraktion aufgereinigt, evaporisiert und sprühgetrocknet. Allen Mast-/Endmastfuttermischungen wurden außerdem 0,50 % Titandioxid ($TiO_2$) (Titan(IV)-oxid, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) zugesetzt, welches als Marker für die Verdaulichkeitsanalyse

genutzt wurde. Die Diäten wurden den Tieren in trockener und pelletierter Form vorgelegt. Der Pelletdurchmesser lag bei 2 mm. Die Länge variierte zwischen 0,5 mm (Starterfutter) und 1,5 mm (Mast-/Endmastfutter).

**Tabelle 10:** Futterzusammensetzung der Versuchsdiäten

| | Hefezellwandprodukt | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | | 0,05 % | | 0,10 % | | 0,20 % | | 0,30 % | |
| **Futtermittel [%]** | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. |
| Sojaextraktionsschrot (Rohprotein 45 %) | 36,2 | 28,2 | 36,2 | 28,2 | 36,2 | 28,2 | 36,1 | 28,1 | 36,1 | 28,1 |
| Weizen | 35,9 | 40,5 | 35,8 | 40,4 | 35,8 | 40,4 | 35,7 | 40,3 | 35,6 | 40,3 |
| Mais | 15,7 | 17,9 | 15,7 | 17,9 | 15,7 | 17,9 | 15,7 | 17,9 | 15,7 | 17,9 |
| Sojaöl | 7,91 | 8,60 | 7,93 | 8,60 | 7,95 | 8,63 | 7,96 | 8,63 | 8,00 | 8,65 |
| Kalk | 1,45 | 1,53 | 1,45 | 1,53 | 1,45 | 1,53 | 1,45 | 1,53 | 1,45 | 1,53 |
| Monokalziumphosphat | 1,42 | 1,08 | 1,42 | 1,08 | 1,42 | 1,08 | 1,42 | 1,08 | 1,42 | 1,08 |
| Prämix* | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,20 |
| DL-Methionin | 0,20 | 0,28 | 0,20 | 0,28 | 0,20 | 0,28 | 0,20 | 0,28 | 0,20 | 0,28 |
| L-Lysin-HCL | 0,06 | 0,19 | 0,06 | 0,19 | 0,06 | 0,19 | 0,06 | 0,19 | 0,06 | 0,19 |
| L-Threonin | . | 0,08 | . | 0,08 | . | 0,08 | . | 0,08 | . | 0,08 |
| $TiO_2$ | . | 0,50 | . | 0,50 | . | 0,50 | . | 0,50 | . | 0,50 |
| $ME_N$ [MJ/kg]** | 12,6 | 13,0 | 12,6 | 13,0 | 12,6 | 13,0 | 12,6 | 13,0 | 12,6 | 13,0 |

Em. = Mast-/Endmastfutter; St. = Starterfutter
*Vitamin- und Mineralstoffmischung je kg Prämix: 400000 I.E. Vitamin A, 40000 I.E. Vitamin $D_3$, 8000 mg Vitamin E (α-Tocopherolacetat), 300 mg Vitamin $K_3$, 250 mg Vitamin $B_1$, 250 mg Vitamin $B_2$, 2500 mg Nikotinsäure, 400 mg Vitamin $B_6$, 2000 µg Vitamin $B_{12}$, 25000 µg Biotin, 1000 mg Pantothensäure, 100 mg Folsäure, 80000 mg Cholinchlorid, 5000 mg Zinkoxid, 2000 mg Eisencarbonat, 6000 mg Manganoxid, 1200 mg Kupfersulfatpentahydrat, 45 mg Kalziumiodat, 30 mg Kobalt(II)sulfatheptahydrat, 35 mg Natriumselenit, 130 g Natriumchlorid, 55 g Magnesiumoxid. **geschätzt nach Gleichung (WPSA 1984).

## 3.4 Versuchsdurchführung

Im ersten Versuchsdurchgang wurden 18 Boxen mit je 17 Tieren randomisiert eingestallt. In die restlichen zwei Boxen wurden elf bzw. zwölf männliche Eintagsküken eingestallt. Im zweiten Mastdurchgang wurden alle 20 Boxen mit jeweils 17 Tieren besetzt. Pro Versuchsdurchgang wurden jeweils vier von den insgesamt 20 Boxen randomisiert mit Tieren mit derselben Versuchsdiät besetzt (Kontrollgruppe, Versuchsgruppe 0,05 %, Versuchsgruppe 0,10 %, Versuchsgruppe 0,20 %, Versuchsgruppe 0,30 %). Vor dem Einstallen wurden das Gruppengewicht und die Tieranzahl jeder einzelnen Box ermittelt. Die Lebendmasse und der Futterverbrauch der Tiere wurden wöchentlich und boxenweise ermittelt und protokolliert. Die Mortalität wurde täglich erfasst. Am 21. Lebenstag erfolgte eine Impfung der Tiere mit einem Impfstoff gegen die Newcastle-Krankheit (AviPro ND Lasota, Lohmann Animal Health GmbH, Cuxhaven) oral über das Tränkwasser mit Hilfe von Stülptränken. Dabei wurde den Tieren zwei Stunden zuvor das Tränkwasser entzogen, um eine optimale Wasseraufnahme zu gewährleisten.

## 3.5 Probengewinnung und Sektionsgang

Am Morgen vor der Impfung (21. Lebenstag) sowie sieben und 13 Tage (28. Lebenstag sowie 34. Lebenstag) nach der Impfung wurde jeweils einem nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Tier pro Box Blut für:

- den Nachweis von Antikörpern gegen das NDV
- die Bestimmung der Phagozytoseaktivität der Monozyten
- die Quantifizierung der Heterophilen, Monozyten, Lymphozyten, T- und B-Zellen

entnommen. Einem weiteren Tier pro Box wurde zusätzlich Blut für den Nachweis von Antikörpern gegen das NDV im Serum abgenommen. Nach der ersten Blutentnahme wurden die Tiere zur Identifizierung mit Ringen am Ständer (Spiralringe 18 mm Ø, Siepmann GmbH, Herdecke, Deutschland) markiert. Die beringten Tiere wurden in den Folgewochen erneut für die Blutentnahmen ausgewählt. Am 35. Lebenstag wurde jeweils ein Tier pro Box gewogen, betäubt und durch zervikale Dislokation getötet. Die Boxenwahl erfolgte randomisiert. Die Karkassen wurden direkt nach der Tötung zerlegt und seziert. Zunächst wurde der Gastrointestinaltrakt exklusive des Kropfes sowie der Mägen aus dem Tierkörper exenteriert und vollständig auf dem Sektionstisch ausgebreitet. Aus dem Kropf, den distalen zwei Dritteln des Ileums sowie aus der Mitte der Caeca wurde Digesta in 15 ml-Plastikgefäße (Greiner Röhrchen, Greiner Bio One GmbH, Frickhausen, Deutschland) sowie 2 ml-Plastikgefäße (Safe-Lock Tube 2 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) abgefüllt. Dabei konnte bei einigen Tieren nicht genügend Kropf- und Caecainhalt für die weiteren Analysen gewonnen werden. Digesta aus dem mittleren Duodenumabschnitt wurde mit einem Mixstab (Roti®-Speed Rührer, Aufsatz 7 mm Ø und 90 mm Länge, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) homogenisiert und dann in ein 2 ml-Plastikgefäß überführt. Alle Proben wurden direkt bei -20°C beziehungsweise die Proben für die quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) bei -80°C nach der Probenentnahme eingefroren und dort bis zu den Analysen aufbewahrt. Die Milz, der Thymus und die *Bursa Fabricii* wurden aus dem Tierkörper herausgelöst, vorsichtig vom umliegenden Fettgewebe befreit und gewogen (Laborwaage Kern 440-47N, Kern und Sohn GmbH, Balingen, Deutschland). Weitere fünf Tiere pro Box wurden am 36. Lebenstag zur Bestimmung der ilealen Verdaulichkeit betäubt und durch zervikale Dislokation getötet. Das Ileum wurde am Meckel´schen Divertikel sowie am ileo-caecalen Übergang abgetrennt und Digesta aus den terminalen zwei Dritteln des Ileums gewonnen. Der Ileuminhalt von den fünf Tieren pro Box wurde in ein 50 ml-Plastikgefäß (Greiner Röhrchen, Greiner Bio One GmbH, Frickhausen, Deutschland) abgefüllt, gewogen (Analysewaage Typ Genius, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) und direkt im Anschluss bei -20°C eingefroren.

## 3.6 Futtermitteluntersuchung

Für die Futtermitteluntersuchung wurde das pelletierte Futter vor der Analyse auf eine Größe von 0,50 mm gemahlen und danach in Doppelbestimmung analysiert. Die verwendeten Geräte und Chemikalien für die Futteruntersuchung sind im Anhang (Tabelle 28) aufgelistet.

### 3.6.1 Rohnährstoffe

Die Rohnährstoffgehalte der Versuchsdiäten sowie des Produktes Immunowall® wurden nach den Vorschriften der Weender-Analyse entsprechend der Empfehlungen der VDLUFA, Methodenbuch III (Naumann und Bassler 2012) ermittelt.

### 3.6.2 Mineralstoffe und Spurenelemente

Probenvorbereitung

Es wurde ca. 1 g der gemahlenen Futtermischungen sowie des Produktes Immunowall® in einen Porzellantiegel eingewogen und über Nacht im Muffelofen verascht. Nach dem Abkühlen im Exsikkator wurde den Proben 6 ml Salzsäure (37 %) und 20 ml destilliertes Wasser zugegeben. Im Anschluss wurden die Proben für 50 Minuten bei 250°C erhitzt und der Inhalt über einen Faltenfilter in einen 50 ml Messkolben überführt. Die Proben wurden bis zur vollständigen Analyse in 50 ml Polyethylen-Flaschen aufbewahrt.

Kalzium, Natrium, Magnesium, Kalium, Kupfer, Zink, Eisen und Mangan

Der Gehalt von Kalzium, Natrium, Magnesium, Kalium, Kupfer, Zink, Eisen und Mangan in der Aschelösung wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie ermittelt.

Phosphor

Die Bestimmung des Phosphorgehaltes erfolgte photometrisch. Dabei wurden 100 µl der Aschelösung mit 500 µl Nitrovanadatmolbydatreagenz vermischt und danach mit Reinstwasser auf 1,5 ml aufgefüllt. Die Lösung zum photometrischen Nachweis von Phosphor besteht aus Salpetersäure (65 %) und den P-Komplexbildnern Ammoniummolybdat sowie Ammoniummetavanadat. Der in der Probe enthaltene Phosphorgehalt reagiert in dem salpetersauren Milieu zu einem gelben Farbkomplex, dessen Extinktion photometrisch bei einer Wellenlänge von 436 nm gemessen wurde. Anhand der Kalibrierkurve konnte der Phosphorgehalt ermittelt werden.

### 3.6.3 Aminosäuren

Es wurden jeweils 500 mg gemahlenes Futter sowie des Produktes Immunowall® getrennt für die Bestimmung der Aminosäuren Methionin und Cystin sowie die übrigen Aminosäuren in eine 100 ml Schottflasche eingewogen. Den eingewogenen Proben wurden für die

Bestimmung von Methionin und Cystin 5 ml einer Oxidationslösung (Lösung A) zugesetzt. Nach 24 Stunden Kühlung bei 4°C wurde der Oxidationsprozess durch die Zugabe von 0,9 g Natriumdisulfit gestoppt. Danach wurde allen Proben 25 ml einer Hydrolyselösung (Lösung B) zugegeben. Die Hydrolysate wurden mit offenem Deckel bei 110°C für eine Stunde im Trockenschrank getrocknet, damit das entstehende Chlorgas entweichen konnte. Im Anschluss wurden die Proben bei geschlossenem Deckel für 23 Stunden im Trockenschrank weiter getrocknet. Es folgte die Zugabe von 20 ml Natronlauge (7,5 mol/L) sowie das Auffüllen der Lösung mit Citratpuffer (Einstellung der Hydrolysate auf pH-Wert 2,20). Zum Schluss wurden 2 ml der Lösung über eine Membran filtriert.

| Lösung A: Oxidationslösung | | |
|---|---|---|
| Wasserstoffperoxid (30 %) | 0,50 | ml |
| Ameisensäure (88 %) | 4,50 | ml |

| Lösung B: Hydrolyselösung | | |
|---|---|---|
| Salzsäure (37 %) | 492 | ml |
| Reinstwasser ad | 1000 | ml |

Der Gehalt der Aminosäuren wurde mit Hilfe eines Aminosäurenanalysators über eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ermittelt. Die einzelnen Aminosäuren wurden dabei über ein Natriumcitrat-Puffersystem mit verschiedenen pH-Werten und verschiedenen Säulentemperaturen in einer Lithiumsäule aufgetrennt. Danach wurden die Aminosäuren mit Ninhydrin angefärbt. Die Gehalte von Prolin und Hydroxyprolin wurden bei einer Wellenlänge von 440 nm, die restlichen Aminosäuren bei einer Wellenlänge von 570 nm gemessen.

### 3.6.4 Stärke

Die Bestimmung des Stärkegehaltes im Futter erfolgte mit einem enzymatischen Test nach Herstellerangaben (UV-Test Stärke, R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland). Zuvor wurden 100 mg Probenmaterial in 20 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) und 5 ml Salzsäure (8 M HCl) gelöst, um die Stärke in eine lösliche Form zu überführen. Durch die Zugabe von 5 ml Natronlauge (8 M NaOH) und das Auffüllen mit Citratpuffer (Lösung aus Citronensäurelösung (0,112 M = 11,7678 g/L) und Natriumcitratlösung (0,112 M = 16,4696 g/L)) entfiel eine pH-Wert-Einstellung. Danach spaltet das zugegebene Enzym Amyloglucosidase Stärke zu D-Glucose. Über weitere enzymatische Reaktionen entsteht D-Gluconat-6-phosphat sowie reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADPH). Dabei ist die gebildete NADPH-Menge proportional zu der durch Hydrolyse der Stärke gebildeten D-Glucose, dessen Extinktion bei 340 nm photometrisch bestimmt wurde. Anhand einer Kalibrierreihe wurde dann daraus der Stärkegehalt errechnet.

### 3.6.5 Gesamtzucker

Der Gesamtzuckergehalt der Versuchsdiäten wurde von der LUFA-ITL GmbH (Kiel, Deutschland) gemäß VDLUFA, Methodenbuch III 7.1.1 ermittelt (Naumann und Bassler 2012).

### 3.6.6 Glucan-, (1→3), (1→6)-β-D-Glucan- und Mannangehalt

Der Gesamtglucan- sowie der Mannangehalt des Produktes Immunowall® wurde von dem externen Labor MQD Institut für Analytik und Hygiene (MQD Qualitätsprüfungs- und Dienstleistungsgesellschaft Mecklenburg-Vorpommern mbH, Güstrow, Deutschland) mittels Hydrolyse mit Trifluoressigsäure und über die enzymatische Bestimmung von Glucose und Mannose ermittelt. Der (1→3), (1→6)-β-D-Glucangehalt wurde im Anschluss nach zusätzlicher enzymatischer Bestimmung der Stärke rechnerisch ermittelt.

### 3.6.7 Keimzahl-, Schimmelpilz- und Hefegehalt

Der Keimzahl-, der Schimmelpilz- und Hefegehalt der Versuchsdiäten und des Produktes Immunowall® wurde von der LUFA-ITL GmbH (Kiel, Deutschland) gemäß VDLUFA, Methodenbuch III 28.1.2 ermittelt (Naumann und Bassler 2012).

## 3.7 Zootechnische Parameter

### 3.7.1 Futteraufnahme und Futteraufwand

Die Ermittlung der durchschnittlichen Futteraufnahme pro Box erfolgte einmal pro Woche durch die Futtereinwaage, die Rückwaage des verbliebenen Futters sowie die Ermittlung der Tieranzahl in der Box (DE Plattformwaage DE12K1N, Kern und Sohn GmbH, Balingen, Deutschland). Dabei wurden die verstorbenen Tiere pro Versuchstag bei der Kalkulation berücksichtigt. Danach erfolgte rechnerisch die Erhebung des Futteraufwandes anhand folgender Formel:

$$\text{Mittlerer Futteraufwand} = \frac{\text{Mittlere Futteraufnahme [g]}}{\text{Mittlere Lebendmassezunahme [g]}}$$

### 3.7.2 Lebendmassezunahme

Die Tiere aus jeder Box wurden beim Einstallen und während der Versuchszeit einmal pro Woche gewogen (DE Plattformwaage DE12K1N, Kern und Sohn GmbH, Balingen, Deutschland). Die mittlere Lebendmasse wurde durch die wöchentliche Wiegung und Zählung der Tiere pro Box ermittelt. Die mittlere Lebendmassezunahme wurde dann rechnerisch mit Hilfe der Lebendmassedaten ermittelt.

### 3.7.3 Mortalitätsrate

Die Mortalität wurde täglich erfasst und protokolliert. Die Mortalitätsrate nach der 35-tägigen Mastperiode wurde rechnerisch wie folgt ermittelt:

$$\text{Mortalitätsrate [\%]} = \frac{\text{(Anzahl verstorbener Tiere/Versuchsdiät nach 35 Tagen) x 100}}{\text{Anzahl eingestallter Tiere/Versuchsdiät}}$$

## 3.8 Verdauungsphysiologische Parameter

### 3.8.1 pH-Wert der Digesta

Der pH-Wert wurde in der Digesta von Kropf, Ileum und den Caeca mit Hilfe einer pH-Einstichelektrode ermittelt. Die genutzten Geräte und Chemikalien sind im Anhang (Tabelle 29) aufgelistet.

### 3.8.2 Trockensubstanzgehalt der Ileumdigesta

Die Proben wurden direkt aus der Kühlung für fünf Tage mit Hilfe eines Vakuumgefriertrockners getrocknet und erneut gewogen. Nach Abzug der Leergewichte der Plastikgefäße wurde anhand folgender Formel der prozentuale Trockensubstanzgehalt errechnet:

$$\text{\% TS} = \frac{\text{gefriergetrocknete Auswaage}}{\text{frische Einwaage}} \text{ x } 100$$

Die verwendeten Geräte sind im Anhang (Tabelle 29) aufgeführt.

### 3.8.3 Praecaecale Verdaulichkeit der Nährstoffe

Geräte und Chemikalien, die für die Bestimmung der praecaecalen Verdaulichkeit verwendet wurden, sind im Anhang (Tabelle 29) aufgelistet. Die Analysen erfolgten in Einfachbestimmung. Für die Messung des $TiO_2$ wurden die gefriergetrockneten vereinigten Proben aus dem Ileum (siehe 3.8.2) auf eine Größe von 0,50 mm gemahlen und ca. 100 mg in ein Glasaufschlussröhrchen eingewogen. Die Proben wurden dann in 10 ml Schwefelsäure mit einem Kjeldahlkatalysator (halbe Tablette) unter Zusatz von 2 - 3 Siedesteinchen für 110 Minuten bei 420°C aufgeschlossen. Nach dem Abkühlen der Proben wurden diese mit destilliertem Wasser in auf Eis gelagerte Messkolben überführt. Die Messkolben wurden dann mit destilliertem Wasser auf 25 ml aufgefüllt und nach dem vollständigen Abkühlen die Hälfte der Lösung in ein weiteres Probengefäß durch einen Rundfilter filtriert. Vor der

Messung wurden die Probenlösungen mit 200 µl Wasserstoffperoxid versetzt und im Anschluss die Extinktion der Gelbanteile bei 410 nm in einem Spektralphotometer gemessen.

Berechnung der Verdaulichkeiten

Die scheinbare ileale Verdaulichkeit wurde für die Inhaltsstoffe Rohprotein, Rohfett und Stärke erhoben (Messmethoden siehe 3.6.1 und 3.6.4). Die Inhaltsstoffe von Digesta und Futter wurden mit den $TiO_2$-Gehalten der Poolprobe und des Futters über folgende Formel in Beziehung gesetzt:

$$\text{Verdaulichkeit [\%]} = 100 - \frac{TiO_2\text{-Gehalt}_{\text{Futter}}\,[g/kg]}{TiO_2\text{-Gehalt}_{\text{Digesta}}\,[g/kg]} \times \frac{\text{Nährstoff}_{\text{Digesta}}\,[g/kg]}{\text{Nährstoff}_{\text{Futter}}\,[g/kg]} \times 100$$

## 3.9 Mikrobiologische Parameter

### 3.9.1 Bakterielle Metaboliten

Die Bestimmung der bakteriellen Metaboliten erfolgte in der Digesta von Kropf, Ileum und den Caeca in Einfachbestimmung.

L- und D-Laktat

Milchsäure wurde mittels einer HPLC bestimmt. Eine 2,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2-Propanol (Lösung A) diente als Fließmittel bei der Durchführung der HPLC. Die für die HPLC verwendeten Chemikalien und Geräte sind im Anhang (Tabelle 30) aufgelistet.

Probenaufarbeitung für die Quantifizierung von L-/D-Laktat

Zunächst wurden ca. 500 mg Digesta eingewogen, 1 ml einer 0,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung (Lösung B) zum Aufschlemmen zugegeben und für zehn Minuten auf einem Schüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Die anschließende Proteinfällung erfolgte durch den Zusatz von je 100 µl Carrezlösung I und II (Lösung C und D). Nach jeder Zugabe wurden die Proben geschüttelt und für zehn Minuten bei Raumtemperatur bei 14000 x *g* zentrifugiert. Der Überstand der Proben wurde mit einer 2 ml-Injektionspritze aufgenommen, durch einen sterilen Cellulose-Acetatspritzenvorsatzfilter in ein neues 2 ml-Plastikgefäß überführt und anschließend mit einer 0,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung verdünnt. Der Gehalt an D- und L-Laktat wurde durch Integrierung der Flächen der Chromatogramme ermittelt.

Probenextraktionsverdünnungen mit 0,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung

Kropf
1:10 Verdünnung: 100 µl Probe und 900 µl Kupfer-II-Sulfat-Lösung

Ileum
1:5 Verdünnung: 200 µl Probe und 800 µl Kupfer-II-Sulfat-Lösung

Caeca
1:2,5 Verdünnung: 200 µl Probe und 300 µl Kupfer-II-Sulfat-Lösung

Herstellung der Lösungen

Lösung A: 2,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2-Propanol

| | | |
|---|---|---|
| Kupfer-II-Sulfat | 399 | mg |
| 2-Propanol | 50,0 | ml |
| Reinstwasser ad | 1000 | ml |

Lösung B: 0,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung

| | | |
|---|---|---|
| Kupfer-II-Sulfat | 79,8 | mg |
| Reinstwasser ad | 1000 | ml |

Lösung C: Carrez I

| | | |
|---|---|---|
| Zinkchlorid | 17,0 | g |
| Reinstwasser | 100 | ml |

Lösung D: Carrez II

| | | |
|---|---|---|
| Kaliumhexacyanoferrat (II) | 15,0 | g |
| Reinstwasser | 100 | ml |

Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren

Der Gehalt an kurzkettigen flüchtigen Fettsäuren in der Digesta wurde mittels Gaschromatographie (GC) ermittelt. Die verwendeten Chemikalien und Geräte sind im Anhang (Tabelle 31) aufgeführt. Es wurden ca. 300 mg Digesta eingewogen und mit 1 ml einer Verdünnungslösung (Lösung B aus Lösung A hergestellt) versetzt, die 0,5 mM Hexansäure als internen Standard enthielt. Als externer Standard wurde eine Mischung kurzkettiger Fettsäuren verwendet (Lösung C). Nach dem Mischen wurden die Proben für eine Stunde auf dem Rüttler geschüttelt und danach für acht Minuten bei 16000 x *g* bei Raumtemperatur zentrifugiert. Der klare Überstand wurde sodann nochmals mit der Verdünnungslösung in GC-Probengefäßen verdünnt. Zur Trennung der flüchtigen Fettsäuren in den Proben wurde eine Säule verwendet. Als Trägergas diente Wasserstoff. Die Fettsäuregehalte wurden durch Integrierung der Flächen der Chromatogramme ermittelt.

Herstellung der Lösungen

Lösung A: Stammlösung 10 mmol/l

| | | |
|---|---|---|
| Hexansäure | 250 | µl |
| Oxalsäure-Dihydrat | 2,00 | g |
| Reinstwasser ad | 200 | ml |

Lösung B: Probenverdünnungslösung 0,5 mmol/l

| | | |
|---|---|---|
| Stammlösung | 50,0 | ml |
| Oxalsäure-Dihydrat | 10,0 | g |
| Reinstwasser ad | 1000 | ml |

Lösung C: Standardlösung 0,5 mmol/l kurzkettige Fettsäuren

| | | |
|---|---|---|
| SULPECO Stammlösung 10 mmol/l | 50,0 | µl |
| Oxalsäure-Dihydrat | 10,0 | mg |
| Reinstwasser | 950 | µl |

Probenextraktionsverdünnungen

Kropf und Ileum
1:2 Verdünnung: 400 µl Probe und 400 µl Probenverdünnungslösung

Caeca
1:10 Verdünnung: 100 µl Probe und 900 µl Probenverdünnungslösung

Bestimmung von Ammonium

Der quantitative Nachweis von Ammonium erfolgte nach dem Prinzip der Berthelot-Reaktion. Dabei reagiert im basischen Milieu (pH = 13) vorliegendes Ammoniak mit Hypochlorit und Thymol über mehrere Reaktionsschritte zum blaugefärbten Indolphenol, dessen Konzentration über die Extinktion photometrisch bestimmt wird. Im Anhang (Tabelle 32) sind die verwendeten Chemikalien und Geräte aufgeführt.

Probenaufarbeitung

Es wurden ca. 500 mg Digesta eingewogen, 1 ml kalte 100 mM MOPS-Lösung (3-(N-Morpholino)-2hydroxypropansulfonsäure) zugesetzt, homogenisiert und für zehn Minuten auf Eis gelagert. Im Anschluss wurden die Proben bei 17000 x *g* für zehn Minuten bei 4°C zentrifugiert und der Überstand in ein neues 2 ml-Plastikgefäß pipettiert. Die pH-Werte der Überstände wurden mit einer Mikro-pH-Elektrode kontrolliert.

Messung

Die photometrische Bestimmung erfolgte mit Hilfe von Mikrotiterplatten. Die Kalibrierreihen mit 1000 µM Ammoniumchloritlösung in 100 mM MOPS-Lösung wurden dabei jeden Tag neu angesetzt. Der Überstand der Proben aus dem Kropf wurde mit dem Faktor 10, die

Ileumproben mit dem Faktor 30 sowie die Probenüberstande aus den Caeca mit dem Faktor 50 mit MOPS-Lösung verdünnt. Danach wurden 20 µl der mit MOPS-Lösung verdünnten Probenüberstande mit 100 µl einer gebrauchsfertigen Phenol-Nitroprussid-Lösung sowie mit 100 µl einer 0,2 % Na-Hypochloritlösung durch Auf- und Abpipettieren vermischt. Es folgte eine Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur. Im Anschluss wurden die Proben im Photometer gemessen. Nach weiteren fünf Minuten Inkubationszeit wurde eine zweite Messung durchgeführt. Neben den Proben wurden zusätzlich ein Probenleerwert (20 µl Probe + 200 µl Verdünnungslösung), ein Reagenzienleerwert (20 µl Verdünnungslösung + je 100 µl Phenol-Nitroprussid-Lösung und 0,2 % Na-Hypochloritlösung) sowie ein Wert für die Verdünnungslösung (220 µl Verdünnungslösung) photometrisch bestimmt, um die Werte der Eigenfarbanteile der Reagenzien und der Verdünnungslösung zu erhalten. Diese fanden in der Berechnung des Ammoniumgehaltes im Extrakt Berücksichtigung. Die Konzentration an Ammonium wurde anhand einer Kalibriergeraden bestimmt und mit Hilfe der Probeneinwaagen als µmol/g angegeben.

Herstellung der Lösungen

Verdünnungsmedium: 100 mM MOPS-Lösung

| | | |
|---|---|---|
| MOPS | 2,09 | g |
| Reinstwasser | 100 | ml |

Standardstammlösung: 1000 µM Ammoniumchlorit-Lösung

| | | |
|---|---|---|
| 100 mM Ammoniumchlorid-Lösung | 535 | mg |
| 100 mM MOPS-Lösung | 10,0 | ml |

Im Anschluss erfolgte eine zweimalige 1:10 Verdünnung, um eine 1000 µM Endkonzentration zu erlangen.

### 3.9.2 Quantifizierung von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. mittels qPCR

Die qPCR erfolgte mit DNA-Extrakten aus Digestaproben von Kropf, Ileum und den Caeca in Einfachbestimmung. Die verwendeten Chemikalien und Geräte sind im Anhang (Tabelle 33) erfasst.

DNA-Extraktion

Die Herstellung der DNA-Extrakte erfolgte mit dem QIAamp® DNAStool Mini Kit (50) nach Herstellerangaben (Quiagen Sample & Assay Technologies, Hilden, Deutschland). Eine Ausnahme bildete der Lyseschritt, der bei 90°C durchgeführt wurde, um den Aufschluss grampositiver Bakterien zu begünstigen. Die Nukleinsäureextrakte wurden bis zur weiteren Analyse bei -80°C aufbewahrt.

Bestimmung und äquimolare Einstellung der DNA-Konzentration der Extrakte

Der DNA-Gehalt der Extrakte wurde fluorometrisch bestimmt. Für den fluorometrischen Nachweis wurde eine 200 ng/ml konzentrierte Arbeitslösung bestehend aus zuvor mit 1 x TNE Puffer verdünntem Fluoreszenzfarbstoff (100 µg/ml Hoechst Dye 33258) sowie 1 x TNE Puffer angesetzt. Der 1 x TNE-Puffer wurde aus 10 x TNE Puffer (29 ml Tris 1 M, 10 ml EDTA 0,2 M, 70 ml NaCl 5 M, ad 200 ml H2O, pH 7,4) und RNase-freiem Wasser hergestellt. Je nach vorhandener DNA-Konzentration wurden 2 µl mit 1 x TNE-Puffer verdünnte DNA-Extrakte sowie 2 µl Arbeitslösung auf das Fluorospektrometer aufgetragen und der DNA-Gehalt der Extrakte anhand einer zuvor mit Kalbsthymus DNA ermittelten Kalibrierreihe errechnet. Anschließend wurden die DNA-Konzentrationen der Extrakte für jeden Darmabschnitt mit RNase-freiem Wasser äquimolar eingestellt (Kropf = 3,97 µg/ml, Ileum = 0,15 µg/ml, Caeca = 6,02 µg/ml).

Prinzip und Durchführung der qPCR

Bei der qPCR lassen sich festgelegte Nukleotidsequenzen qualitativ nachweisen, indem spezifische Primer (Anhang - Tabelle 34) diesen DNA-Abschnitt eingrenzen. Der quantitative Nachweis erfolgt mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes SYBR®Green, der sich in die DNA einlagert und bei Anregung Licht emittiert. Durch Echtzeitverfolgung jedes einzelnen Zyklus der PCR kann ein cT-Wert (concentration threshhold) bestimmt werden, der direkt mit der Menge der eingesetzten Ziel-DNA korreliert. Als Quantifizierungsstandard dienten PCR Produkte (im Institut für Tierernährung hergestellt) mit bekannter Kopienzahl/ng DNA, anhand derer die Kopienzahl der Bakteriengruppen/g Feuchtmasse ermittelt wurde. Für die Durchführung der qPCR wurde je 1 µl der verdünnten DNA Extrakte und je 24 µl Reaktionslösung (Anhang - Tabelle 35) in ein PCR-Gefäß gegeben. Die Reaktionsbedingungen für die qPCR-Analysen sind im Anhang (Tabelle 36) aufgelistet. Die Auswertung der qPCR erfolgte mit dem Softwareprogramm MxPro QPCR Software (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Am Ende des PCR-Zyklus erfolgte zusätzlich eine Schmelzkurvenanalyse, um eine Differenzierung von spezifisch und unspezifisch gebildeten PCR-Produkten oder Primer-Dimeren zu erfassen, da jede dsDNA einen spezifischen Schmelzpunkt aufweist.

## 3.10 Immunologische Parameter

### 3.10.1 Intestinales IgA

Zunächst wurde Digesta aus dem mittleren Duodenumabschnitt mit einem Mixstab homogenisiert und dann in ein 2 ml-Plastikgefäß überführt. Durch das Homogenisieren wurde eine gleichmäßige Verteilung von intestinalem IgA gewährleistet. Die Bestimmung von intestinalem IgA erfolgte in Doppelbestimmung mit einem Enzymimmunoassay (Chicken IgA ELISA Quantitation Set, Bethyl Laboratories, Montgomery, USA). Dabei bindet das in der Probe vorkommende IgA an einen anti-chicken-IgA Antikörper, der seinerseits an eine feste Phase gebunden ist. In einem nächsten Schritt bindet ein mit einem Rezeptorenzym konjugierter anti-chicken-IgA Antikörper an den Analyten (IgA) in der Probe. Das im Folgeschritt zugegebene Substrat wird durch das Enzym umgesetzt und die Absorption gemessen, die in direkter Korrelation mit der Menge an IgA in der Testprobe steht. Aufgrund der Tatsache, dass das Testkit nicht für Digestaproben konzipiert ist, wurde in Vorversuchen eine adäquate Digestaverdünnung ermittelt. Ziel dabei war es, durch die Zugabe von Analyt (IgA) in unterschiedlich verdünnten Digestaproben (sogenanntes „spiken“) eine Wiederfindungsrate von 80 - 120 % zu ermitteln. Bei einer Digestaverdünnung von 1:1500 konnte bei den meisten der Testproben eine solche Wiederfindungsrate erreicht werden, sodass diese Verdünnung für die weiteren Analysen ausgewählt wurde. Die Chemikalien und Geräte, die für die Analyse verwendet wurden, sind im Anhang (Tabelle 37) aufgeführt.

Probenaufarbeitung

Nach dem Abmessen von 200 µl Duodenumdigesta wurde die Suspension mit PBS/Tween-Lösung (Lösung B) in gleichen Gewichtsanteilen verdünnt, 30 Minuten gerüttelt und danach für 30 Minuten bei 5.000 x *g* bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und in ein neues 2 ml-Plastikgefäß überführt. Die aufgearbeiteten Proben wurden bei -20°C über Nacht aufbewahrt. Dann wurden 100 µl ELISA-Coating-Lösung (Lösung C) pro Well auf die ELISA-Platte zugegeben, für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert und danach fünfmal mit einer Waschlösung gewaschen (Lösung D). Im Anschluss erfolgte die Zugabe von 200 µl ELISA-Blocking-Lösung (Lösung E) auf die ELISA-Platte, die dann über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt wurde.

Analysetag

Die aufgearbeiteten Proben wurden aufgetaut, nochmals gemischt und dann für 30 Minuten bei 5.000 x *g* bei 4°C zentrifugiert. Danach wurden 990 µl Verdünnungspuffer (Lösung F) und 10 µl Probenmaterial zur Herstellung einer 1:100 Verdünnung vermischt. Aus dieser Verdünnung wurden zur Herstellung der Endverdünnung von 1:1500 erneut 30 µl mit 420 µl Verdünnungspuffer angesetzt. Für die Herstellung einer Standardreihe wurde eine

Standardstammlösung (Lösung G) angesetzt und daraus die weiteren Standardkonzentrationen nach Herstellerangaben verdünnt. Nach erneutem Waschen der geblockten ELISA-Platte wurden nun je 100 µl verdünntes Probenmaterial sowie Standardlösungen pro Well auf die Platte pipettiert, 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und fünfmal gewaschen. Dann wurden 100 µl Meerrettich-Peroxidase konjugierte Detektionsantikörper-Lösung (Lösung I) auf die Platte zugegeben, eine Stunde unter Lichtschutz bei Raumtemperatur inkubiert und erneut fünfmal gewaschen. Als letztes wurden 100 µl TMB-Substrat-Lösung (3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine) zugegeben, für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und die Reaktion mit 100 µl ELISA-Stop-Lösung (Schwefelsäure 2 M) abgestoppt. Im Anschluss erfolgte die Messung der Absorption bei 450 nm im Mikrotiterphotometer. Die Berechnung vom IgA-Gehalt erfolgte anhand der Standardkurve.

Herstellung der Lösungen

Lösung A: Tris-gepufferte Kochsalzlösung

| | | |
|---|---|---|
| Tris-gepufferte Kochsalzlösung | 1 Packung | |
| Reinstwasser | 1000 | ml |

Lösung B: PBS/Tween-Lösung (0,3 % Tween 20/PBS)

| | | |
|---|---|---|
| PBS | 50,0 | ml |
| Tween 20 | 150 | µl |

Lösung C: ELISA-Coating-Lösung (1:100 Verdünnung)

| | | |
|---|---|---|
| Coating Antikörper aus Testkit | 120 | µl |
| Carbonat-Bicarbonat-Puffer (0,05 M) | 12,0 | ml |

Lösung D: Waschlösung (0,05 % Tween 20/Lösung A)

| | | |
|---|---|---|
| Lösung A | 1000 | ml |
| Tween 20 | 500 | µl |

Lösung E: ELISA-Blocking-Lösung (1 % BSA/Lösung A)

| | | |
|---|---|---|
| Lösung A | 100 | ml |
| BSA (bovines Serumalbumin) | 1,00 | g |

Lösung F: Verdünnungspuffer (0,05 % Tween 20/1 % BSA/Lösung A)

| | | |
|---|---|---|
| Lösung A | 100 | ml |
| Tween 20 | 50,0 | µl |
| BSA | 1,00 | g |

Lösung G: Standardstammlösung:

| | | |
|---|---|---|
| Referenzserum aus Testkit | 5,00 | µl |
| Verdünnungspuffer | 1,90 | ml |

Lösung H: Meerrettich-Peroxidase konjugierte Detektionsantikörper-Stammlösung (1:1000 Verdünnung)

| | | |
|---|---|---|
| HRP-Lösung aus Testkit | 1,00 | µl |
| Verdünnungspuffer | 999 | µl |

Lösung I: Meerrettich-Peroxidase konjugierte Detektionsantikörper Lösung (1:75 Verdünnung)

| | | |
|---|---|---|
| Meerrettich-Peroxidasepuffer-Stammlösung | 160 | µl |
| Verdünnungspuffer | 11840 | µl |

### 3.10.2 Immunorgangewichte

Zunächst wurde das Einzeltiergewicht vor der Tötung ermittelt (DE Plattformwaage DE12K1N, Kern und Sohn GmbH, Balingen, Deutschland). Danach wurden die Organe Thymus, Milz und *Bursa Fabricii* nach Präparation (siehe 3.5) gewogen (Waage Kern 440-47N, Kern und Sohn GmbH, Balingen, Deutschland). Die relativen Organgewichte wurden nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Relative Organgewichte [\%]} = \frac{\text{Organgewicht [g]}}{\text{Gesamtlebendmasse [g]}} \times 100$$

### 3.10.3 Quantifizierung von Zellgehalten im Vollblut

Durchflusszytometrische Untersuchung: Quantifizierung von Monozyten, Heterophilen, Lymphozyten, T-und B-Zellen

Für die Analyse wurde ca. 0,5 ml Blut aus der Flügelvene in ein EDTA-Röhrchen (EDTA KE/1.3, SARSTEDT AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen und vorsichtig invertiert. Im Anschluss wurden 200 µl EDTA-Blut in ein 0,5 ml Reaktionsgefäß überführt, 40 µl einer Fixierlösung (TransFix® Reagent, Life Technologies, Carlsbad, USA) zugegeben, bei Raumtemperatur gelagert und direkt an ein externes Labor (LMU München, Institut für Tierphysiologie, München, Deutschland) für die durchflusszytometrische Untersuchung verschickt.

### 3.10.4 Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut

Prinzip der Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie werden Zellen in einer Suspension hydrodynamisch fokussiert und dadurch einzeln durch einen Laserstrahl geleitet. Das dadurch entstehende Streulicht und gegebenenfalls Fluoreszenzsignale werden in verschiedenen Detektoren gesammelt. Das erzeugte charakteristische Vorwärtsstreulicht (forward scatter = FSC) ist ein Maß für die Beugung des Lichts und abhängig von der Größe der Zelle. Das Seitwärtsstreulicht (side scatter = SSC) ist ein Maß für die rechtwinklige Brechung des Lichts und abhängig von der

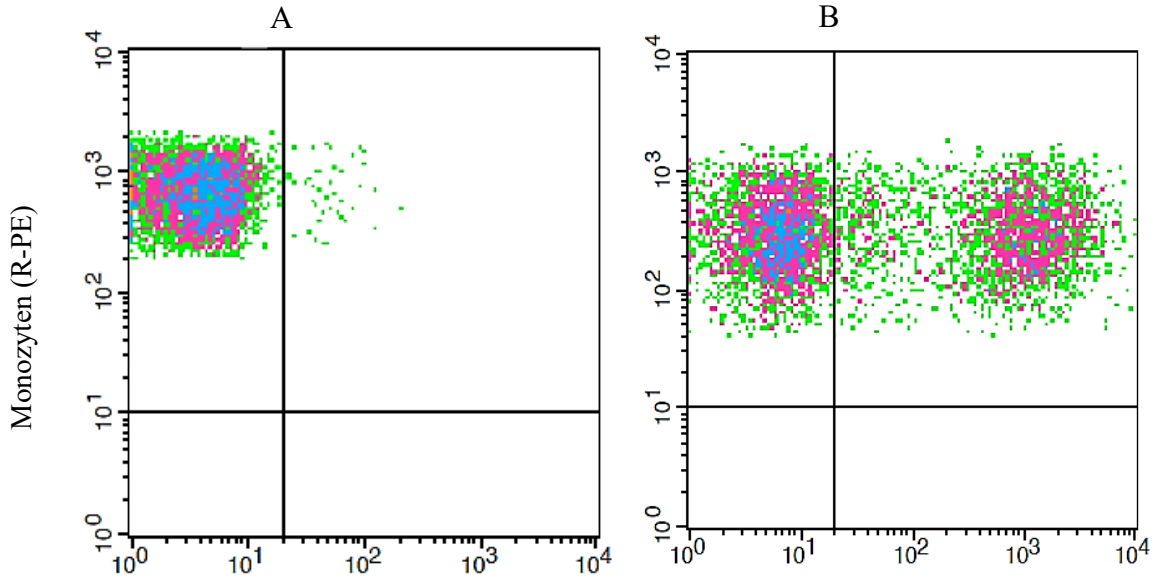
inneren Komplexität oder Granularität einer Zelle. Trifft das Laserlicht zudem auf Fluorochrome (z.B. über eine spezifische Antikörperbindung an die Zelle), werden diese dazu angeregt, Licht zu emittieren, welches ebenfalls in speziellen Detektoren aufgefangen wird. Die Fluoreszenzstärke steht in Abhängigkeit zu der Menge des gebundenen Antikörpers. Die Durchflusszytometrie ermöglicht so, mehrere Eigenschaften einer Zelle simultan zu erfassen.

Analyse

Die Phagozytoseaktivität der Monozyten wurde mit Hilfe des Testkits Phagotest® (Glycotope Biotechnology GmbH, Nümbrecht, Deutschland) ermittelt, das eine quantitative Bestimmung der aktiv phagozytierenden Zellen ermöglicht. Die verwendeten Materialien sind im Anhang (Tabelle 38) aufgelistet. Für die Analyse wurden ca. 0,5 ml Blut aus der Flügelvene in ein Lithium-Heparinröhrchen entnommen, invertiert und auf Eis gelagert. Es wurden jeweils 100 µl Blut für eine Doppelbestimmung sowie eine auf Eis gelagerte Negativkontrolle in drei Reaktionsgefäße (FACS-Röhrchen) pipettiert und für zehn Minuten auf Eis gekühlt. Anschließend wurden 10 µl einer mit Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) markierten Bakteriensuspension (opsonierte *Escherichia coli*) zugegeben. Die Röhrchen für die Doppelbestimmung wurden für zehn Minuten bei 37°C inkubiert und zum Stoppen der Phagozytose wieder zurück auf Eis verbracht. Allen Ansätzen wurden 100 µl eisgekühlte Quenchinglösung zugegeben, um eine Unterscheidung von adhärenten und aufgenommenen Bakterien zu ermöglichen. Die Proben wurden bei 250 x *g* für fünf Minuten bei 4°C zentrifugiert, der Überstand dekantiert, 3 ml Waschlöschung zugegeben und erneut zentrifugiert und dekantiert. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von je 500 µl PBS-Lösung. Der komplette Probeninhalt wurde nun auf 400 µl Ficoll (Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer) pipettiert und bei 500 x *g* für 30 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert, da die im Testkit vorgesehene Erythrozytenlyse mit kernhaltigen Erythrozyten nicht möglich war. Nach der Gradientenzentrifugation wurden die Lymphozyten und Monozyten mit einer Pipette aspiriert (900 µl, oberhalb der im unteren Teil des Röhrchens erkennbaren roten Phase). Die gewonnene Zellsuspension wurde in 2 ml eiskalte PBS-Lösung pipettiert, erneut bei 400 x *g* für zehn Minuten bei 4°C zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Nach Zugabe von 100 µl des nicht konjugierten primären Antikörpers (Tabelle 11) und einer 20-minütigen Inkubation im Dunkeln wurden die Proben mit 2 ml FACS-Puffer-Lösung (0,5 % BSA/PBS) gewaschen, bei 390 x *g* für fünf Minuten bei 4°C zentrifugiert, der Überstand dekantiert, 50 µl des sekundären Antikörpers (Tabelle 11) zugegeben, 15 Minuten inkubiert und das Waschen und die Zentrifugation wiederholt. Durch die Zugabe der beiden Antikörper wurde eine Markierung der Monozyten ermöglicht, um sich in der Auswertung auf die Monozytenpopulation beziehen zu können und alle unerwünschten Ereignisse zu diskriminieren. Am Ende wurde das Pellet mit 200 ml FACS-Puffer-Lösung resuspendiert und die Proben durchflusszytometrisch mit einem Durchflusszytometer analysiert.

Auswertung

In einem ersten Schritt wurde die Granularität der verschiedenen Ereignisse dargestellt (Auftragung des SSC auf der Abszisse), um die Monozytenpopulation anhand dieses morphologischen Merkmals von anderen Zellen unterscheiden zu können und nur diese für die Auswertung auszuwählen (Gate gesetzt). Die Auswertung der Phagozytoseaktivität der Monozyten erfolgte mit Hilfe einer Zweifarbendarstellung im Density Plot, wobei auf der Ordinate die R-Phycoerythrin (PE) Fluoreszenz der Monozyten und auf der Abszisse die Fluoreszenz der Monozyten aufgetragen wurden, die in Abhängigkeit von der Menge der inkorporierten Bakterien steht (Abbildung 1). Bei der Auswertung wurde ausschließlich jene Zellfraktion berücksichtigt, die mit dem Monozytenantikörper markiert wurde und im Anschluss verglichen, wie viel Prozent der Monozytenpopulation Bakterien inkorporiert haben. Als Vergleich diente dabei die Negativkontrolle (Abbildung 1).




Monozyten mit/ohne inkorporierte Fluoreszein-markierte opsonierte *Escherichia coli* Bakterien

**Abbildung 1:** Density Plot mit Zweifarbendarstellung einer auf Eis gelagerten Blutprobe als Negativkontrolle (A) sowie einer bei 37°C inkubierten Blutprobe (B)

**Tabelle 11:** Verwendete primäre und sekundäre Antikörper

| Primärer Antikörper | Isotyp | Verdünnung | Zielzelle |
|---|---|---|---|
| Monoclonal Chicken Macrophages (+ Monocytes) antibody<br>Klon: KUL01, Wirt: Maus | IgG1 | 1:200 | Monozyt |
| Sekundärer Antikörper | Farbstoff | Verdünnung | |
| Goat F (ab) 2 Anti-Mouse IgG1 | R-Phycoerythrin (R-PE) | 1:200 | |

### 3.10.5 Antikörpertiter gegen NDV

Probenvorbereitung

Für die Bestimmung der Antikörpertiter gegen das NDV im Serum wurde ca. 1 ml Vollblut aus der Flügelvene in ein Serumröhrchen (S-Monovette® 1,2 ml, Serum, SARSTEDT AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen. Danach wurden die Proben bei Raumtemperatur für 15 Minuten bei 2000 x *g* zentrifugiert (Heraeus Megafuge 1.0, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), der Überstand in ein 2 ml-Plastikgefäß (Safe-Lock Tube 2 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt.

Analyse

Der Nachweis von Antikörpern gegen das NDV im Serum erfolgte durch einen ELISA nach Herstellerangaben (IDEXX FlockChek® Newcastle Disease, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, USA) in Einfachbestimmung. Die sich anschließende Extinktionsmessung erfolgte mit einem Mikrotiterplatten-Photometer (Dynex MRX, Dynex Technologies, Chantilly, USA; xChekPlus® Software, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, USA).

## 3.11 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 21 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) durchgeführt. Als Erstes erfolgte eine Überprüfung der Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test. Normalverteilte Daten wurden im Anschluss durch den Mittelwert und Standardabweichung, nicht normalverteilte Daten durch den Median sowie Minimum und Maximum dargestellt. Bei überwiegender Normalverteilung der Daten wurden eine einfaktorielle Varianzanalyse (analysis of variance (ANOVA)) sowie eine polynomiale Kontrastanalyse als Trendtest durchgeführt. Die Nullhypothese wurde verworfen, sobald sich die Überschreitungswahrscheinlichkeit (*p*-Wert) $p \leq 0{,}05$ ergab. Im Falle einer Verwerfung der Nullhypothese erfolgte die Durchführung des Tukey-Tests als Post-Hoc-Signifikanztest, um vorliegende Gruppenunterschiede nachzuweisen. Die Überschreitungswahrscheinlichkeit (*p*-Wert) wurde mit $p \leq 0{,}05$ als signifikant und mit $p \leq 0{,}10$ als tendenziell angesehen. Die überwiegend nicht normalverteilten Daten wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test und einer polynomialen Kontrastanalyse ausgewertet und bei Vorkommen des Signifikanzniveaus $p \leq 0{,}05$ ein Signifikanztest nach Mann-Whitney ausgeführt, um vorliegende Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen festzustellen.

# 4 Ergebnisse

## 4.1 Versuchsdiäten

Im Versuchsdesign wurden fünf verschiedene Diäten auf der Basis einer einheitlichen Grundmischung eingesetzt. Die Diäten wurden für beide Versuchsdurchgänge gemischt und verfüttert. Die Ergebnisse der Futterzusammensetzung sind in Tabelle 12 und Tabelle 13 aufgelistet. Nach Angaben der LUFA-ITL GmbH (Kiel, Deutschland) bestanden nach der mikrobiologischen Analyse der Diäten keine Einschränkungen der mikrobiologischen Qualität.

## 4.2 Gesundheitsbeurteilung

In keinem der beiden konsekutiven Fütterungsversuche wurden gesundheitliche Auffälligkeiten oder erhöhte Mortalitätsraten festgestellt.

**Tabelle 12:** Rohnährstoff-, Mineralstoff-, Spurenelement-, Mannan- und Glucangehalte sowie Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse der verschiedenen Versuchsdiäten und des Hefezellwandproduktes

| | | | Hefezellwandprodukt | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 % | | 0,05 % | | 0,10 % | | 0,20 % | | 0,30 % | |
| | | HZWP | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. |
| Trockensubstanz | g/kg uS | 948 | 909 | 910 | 908 | 911 | 907 | 913 | 938 | 907 | 908 | 905 |
| Rohasche | g/kg uS | 21,1 | 59,0 | 58,3 | 60,3 | 59,0 | 61,7 | 57,3 | 62,2 | 56,8 | 60,1 | 56,0 |
| Rohprotein | g/kg uS | 276 | 243 | 217 | 245 | 219 | 248 | 217 | 245 | 208 | 249 | 209 |
| Rohfett | g/kg uS | 5,12 | 104 | 102 | 106 | 99,5 | 103 | 98,6 | 94,2 | 102 | 102 | 99,1 |
| Stärke | g/kg uS | . | 305 | 341 | 307 | 331 | 315 | 350 | 313 | 369 | 317 | 299 |
| Rohfaser | g/kg uS | 28,5 | 27,5 | 22,8 | 26,3 | 23,2 | 28,9 | 25,5 | 28,3 | 23,0 | 25,1 | 27,4 |
| Phosphor | g/kg uS | 4,54 | 6,38 | 5,71 | 6,63 | 6,20 | 6,75 | 5,84 | 6,73 | 5,81 | 6,74 | 5,74 |
| Kalzium | g/kg uS | 1,63 | 10,2 | 9,35 | 10,3 | 9,93 | 9,97 | 9,73 | 10,4 | 9,54 | 10,1 | 9,66 |
| Natrium | g/kg uS | 0,77 | 1,55 | 1,57 | 1,48 | 1,37 | 1,80 | 1,33 | 1,69 | 1,49 | 1,58 | 1,45 |
| Kalium | g/kg uS | 1,73 | 8,08 | 5,99 | 7,64 | 6,10 | 7,29 | 6,11 | 7,12 | 6,10 | 7,38 | 6,21 |
| Magnesium | g/kg uS | 0,24 | 2,07 | 1,96 | 2,06 | 2,08 | 2,26 | 2,24 | 2,18 | 2,21 | 2,21 | 2,02 |
| Zink | mg/kg uS | 65,6 | 76,0 | 73,8 | 75,9 | 81,4 | 79,0 | 73,4 | 82,7 | 71,6 | 81,4 | 74,1 |
| Mangan | mg/kg uS | 2,25 | 91,1 | 99,1 | 93,0 | 103 | 94,4 | 97,1 | 94,1 | 105 | 97,4 | 95,4 |
| Kupfer | mg/kg uS | 3,54 | 17,6 | 16,8 | 17,5 | 17,5 | 17,9 | 15,5 | 14,8 | 13,6 | 17,6 | 16,4 |
| Eisen | mg/kg uS | 494 | 290 | 284 | 261 | 276 | 292 | 273 | 301 | 290 | 273 | 271 |
| Gesamtzucker | % der uS | . | 4,50 | 3,60 | 4,40 | 3,40 | 4,00 | 3,70 | 4,10 | 3,60 | 3,90 | 3,90 |
| Gesamtkeimzahl | KbE/g uS | <2000 | 3200 | 3300 | 52000 | 28000 | 24000 | 52000 | 17000 | 47000 | 37000 | 35000 |
| Hefen | KbE/g uS | n.n. | <1000 | n.n. | <1000 | n.n. | <1000 | 1000 | <1000 | <1000 | <1000 | 2400 |
| Schimmelpilze | KbE/g uS | n.n. | 5000 | 1100 | 2100 | 17000 | 5500 | 12000 | 1800 | 1700 | 1100 | 1500 |
| Stärkegehalt | % der uS | 8,53 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| Gesamtglucangehalt | % der uS | 33,7 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| (1→3), (1→6)-β-D-Glucangehalt | % der uS | 25,2 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |
| Mannangehalt | % der uS | 21,0 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HZWP = Hefezellwandprodukt; n.n. = nicht nachgewiesen; St. = Starterfutter; uS = ursprüngliche Substanz.

**Tabelle 13:** Aminosäurenkonzentrationen [g/kg uS] der verschiedenen Versuchsdiäten und des Hefezellwandproduktes

| | | Hefezellwandprodukt | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | | 0,05 % | | 0,10 % | | 0,20 % | | 0,30 % | |
| Aminosäuren | HZWP | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. | St. | Em. |
| Asparaginsäure | 22,5 | 21,9 | 17,5 | 21,3 | 17,5 | 21,4 | 19,4 | 21,6 | 18,0 | 21,9 | 17,2 |
| Threonin | 16,1 | 9,18 | 8,04 | 8,75 | 8,21 | 8,92 | 8,76 | 9,02 | 8,25 | 9,25 | 7,62 |
| Serin | 17,3 | 12,1 | 10,2 | 11,7 | 10,1 | 11,9 | 11,4 | 12,1 | 10,6 | 12,2 | 10,1 |
| Glutaminsäure | 16,4 | 21,5 | 19,6 | 22,6 | 19,6 | 21,8 | 21,4 | 22,3 | 22,0 | 21,7 | 22,0 |
| Glycin | 9,86 | 9,23 | 7,73 | 9,34 | 7,83 | 9,16 | 8,87 | 9,24 | 8,27 | 9,33 | 7,98 |
| Alanin | 14,3 | 10,0 | 8,38 | 9,83 | 8,45 | 9,90 | 9,42 | 9,99 | 8,86 | 10,2 | 8,42 |
| Valin | 12,6 | 10,3 | 7,89 | 10,4 | 8,47 | 10,4 | 7,96 | 10,3 | 8,46 | 10,4 | 7,04 |
| Isoleucin | 12,2 | 9,95 | 7,19 | 9,92 | 7,89 | 9,77 | 7,31 | 9,86 | 7,73 | 10,1 | 6,31 |
| Leucin | 16,6 | 16,2 | 13,4 | 16,0 | 13,7 | 16,1 | 14,8 | 16,3 | 14,5 | 16,4 | 13,3 |
| Tyrosin | 8,84 | 7,23 | 5,74 | 7,16 | 5,86 | 7,33 | 6,91 | 7,18 | 6,64 | 7,35 | 6,42 |
| Phenylanalin | 11,4 | 11,7 | 9,29 | 11,4 | 9,59 | 11,7 | 10,4 | 11,6 | 10,2 | 11,9 | 9,27 |
| γ-Aminobuttersäure | 1,59 | 0,55 | 0,41 | 0,30 | 0,52 | 0,44 | 0,95 | 0,40 | 0,63 | 0,51 | 0,83 |
| Histidin | 6,28 | 7,07 | 5,61 | 6,90 | 5,82 | 6,99 | 6,07 | 7,06 | 5,96 | 7,14 | 5,56 |
| Ornithin | 0,08 | 0,09 | 0,11 | n.n. | n.n. | n.n. | 0,12 | n.n. | 0,10 | 0,09 | 0,09 |
| Lysin | 17,3 | 13,3 | 11,0 | 12,9 | 11,3 | 13,0 | 12,2 | 13,0 | 11,5 | 13,3 | 11,1 |
| Arginin | 10,4 | 15,1 | 12,1 | 14,8 | 12,5 | 15,0 | 13,4 | 15,0 | 11,9 | 15,4 | 11,4 |
| Prolin | 8,78 | 12,7 | 12,4 | 12,4 | 12,9 | 12,7 | 16,1 | 12,9 | 14,3 | 12,8 | 13,2 |
| Methionin | 5,51 | 7,08 | 7,55 | 7,08 | 7,40 | 6,93 | 6,76 | 6,50 | 6,83 | 6,67 | 7,41 |
| Cystein | 3,87 | 6,32 | 5,76 | 6,25 | 5,63 | 6,12 | 5,61 | 6,12 | 5,52 | 6,26 | 5,70 |

Em. = Mast-/Endmastfutter; HZWP = Hefezellwandprodukt; St. = Starterfutter; n.n. = nicht nachgewiesen; uS = ursprüngliche Substanz.

## 4.3 Zootechnische Parameter

Die Ergebnisse der Erhebung der zootechnischen Parameter der fünf Versuchsgruppen über die 35-tägige Mastperiode sind in Tabelle 14 und 15 dargestellt. Für die Auswertung der Leistungsparameter wurden die erhobenen Mittelwerte aus einer Box als Versuchseinheit angesehen. Die Tiere aus dem zweiten Mastdurchgang zeigten unabhängig von ihrer Gruppenzugehörigkeit überwiegend geringere mittlere Lebendmassen sowie Lebendmassezunahmen und der Futteraufwand lag höher als im ersten Durchgang.

### 4.3.1 Futteraufnahme und Futteraufwand

Alle 40 Versuchseinheiten begannen vom ersten Lebenstag selbstständig mit der Futter- und Wasseraufnahme. Bei der mittleren Futteraufnahme zeigten sich in der ersten Lebenswoche Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen ($p = 0{,}002$). Die Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes zeigte eine höhere Futteraufnahme verglichen mit den Versuchsgruppen mit dem Zusatz von 0,05 % und 0,10 % des Hefezellwandproduktes. Dabei wies die polynomiale Kontrastanalyse sowohl einen linearen als auch quadratischen Unterschied über die fünf Versuchsgruppen auf ($p = 0{,}013$ und $p = 0{,}002$), wobei der quadratische Zusammenhang überlegen war. Für den mittleren Futteraufwand der Versuchsgruppen ergab sich in der ersten Lebenswoche eine Tendenz für einen quadratischen Trend ($p = 0{,}093$) sowie eine Tendenz in der einfaktoriellen Varianzanalyse ($p = 0{,}081$), wobei die Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes den höchsten und die Versuchsgruppe mit 0,05 % Zusatz den niedrigsten mittleren Futteraufwand aufwies. Ein inverser quadratischer Trend präsentierte sich als Tendenz in der dritten Lebenswoche ($p = 0{,}083$). Im Gegensatz dazu lag in der fünften Fütterungswoche ein tendenziell linearer Zusammenhang bei der polynomialen Kontrastanalyse vor ($p = 0{,}052$). Über den gesamten Versuchszeitraum konnten keine Unterschiede bei der mittleren Futteraufnahme und dem mittleren Futteraufwand zwischen den Versuchsgruppen festgestellt werden.

### 4.3.2 Lebendmasse und Lebendmassezunahme

Am ersten Lebenstag wiesen die Versuchstiere keine unterschiedlichen Einstallgewichte auf ($p = 1{,}04$). In der zweiten Versuchswoche konnte ein linearer Zusammenhang für die mittlere Lebendmasse (14. Lebenstag) und die mittlere Lebendmassezunahme zugunsten der Versuchsgruppen mit dem Zusatz des Hefezellwandproduktes festgestellt werden ($p = 0{,}029$ und $p = 0{,}011$). Diese Entwicklung präsentierte sich ebenfalls am 21. Lebenstag als lineare Tendenz in der Lebendmasse ($p = 0{,}089$). In der vierten Lebenswoche stellte sich die Lebendmassezunahme dann als inverser linearer Unterschied dar ($p = 0{,}043$), der sich auch in der einfaktoriellen Varianzanalyse als Trend widerspiegelte ($p = 0{,}088$). Ähnlich verhält es

sich in der letzten Lebenswoche der Tiere. Es zeigten sich Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bei der einfaktoriellen Varianzanalyse und der linearen Kontrastanalyse ($p = 0{,}042$ und $p = 0{,}004$). Es ergaben sich keine Unterschiede in der Lebendmasse und Lebendmassezunahme zwischen den Versuchsgruppen über die 35-tägige Mastperiode.

### 4.3.3 Mortalitätsrate

Die Mortalitätsrate lag in dem ersten Mastdurchgang bei 3,95 % und im zweiten Mastdurchgang bei 3,82 %. Die Ergebnisse der Mortalitätsrate nach 35 Masttagen sind in Tabelle 14 aufgeführt. Die Zugabe des Hefezellwandproduktes hatte keinen Einfluss auf die Mortalitätsrate.

**Tabelle 14:** Mortalitätsrate nach 35 Versuchstagen [%] der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum); n = 8

| Hefezellwandprodukt | | | | | *p* |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis |
| 2,92 (0,00 - 5,88) | 5,88 (0,00 - 11,8) | 5,88 (0,00 - 11,8) | 2,94 (0,00 - 11,8) | 2,94 (0,00 - 5,88) | 0,781 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit.

**Tabelle 15:** Mittlere Leistungsdaten der fünf Versuchsgruppen [g] (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | ANOVA | Linear* | Quadrat* |
| Lebendmasse d 1 | 42,1 ± 0,83 | 42,2 ± 0,76 | 42,6 ± 0,54 | 42,7 ± 1,08 | 41,7 ± 0,64 | 0,104 | 0,563 | 0,012 |
| Lebendmasse d 7 | 159 ± 5,57 | 161 ± 4,91 | 158 ± 8,29 | 159 ± 4,93 | 162 ± 5,65 | 0,751 | 0,551 | 0,382 |
| Lebendmassezunahme d 1 - 7 | 117 ± 5,33 | 119 ± 4,59 | 116 ± 8,33 | 116 ± 4,76 | 120 ± 5,33 | 0,540 | 0,489 | 0,213 |
| Futteraufnahme d 1 - 7 | 159 ± 11,8[ab] | 150 ± 6,02[b] | 147 ± 7,60[b] | 157 ± 6,01[ab] | 165 ± 11,1[a] | 0,002 | 0,013 | 0,002 |
| Futteraufwand d 1 - 7 | 1,35 ± 0,11 | 1,26 ± 0,06 | 1,27 ± 0,07 | 1,35 ± 0,07 | 1,38 ± 0,13 | 0,081 | 0,121 | 0,093 |
| Lebendmasse d 14 | 443 ± 20,1 | 447 ± 20,5 | 444 ± 20,1 | 451 ± 22,6 | 464 ± 16,5 | 0,220 | 0,029 | 0,434 |
| Lebendmassezunahme d 8 - 14 | 283 ± 15,8 | 286 ± 16,4 | 285 ± 12,8 | 292 ± 18,4 | 302 ± 12,0 | 0,134 | 0,011 | 0,588 |
| Futteraufnahme d 8 - 14 | 345 ± 25,7 | 347 ± 16,1 | 351 ± 18,0 | 352 ± 19,5 | 352 ± 16,0 | 0,914 | 0,415 | 0,647 |
| Futteraufwand d 8 - 14 | 1,22 ± 0,04 | 1,22 ± 0,03 | 1,23 ± 0,03 | 1,21 ± 0,07 | 1,17 ± 0,07 | 0,286 | 0,180 | 0,220 |
| Lebendmasse d 21 | 946 ± 37,0 | 952 ± 27,6 | 944 ± 39,0 | 958 ± 47,5 | 979 ± 45,7 | 0,430 | 0,089 | 0,431 |
| Lebendmassezunahme d 15 - 21 | 503 ± 20,9 | 505 ± 14,3 | 500 ± 21,8 | 506 ± 30,0 | 515 ± 33,1 | 0,823 | 0,334 | 0,526 |
| Futteraufnahme d 15 - 21 | 678 ± 34,3 | 682 ± 23,8 | 706 ± 62,5 | 689 ± 48,1 | 690 ± 38,2 | 0,754 | 0,639 | 0,419 |
| Futteraufwand d 15 - 21 | 1,35 ± 0,05 | 1,35 ± 0,04 | 1,41 ± 0,08 | 1,36 ± 0,07 | 1,34 ± 0,05 | 0,211 | 0,728 | 0,083 |
| Lebendmasse d 28 | 1655 ± 30,0 | 1660 ± 34,9 | 1637 ± 76,9 | 1628 ± 55,8 | 1669 ± 48,0 | 0,504 | 0,884 | 0,134 |
| Lebendmassezunahme d 22 - 28 | 709 ± 17,7 | 708 ± 14,4 | 692 ± 50,9 | 670 ± 24,1 | 690 ± 26,9 | 0,088 | 0,043 | 0,117 |
| Futteraufnahme d 22 - 28 | 987 ± 106 | 995 ± 91,4 | 1002 ± 79,3 | 1011 ± 89,3 | 992 ± 75,8 | 0,985 | 0,850 | 0,587 |
| Futteraufwand d 22 - 28 | 1,39 ± 0,14 | 1,41 ± 0,13 | 1,45 ± 0,11 | 1,51 ± 0,11 | 1,44 ± 0,09 | 0,349 | 0,208 | 0,150 |
| Lebendmasse d 35 | 2434 ± 35,7 | 2439 ± 69,6 | 2398 ± 90,1 | 2364 ± 83,1 | 2410 ± 51,6 | 0,213 | 0,164 | 0,129 |
| Lebendmassezunahme d 29 - 35 | 778 ± 25,2 | 779 ± 38,0 | 761 ± 22,3 | 735 ± 49,6 | 740 ± 31,3 | 0,042 | 0,004 | 0,428 |
| Futteraufnahme d 29 - 35 | 1264 ± 27,8 | 1259 ± 47,0 | 1254 ± 56,4 | 1226 ± 52,6 | 1242 ± 22,3 | 0,447 | 0,138 | 0,432 |
| Futteraufwand d 29 - 35 | 1,63 ± 0,07 | 1,62 ± 0,09 | 1,65 ± 0,07 | 1,67 ± 0,06 | 1,68 ± 0,06 | 0,359 | 0,052 | 0,843 |
| Lebendmassezunahme Total | 2392 ± 35,7 | 2397 ± 69,1 | 2356 ± 89,9 | 2321 ± 82,9 | 2368 ± 51,5 | 0,203 | 0,165 | 0,121 |
| Futteraufnahme Total | 3434 ± 104 | 3435 ± 100 | 3463 ± 183 | 3437 ± 141 | 3443 ± 97,4 | 0,991 | 0,934 | 0,820 |
| Futteraufwand Total | 1,44 ± 0,05 | 1,43 ± 0,05 | 1,47 ± 0,06 | 1,48 ± 0,06 | 1,45 ± 0,04 | 0,284 | 0,221 | 0,124 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast; unterschiedliche Indizes (a,b) innerhalb einer Reihe geben signifikante Unterschiede an ($p \leq 0{,}05$).

## 4.4 Verdauungsphysiologische Parameter

### 4.4.1 pH-Wert der Digesta

In Tabelle 16 sind die mittleren pH-Werte der untersuchten Abschnitte aus dem Gastrointestinaltrakt dargestellt. Bei drei Tieren konnte aus dem Kropf nicht genügend Inhalt für die pH-Wert-Messung gewonnen werden. Die Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,10 % des Hefezellwandproduktes zeigte im Kropf einen niedrigeren pH-Wert verglichen mit dem Zusatz von 0,05 % und 0,30 % des Hefezellwandproduktes ($p = 0{,}027$). Ein niedriger pH-Wert wurde im Kropf mit einem Zusatz von 0,10 % des Hefezellwandproduktes erreicht, dieser stieg in den höheren Dosierungen von 0,20 % und 0,30 % des Hefezellwandproduktes wieder an. Der pH-Wert der Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes war zudem höher gegenüber der Versuchsgruppe mit 0,20 % Zusatz ($p = 0{,}027$). Dabei zeichnete sich ein quadratischer Trend bei den Ergebnissen des pH-Wertes aus dem Kropf ab ($p = 0{,}001$), während sich ein steigender linearer Zusammenhang bei der pH-Wert-Messung im Ileum und ein inverser quadratischer Unterschied in der Caecadigesta ergab ($p = 0{,}055$ und $p = 0{,}039$).

### 4.4.2 Trockensubstanzgehalt der Ileumdigesta

Die Ergebnisse der prozentualen Trockensubstanzgehalte in der Ileumdigesta sind in Tabelle 17 aufgeführt. Es konnten keine Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen hinsichtlich der prozentualen Trockensubstanzgehalte ermittelt werden.

### 4.4.3 Praecaecale Verdaulichkeit der Nährstoffe

Die Ergebnisse der prozentualen Werte der scheinbaren ilealen Verdaulichkeit des Rohproteins, Rohfetts und der Stärke finden sich in Tabelle 17. Lediglich bei der Analyse des Rohproteins ergab sich eine tendenzielle Erhöhung der praecaecalen Verdaulichkeit zugunsten der Versuchsgruppen mit dem Zusatz des Hefezellwandproduktes ($p = 0{,}064$). In der Kontrastanalyse konnte sowohl ein linearer als auch quadratischer Trend aufgezeigt werden, wobei der quadratische Zusammenhang überwog ($p = 0{,}070$ und $p = 0{,}024$).

**Tabelle 16:** Mittlere pH-Werte der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8[1]

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Kropf | 5,65 (4,14 - 5,93)[abc] | 5,16[1] (4,27 - 5,86)[ab] | 4,38[1] (4,23 - 5,70)[c] | 4,71 (4,24 - 5,58)[bc] | 5,47[1] (4,90 - 6,28)[a] | 0,027 | 0,459 | 0,001 |
| Ileum | 7,50 (7,00 - 7,65) | 7,52 (5,32 - 7,83) | 7,53 (6,41 - 7,83) | 7,64 (7,00 - 7,88) | 7,71 (7,50 - 7,87) | 0,107 | 0,055 | 0,470 |
| Caeca | 6,75 (5,92 - 7,23) | 6,83 (6,05 - 7,12) | 7,06 (6,18 - 7,44) | 6,64 (6,30 - 7,27) | 6,46 (5,39 - 7,07) | 0,117 | 0,178 | 0,039 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; [1]n = sieben gültige Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast; unterschiedliche Indizes (a,b,c) innerhalb einer Reihe geben signifikante Unterschiede an ($p \leq 0,05$).

**Tabelle 17:** Scheinbare ileale Verdaulichkeit des Rohproteins, Rohfetts und Stärke [%] sowie prozentualer Trockensubstanzgehalt der uS im Ileum der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | ANOVA | Linear* | Quadrat* |
| Rohprotein | 75,3 ± 5,16 | 78,5 ± 1,85 | 79,0 ± 3,49 | 79,8 ± 1,46 | 78,5 ± 2,02 | 0,064 | 0,070 | 0,024 |
| Rohfett | 95,4 ± 1,08 | 95,3 ± 0,75 | 96,0 ± 1,06 | 95,9 ± 0,48 | 95,6 ± 0,97 | 0,413 | 0,490 | 0,182 |
| Stärke | 89,1 ± 4,34 | 88,7 ± 4,89 | 90,3 ± 1,59 | 90,2 ± 2,35 | 88,9 ± 1,91 | 0,796 | 0,865 | 0,324 |
| Trockensubstanzgehalt [%] | 48,3 ± 0,94 | 48,7 ± 1,66 | 49,4 ± 1,47 | 48,6 ± 1,78 | 48,3 ± 1,66 | 0,613 | 0,779 | 0,195 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast.

## 4.5 Mikrobiologische Parameter

### 4.5.1 Bakterielle Metaboliten

Bei vier Tieren konnte nicht genügend Kropfinhalt für die Bestimmung aller Metaboliten sowie bei einem Tier nicht genügend Caecainhalt für die Bestimmung von Ammonium gewonnen werden.

D- und L-Laktat

Die Konzentrationen von D- und L-Laktat sind in Tabelle 18 aufgelistet. Bei der Analyse des L-Laktats konnte in der Kropfdigesta ein quadratischer Trend gezeigt werden ($p = 0{,}091$). Im Kropf stiegen die D- und L-Laktatkonzentrationen bis zu einer Dosierung von 0,10 % sowie im Ileum bis zu einer Dosierung von 0,20 % des Hefezellwandproduktes an und fielen bei weiteren Dosierungssteigerungen ab. Während sich in den Caeca durch den Zusatz des Hefezellwandproduktes keine Unterschiede ergaben, bewirkte der Zusatz des Hefezellwandproduktes im Ileum tendenzielle Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen ($p = 0{,}091$). Dabei ergab sich jedoch weder ein linearer noch ein quadratischer Zusammenhang.

Ammonium

Die Konzentration von Ammonium wurde durch die Zugabe des Hefezellwandproduktes nicht beeinflusst. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 aufgeführt.

Kurzkettige Fettsäuren

Die Ergebnisse der Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren finden sich in Tabelle 20. Es konnten weder in der Kropf- noch in der Ileumdigesta Unterschiede oder polynomiale Zusammenhänge zwischen den einzelnen Versuchsgruppen festgestellt werden, wobei die Essigsäurekonzentrationen im Kropf bis zu einer Dosierung von 0,10 % des Hefezellwandproduktes numerisch anstiegen und bei steigenden Dosierungen wieder abfielen. Die Konzentration der Propionsäure in den Caeca wies im Kruskal-Wallis-Test Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf ($p = 0{,}047$). Dabei zeigte die Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes niedrigere Propionsäurekonzentrationen verglichen mit den Versuchsgruppen mit dem Zusatz von 0,05 % und 0,10 % des Hefezellwandproduktes. In der Kontrastanalyse präsentierte sich zudem ein linear abfallender Trend ($p = 0{,}017$). Bei der Konzentration von i- und n-Valeriansäure ergaben sich in der Caecadigesta lineare Zusammenhänge ($p = 0{,}087$ und $p = 0{,}012$).

**Tabelle 18:** D- und L-Laktat Konzentrationen [µmol/g uS] der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum))

| | | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Kropf | L-Laktat | 2,38 (0,89 - 78,8) | 13,6 (0,53 - 49,3) | 37,9 (0,66 - 47,7) | 15,0 (1,21 - 47,6) | 2,76 (0,11 - 19,7) | 0,286 | 0,362 | 0,091 |
| | D-Laktat | 0,37 (0,10 - 98,6) | 6,37 (0,07 - 44,0) | 31,9 (0,08 - 55,4) | 5,58 (0,02 - 35,7) | 0,67 (0,05 - 8,95) | 0,246 | 0,257 | 0,222 |
| n | | 8 | 7 | 6 | 8 | 7 | | | |
| Ileum | L-Laktat | 3,20 (1,08 - 51,8) | 5,30 (1,93 - 116) | 11,0 (0,81 - 63,8) | 14,4 (1,61 - 42,7) | 2,71 (0,80 - 6,31) | 0,203 | 0,214 | 0,137 |
| | D-Laktat | 0,17 (0,01 - 25,7) | 0,62 (0,08 - 34,3) | 2,28 (0,01 - 45,6) | 2,43 (0,36 - 12,5) | 0,15 (0,01 - 0,87) | 0,091 | 0,189 | 0,176 |
| n | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |
| Caeca | L-Laktat | 0,29 (0,00 - 0,99) | 0,45 (0,00 - 1,96) | 0,13 (0,00 - 1,32) | 0,62 (0,00 - 1,4) | 0,64 (0,00 - 1,99) | 0,784 | 0,313 | 0,480 |
| | D-Laktat | 0,12 (0,01 - 0,59) | 0,02 (0,01 - 0,47) | 0,03 (0,01 - 0,70) | 0,01 (0,01 - 0,71) | 0,04 (0,01 - 0,18) | 0,902 | 0,216 | 0,898 |
| n | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast.

**Tabelle 19:** Konzentration des Ammoniums [µmol/g uS] der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum))

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Kropf | 3,18 (2,08 - 9,02) | 2,92 (2,05 - 4,17) | 2,70 (1,89 - 4,68) | 2,47 (1,72 - 4,18) | 2,46 (1,91 - 4,79) | 0,623 | 0,134 | 0,407 |
| n | 8 | 7 | 6 | 8 | 7 | | | |
| Ileum | 7,5 (7,00 - 7,65) | 7,52 (5,32 - 7,83) | 7,53 (6,41 - 7,83) | 7,64 (7,00 - 7,88) | 7,71 (7,50 - 7,87) | 0,487 | 0,923 | 0,228 |
| n | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |
| Caeca | 15,9 (8,99 - 22,8) | 18,0 (11,0 - 25,0) | 16,9 (6,48 - 24,5) | 12,2 (8,28 - 22,0) | 14,1 (11,4 - 24,6) | 0,492 | 0,271 | 0,717 |
| n | 8 | 7 | 8 | 8 | 8 | | | |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast.

**Tabelle 20:** Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren [µmol/g uS] in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum))

| | | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal -Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Kropf | Essigsäure | 2,31 (1,86 - 19,0) | 8,81 (2,08 - 13,1) | 11,9 (1,71 - 14,5) | 5,56 (1,08 - 9,17) | 2,45 (1,06 - 12,0) | 0,286 | 0,265 | 0,237 |
| | Propionsäure | 0,00 (0,00 - 0,09) | 0,00 (0,00 - 0,20) | 0,00 (0,00 - 0,45) | 0,00 (0,00 - 0,11) | 0,00 (0,00 - 0,07) | 0,868 | 0,549 | 0,326 |
| | i-Buttersäure | 0,08 (0,00 - 0,29) | 0,09 (0,00 - 0,57) | 0,02 (0,00 - 0,34) | 0,04 (0,00 - 3,37) | 0,05 (0,00 - 0,08) | 0,271 | 0,785 | 0,306 |
| | n-Buttersäure | 0,00 (0,00 - 0,39) | 0,00 (0,00 - 0,30) | 0,00 (0,00 - 0,08) | 0,00 (0,00 - 0,58) | 0,00 (0,00 - 0,26) | 0,709 | 0,841 | 0,979 |
| | i-Valeriansäure | 0,06 (0,00 - 0,46) | 0,06 (0,00 - 0,30) | 0,02 (0,00 - 0,24) | 0,08 (0,00 - 0,73) | 0,00 (0,00 - 0,18) | 0,896 | 0,761 | 0,574 |
| | n-Valeriansäure | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | | | |
| | Gesamtfettsäuren | 2,92 (2,10 - 19,1) | 9,21 (2,14 - 13,4) | 12,0 (1,77 - 15,0) | 5,74 (1,39 - 12,5) | 2,79 (1,18 - 12,2) | 0,286 | 0,281 | 0,192 |
| n | | 8 | 7 | 6 | 8 | 7 | | | |
| Ileum | Essigsäure | 3,71 (1,56 - 5,98) | 4,80 (1,62 - 10,6) | 2,81 (1,46 - 4,76) | 2,58 (1,23 - 3,83) | 2,61 (1,66 - 8,44) | 0,181 | 0,211 | 0,438 |
| | Propionsäure | 0,04 (0,00 - 0,19) | 0,12 (0,00 - 0,18) | 0,06 (0,00 - 0,16) | 0,02 (0,00 - 0,16) | 0,11 (0,00 - 0,19) | 0,502 | 0,594 | 0,408 |
| | i-Buttersäure | 0,11 (0,00 - 0,20) | 0,03 (0,00 - 0,09) | 0,04 (0,00 - 0,14) | 0,07 (0,00 - 0,16) | 0,00 (0,00 - 0,09) | 0,168 | 0,101 | 0,689 |
| | n-Buttersäure | 0,00 (0,00 - 0,07) | 0,00 (0,00 - 0,08) | 0,00 (0,00 - 0,07) | 0,00 (0,00 - 0,23) | 0,00 (0,00 - 0,23) | 0,427 | 0,633 | 0,187 |
| | i-Valeriansäure | 0,21 (0,13 - 1,05) | 0,27 (0,00 - 0,68) | 0,19 (0,10 - 0,45) | 0,26 (0,12 - 0,39) | 0,23 (0,12 - 0,44) | 0,878 | 0,254 | 0,313 |
| | n-Valeriansäure | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | | | |
| | Gesamtfettsäuren | 4,15 (1,81 - 6,30) | 5,22 (1,77 - 11,0) | 3,25 (1,71 - 5,07) | 3,00 (1,54 - 4,32) | 3,04 (1,84 - 9,07) | 0,150 | 0,177 | 0,352 |
| n | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; n.n. = nicht nachgewiesen; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast.

**Tabelle 20:** Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren [µmol/g uS] in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum))

| | | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Caeca | Essigsäure | 66,9 (45,7 - 86,8) | 73,9 (58,9 - 94,3) | 61,8 (45,4 - 78,4) | 68,1 (61,3 - 102) | 64,0 (46,7 - 95,9) | 0,200 | 0,896 | 0,880 |
| | Propionsäure | 4,34 (2,85 - 14,2)[ab] | 4,96 (3,80 - 7,55)[a] | 4,50 (3,82 - 9,53)[a] | 4,40 (2,50 - 8,81)[ab] | 3,27 (1,72 - 4,80)[b] | 0,047 | 0,017 | 0,687 |
| | i-Buttersäure | 0,63 (0,00 - 0,72) | 0,54 (0,41 - 1,22) | 0,80 (0,47 -1,03) | 0,53 (0,00 - 0,79) | 0,62 (0,00 - 0,76) | 0,105 | 0,102 | 0,315 |
| | n-Buttersäure | 12,8 (7,63 - 19,2) | 16,0 (9,13 - 19,5) | 12,7 (5,50 - 19,7) | 13,9 (11,1 - 19,2) | 16,3 (8,73 - 21,5) | 0,521 | 0,342 | 0,664 |
| | i-Valeriansäure | 1,16 (1,00 - 1,41) | 0,85 (0,56 - 2,32) | 0,88 (0,62 - 1,47) | 0,80 (0,41 - 1,27) | 0,97 (0,44 - 1,46) | 0,191 | 0,087 | 0,223 |
| | n-Valeriansäure | 1,08 (0,78 - 1,48) | 1,23 (0,76 - 1,58) | 0,95 (0,67 - 1,56) | 0,91 (0,61 - 1,39) | 0,86 (0,57 - 1,12) | 0,116 | 0,012 | 0,654 |
| | Gesamtfettsäuren | 90,7 (64,0 - 110) | 98,0 (82,4 - 120) | 83,8 (64,5 - 98,2) | 88,7 (80,4 - 127) | 84,4 (61,7 - 122) | 0,267 | 0,718 | 0,942 |
| n | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast; unterschiedliche Indizes (a,b) innerhalb einer Reihe geben signifikante Unterschiede an ($p \leq 0,05$).

### 4.5.2 Quantifizierung von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. mittels qPCR

Die mittlere Kopienzahl von den Bakteriengruppen ist in Tabelle 21 zusammengefasst. In der Auswertung fanden nur die Proben Berücksichtigung, in denen die gesuchten Bakteriengruppen mittels der verwendeten Primer detektiert werden konnten. Ausnahme bildeten dabei vier Digestaproben aus dem Ileum. Diese Proben konnten für die Durchführung der qPCR aufgrund zu geringer DNA-Konzentrationen nicht verwendet werden. Bei der Quantifizierung der Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. konnten in keinem der untersuchten Abschnitte im Gastrointestinaltrakt Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen gefunden werden. Im Gegensatz dazu konnte in der Kropfdigesta ein quadratischer Effekt bei den Laktobazillen festgestellt werden, der sich im Ileum fortsetzt ($p = 0{,}010$ und $p = 0{,}002$). Obgleich dieser quadratische Trend dominiert, zeigt sich in der Ileumdigesta ferner ein linearer Zusammenhang zwischen der Produktkonzentration und den Laktobazillen ($p = 0{,}018$). Der Kruskal-Wallis-Test wies ebenfalls in der Ileumdigesta Unterschiede hinsichtlich der Bakteriengruppe der Laktobazillen auf ($p = 0{,}027$). Die Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes zeigte eine niedrigere Kopienzahl der Laktobazillen verglichen mit den Versuchsgruppen mit dem Zusatz von 0,05 %, 0,10 %, und 0,20 % des Hefezellwandproduktes. Zudem ergab sich ein Unterschied zwischen der Kontrollgruppe sowie der Gruppe mit dem Zusatz von 0,20 % des Hefezellwandproduktes. Im Kropf konnte ein Anstieg der Kopienzahl der Laktobazillen bis zu einer Dosierung von 0,10 % sowie im Ileum bis zu einer Dosierung von 0,20 % des Hefezellwandproduktes beobachtet werden, die bei weiteren Dosierungssteigerungen wieder abfielen.

**Tabelle 21:** Mittlere Kopienzahl [$log_{10}$ Kopienzahl/g uS] von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Shigella/Hafnia* spp. in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum))

| | | | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Kropf | Lakto-bazillen | | 8,29 (7,42 - 9,63) | 9,19 (7,47 - 9,91) | 9,44 (7,50 - 9,73) | 9,39 (8,27 - 9,82) | 8,60 (7,25 - 9,44) | 0,108 | 0,875 | 0,010 |
| | | n | 8 | 8 | 7 | 8 | 8 | | | |
| | Bifido-bakterien | | 4,78 (4,31 - 5,35) | 4,70 (4,64 - 5,07) | 4,93 (4,01 - 5,07) | 4,83 (4,58 - 5,27) | 4,89 (4,50 - 4,99) | 0,764 | 0,471 | 0,780 |
| | | n | 5 | 7 | 4 | 7 | 7 | | | |
| | Entero-bakterien | | 5,83 (5,50 - 6,86) | 6,44 (6,34 - 6,57) | 6,35 (6,18 - 6,51) | 6,51 (4,84 - 7,82) | 6,42 (3,37 - 6,96) | 0,914 | 0,524 | 0,282 |
| | | n | 6 | 4 | 2 | 4 | 6 | | | |
| | *Escherichia/ Shigella/ Hafnia* spp. | | 6,81 (5,95 - 8,00) | 7,10 (5,76 - 7,97) | 6,41 (5,36 - 7,34) | 6,34 (5,65 - 8,77) | 6,98 (3,91 - 7,82) | 0,435 | 0,728 | 0,412 |
| | | n | 8 | 8 | 7 | 7 | 8 | | | |
| Ileum | Lakto-bazillen | | 7,92 (7,44 - 9,07)[bc] | 8,05 (7,86 - 9,33)[ab] | 8,13 (7,07 - 9,54)[ab] | 8,40 (7,97 - 8,98)[a] | 6,84 (6,27 - 8,64)[c] | 0,027 | 0,018 | 0,002 |
| | | n | 7 | 7 | 8 | 8 | 6 | | | |
| | Bifido bakterien | | 4,69 (4,66 - 6,53) | 4,78 (4,50 - 4,93) | 4,89 (4,41 - 4,97) | 4,67 (4,57 - 5,10) | 4,40 (4,28 - 4,89) | 0,420 | 0,124 | 0,629 |
| | | n | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | | | |
| | Entero-bakterien | | 4,45 (3,93 - 7,53) | 6,32 (5,73 - 6,91) | 5,02 (3,83 - 5,74) | 4,81 (4,13 - 6,37) | 4,58 (4,46 - 4,77) | 0,568 | 0,262 | 0,964 |
| | | n | 3 | 2 | 5 | 4 | 3 | | | |
| | *Escherichia/ Shigella/ Hafnia* spp. | | 5,64 (5,54 - 8,77) | 7,17 (5,47 - 7,97) | 6,41 (5,66 - 7,75) | 5,73 (4,70 - 7,74) | 5,92 (5,50 - 6,30) | 0,316 | 0,127 | 0,562 |
| | | n | 7 | 7 | 8 | 8 | 6 | | | |

n = Anzahl der nachgewiesenen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz *polynomialer Kontrast; unterschiedliche Indizes (a,b,c) innerhalb einer Reihe geben signifikante Unterschiede an ($p \leq 0,05$).

**Tabelle 21:** Mittlere Kopienzahl [$log_{10}$ Kopienzahl/g uS] von Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Shigella/Hafnia* spp. in der Digesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8

| | | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Caeca | Laktobazillen | 8,86 (7,93 - 9,74) | 8,64 (8,01 - 9,42) | 8,99 (7,28 - 9,82) | 8,68 (8,22 - 9,37) | 8,49 (8,08 - 9,36) | 0,366 | 0,292 | 0,367 |
| | Bifidobakterien | 5,74 (4,27 - 6,16) | 5,86 (4,96 - 6,37) | 5,80 (4,42 - 6,31) | 5,93 (5,22 - 6,25) | 5,77 (4,55 - 6,05) | 0,924 | 0,962 | 0,403 |
| | Enterobakterien | 7,67 (7,01 - 8,02) | 7,41 (6,87 - 7,88) | 7,58 (6,93 - 7,92) | 7,29 (6,78 - 7,53) | 7,39 (6,84 - 8,13) | 0,149 | 0,284 | 0,426 |
| | *Escherichia/ Shigella/ Hafnia* spp. | 8,57 (7,33 - 9,23) | 8,26 (7,81 - 9,10) | 8,52 (7,71 - 9,20) | 8,25 (6,53 - 8,91) | 8,60 (7,70 - 9,22) | 0,696 | 0,693 | 0,219 |

n = Anzahl der nachgewiesenen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; uS = ursprüngliche Substanz; *polynomialer Kontrast.

## 4.6 Immunologische Parameter

### 4.6.1 Intestinales IgA

Die Ergebnisse der Analyse befinden sich in Tabelle 22. Die Zugabe des Hefezellwandproduktes bewirkte keine Veränderung der Konzentration von intestinalem IgA in der Duodenumdigesta.

### 4.6.2 Immunorgangewichte

Zwischen den fünf Versuchsgruppen gab es keine Unterschiede hinsichtlich der relativen Immunorgangewichte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 aufgeführt.

**Tabelle 22:** Gehalt von intestinalem IgA [mg/L] in der Duodenumdigesta der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Intestinales IgA | 280 (137 - 417) | 279 (227 - 453) | 236 (161 - 902) | 371 (146 - 911) | 346 (179 - 699) | 0,642 | 0,303 | 0,563 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast.

**Tabelle 23:** Relative Immunorgangewichte [%] der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert und Standardabweichung); n = 8

| | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | ANOVA | Linear* | Quadrat* |
| Thymus | 0,37 ± 0,10 | 0,41 ± 0,11 | 0,47 ± 0,09 | 0,39 ± 0,11 | 0,37 ± 0,12 | 0,372 | 0,638 | 0,132 |
| Milz | 0,07 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | 0,07 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | 0,996 | 0,875 | 0,994 |
| *Bursa Fabricii* | 0,16 ± 0,04 | 0,16 ± 0,04 | 0,17 ± 0,04 | 0,17 ± 0,06 | 0,17 ± 0,04 | 0,903 | 0,526 | 0,471 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast.

### 4.6.3 Quantifizierung von Zellgehalten im Vollblut

Die Ergebnisse der Blutbildanalyse sind in Tabelle 24 aufgelistet. Eine Blutprobe, die am 21. Lebenstag entnommen wurde, war geronnen und konnte nicht ausgewertet werden. Es konnten an keinem der drei Entnahmezeitpunkte bei den Heterophilen und Monozyten ein Unterschied im Kruskal-Wallis-Test oder der polynomialen Kontrastanalyse festgestellt werden. Es ließ sich an allen drei Zeitpunkten der Blutentnahme eine numerische Erhöhung der Lymphozyten, T- und B-Zellen der Versuchsgruppen mit dem Zusatz des Hefezellwandproduktes im Gegensatz zur Kontrollgruppe zeigen. Am 34. Lebenstag ergab sich eine höhere Lymphozytenzellzahl der Versuchsgruppen mit dem 0,05 % und 0,20 % Zusatz des Hefezellwandproduktes im Gegensatz zur Kontrollgruppe ($p = 0{,}037$). Diese Entwicklung präsentierte sich ebenfalls als eine Tendenz bei den T- und B-Zellen ($p = 0{,}084$ und $p = 0{,}066$). Zudem ließ sich am 34. Lebenstag ein quadratischer Zusammenhang bei den Lymphozyten ($p = 0{,}036$) sowie bei den T- und B-Zellen erkennen ($p = 0{,}082$ und $p = 0{,}012$). Dieser tendenzielle quadratische Kontrast war ebenfalls am 28. Lebenstag bei den B-Zellen sichtbar ($p = 0{,}072$).

**Tabelle 24:** Ergebnisse der Blutbildanalyse [Zellzahl/µl Blut] der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8[1]

| | d | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Heterophile | 21 | 3968 (2592 - 8495) | 5195 (1947 - 6451) | 3769[1] (1913 - 9691) | 3658 (2669 - 5970) | 3939 (2378 - 5373) | 0,777 | 0,247 | 0,914 |
| | 28 | 4128 (3014 - 5425) | 4885 (2802 - 11193) | 4769 (2863 - 6018) | 4641 (2351 - 11304) | 5144 (3442 - 7320) | 0,664 | 0,401 | 0,503 |
| | 34 | 3570 (2582 - 7423) | 5455 (3110 - 14773) | 5011 (1646 - 7861) | 6018 (3903 - 12811) | 4944 (3399 - 11165) | 0,234 | 0,347 | 0,481 |
| Monozyten | 21 | 551 (226 - 3138) | 650 (327 - 1932) | 576[1] (357 - 2004) | 650 (424 - 1345) | 747 (362 - 1223) | 0,883 | 0,670 | 0,894 |
| | 28 | 571 (183 - 711) | 677 (222 - 1878) | 494 (118 - 642) | 581 (393 - 2797) | 714 (451 - 951) | 0,115 | 0,359 | 0,646 |
| | 34 | 560 (319 - 1581) | 823 (599 - 1231) | 853 (585 - 1210) | 795 (353 - 5247) | 874 (420 - 3359) | 0,426 | 0,129 | 0,399 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; [1]n = sieben gültige Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast.

**Tabelle 24:** Ergebnisse der Blutbildanalyse [Zellzahl/µl Blut] der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8[1]

| | d | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Lymphozyten | 21 | 7941 (6468 - 9605) | 9090 (5375 - 11444) | 8294[1] (7242 - 11360) | 8501 (6970 - 12142) | 8392 (6282 - 10947) | 0,573 | 0,554 | 0,358 |
| | 28 | 10106 (8347 - 14200) | 11127 (7393 - 15930) | 10847 (7413 - 13827) | 12156 (8740 - 19307) | 11789 (8942 - 15930) | 0,676 | 0,264 | 0,576 |
| | 34 | 10831 (8703 - 13728)[b] | 14673 (10192 - 16583)[a] | 12802 (9451 - 16432)[ab] | 13859 (11191 - 20186)[a] | 13078 (10903 - 14826)[ab] | 0,037 | 0,262 | 0,036 |
| T-Zellen | 21 | 6570 (5228 - 8238) | 7748 (4851 - 9418) | 6936[1] (6214 - 9342) | 7028 (5472 - 10221) | 7406 (5099 - 9459) | 0,792 | 0,547 | 0,538 |
| | 28 | 8987 (7361 - 12109) | 9517 (6382 - 13033) | 9289 (6096 - 12396) | 10023 (6813 - 16466) | 10128 (7368 - 13973) | 0,748 | 0,321 | 0,810 |
| | 34 | 9222 (7945-11765) | 12078 (8731 - 14185) | 11059 (7780 - 12891) | 11422 (9424 - 17154) | 11414 (9070 - 12880) | 0,084 | 0,319 | 0,082 |
| B-Zellen | 21 | 1100 (739 - 1540) | 1424 (523 - 2026) | 1218[1] (611 - 2017) | 1561 (959 - 2070) | 1226 (625 - 1967) | 0,462 | 0,547 | 0,538 |
| | 28 | 1122 (880 - 2091) | 1581 (776 - 2896) | 1388 (1097 - 2206) | 1826 (1303 - 2841) | 1574 (982 - 1957) | 0,168 | 0,180 | 0,072 |
| | 34 | 1413 (759 - 2130) | 2466 (633 - 2828) | 2028 (1024 - 3541) | 2388 (1582 - 3304) | 1889 (1592 - 2107) | 0,066 | 0,252 | 0,012 |

n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; [1]n = sieben gültige Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast; unterschiedliche Indizes (a,b) innerhalb einer Reihe geben signifikante Unterschiede an ($p \leq 0{,}05$).

### 4.6.4 Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut

Die Ergebnisse der prozentualen Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut sind in Tabelle 25 zusammengefasst. Alle Blutproben, die am 21. Lebenstag entnommen wurden, konnten aufgrund von technischen Gründen nicht mit in die Auswertung aufgenommen werden. Die Phagozytoseaktivität blieb an beiden Entnahmezeitpunkten unbeeinflusst.

### 4.6.5 Antikörpertiter gegen NDV

Die Ergebnisse der Analyse sind in Tabelle 25 aufgeführt. Die Antikörpertiter der Tiere aus der gleichen Box wurden vor der statistischen Auswertung gemittelt. Zwei Tiere wurden vorab aus der Wertung genommen, da dort kein Impferfolg festgestellt werden konnte. Diese beiden Tiere waren nur für die Bestimmung der Antikörpertiter vorgesehen und mussten deshalb nicht bei der Auswertung der anderen Blutparameter (s. 4.6.3 und 4.6.4) ausgeschlossen werden. Lediglich am 21. Lebenstag ergab sich ein tendenzieller linearer Zusammenhang bei der Analyse der Antikörpertiter gegen die Newcastle-Krankheit zugunsten der Kontrollgruppe ($p = 0{,}068$).

**Tabelle 25:** Ergebnisse der Phagozytoseaktivität der Monozyten im Vollblut und Antikörpertiter im Serum gegen das NDV der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum-Maximum)); n = 8

| | d | Hefezellwandprodukt | | | | | *p* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % | Kruskal-Wallis | Linear* | Quadrat* |
| Phagozytoseaktivität [%] | 28 | 46,0 (38,8 - 55,6) | 46,1 (32,3 - 69,8) | 52,5 (34,6 - 56,9) | 47,1 (37,6 - 66,4) | 49,6 (28,7 - 56,4) | 0,893 | 0,881 | 0,626 |
| | 34 | 48,0 (44,6 - 68,6) | 45,2 (34,7 - 64,5) | 51,0 (38,7 - 62,1) | 46,4 (38,9 - 62,4) | 49,6 (44,2 - 60,2) | 0,581 | 0,998 | 0,355 |
| Antikörpertiter NDV [GMT] | 21 | 126 (59,5 - 555) | 79,8 (29,0 - 362) | 96,3 (33,0 - 359) | 71,8 (18,5 - 352) | 72,8 (35,0 - 171) | 0,452 | 0,068 | 0,383 |
| | 28 | 118 (13,0 - 230) | 90,5 (33,0 - 304) | 47,0 (16,0 - 252) | 142 (87,5 - 168) | 62,3 (15,5 - 152) | 0,116 | 0,180 | 0,542 |
| | 34 | 2105 (448 - 6866) | 2519 (1243 - 7014) | 1950 (716 - 5827) | 4332 (832 - 8219) | 2467 (684 - 4712) | 0,285 | 0,764 | 0,237 |

GMT = Geometrischer Mitteltiter; n = Anzahl der gültigen Fälle/Versuchsgruppe; *p* = Überschreitungswahrscheinlichkeit; *polynomialer Kontrast.

# 5 Diskussion

## 5.1 Diskussion der Versuchsbedingungen und des Studiendesigns

Die Fütterungsstudie erfolgte in einem Versuchsstall mit 20 identischen Boxen am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin. Der Versuch wurde aufgrund der Stallgegebenheiten und der Anzahl von fünf Versuchsgruppen auf zwei Mastdurchgänge aufgeteilt, um eine statistische Aussagekraft der Ergebnisse gewährleisten zu können. Jahreszeitlich bedingte klimatische Schwankungen wurden weitestgehend ausgeschlossen, indem die Versuchsdurchgänge konsekutiv durchgeführt und die Stalltemperatur automatisch reguliert wurde. Zudem stellte ein einheitliches Lichtprogramm gleichwertige Haltungsbedingungen sicher. Sowohl die Aufteilung der verschiedenen Versuchsgruppen auf die Boxen im Versuchsstall als auch die Blutentnahmen während des Mastdurchganges und die Probengewinnung am Sektionstag erfolgten randomisiert, um örtliche sowie zeitliche Unterschiede auszugleichen und eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu ermöglichen. Die Eintagsküken wurden ebenfalls per Zufallsprinzip am Tag der Einstallung auf die Boxen verteilt. Mit einer durchschnittlichen Belegungsanzahl von 17 Masthühnern pro Box sollten aussagekräftige Ergebnisse hinsichtlich der zootechnischen Parameter erzielt werden. Eine geringere Besatzdichte in zwei der insgesamt 40 Boxen kann aufgrund einer fehlerhaft angelieferten Tieranzahl begründet werden. Da die Leistungsdaten dieser Tiere während des Versuchsablaufs nicht von den anderen Versuchstieren differierten und die erhobenen Mittelwerte aus einer Box als Versuchseinheit angesehen wurden, sind die beiden Boxen in der Wertung verblieben.

Für eine Vergleichbarkeit stammten die fünf verschiedenen Diäten aus einer einheitlichen Grundmischung und wurden für beide Versuchsdurchgänge gemischt und verfüttert. Bis zur Verfütterung wurde das Futter luftdicht und gekühlt gelagert, um die Qualität zu erhalten. Die mikrobiologische Untersuchung der Diäten auf die Gesamtkeimzahl sowie Hefen und Schimmelpilze lagen nach Analysen der LUFA-ITL GmbH trotz Schwankungen in einem niedrigen Bereich, bei dem keine Bedenken gegen eine sachgerechte Verfütterung der Diäten vorlagen. Die Nährstoffgehalte des Hefezellwandproduktes wurden bei der Erstellung der Versuchsdiäten auf Basis der Herstellerangaben einkalkuliert. Die Ermittlung des Gesamtglucan-, (1→3), (1→6)-β-D-Glucan- und Mannangehaltes des Hefezellwandproduktes erfolgte indirekt über die enzymatische Bestimmung von Glucose, Mannose und Stärke. Nach vorliegendem Erkenntnisstand stehen derzeit noch keine direkten Analyseverfahren zur Verfügung, um die Konzentrationen der (1→3), (1→6)-β-D-Glucane und α-(1→6)-Mannoselemente, die teilweise α-(1→2)- und α-(1→3)-Verzweigungen beinhalten, in Versuchsdiäten mit zugesetzten Hefezellwandpräparaten zu ermitteln. Daher kann in dem

durchgeführten Fütterungsversuch keine Dosis-Wirkungsbeziehung in Bezug auf die (1→3), (1→6)-β-D-Glucan- und α-(1→6)-Mannosekonzentrationen ermittelt werden. Jedoch kann eine mögliche Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Zugabe des hier verwendeten Hefezellwandproduktes aufgezeigt werden. Der Effekt des Pelletierens auf die (1→3), (1→6)-β-D-Glucan- und α-(1→6)-Mannosekonzentrationen im Endfutter konnte aufgrund der fehlenden Analysemöglichkeiten ebenfalls nicht ermittelt werden.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Vergleichbarkeit der Ergebnisse

Der nutritive Einsatz von Hefezellwandbestandteilen führt in der Literatur zu verschiedenen Ergebnissen in Bezug auf die Leistungsdaten sowie mikrobiologischen, verdauungsphysiologischen oder immunologischen Untersuchungen. Diese Ergebnisse weichen teilweise von den Ergebnissen der hier durchgeführten Studie ab. Bei der Diskussion der Ergebnisse muss daher beachtet werden, dass in jeder Fütterungsstudie

- die Herkunft und das Herstellungsverfahren des verwendeten Hefeproduktes mit unterschiedlichen % Gehalten an MOS und β-Glucanen
- die eingesetzte Dosierung des Hefeproduktes
- die Verwendung weiterer Futter- und Zusatzstoffkomponenten in den Diäten
- sowie weitere Faktoren

variieren können, demnach einen deckungsgleichen Vergleich nicht ermöglichen und einen Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse darstellen können. Oftmals fehlen in den Fütterungsstudien detaillierte Informationen zu den eingesetzten Hefezellwandpräparaten und deren Zusammensetzung. Diese Informationen würden die Vergleichbarkeit der Studien verbessern und möglicherweise die unterschiedlichen Resultate in den Fütterungsstudien erklären.

### 5.2.2 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die zootechnischen Parameter

Die Ergebnisse der zootechnischen Parameter der Masthühner lagen bezüglich der Lebendmasse in den ersten beiden Lebenswochen unter den Angaben des Züchtungsunternehmens (Tabelle 26 und Tabelle 27). Ab dem 21. Lebenstag stiegen die mittleren Lebendmassewerte über die Angaben des Züchtungsunternehmens an. Die Tiere zeigten während der Fütterungsstudie eine normale Entwicklung ohne gesundheitliche Auffälligkeiten, was darauf schließen lässt, dass Haltungsbedingungen und Basisdiät adäquat waren. Die mittleren prozentualen Mortalitätsraten von 2,92 % bis 5,88 % in den Versuchsgruppen können in Anbetracht der geringen Tieranzahl in den Versuchseinheiten nicht mit veröffentlichten Durchschnittswerten von 2,29 % Stallverlusten in konventionellen

Mastbetrieben mit 38-tägiger mittlerer Mastperiode verglichen werden (ZDG 2013). Die mittlere Futteraufnahme lag mit Ausnahme der letzten Lebenswoche zumeist über den Angaben des Züchtungsunternehmens, was den höheren Futteraufwand der Tiere im Fütterungsversuch im Gegensatz zu den Angaben des Züchtungsunternehmens erklären könnte. Die manuelle Ein- und Rückwaage des Futters in die Futterteller und Futterautomaten führte zu unbeabsichtigten Futterverlusten, die sich in einer höheren Futteraufnahme und Futteraufwand widerspiegeln können.

**Tabelle 26:** Leistungsdaten von männlichen Cobb 500 Broilern [g] (Cobb 2012)

| d | Lebendmasse | kumulativer Futteraufwand | kumulative Futteraufnahme |
|---|---|---|---|
| 0 | 43 | | |
| 7 | 179 | 0,84 | 151 |
| 14 | 475 | 1,00 | 475 |
| 21 | 938 | 1,18 | 1106 |
| 28 | 1531 | 1,36 | 2085 |
| 35 | 2217 | 1,55 | 3435 |

**Tabelle 27:** Mittlere Leistungsdaten der fünf Versuchsgruppen [g] (Mittelwert); n = 8

| | Hefezellwandprodukt | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0,05 % | 0,10 % | 0,20 % | 0,30 % |
| Lebendmasse d 1 | 42,1 | 42,2 | 42,6 | 42,7 | 41,7 |
| Lebendmasse d 7 | 159 | 161 | 158 | 159 | 162 |
| Futteraufnahme d 1 - 7 | 159 | 150 | 147 | 157 | 165 |
| Futteraufwand d 1 - 7 | 1,35 | 1,26 | 1,27 | 1,35 | 1,38 |
| Lebendmasse d 14 | 443 | 447 | 444 | 451 | 464 |
| Futteraufnahme d 8 - 14 | 345 | 347 | 351 | 352 | 352 |
| Futteraufwand d 8 - 14 | 1,22 | 1,22 | 1,23 | 1,21 | 1,17 |
| Lebendmasse d 21 | 946 | 952 | 944 | 958 | 979 |
| Futteraufnahme d 15 - 21 | 678 | 682 | 706 | 689 | 690 |
| Futteraufwand d 15 - 21 | 1,35 | 1,35 | 1,41 | 1,36 | 1,34 |
| Lebendmasse d 28 | 1655 | 1660 | 1637 | 1628 | 1669 |
| Futteraufnahme d 22 - 28 | 987 | 995 | 1002 | 1011 | 992 |
| Futteraufwand d 22 - 28 | 1,39 | 1,41 | 1,45 | 1,51 | 1,44 |
| Lebendmasse d 35 | 2434 | 2439 | 2398 | 2364 | 2410 |
| Futteraufnahme d 29 - 35 | 1264 | 1259 | 1254 | 1226 | 1242 |
| Futteraufwand d 29 - 35 | 1,63 | 1,62 | 1,65 | 1,67 | 1,68 |

Die männlichen Masthühner aus dem zweiten Mastdurchgang zeigten unabhängig von ihrer Gruppenzugehörigkeit überwiegend geringere mittlere Lebendmassen sowie Lebendmassezunahmen. Zudem lag der Futteraufwand dieser Tiere höher als im ersten Mastdurchgang. Beides kann an einer unterschiedlichen Elterntierherde oder einem unterschiedlichen Alter der Elterntiere liegen. Dies kann aufgrund der fehlenden Angaben hinsichtlich des Alters und der Herde der Elterntiere im Folgenden nicht weiter diskutiert

werden. Aufgrund der Boxenanzahl im Versuchsstall ließen sich die Unterschiede über mehrere Mastdurchgänge nicht vermeiden. Da von dieser Wiederholung alle Tiergruppen einheitlich betroffen waren, dürfte sich dieses nicht auf das Gesamtergebnis ausgewirkt haben.

In der Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes konnte in den ersten sieben Lebenstagen eine höhere Futteraufnahme verglichen mit den Versuchsgruppen mit dem Zusatz von 0,05 % und 0,10 % des Hefezellwandproduktes beobachtet werden ($p = 0{,}002$). Zudem wies die polynomiale Kontrastanalyse sowohl einen linearen als auch quadratischen Zusammenhang zwischen der Futteraufnahme und der Produktkonzentration auf ($p = 0{,}013$ und $p = 0{,}002$). Diese erhöhte Futteraufnahme ging ohne eine erhöhte Lebendmassezunahme einher und spiegelt sich womöglich in einem tendenziell schlechteren Futteraufwand in jenen Versuchsgruppen wider ($p = 0{,}081$ und $p = 0{,}093$). Eine erhöhte Futteraufnahme aufgrund von Geschmacksveränderungen durch den Zusatz des Hefezellwandproduktes erscheint unwahrscheinlich, da Broiler im Vergleich zu Säugetieren wenige Geschmacksknospen besitzen (Roura *et al.* 2012) und die Unterschiede in der Futteraufnahme in der zweiten Lebenswoche der Tiere nicht mehr nachweisbar waren. Demgegenüber konnte in einem Fütterungsversuch mit Cobb Broilern in der dritten Lebenswoche eine erhöhte Futteraufnahme ($p < 0{,}05$) mit dem Zusatz von 0,01 % und 0,05 % zweier Hefeextrakte im Vergleich zu nicht supplementieren oder mit Avilamycin supplementierten Tieren festgestellt werden (Owens und McCracken 2007). Die Autoren gingen davon aus, dass die Schmackhaftigkeit der Diät durch die im Hefeextrakt enthaltenen Nukleotide möglicherweise verbessert wurde und zu einer erhöhten Futteraufnahme geführt hat. Außerdem könnte sich eine verbesserte Gesundheit der Tiere positiv auf die Futteraufnahme niederschlagen.

In der zweiten und dritten Lebenswoche konnte bei der mittleren Lebendmasse ein gesicherter bzw. tendenzieller Effekt in der polynomialen Kontrastanalyse zugunsten der Versuchsgruppen mit der Zugabe des Hefezellwandproduktes ermittelt werden ($p = 0{,}029$ und $p = 0{,}089$). Zudem konnte ein linearer Effekt bei der Lebendmassezunahme in der zweiten Lebenswoche zugunsten der supplementieren Versuchsgruppen verzeichnet werden ($p = 0{,}011$). Dabei zeichneten sich mit der Zugabe von 0,30 % des Hefezellwandproduktes die höchsten Lebendmassen und Lebendmassezunahmen ab, die in der dritten Lebenswoche mit einem tendenziell verbesserten Futteraufwand in der quadratischen polynomialen Kontrastanalyse einhergingen ($p = 0{,}083$). In der vierten und fünften Lebenswoche zeigte sich bei der Lebendmassezunahme hingegen ein inverser linearer Effekt in der polynomialen Kontrastanalyse ($p = 0{,}043$ und $p = 0{,}004$), der sich in der fünften Lebenswoche in einem tendenziell verschlechterten Futteraufwand niedergeschlagen hat ($p = 0{,}052$). Ein positiver

Trend in der Lebendmassezunahme ($p = 0{,}07$) konnte auch in einer Studie mit männlichen Cobb Broilern und dem Zusatz von 0,20 % eines MOS-Produktes beobachtet werden (Yang *et al.* 2007). Die Autoren begründeten eine ausbleibende Leistungssteigerung der Tiere ab der dritten Lebenswoche mit den überdurchschnittlichen Lebendmassedaten im Vergleich zu den Angaben des Züchtungsunternehmens. Ein derart hohes Leistungsniveau der Tiere, welches auch in dieser Studie beobachtet werden konnte, ließe eine weitere positive Wirkung von Hefezellwandpräparaten auf die Lebendmasse der Tiere nur schwer zu. In einem anderen Fütterungsversuch konnten hingegen erhöhte Lebendmassezunahmen der Broiler in der Mastperiode (d 18 - 34) durch den Zusatz von 0,02 % von β-Glucanen der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* ermittelt werden (Chae *et al.* 2006). Weitere Veröffentlichungen bestätigen verbesserte Leistungsdaten von Masthühnern durch den Einsatz von Hefezellwandbestandteilen (Hooge 2004, Hooge und Conolly 2011, Zhang *et al.* 2012), wohingegen andere Quellen keine gesicherten Veränderungen ermitteln konnten (Hofacre *et al.* 2003, McCann *et al.* 2006, Elmusharaf *et al.* 2007, Yalçinkaya *et al.* 2008, Houshmand *et al.* 2012). Dabei könnte die hohe Variabilität der verschiedenen Hefezellwandprodukte, deren unterschiedlich eingesetzten Dosierungen sowie differente Versuchsbedingungen diese konträren Ergebnisse erklären.

Huff *et al.* (2006) sahen die Initiierung einer Immunantwort durch den Zusatz von 0,0022 % eines β-(1→3), (1→6)-Glucanproduktes bei immunkompetenten und gesunden Masthühnern als einen Grund für die Leistungseinbußen in der Lebendmasse während der Mastperiode an. In einem Infektionsversuch aus der gleichen Veröffentlichung konnte der Zusatz dieses β-Glucanproduktes sogar eine infektionsbedingte Wachstumsdepression eindämmen. Allerdings trat der Effekt nur dann auf, wenn die Tiere nur in den ersten sieben Tagen anstatt über die ganze Mastperiode supplementiert worden sind. Daher könnte das in der vorliegenden Studie eingesetzte Hefezellwandprodukt in der ersten Lebensphase der Tiere bedingt durch das noch nicht vollständig entwickelte Immunsystem und deren Anfälligkeit gegenüber Umweltpathogenen das Immunsystem aktiviert und somit die Immunkompetenz und indirekt die Leistungsparameter der Tiere verbessert haben, wenngleich die genauen Mechanismen der Immunmodulation durch Hefezellwandbestandteile noch nicht vollständig geklärt sind (Ganner und Schatzmayr 2012, Sadeghi *et al.* 2013). Es wurden jedoch in der vorliegenden Studie aufgrund des Alters der Tiere vor dem 21. Lebenstag keine Blutproben entnommen, um den Immunstatus der Tiere zu überprüfen, sodass keine Hinweise auf eine verbesserte Immunkompetenz der Tiere in dieser Lebensphase vorliegen und weiter diskutiert werden können. Ab der vierten Lebenswoche könnte aber der Einsatz des Hefezellwandproduktes bei den immunkompetenten Masthühnern, die unter hohen hygienischen Standards ohne gesundheitliche Auffälligkeiten gehalten wurden, zu einer konzentrationsabhängigen Stimulation des Immunsystems geführt haben, die sich möglicherweise negativ auf die

zootechnischen Leistungen der Tiere niederschlägt. In der vorliegenden Studie konnten in unterschiedlicher Ausprägung konzentrationsabhängige Einflüsse des Hefezellwandproduktes auf die Lymphozyten-, T- und B-Zellzahlen zwischen dem 21. und 34. Lebenstag im Vollblut der Masthühner festgestellt werden, was auf eine systemische Immunmodulation während der letzten drei Lebenswochen der Tiere hinweisen könnte. Die Ergebnisse der Immunparameter werden unter Punkt 5.2.5 weitergehend erläutert. In einer anderen Studie mit Broilern konnte zwischen dem 14. und 35. Lebenstag mit dem Zusatz von 0,20 % eines Hefederivates eine schlechtere Lebendmassezunahme ($p = 0{,}017$) im Vergleich zu dem Zusatz von 0,10 % des Hefeproduktes beobachtet werden (Reisinger *et al.* 2012). Die Initiierung einer Immunantwort kostet Energie (Korver 2012, Visscher 2013), die dem Tier für anabole Stoffwechselprozesse nicht zur Verfügung steht (Johnson 1997, Spurlock 1997).

Eine Veränderung in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota (Kim *et al.* 2011, Ghosh *et al.* 2012), erhöhte Zottenlängen der Darmschleimhaut, die die nährstoffabsorbierende Oberfläche vergrößern (Santin *et al.* 2001), oder eine erhöhte Becherzelldichte (Reisinger *et al.* 2012) gingen in anderen Fütterungsstudien mit einer Verbesserung der zootechnischen Leistung von Masthühnern einher und wurden als mögliche Erklärungen für leistungsfördernde Effekte angeführt, die durch Hefezellwandbestandteile initiiert werden können. In diesem Fütterungsversuch wurde auf Probenentnahmen während der Mastperiode, die mit einer Tötung der Tiere einhergehen, bewusst verzichtet, um die Aussagekraft der Ergebnisse der zootechnischen Parameter nicht zu beeinflussen. Zudem wurden keine histologischen Analysen an der Darmschleimhaut vorgenommen. Daher lassen sich keine Rückschlüsse auf einen möglichen Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota sowie der histologischen Veränderung der Darmschleimhaut und den zootechnischen Parametern der Tiere während der Mastperiode ziehen.

Festzuhalten bleibt, dass die Leistungsparameter der Masthühner, denen 0,05 % des Hefezellwandproduktes zugesetzt worden ist, über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet die numerisch höchsten Lebendmassewerte sowie einen numerisch verbesserten Futteraufwand aufgezeigt haben, wenngleich die Unterschiede eher marginal sind. Diese Dosierung zeigte in den ersten drei Lebenswochen positive und in den letzten beiden Mastwochen neutrale Effekte auf die zootechnischen Parameter der Masthühner. Die Supplementierung von 0,30 % des Hefezellwandproduktes erwies sich im Vergleich zu der Kontrollgruppe in den ersten drei Lebenswochen als vorteilhaft bezüglich der Lebendmassezunahmen der Tiere. Eine Dosis-Wirkungsbeziehung des Hefezellwandproduktes und der Lebendmasseentwicklung ließ sich in den ersten drei Lebenswochen zugunsten der Versuchsgruppen, denen das Hefezellwandprodukt verfüttert

worden ist, aufgrund der Ergebnisse der polynomialen Kontrastanalyse ableiten, die sich in den letzten beiden Wochen der Mastperiode umkehrte. Dieses könnte auf die hohe Kapazität von Broilern für kompensatorisches Wachstum hindeuten und wurde auch in einer anderen Studie beobachtet (Yang *et al.* 2007).

### 5.2.3 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die praecaecale Verdaulichkeit

Obwohl Hefezellwandbestandteile in zahlreichen Studien sowohl in Bezug auf ihre immunmodulierende Wirkung als auch ihre Wirkung auf die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern untersucht wurden, gibt es bisher nur wenige Studien zu den Effekten von Hefezellwandbestandteilen auf die praecaecale Verdaulichkeit von Protein, Fett und Stärke. Zudem liegen nach derzeitigem Kenntnisstand keine Ergebnisse hinsichtlich des Effektes von Hefezellwandbestandteilen auf den Trockensubstanzgehalt der Digesta im Ileum bei Masthühnern vor.

In der vorliegenden Studie konnten keine Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen hinsichtlich der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit von Fett und Stärke ermittelt werden, was mit vorherigen Studien einhergeht (Kumprecht und Zobac 1997, Yang *et al.* 2007, Yang *et al.* 2008c, Morales-López *et al.* 2010). Zudem ergaben sich keine Gruppenunterschiede in Bezug auf den prozentualen Trockensubstanzgehalt der ursprünglichen Substanz in der Ileumdigesta der Tiere. Bei der Analyse des Rohproteins zeigte sich hingegen eine tendenzielle Erhöhung der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit bei den Versuchsgruppen, denen das Hefezellwandprodukt zugegeben wurde ($p = 0{,}064$). Eine Dosis-Wirkungsbeziehung spiegelte sich sowohl als linearer sowie als quadratischer Trend in der polynomialen Kontrastanalyse wider ($p = 0{,}070$ und $p = 0{,}024$), wobei mit der Zugabe von 0,30 % des Hefezellwandproduktes die Verdaulichkeit numerisch wieder abnahm. Dies steht im Kontrast zu anderen Fütterungsversuchen, in denen der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen keinen gesicherten Effekt auf die Proteinverdaulichkeit bei Masthühnern hatte (Kumprecht und Zobac 1997, Yang *et al.* 2008a, Yang *et al.* 2008c, Morales-López *et al.* 2010). Es lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht vollständig abklären, warum die scheinbare ileale Rohproteinverdaulichkeit durch die Zugabe des Hefezellwandproduktes verbessert wurde. Eine Erklärung könnte in einer möglichen Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota liegen. In der Ileumdigesta konnten konzentrationsabhängige Effekte des Hefezellwandproduktes auf die Anzahl der Laktobazillen ermittelt werden. Laktobazillen werden als günstig für die intestinale Mikroökologie diskutiert (Juven *et al.* 1991, Jin *et al.* 1996, Jin *et al.* 1998, Patterson und Burkholder 2003). Möglicherweise könnten bei einer positiven Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota (Eubiose) im Gastrointestinaltrakt günstige Effekte erzielt werden, indem beispielsweise weniger Muzine im Gastrointestinaltrakt sezerniert werden. Hinweise darauf

könnten dabei durch Studien mit Schweinen und Mäusen geliefert werden (Khoury *et al.* 1969, Willing und Van Kessel 2007). Dieser Erklärungsansatz steht jedoch im Kontrast zu weiteren Studienergebnissen, bei denen der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen zu einer vermehrten Dichte oder Größe der Becherzellen, die Muzine sezernieren, im Gastrointestinaltrakt von Hühnern geführt hat (Baurhoo *et al.* 2009, Brümmer *et al.* 2010, Reisinger *et al.* 2012). Außerdem könnte ein geringer Zellaustausch an der Darmschleimhaut zu einer erhöhten Verdaulichkeit von Nährstoffen führen (Nochta *et al.* 2010). Erhöhte Zottenlängen vergrößern die absorbierende Oberfläche der Darmschleimhaut und verringerte Kryptentiefen deuten auf eine verringerte Regeneration der Darmschleimhaut hin. Einige Studien bestätigen, dass Hefezellwandbestandteile die Zottenlänge erhöhen und die Kryptentiefe an der Schleimhaut im Gastrointestinaltrakt von Hühnern reduzieren können (Santin *et al.* 2001, Zhang *et al.* 2005, Žikic´ *et al.* 2011). Zudem konnten erhöhte Enzymaktivitäten von Maltase und alkalischer Phosphatase an der Darmschleimhaut von Masthühnern festgestellt werden (Iji *et al.* 2001, Yang *et al.* 2008a). Aufgrund der Tatsache, dass keine histologischen Analysen an der Darmschleimhaut durchgeführt worden sind, kann der Effekt des Hefezellwandproduktes auf die Darmschleimhaut nicht beurteilt und diese Vermutungen nicht abschließend verifiziert werden.

### 5.2.4 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die mikrobiologischen Parameter

Eine Beurteilung der Effekte des Hefezellwandproduktes auf die Zusammensetzung der Mikrobiota und deren Stoffwechselaktivität im Kropf, Ileum und den Caeca der 35 Tage alten Masthühner erfolgte anhand der Quantifizierung der Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. mittels qPCR sowie der Bestimmung der bakteriellen Metaboliten D- und L-Laktat, Ammonium und der kurzkettigen Fettsäuren. Die bakteriellen Metaboliten gelten dabei als Indikatoren für die bakterielle Stoffwechselaktivität. In die Auswertung sind nur jene Proben eingeflossen, in denen die gesuchten Bakteriengruppen mittels der verwendeten Primer detektiert werden konnten, da das vollständige Fehlen von Bakteriengruppen in der Digesta als unwahrscheinlich anzusehen ist und womöglich auf die Qualität der Proben zurückzuführen ist. Zudem konnte bei einigen Tieren nicht genügend Digestainhalt für die Analysen gewonnen werden. Entsprechend hat die hohe Variabilität bei der Probenanzahl einen Einfluss auf die statistische Aussagekraft der Ergebnisse und muss bei der Beurteilung der Daten Berücksichtigung finden.

Die Laktobazillen dominieren in der vorliegenden Studie in der Kropf- und Ileumdigesta der Masthühner, was mit anderen Studienergebnissen einhergeht (Rehman *et al.* 2007, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014). Es konnte ein konzentrationsabhängiger Effekt des Hefezellwandproduktes auf die Kopienzahl der Laktobazillen im Kropf ($p = 0{,}010$) sowie im Ileum ($p = 0{,}002$ und $p = 0{,}018$) beobachtet werden. Die höchsten Effekte wurden dabei im

Kropf bei einer Zugabe von 0,10 % und im Ileum bei einer Zugabe von 0,20 % des Hefezellwandproduktes ermittelt, die sich im Ileum in Gruppenunterschieden im Kruskal-Wallis-Test niedergeschlagen haben ($p = 0{,}027$). Dieses Ergebnis wird auch in anderen Fütterungsstudien reflektiert, bei denen in der Ileumdigesta sowie im Dünndarm von 28 und 35 Tage alten Masthühnern eine erhöhte Laktobazillenbesiedlung bei dem Zusatz von 0,10 % sowie 0,20 % verschiedener Hefezellwandpräparate beobachtet wurde, jedoch keine Analysen in der Kropfdigesta durchgeführt worden sind (Vancraeynest *et al.* 2007, Kim *et al.* 2011). In den Caeca wurden entsprechende Veränderungen in der vorliegenden Studie hingegen nicht nachgewiesen. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass der konzentrationsabhängige Effekt des Hefezellwandproduktes sich auf die Kopienzahl der Laktobazillen im Kropf sowie im Ileum beschränkt und in den Caeca nicht mehr vorhanden ist. Zudem weisen die Ergebnisse darauf hin, dass vorrangig die Laktobazillen die Kohlenhydrate des Hefezellwandproduktes als Substrat nutzen, was durch einen anderen Fütterungsversuch mit Puten und dem Einsatz eines Hefezellproduktes unterstrichen werden kann (Shanmugasundaram *et al.* 2014). Der Kropf stellt nach der Futteraufnahme den ersten bakteriellen Fermentationsort dar, sodass das oral aufgenommene Hefezellwandprodukt dort den größten Einfluss auf die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota haben könnte. Möglicherweise werden die MOS und β-Glucane des Hefezellwandproduktes entlang des Gastrointestinaltraktes von der Mikrobiota abgebaut und erreichen die Caeca nicht in ausreichenden Konzentrationen, um die Zusammensetzung der Mikrobiota nachweislich zu verändern. Dies steht jedoch im Kontrast zu zwei Fütterungsstudien, in denen der Einsatz eines MOS-Produktes aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* bei Masthühnern in der Caecadigesta zu einem Anstieg der Laktobazillenpopulation geführt hat (Baurhoo *et al.* 2007, Baurhoo *et al.* 2009). Andererseits zeigte der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen in anderen Studien keine gesicherte quantitative Veränderung der Laktobazillen in der Caecadigesta von Masthühnern, wobei in keiner der genannten Studien Analysen in der Kropf- oder Ileumdigesta stattgefunden haben und zudem die zugesetzten Hefeprodukte in den Studien variierten (Spring *et al.* 2000, Khalaji *et al.* 2011, Shanmugasundaram *et al.* 2013).

Sowohl bei der Analyse des L- und D-Laktats als auch bei der Acetatanalyse konnten ähnliche konzentrationsabhängige Effekte des Hefezellwandproduktes zu der Kopienzahl der Laktobazillen im Kropf und Ileum festgestellt werden, wenngleich die Ergebnisse nicht gesichert waren. Diese Ergebnisse lassen dennoch darauf schließen, dass der Einsatz des Hefezellwandproduktes neben der Veränderung der Zusammensetzung der Mikrobiota zudem die mikrobielle Stoffwechselaktivität in der Kropf- sowie Ileumdigesta numerisch als auch in einem Trend ($p = 0{,}091$) verändert hat. In einer anderen Fütterungsstudie konnte eine Erhöhung der Essigsäure in den Caeca von Broilern ermittelt werden, sodass die Autoren schlussfolgerten, dass der Einsatz von 0,20 % eines MOS-Produktes die caecale bakterielle

Stoffwechselaktivität von Masthühnern verändern kann (Yang *et al.* 2007). Die Quantifizierung der Bakterien sowie die Bestimmung der Konzentration von Laktat und den kurzkettigen Fettsäuren in dieser Studie stellen drei voneinander unabhängige Analysemethoden dar, sodass Fehler in der Analytik als unwahrscheinlich angesehen werden können. Zudem stellt die Essigsäure in der vorliegenden Studie in Übereinstimmung mit anderen Studien die dominierende kurzkettige Fettsäure in der Kropf- und Ileumdigesta dar (Engberg *et al.* 2002, Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2007, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014), die Mengenverhältnisse der bakteriellen Metaboliten in den Caeca entsprechen vorliegenden Studien (Engberg *et al.* 2002, Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008, Yang *et al.* 2008c, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014) und die Konzentrationen der Metaboliten waren erwartungsgemäß in den Caeca höher als im Ileum. Andererseits ist es nicht möglich, eine direkte Korrelation zwischen der Laktat- sowie Acetatkonzentration und der quantitativen Menge der Laktobazillen herzustellen, da eine gesteigerte Stoffwechselaktivität nicht zwangsläufig eine gesteigerte Bakterienanzahl zur Folge hat, sodass die getroffenen Schlussfolgerungen überprüft und verifiziert werden müssen. Die Buttersäure- sowie Ammoniumkonzentrationen in der Digesta wurden durch den Zusatz des Hefezellwandproduktes nicht beeinflusst. Diese bakteriellen Metaboliten können Hinweise auf eine vermehrte proteolytische Aktivität der Mikrobiota geben. Die Propionsäurekonzentrationen waren in den Caeca durch den Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes niedriger im Vergleich zu den Versuchsgruppen, denen 0,05 % und 0,10 % des Hefezellwandprodukt zugesetzt wurde ($p = 0{,}047$). Bei der gleichzeitigen Betrachtung der Laktatkonzentrationen in den Caeca kann möglicherweise eine Förderung der laktatverwertenden Bakterien die unterschiedlichen Propionsäurekonzentrationen in den Caeca erklären. Milchsäure kann von strikt anaeroben Bakterien wie *Veillonella* spp. und Clostridien zu Propionat umgewandelt werden (Sokatch 1969, Ljungdahl *et al.* 1989).

Bei der pH-Wert-Analyse wurden in der Digesta des Kropfes Gruppenunterschiede und tierindividuelle Schwankungen beobachtet. In der Literatur ergeben sich ebenfalls deutliche pH-Wert-Schwankungen (Hinton *et al.* 2000, Józefiak *et al.* 2006, Rehman *et al.* 2008), was wiederum in Zusammenhang mit der Diät und dem Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme vor der Probenentnahme stehen kann und in der vorliegenden Studie mitunter zu den pH-Wert-Unterschieden in der Kropf-, Ileum- und Caecadigesta geführt haben könnte ($p = 0{,}027$, $p = 0{,}001$, $p = 0{,}055$ und $p = 0{,}039$). Auffallend war jedoch, dass sich in der Kropfdigesta ein quadratischer Zusammenhang zwischen der Produktkonzentration und dem pH-Wert ergeben hat ($p = 0{,}001$), wobei der niedrigste pH-Wert in der Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,10 % des Hefezellwandproduktes vorlag. Dabei ergab sich ein analog inverser Verlauf der pH-Werte im Hinblick auf die Kopienzahl der Laktobazillen sowie der Laktat- und Acetatkonzentrationen in der Kropfdigesta. Dieser Zusammenhang zeigte sich jedoch im

Ileum sowie in den Caeca nicht. Laktobazillen sind säuretolerant und in der Lage, sowohl Milchsäure als auch Acetat zu produzieren (Jin *et al.* 1998, Okano *et al.* 2009), was zu einer pH-Wert-Senkung führen kann. Bei niedrigen pH-Werten liegen flüchtige Fettsäuren wie die Essigsäure undissoziiert vor und sind in der Lage, verschiedene Vertreter der Enterobakterien im Gastrointestinaltrakt von Masthühnern zu reduzieren (Barnes *et al.* 1979, Jin *et al.* 1996, Van der Wielen *et al.* 2000). Obwohl die pH-Werte in der vorliegenden Studie im Kropf mit dem Einsatz von 0,10 % des Hefezellwandproduktes reduziert wurden ($p = 0{,}027$) und die Laktobazillenzahl als auch die Essig- und Milchsäurekonzentrationen durch den Zusatz von 0,10 % des Hefezellwandproduktes im Kropf und 0,20 % des Hefezellwandproduktes im Ileum erhöht waren, konnte keine Verminderung der untersuchten Enterobakterien oder der *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. im Kropf, Ileum oder in den Caeca beobachtet werden. Vielmehr können die Ergebnisse der durchgeführten Studie die Vermutung untermauern, dass andere Faktoren als der pH-Wert, die Konzentration der bakteriellen Metaboliten oder das vermehrte Vorkommen der Laktobazillen für die Reduzierung von verschiedenen Enterobakterien verantwortlich sind, was mit anderen Ergebnissen einhergeht (Spring *et al.* 2000, Yang *et al.* 2008b). Die Resultate aus der vorliegenden Studie stehen jedoch im Kontrast zu Studienergebnissen, wo der Einsatz von verschiedenen Futteradditiven, die Hefezellwandbestandteile enthalten, zu einer Verminderung von *Escherichia coli* oder *Salmonella* spp. in der Digesta von Masthühnern geführt hat (Spring *et al.* 2000, Baurhoo *et al.* 2007, Vancraeynest *et al.* 2007, Baurhoo *et al.* 2009, Kim *et al.* 2011, Muthusamy *et al.* 2011, Gajewska *et al.* 2012, Shao *et al.* 2013). Dabei hat das Herstellungsverfahren der verschiedenen Hefeprodukte im Gegensatz zum Hefestamm einen Einfluss auf deren Bindungskapazität (Ganner *et al.* 2013) und kann diese konträren Ergebnisse möglicherweise erklären. Es wird vermutet, dass Hefezellwandbestandteile bei Bakterien, die Mannose-spezifische Typ I Fimbrien exprimieren, als Rezeptoranalogon fungieren und so die Adhäsion der Bakterien an der Schleimhautoberfläche reduzieren. Zudem sind die von den Becherzellen produzierten Muzine als Glycoproteine ebenfalls in der Lage, mit ihren Zuckerstrukturen kompetitiv Bakterien zu binden. Aufgrund der Tatsache, dass keine histologische Analyse der Becherzellmorphologie oder der Muzine im Gastrointestinaltrakt durchgeführt worden ist, können die Resultate aus anderen Fütterungsversuchen, in denen der Einsatz von Hefezellwandbestandteilen zu einer Veränderung der Becherzellgröße- oder dichte geführt hat, nicht überprüft werden (Baurhoo *et al.* 2009, Brümmer *et al.* 2010, Munyaka *et al.* 2012, Reisinger *et al.* 2012).

Nach derzeitigem Kenntnisstand fehlen bisher ausreichende Ergebnisse zu Effekten von Hefezellwandbestandteilen auf die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota im Kropf von Masthühnern. Um weitere Einblicke zu den Effekten des Hefezellwandproduktes auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota zu erhalten, könnten in Folgeversuchen

weitere Bakterien wie die Clostridien analysiert werden, die als strikte Anaerobier sowohl den Kropf als auch den hinteren Gastrointestinaltrakt besiedeln (Rehman *et al.* 2007, Goodarzi Boroojeni *et al.* 2014). Zudem könnte eine Quantifizierung verschiedener Bakterien im Bereich der Mukosa dazu verhelfen, umfangreichere Erkenntnisse zu den Effekten des Hefezellwandproduktes an der Darmschleimhaut zu erlangen.

### 5.2.5 Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die immunologischen Parameter

Die Effekte des Hefezellwandproduktes auf das angeborene sowie erworbene Immunsystem wurden anhand von verschiedenen Parametern evaluiert. Die vorliegende Studie hat dabei nicht die Charakterisierung der genauen Wirkmechanismen der Immunmodulation durch das Hefezellwandprodukt untersucht. Ziel war, die Auswirkungen des Hefezellwandproduktes auf mehreren Ebenen des Immunsystems deskriptiv zu ermitteln. Es besteht die Annahme, dass der nutritive Zusatz von Hefezellwandbestandteilen, die als nicht pathogene Antigene fungieren, durch das darmassoziierte Immunsystem erkannt werden und nachfolgend eine systemische Immunantwort in Gang setzen können (Ferket *et al.* 2002, Kogan und Kocher 2007). In einer Studie konnte ein spezifischer β-Glucanrezeptor auf der Oberfläche von aviären Immunzellen im Blut charakterisiert werden (Nerren und Kogut 2009). Diese und weiter erforderliche Erkenntnisse könnten es zukünftig ermöglichen, Hefezellwandbestandteile gezielter bei der diätetischen Immunmodulation in aviären Spezies einzusetzen. In diesem Zusammenhang gilt es ebenfalls, die verschiedenen Hefezellwandpräparate detaillierter zu analysieren.

Zur Beurteilung des darmassoziierten Immunsystems wurde der Gehalt von IgA in der Duodenumdigesta mittels ELISA ermittelt. Es konnten weder eine Dosis-Wirkungsbeziehung noch Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen durch den Einsatz des Hefezellwandproduktes ermittelt und somit vorherige Studienergebnisse aus anderen Veröffentlichungen nicht bestätigt werden (Zhang *et al.* 2008, Gómez Verduzco *et al.* 2009a, Shao *et al.* 2013). Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Analyse von intestinalem IgA nur einen Teil des lokalen Immunsystems abbildet und somit weitere Untersuchungen notwendig sind, um zu überprüfen, ob Hefezellwände in der Lage sind, das lokale darmassoziierte Immunsystem zu aktivieren.

Des Weiteren wurden die Antikörpertiter gegen das NDV vor sowie sieben und 13 Tage nach der oralen Impfung gegen die Newcastle-Krankheit ermittelt. Der Wasserentzug zwei Stunden vor der Impfung sollte eine gleichmäßige Aufnahme des Impfstoffes über die Tränken gewährleisten. Trotzdem konnte bei zwei Tieren kein Impferfolg über die drei Analysenzeitpunkte festgestellt werden, sodass die Tiere bei der Auswertung nicht berücksichtigt wurden. Diese Tiere gehörten nicht zu jenen Tieren, denen Blut für die

Analyse der Phagozytoseaktivität sowie die Blutbildanalyse entnommen wurde und hatten daher keinen Einfluss auf die Bewertung dieser beiden Parameter. 13 Tage nach der Impfung konnte bei allen beprobten Tieren ein gruppenunabhängiger erhöhter Impftiter gegen das NDV festgestellt werden, was auf einen Impferfolg der Herde in beiden Mastdurchgängen hinweist. Gruppenspezifische Unterschiede zeigten sich am 21. Lebenstag in einem tendenziellen linearen Zusammenhang bei der Analyse der Antikörpertiter gegen die Newcastle-Krankheit zugunsten der Kontrollgruppe ($p = 0{,}068$). Dies lässt sich wahrscheinlich aufgrund der Tatsache erklären, dass bei drei von 16 beprobten Tieren aus der Kontrollgruppe hohe Antikörpertiter nachweisbar waren und sich dies in einer Tendenz bei der statistischen Auswertung widergespiegelt hat. Möglicherweise waren bei diesen Tieren maternale Antikörper im Blut vorhanden. Das Vorkommen von Feldantikörpern erscheint aufgrund von fehlenden klinischen Symptomen als unwahrscheinlich, wenngleich dies durch weitere Analysen unterschieden und verifiziert werden müsste. Eine stimulierte Antikörperantwort gegen diesen viralen Erreger war in der vorliegenden Studie durch den Einsatz des Hefezellwandproduktes weder vor noch nach der Vakzinierung der Masthühner nachzuweisen. Dieses steht im Kontrast zu Ergebnissen aus anderen Fütterungsstudien (An *et al.* 2008, Gómez Verduzco *et al.* 2009a, Gómez Verduzco *et al.* 2009b, Oliveira *et al.* 2009, Awaad *et al.* 2011, Mogadam und Azizpour 2011, Muthusamy *et al.* 2011, Ghosh *et al.* 2012, Li *et al.* 2012, Mehdi und Hasan 2012, Sadeghi *et al.* 2012). Allerdings war in weiteren Fütterungsversuchen ebenfalls kein gesicherter Effekt auf die Antikörpertiter gegen das NDV darzustellen (Shafey *et al.* 2001, Santin *et al.* 2003, Morales-López *et al.* 2009, Silva *et al.* 2009, Elrayeh und Yildiz 2012, Houshmand *et al.* 2012, Sadeghi *et al.* 2013, Shahir *et al.* 2014). Möglicherweise spielen in den Studien neben anderen Faktoren (5.2.1) besonders das unterschiedliche Alter und die Herkunft der Tiere eine wichtige Rolle bei der Antikörperproduktion. Zudem trat ein positiver Effekt auf die Antikörpertiter gegen das NDV oftmals bei Tieren unter Belastung auf (Awaad *et al.* 2011, Mogadam und Azizpour 2011, Li *et al.* 2012, Sadeghi *et al.* 2012) und bestätigt die Aussage, dass Futteradditive bei Belastung eine stärkere Wirkung auf die Tiere ausüben können (Wenk 2005).

Ein erhöhtes relatives Organgewicht der Milz, *Bursa Fabricii* oder dem Thymus kann einen Hinweis auf eine vermehrte Aktivität dieser Immunorgane liefern. Bei der Ermittlung der relativen Immunorgangewichte konnte jedoch kein Gruppenunterschied oder eine Dosis-Wirkungsbeziehung festgestellt werden, was mit den meisten Fütterungsstudien bei Masthühnern und dem nutritiven Einsatz von Hefezellwandpräparaten einhergeht (An *et al.* 2008, Mohamed *et al.* 2008, Cox *et al.* 2010a, Abdel-Raheem und Abd-Allah 2011, Houshmand *et al.* 2012, Munyaka *et al.* 2012, Yitbarek *et al.* 2012, Sadeghi *et al.* 2013). Wenngleich ein makroskopischer Effekt ausgeblieben ist, könnten histologische Analysen der

Gewebe sowie Genexpressionsanalysen die Effekte von Hefezellwandpräparaten auf die Immunorgane näher beleuchten (Zhang *et al.* 2012).

Die Quantifizierung der Zellgehalte sowie die Analyse der Phagozytoseaktivität von Monozyten im Vollblut erfolgten mittels Durchflusszytometrie. Die Phagozytoseaktivität der Monozyten konnte am 21. Lebenstag aufgrund von technischen Fehlern nicht ausgewertet werden. Demzufolge ist es nicht möglich, die erwartete Steigerung der Phagozytoseaktivität der Abwehrzellen im Vollblut nach der Impfung gegen das NDV zu bewerten. Bei einem Vergleich mit anderen Studien, in denen der Einfluss von Hefezellwandbestandteilen auf die Phagozytoseaktivität der Immunzellen im Vollblut von Hühnern getestet wurde, muss berücksichtigt werden, dass unterschiedliche Analyseverfahren angewendet worden sind (Awaad *et al.* 2011, Matur *et al.* 2011). Zudem erschweren die Besonderheiten des Hühnerblutes die Analyse von Zellgehalten und der Phagozytoseaktivität im Blut. Der Einsatz des Hefezellwandproduktes hatte in der vorliegenden Studie weder auf die Monozyten- und Heterophilenzellzahlen noch auf die Phagozytoseaktivität der Monozyten im Blut der Masthühner einen Einfluss. Die Heterophilen und Monozyten sind ein Teil des angeborenen aviären Immunsystems und besitzen phagozytierende Eigenschaften (Davison *et al.* 2008). Die hier erzielten Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine systemische Modulation des angeborenen Immunsystems durch das Hefezellwandprodukt nicht stattgefunden hat. Dieses steht im Kontrast zu einer Studie, wo der Einsatz von 0,20 % eines Hefezellwandpräparates zu einer Erhöhung der Phagozytoseaktivität der Makrophagen im Blut von Masthühnern in der dritten und fünften Lebenswoche geführt hat (Awaad *et al.* 2011). Demgegenüber bestätigen weitere Studien das Ausbleiben eines Effektes auf die Blutzellgehalte durch den Einsatz von verschiedenen Hefeprodukten bei Hühnern (Bolu *et al.* 2009a, Bolu *et al.* 2009b, Bolu *et al.* 2012, Reisinger *et al.* 2012, Shahir *et al.* 2014).

Die Lymphozyten-, T- und B-Zellzahlen waren hingegen in der gegenwärtigen Fütterungsstudie an allen drei Zeitpunkten der Blutentnahme numerisch erhöht. Es ergaben sich erhöhte Lymphozyten- ($p = 0{,}037$) sowie T- und B-Zellzahlen ($p = 0{,}084$ und $p = 0{,}066$) am 34. Lebenstag durch den Einsatz des Hefezellwandproduktes. Die polynomiale Kontrastanalyse wies am 34. Lebenstag einen quadratischen Bezug zugunsten der supplementierten Versuchsgruppen bei den Lymphozyten ($p = 0{,}036$) sowie den T- und B-Zellen ($p = 0{,}082$ und $p = 0{,}012$) auf, der sich bereits am 28. Lebenstag tendenziell bei den B-Zellen abzeichnete ($p = 0{,}072$). Diese Ergebnisse deuten auf eine konzentrationsabhängige Modulation des adaptiven Immunsystems durch den Einsatz des Hefezellwandproduktes hin. Erhöhte Lymphozytenzellzahlen konnten auch in anderen Fütterungsversuchen durch den Einsatz von 0,05 % oder 0,10 % von zwei verschiedenen Hefezellwandpräparaten beim Broiler beobachtet werden (Basmacıoglu *et al.* 2005, Gómez Verduzco *et al.* 2009b). Die

erhöhte Anzahl der B-Zellen im Vollblut der Masthühner, die sich bei Antigenexposition zu antikörperproduzierenden Plasmazellen entwickeln können, führte in der vorliegenden Studie jedoch nicht zu erhöhten Antikörpertitern gegen das NDV. Grundsätzlich sollte berücksichtigt werden, dass die hohe Streuung der Ergebnisse der Blutparameter aufgrund von tierindividuellen Unterschieden und äußeren Faktoren einen Einfluss auf die Resultate nehmen kann.

## 5.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie weisen darauf hin, dass der Einsatz des Hefezellwandproduktes zu einer Beeinflussung der zootechnischen Parameter, der Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota, des pH-Wertes in der Digesta, des erworbenen Immunsystems sowie der scheinbaren ilealen Proteinverdaulichkeit der Broiler geführt hat. Dabei konnten in Bezug auf die zootechnischen Parameter, die Lymphozytenzellzahlen im Vollblut, die Anzahl der Laktobazillen sowie die Milch- und Essigsäure in der Kropf- und Ileumdigesta, den pH-Wert in der Kropfdigesta und die scheinbare ileale Proteinverdaulichkeit Dosis-Wirkungsbeziehungen anhand einer polynomialen Kontrastanalyse ermittelt werden. Hinsichtlich der Lebendmasseentwicklung erscheint die Zugabe von 0,30 % des Hefezellwandproduktes in den ersten drei Lebenswochen als eine adäquate Dosierung, um positive Effekte auf die zootechnischen Parameter der Tiere auszuüben. Die Veränderung der Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota und die Modulation des erworbenen Immunsystems in der Endphase der Mastperiode spiegelten sich nicht positiv auf die Leistungsparameter der Tiere wider, können aber Hinweise auf eine verbesserte Darmintegrität sowie Immunreaktion der Tiere liefern. Dies könnte in Bezug auf die von der Politik und Öffentlichkeit geforderte Reduktion des Antibiotikaeinsatzes in der Geflügelwirtschaft von Interesse sein.

Weitergehende Analysen der Mikrobiota könnten umfassendere Informationen über den Effekt des Hefezellwandproduktes auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota liefern. Probenentnahmen während der Mastperiode könnten zudem Aufschluss über den Effekt des Hefezellwandproduktes auf die intestinale Mikrobiota und das Immunsystem in der ersten Lebensphase der Tiere geben. Weiterhin wäre es wünschenswert, den genauen Wirkmechanismus des Hefezellwandproduktes auf das Immunsystem der Tiere zu ermitteln, um das Hefezellwandprodukt gezielt bei Masthühnern einzusetzen. Ein Folgeversuch könnte zudem Aufschluss darüber geben, ob das hier eingesetzte Hefezellwandprodukt bei Tieren unter Infektionsdruck einen deutlicheren Effekt auf die hier erhobenen Parameter aufzeigen würde. Die Resultate dieser Studie können nicht auf andere Hefezellwandpräparate bezogen werden, da sich die Produkte hinsichtlich ihres Herstellungsverfahrens und ihren prozentualen Gehalten an MOS und β-Glucanen und somit auch in ihrer Wirkungsweise unterscheiden

können (Ganner *et al.* 2013). Bisher fehlt eine standardisierte Methode, um die Gehalte von (1→3), (1→6)-β-D-Glucanen und α-(1→6)-Mannoselementen im Endfutter zu analysieren, die eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien erleichtern würde.

# 6 Zusammenfassung

Vodde, Heike:

**Einfluss eines Hefezellwandproduktes auf die zootechnische Leistung sowie verdauungsphysiologische, mikrobiologische und immunologische Parameter bei Masthühnern**

Untersuchungen zufolge kann der nutritive Einsatz von Hefezellwänden die zootechnische Leistung, die intestinale Mikrobiota sowie die Immunantwort von landwirtschaftlichen Nutztieren positiv beeinflussen. Die Ergebnisse der verschiedenen Fütterungsstudien sind jedoch uneinheitlich. Dabei liegen Unterschiede in der Herkunft der Hefen, dem Herstellungsprozess und den Gehalten an β-Glucanen und MOS in den verschiedenen Hefezellwandpräparaten vor.

Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, ob ein Hefezellwandprodukt konzentrationsabhängige Effekte auf die zootechnische Leistung, die Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota, das Immunsystem und die Verdauungsphysiologie von Masthühnern ausübt. Zu diesem Zweck wurden Eintagsküken (Cobb Germany Avimex GmbH) auf zwei konsekutiv folgende Mastdurchgänge aufgeteilt und während sowie am Ende der 35-tägigen Mastperiode Proben für immunologische, mikrobiologische und verdauungsphysiologische Analysen bei den Tieren entnommen. Alle Tiere erhielten als Basisdiät ein Starter- (d 1 - 14) sowie ein Mast-/Endmastfutter (d 15 - 35) auf Sojaextraktionsschrot-, Mais- und Weizenbasis. Vier Versuchsgruppen wurde das Produkt Immunowall® in aufsteigenden Konzentrationen (0,05 %, 0,10 %, 0,20 % und 0,30 %) über die gesamte Mastperiode zugesetzt. Eine fünfte Versuchsgruppe fungierte als Kontrollgruppe. Dabei wurden im Mittel 17 Tiere in einer Versuchseinheit gehalten, denen Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung standen.

Die zootechnischen Leistungsparameter wurden wöchentlich erhoben. Am 21. Lebenstag wurden die Tiere oral gegen das NDV vakziniert und den Masthühnern vor sowie sieben und 13 Tage nach der Impfung Blut für die Ermittlung der Antikörpertiter gegen das NDV, der Phagozytoseaktivität der Monozyten sowie der Zellgehalte entnommen. Im Alter von 35 Tagen wurden Digestaproben aus dem Kropf, Ileum und den Caeca für die Quantifizierung der Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterobakterien und *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. entnommen. Zusätzlich wurden diese Proben für die pH-Wert-Messungen und die Bestimmung der bakteriellen Metaboliten verwendet. Die Messung von intestinalem IgA erfolgte in Digestaproben aus dem Duodenum. Darüber hinaus wurden der Thymus, die Milz und *Bursa Fabricii* vorsichtig aus dem Tierkörper exenteriert, gewogen und im Anschluss die

relativen Organgewichte ermittelt. Um den Einfluss des Hefezellwandproduktes auf die verdauungsphysiologischen Parameter zu ermitteln, wurde am 36. Lebenstag Digesta aus dem Ileum für die Ermittlung der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit von Protein, Fett und Stärke sowie der prozentualen Trockensubstanzgehalte der ursprünglichen Substanz entnommen. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte anhand einer einfaktoriellen Varianzanalyse oder dem Kruskal-Wallis-Test sowie einer polynomialen Kontrastanalyse als Trendtest.

Die zootechnischen Parameter der Masthühner wurden durch die Zugabe des Hefezellwandproduktes beeinflusst. Die Masthühner, denen das Hefezellwandprodukt zugesetzt wurde, zeigten in der zweiten und dritten Lebenswoche konzentrationsabhängige verbesserte Lebendmassen ($p = 0{,}029$ und $p = 0{,}089$). Dies spiegelte sich in der dritten Lebenswoche in einem tendenziell verbesserten Futteraufwand in der quadratischen Kontrastanalyse wider ($p = 0{,}083$). In der vierten und fünften Lebenswoche zeigten sich hingegen kompensatorisch höhere Lebendmassezunahmen sowie ein günstigerer Futteraufwand in der fünften Lebenswoche zugunsten der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe, denen 0,05 % des Hefezellwandproduktes hinzugefüttert wurde. Darüber hinaus war die mittlere Futteraufnahme in den ersten sieben Tagen in der Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes erhöht ($p = 0{,}002$) und der Futteraufwand ungünstiger ($p = 0{,}081$). Über die gesamte Mastperiode konnten keine Gruppenunterschiede bei den zootechnischen Parametern ermittelt werden. Bei der Quantifizierung der verschiedenen intestinalen Bakterienspezies konnten lediglich bei den Laktobazillen im Ileum Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen beobachtet werden ($p = 0{,}027$). Dabei ergaben sich abgesicherte konzentrationsabhängige Effekte auf die Laktobazillen in der Kropf- sowie Ileumdigesta zugunsten der Versuchsgruppen, denen das Hefezellwandprodukt zugegeben wurde. Ähnliche Effekte konnten auch bei der Milch- und Essigsäure in der Kropf- und Ileumdigesta ermittelt werden, wenngleich die Effekte sich dort nicht absichern ließen. Entgegengesetzte konzentrationsabhängige Effekte wurden bei den pH-Wert-Messungen in der Kropfdigesta ermittelt. Die Ammoniumkonzentration in der Kropf- Ileum- und Caecadigesta wurde nicht beeinflusst. Die Propionsäurekonzentration der Versuchsgruppe mit dem Zusatz von 0,30 % des Hefezellwandproduktes war verglichen zu den Versuchsgruppen, denen 0,05 % und 0,10 % des Hefezellwandproduktes zugegeben wurde, erniedrigt ($p = 0{,}047$). Es konnten keine Gruppenunterschiede oder Dosis-Wirkungsbeziehungen bei den relativen Immunorgangewichten, der IgA-Konzentration im Duodenum, der Phagozytoseaktivität der Monozyten im Blut, dem Antikörpertiter gegen das NDV sowie der Quantifizierung der Monozyten und Heterophilen im Vollblut der Tiere festgestellt werden. Die Lymphozyten-, T- und B-Zellzahlen hingegen waren in dieser Fütterungsstudie an allen drei Zeitpunkten der Blutentnahme numerisch erhöht und es ergaben sich teils abgesichert

sowie tendenziell erhöhte Lymphozyten-, T- und B-Zellzahlen am 28. und 34. Lebenstag durch den Einsatz des Hefezellwandproduktes. Bei der Analyse des prozentualen Trockensubstanzgehaltes in der ursprünglichen Substanz im Ileum und der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit von Fett und Stärke blieben Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen aus. Demgegenüber konnte ein Trend in der scheinbaren praecaecalen Proteinverdaulichkeit zugunsten der supplementierten Versuchsgruppen beobachtet werden.

Als Schlussfolgerung zeigt sich, dass die Zugabe des Hefezellwandproduktes zu konzentrationsabhängigen Effekten der zootechnischen Leistung, der Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota, des erworbenen Immunsystems und der scheinbaren praecaecalen Rohproteinverdaulichkeit von gesunden Masthühnern geführt hat. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Hefezellwandprodukt eingesetzt werden könnte, um die Immunreaktion der Tiere zu verbessern, die Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota positiv zu beeinflussen und die zootechnische Leistung von gesunden Masthühnern in den ersten drei Lebenswochen zu verbessern. Es bleibt aber abzuklären, inwieweit das Hefezellwandprodukt bei Masthühnern unter ungünstigen hygienischen Bedingungen sinnvoll eingesetzt werden kann, um die Gesundheit und Leistung der Tiere zu verbessern.

# 7 Summary

Vodde, Heike:

**Influence of a yeast cell wall product on the performance parameters, digestibility, microbiology and immunology of broiler chickens**

According to different studies, yeast cell walls can positively influence the performance parameters, the intestinal microbiota and immune reaction of animals. However, the results of the different studies are inconstant. Differences seem to be dependent on origin of the yeast sources, production processes and amounts of β-glucans and MOS in the different yeast cell wall preparations.

This study was conducted to investigate whether a yeast cell wall product can carry out dose-dependent effects on animal performance, the composition and activity of the intestinal microbiota, the immune system and the nutrient digestibility in broiler chickens. For that purpose one day-old male broiler chickens (Cobb Germany Avimex GmbH) were divided into two consecutive trial runs and samples were taken during as well as at the end of the 35-day-lasting fattening period for immunological, microbiological and digestibility analysis. All animals received as diet a starter (d 1 - 14) and grower mixture (d 15 - 35) based on soybean meal, maize and wheat. Four experimental groups were fed the product Immunowall® in rising concentrations (0.05 %, 0.10 %, 0.20 % and 0.30 %) over the whole fattening period, while the fifth experimental group served as control. Seventeen broiler chickens per floor pen each representing a single experimental unit. The animals received water and feed ad libitum.

The performance parameters were recorded weekly. On day 21 the animals were orally vaccinated against NDV and blood samples were taken directly before as well as seven and 13 days after the vaccination for the quantification of the antibody titer against NDV, the determination of the phagocytic acitivity of the monocytes and complete blood counts. At the end of each trial run one broiler chicken from each experimental unit was slaughtered. To quantificate the lactobacilli, bifidobacteria, enterobacteria and *Escherichia/Hafnia/Shigella* spp. digesta samples were taken from the crop, ileum and caeca. These samples were also used for the measurement of the pH-value and the determination of the bacterial metabolites. Digesta from the duodenum were collected to measure the intestinal IgA concentration. Thymus, spleen and *bursa fabricii* were removed and weighed to determine the relative organ weights. In order to examine the effect of the yeast cell wall product on the nutrient digestibility, five animals of each experimental unit were randomly selected, slaughtered and samples of the ileum were collected to determine the dry matter content and the apparent ileal digestibility of protein, fat and starch on day 36. All collected data were analyzed by using a

one-factorial analysis of variance or a Kruskal-wallis-test as well as a polynomial contrast analysis.

The yeast cell wall product had an impact on the performance parameters. Chicken fed the yeast cell wall product showed dose-dependent effects on the body weight in the second and third week of age ($p = 0.029$ and $p = 0.089$). This was reflected in a better feed conversion ratio in the third week of age ($p = 0.083$). In the last two weeks of the fattening period the chickens of the control and the experimental group, which were fed 0.05 % of the yeast cell wall product showed a higher body weight gain in the analysis of variance and contrast analysis and tended to have a better feed conversion ratio in the linear contrast analysis in the last week. The feed intake in the first seven days of age was higher ($p = 0.002$) and the feed conversion ratio tended to be lower ($p = 0.081$) in the experimental group, which received 0.30 % of the yeast cell wall product. Over the whole fattening period there were no differences regarding the performance parameters between the five experimental groups. Concerning the quantification of the different bacteria species, only the concentration of the lactobacilli was different between the experimental groups ($p = 0.027$). A positive dose-dependent effect was detected for the lactobacilli in the digesta of the crop and ileum in the experimental groups with the yeast cell wall supplementation. Similar trends were observed regarding the lactate and acetic acid concentration in the digesta of the crop and ileum. Inverse dose-dependent effects were noticed in the pH-value of the crop digesta. The ammonia concentration in the crop, ileum and caeca were not affected by the addition of the yeast cell wall product. The concentration of propionic acid was reduced in the experimental group, which received 0.30 % of the yeast cell wall product in contrast to the groups with the addition of 0.05 % and 0.10 % of the yeast cell wall product ($p = 0.047$). The relative immune organ weights, the intestinal IgA concentration, the phagocytic acitivity of the monocytes, the antibody titer against NDV as well as the concentrations of the monocytes and heterophils in the blood of the broiler chickens were not affected by the addition of the yeast cell wall product, whereas the concentrations of the lymphoyctes in the blood were numerically higher at all three collection time points. Furthermore, the lymphocytes and the T- and B-lymphocytes were partly tendentially and significantly higher on day 28 and 34 in the experimental groups with the addition of the yeast cell wall product. Neither the dry matter content of the ileum digesta nor the apparent ileal digestibility of fat and starch were affected by the yeast cell wall product. In contrast, the apparent ileal digestibility of protein tended to be higher in the supplemented groups.

To conclude, the results illustrate that the addition of the yeast cell wall product had a dose-dependent impact on the performance parameters, the composition and acitivity of the intestinal microbiota, the adaptive immune system and the apparent ileal digestibility of

protein in healthy broiler chickens. The results indicate that the yeast cell wall product could be used to improve the immune response, the composition and activity of the intestinal microbiota and the performance parameters in the first three weeks of age of the chickens. It should be clarified, how far the addition of the yeast cell wall product can be used in broiler chickens under less favourable housing conditions in order to improve the health and performance of the animals.

# 8 Literaturverzeichnis

Aarestrup, F. M., Bager, F., Strodl Andersen, J. (2000). Association between the use of avilamycin for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers: epidemiological study and changes over time. *Microbial Drug Resistance* **6**: 71-75.

Aarestrup, F. M., Seyfarth, A. M., Emborg, H.-D., Pedersen, K., Hendriksen, R. S., Bager, F. (2001). Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in denmark. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **45**: 2054-2059.

Abdel-Raheem, S. M., Abd-Allah, S. M. S. (2011). The effect of single or combined dietary supplementation of mannan oligosacharide and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. *International Journal of Poultry Science* **10**: 854-862.

Abdel-Raheem, S. M., Abd-Allah, S. M. S., Hassanein, K. M. A. (2012). The effects of prebiotic, probiotic and synbiotic supplementation on intestinal microbial ecology and histomorphology of broiler chickens. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences* **6**: 277-289.

Abudabos, A. M., Yehia, H. M. (2013). Effect of dietary mannan oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on live performance of broilers under *Clostridium perfringens* challenge. *Italian Journal of Animal Science* **12**: 231-235.

Aguilar-Uscanga, B., François, J. M. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in Applied Microbiology* **37**: 268-274.

An, B. K., Cho, B. L., You, S. J., Paik, H. D., Chang, H. I., Kim, S. W., Yun, C. W., Kang, C. W. (2008). Growth performance and antibody response of broiler chicks fed yeast derived β-glucan and single-strain probiotics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **21**: 1027-1032.

Apata, D. F. (2009). Antibiotic resistance in poultry. *International Journal of Poultry Science* **8**: 404-408.

Ashayerizadeh, A., Dabiri, N., Ashayerizadeh, O., Mirzadeh, K. H., Roshanfekr, H., Mamooee, M. (2009). Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters, on growth performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **12**: 52-57.

Ashraf, S., Zaneb, H., Yousaf, M. S., Ijaz, A., Sohail, M. U., Muti, S., Usman, M. M., Ijaz, S., Rehman, H. (2013). Effect of dietary supplementation of prebiotics and probiotics on intestinal microarchitecture in broilers reared under cyclic heat stress. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **97**: 68-73.

Awaad, M. H. H., Atta, A. M., Abd-El-Ghany, W. A., Elmenawey, M., Ahmed, K., Hassan, A. A., Nada, A. A., Abdelaleem, G. A. (2011). Effect of a specific combination of mannan-oligosaccharides and β-glucans extracted from yeast cell wall on the health status and growth performance of ochratoxicated broiler chickens. *Journal of American Science* **7**: 82-96.

Ballou, C. E. (1970). A study of the immunochemistry of three yeast mannans. *The Journal of Biological Chemistry* **245**: 1197-1203.

Barnes, E. M., Impey, C. S., Stevens, B. J. H. (1979). Factors affecting the incidence and anti-salmonella activity of the anaerobic caecal flora of the young chick. *Epidemiology & Infection* **82**: 263-283.

Basmacıoglu, H., Oguz, H., Ergul, M., Col, R., Birdane, Y. O. (2005). Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. *Czech Journal of Animal Science* **50**: 31-39.

Baurhoo, B., Goldflus, F., Zhao, X. (2009). Purified cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* increases protection against intestinal pathogens in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* **8**: 133-137.

Baurhoo, B., Letellier, A., Zhao, X., Ruiz-Feria, C. A. (2007). Cecal populations of lactobacilli and bifidobacteria and *Escherichia coli* populations after in vivo *Escherichia coli* challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. *Poultry Science* **86**: 2509-2516.

Becker, P. M. (2005). Physiological achilles' heels of enteropathogenic bacteria in livestock. *Current Issues in Intestinal Microbiology* **6**: 31-54.

Blomberg, L., Krivan, H. C., Cohen, P. S., Conway, P. L. (1993). Piglet ileal mucus contains protein and glycolipid (galactosylceramide) receptors specific for *Escherichia coli* K88 fimbriae. *Infection and Immunity* **61**: 2526-2531.

BMJV (2007). Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz. Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest (Geflügelpest-Verordnung).

Bohn, J. A., BeMiller, J. N. (1995). β-D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers* **28**: 3-14.

Bolu, S. A., Adeyemi, K. D., Sola-Ojo, F. E., Fabiyi, A. A., Adedeji, A. T., Oluyemi, O., Babalola, A. B. (2012). Lower dietary inclusion of Alphamune G may improve performance, hematology, serum biochemistry and histology of broiler chicken. *Sustainable Agriculture Research* **1**: 15-20.

Bolu, S. A., Ojo, V., Oluyemi, O., Babawale, O. I., Awodele, O. A. (2009a). Effect of graded level of Alphamune G on performance, blood chemistry and histology of cockerel chicks. *International Journal of Poultry Science* **8**: 397-400.

Bolu, S. A., Ojo, V., Oyeleke, B. A., Ajiboye, A. O., Sambo, A. B., Oluyemi, O. (2009b). Response of broiler chicks to graded levels of Alphamune G supplementation. *International Journal of Poultry Science* **8**: 32-34.

Bovera, F., Lestingi, A., Iannaccone, F., Tateo, A., Nizza, A. (2012). Use of dietary mannanoligosaccharides during rabbit fattening period: effects on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass traits, and meat quality. *Journal of Animal Science* **90**: 3858-3866.

Brown, G. D., Gordon, S. (2001). Immune recognition: a new receptor for β-glucans. *Nature* **413**: 36-37.

Brown, G. D., Gordon, S. (2003). Fungal β-glucans and mammalian immunity. *Immunity* **19**: 311-315.

Brown, G. D., Gordon, S. (2005). Immune recognition of fungal β-glucans. *Cellular Microbiology* **7**: 471-479.

Brümmer, M., Van Rensburg, C. J., Moran, C. A. (2010). *Saccharomyces cerevisiae* cell wall products: The effects on gut morphology and performance of broiler chickens. *South African Journal of Animal Science* **40**: 14-21.

Caldwell, D. J., Danforth, H. D., Morris, B. C., Ameiss, K. A., McElroy, A. P. (2004). Participation of the intestinal epithelium and mast cells in local mucosal immune responses in commercial poultry. *Poultry Science* **83**: 591-599.

Carr, F. J., Chill, D., Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology* **28**: 281-370.

Carroll, M. C. (2004). The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nature Immunology* **5**: 981-986.

Chae, B. J., Lohakare, J. D., Moon, W. K., Lee, S. L., Park, Y. H., Hahn, T.-W. (2006). Effects of supplementation of β-glucan on the growth performance and immunity in broilers. *Research in Veterinary Science* **80**: 291-298.

Che, T. M., Song, M., Liu, Y., Johnson, R. W., Kelley, K. W., Van Alstine, W. G., Dawson, K. A., Pettigrew, J. E. (2012). Mannan oligosaccharide increases serum concentrations of antibodies and inflammatory mediators in weanling pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Animal Science* **90**: 2784-2793.

Chen, K.-L., Weng, B.-C., Chang, M.-T., Liao, Y.-H., Chen, T.-T., Chu, C. (2008). Direct enhancement of the phagocytic and bactericidal capability of abdominal macrophage of chicks by β-1,3–1,6-glucan. *Poultry Science* **87**: 2242-2249.

Cheng, Y. H., Lee, D. N., Wen, C. M., Weng, C. F. (2004). Effects of β-glucan supplementation on lymphocyte proliferation, macrophage chemotaxis and specific immune responses in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **17**: 1145-1149.

Cleary, J. A., Kelly, G. E., Husband, A. J. (1999). The effect of molecular weight and β-1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by (1,3)-β-D-glucan. *Immunology and Cell Biology* **77**: 395-403.

Cobb. (2012). "Cobb 500 broiler performance and nutrition supplement." http://cobb-vantress.com/products/guide-library/cobb500/broiler-performance-and-nutrition-supplement/performance-objectives---metric - Abruf August 2014.

Corrier, D. E., Hinton, A. J., Ziprin, R. L., Beier, R. C., DeLoach, J. R. (1990). Effect of dietary lactose on cecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids, and *Salmonella* Typhimurium colonization of broiler chicks. *Avian Diseases* **34**: 617-625.

Cox, C. M., Stuard, L. H., Kim, S., McElroy, A. P., Bedford, M. R., Dalloul, R. A. (2010a). Performance and immune responses to dietary β-glucan in broiler chicks. *Poultry Science* **89**: 1924-1933.

Cox, C. M., Sumners, L. H., Kim, S., McElroy, A. P., Bedford, M. R., Dalloul, R. A. (2010b). Immune responses to dietary β-glucan in broiler chicks during an *Eimeria* challenge. *Poultry Science* **89**: 2597-2607.

Dänicke, S., Vahjen, W., Simon, O., Jeroch, H. (1999). Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. *Poultry Science* **78**: 1292-1299.

Darpossolo, F. P. B., Eto, S. F., Venancio, E. J., Castro-Goméz, R. J. H. (2012). *Saccharomyces uvarum* mannoproteins stimulate a humoral immune response in mice. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **55**: 597-602.

Davis, M. E., Maxwell, C. V., Brown, D. C., de Rodas, B. Z., Johnson, Z. B., Kegley, E. B., Hellwig, D. H., Dvorak, R. A. (2002). Effect of dietary mannan oligosaccharides and(or) pharmacological additions of copper sulfate on growth performance and immunocompetence of weanling and growing/finishing pigs. *Journal of Animal Science* **80**: 2887-2894.

Davison, F., Kaspers, B., Schat, K. A. (2008). Avian Immunology. Elsevier Ltd., London, UK.

Davison, T. F. (2003). The immunologists' debt to the chicken. *British Poultry Science* **44**: 6-21.

DESA (2011). United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2011). World Population Prospects: The 2010 Revision, CD-ROM Edition.

Dibner, J. J., Richards, J. D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* **84**: 634-643.

Dimitroglou, A., Merrifield, D. L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R., Davies, S. J. (2010). Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **300**: 182-188.

Dritz, S. S., Shi, J., Kielian, T. L., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Chengappa, M. M., Smith, J. E., Blecha, F. (1995). Influence of dietary β-glucan on growth

performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *Journal of Animal Science* **73**: 3341-3350.

Duan, X., Ackerly, M., Vivier, E., Anderson, P. (1994). Evidence for involvement of β-glucan-binding cell surface lectins in human natural killer cell function. *Cellular Immunology* **157**: 393-402.

EK (2013). Europäische Kommission. Verordnung (EU) Nr. 68/2013 zum Katalog der Einzelfuttermittel. *Official Journal of the European Union*.

Elmusharaf, M. A., Peek, H. W., Nollet, L., Beynen, A. C. (2007). The effect of an in-feed mannanoligosaccharide preparation (MOS) on a coccidiosis infection in broilers. *Animal Feed Science and Technology* **134**: 347-354.

Elrayeh, A. S., Yildiz, G. (2012). Effects of inulin and β-glucan supplementation in broiler diets on growth performance, serum cholesterol, intestinal length, and immune system. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* **36**: 388-394.

Engberg, R. M., Hedemann, M. S., Jensen, B. B. (2002). The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *British Poultry Science* **44**: 569-579.

EP (2003). Europäisches Parlament. Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des europäischen Parlaments und des Rates über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung. *Official Journal of the European Union*.

Erf, G. F. (2004). Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science* **83**: 580-590.

Eschenbach, D. A., Davick, P. R., Williams, B. L., Klebanoff, S. J., Young-Smith, K., Critchlow, C. M., Holmes, K. K. (1989). Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. *Journal of Clinical Microbiology* **27**: 251-256.

Farkaš, V. (2003). Structure and biosynthesis of fungal cell walls: methodological approaches. *Folia Microbiologica* **48**: 469-478.

Feighner, S. D., Dashkevicz, M. P. (1987). Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholyltaurine hydrolase activity. *Applied and Environmental Microbiology* **53**: 331-336.

Ferket, P. R. (2004). Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical experience and recommendations. Nutritional biotechnology in the feed and food industries: Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium. Lexington, Kentucky, USA.

Ferket, P. R., Parks, C. W., Grimes, J. L. (2002). Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting. Indianapolis, USA.

Ferreira, S. R., Murakami, A. E., Silveira, T. G. V., Dos Santos, J. M. G., Fernandes, J. I. M. (2011). Performance and macrophage activity of broilers fed with a sorghum meal with different yeast wall levels. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **54**: 363-370.

Firon, N., Itzhak, O., Nathan, S. (1984). Carbohydrate-binding sites of the mannose-specific fimbrial lectins of enterobacteria. *Infection and Immunity* **43**: 1088-1090.

Franklin, S. T., Newman, M. C., Newman, K. E., Meek, K. I. (2005). Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *Journal of Dairy Science* **88**: 766-775.

Gajewska, J., Riedel, J., Bucka, J., Żabik, A., Michalczuk, M. (2012). Influence of prebiotics and butyric acid on the composition of intestinal microflora of broiler chickens. *Annals of Warsaw University of Life Sciences - SGGW, Animal Science* **51**: 47-53.

Ganguly, S. (2013). Supplementation of prebiotics, probiotics and acids on immunity in poultry feed: a brief review. *World's Poultry Science Journal* **69**: 639-648.

Ganner, A., Schatzmayr, G. (2012). Capability of yeast derivatives to adhere enteropathogenic bacteria and to modulate cells of the innate immune system. *Applied Microbiology and Biotechnology* **95**: 289-297.

Ganner, A., Stoiber, C., Uhlik, J. T., Dohnal, I., Schatzmayr, G. (2013). Quantitative evaluation of *E. coli* F4 and *Salmonella* Typhimurium binding capacity of yeast derivatives. *AMB Express* **3**: 62.

Gao, J., Zhang, H. J., Yu, S. H., Wu, S. G., Yoon, I., Quigley, J., Gao, Y. P., Qi, G. H. (2008). Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poultry Science* **87**: 1377-1384.

Ghosh, T. K., Haldar, S., Bedford, M. R., Muthusami, N., Samanta, I. (2012). Assessment of yeast cell wall as replacements for antibiotic growth promoters in broiler diets: effects on performance, intestinal histo-morphology and humoral immune responses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96**: 275-284.

Giaimis, J., Lombard, Y., Fonteneau, P., Muller, C. D., Levy, R., Makaya-Kumba, M., Lazdins, J., Poindron, P. (1993). Both mannose and β-glucan receptors are involved in phagocytosis of unopsonized, heat-killed *Saccharomyces cerevisiae* by murine macrophages. *Journal of Leukocyte Biology* **54**: 564-571.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* **17**: 259-275.

Gibson, G. R., Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition* **125**: 1401-1412.

Gillor, O., Etzion, A., Riley, M. A. (2008). The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology* **81**: 591-606.

Giovani, G., Canuti, V., Rosi, I. (2010). Effect of yeast strain and fermentation conditions on the release of cell wall polysaccharides. *International Journal of Food Microbiology* **137**: 303-307.

Göbel, T. W. F., Kaspers, B., Stangassinger, M. (2001). NK and T cells constitute two major, functionally distinct intestinal epithelial lymphocyte subsets in the chicken. *International Immunology* **13**: 757-762.

Goldman, R. (1988). Characteristics of the β-glucan receptor of murine macrophages. *Experimental Cell Research* **174**: 481-490.

Gómez Verduzco, G., Cortes-Cuevas, A., López-Coello, C., Ávila-González, E., Nava, G. M. (2009a). Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria* spp. *Acta Veterinaria Scandinavica* **51**.

Gómez Verduzco, G., Cortés Cuevas, A., López Coello, C., Arce Menocal, J., Vásquez Pelaez, C., Avila González, E. (2009b). Productive performance and immune response in broilers fed a sorghum+soy diet supplemented with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell walls, in the presence or absence of aflotoxin B1. *Técnica Pecuaria en México* **47**: 285-297.

Gong, J., Si, W., Forster, R. J., Huang, R., Yu, H., Yin, Y., Yang, C., Han, Y. (2007). 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. *FEMS Microbiology Ecology* **59**: 147-157.

Goodarzi Boroojeni, F., Vahjen, W., Mader, A., Knorr, F., Ruhnke, I., Röhe, I., Hafeez, A., Villodre, C., Männer, K., Zentek, J. (2014). The effects of different thermal treatments and organic acid levels in feed on microbial composition and activity in gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* **94**: 1440-1452.

Grieshop, C., Flickinger, E., Bruce, K., Patil, A. R., Czarnecki-Maulden, G. L., Fahey, G. C. (2004). Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. *Archives of Animal Nutrition* **58**: 483-494.

Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., Sulak, O. (2006). The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Polutry Science* **5**: 149-155.

Guo, Y., Ali, R. A., Qureshi, M. A. (2003). The influence of β-glucan on immune responses in broiler chicks. *Immunpharmacology and Immuntoxicology* **25**: 461-472.

Hafez, H. M. (2011). Enteric diseases of poultry with special attention to *Clostridium perfringens*. *Pakistan Veterinary Journal* **31**: 175-184.

Hahn, T.-W., Lohakare, J. D., Lee, S. L., Moon, W. K., Chae, B. J. (2006). Effects of supplementation of β-glucans on growth performance, nutrient digestibility, and immunity in weanling pigs. *Journal of Animal Science* **84**: 1422-1428.

Hajati, H., Rezaei, M. (2010). The application of prebiotics in poultry production. *International Journal of Poultry Science* **9**: 298-304.

Hess, P. (2003). Genetische und molekularbiologische Analyse von *fim* Determinanten bei *Citrobacter freundii* und *Escherichia coli*. Dissertation. Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Deutschland.

Hinton, A., Buhr, R. J., Ingram, K. D. (2000). Physical, chemical, and microbiological changes in the crop of broiler chickens subjected to incremental feed withdrawal. *Poultry Science* **79**: 212-218.

Hiss, S., Sauerwein, H. (2003). Influence of dietary β-glucan on growth performance, lymphocyte proliferation, specific immune response and haptoglobin plasma concentrations in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **87**: 2-11.

Hofacre, C. L., Beacorn, T., Collett, S., Mathis, G. (2003). Using competitive exclusion, mannan-oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. *Journal of Applied Poultry Research* **12**: 60-64.

Hooge, D. M. (2004). Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003. *International Journal of Poultry Science* **3**: 163-174.

Hooge, D. M., Conolly, A. (2011). Meta-analysis summary of broiler chicken trials with dietary Actigen® (2009-2011). *International Journal of Poultry Science* **10**: 819-824.

Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M. H., Kamyab, A. (2012). Effects of prebiotic, protein level, and stocking density on performance, immunity, and stress indicators of broilers. *Poultry Science* **91**: 393-401.

Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., Tellez, G. (2006). Limited treatment with β-1,3/1,6-glucan improves production values of broiler chickens challenged with *Escherichia coli*. *Poultry Science* **85**: 613-618.

Hunter, K. W., Gault, R. A., Berner, M. D. (2002). Preparation of microparticulate β-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for use in immune potentiation. *Letters in Applied Microbiology* **35**: 267-271.

Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal* **187**: 182-188.

Iji, P. A., Saki, A. A., Tivey, D. R. (2001). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**: 1186-1192.

Jährig, S. C. (2007). Bioaktivitäten von Wertstoffen aus *Saccharomyces* Hefen. Dissertation. Technische Universität Berlin, Deutschland.

Janeway, C. A. (1992). The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. *Immunology Today* **13**: 11-16.

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Ali, M. A., Jalaludin, S. (1996). Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of chicken. *Letters in Applied Microbiology* **23**: 67-71.

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Jalaludin, S. (1998). Acid and bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. *Letters in Applied Microbiology* **27**: 183-185.

Johnson, R. W. (1997). Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *Journal of Animal Science* **75**: 1244-1255.

Józefiak, D., Kaczmarek, S., Rutkowski, A. (2008). A note on the effects of selected prebiotics on the performance and ileal microbiota of broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences* **17**: 392-397.

Józefiak, D., Rutkowski, A., Jensen, B. B., Engberg, R. M. (2006). The effect of β-glucanase supplementation of barley- and oat-based diets on growth performance and fermentation in broiler chicken gastrointestinal tract. *British Poultry Science* **47**: 57-64.

Józefiak, D., Rutkowski, A., Martin, S. A. (2004). Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology* **113**: 1-15.

Juven, B. J., Meinersmann, R. J., Stern, N. J. (1991). A review. Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization by human enteropathogens in live poultry. *Journal of Applied Bacteriology* **70**: 95-103.

Kaspers, B. (2011). Energy demand and energy metabolism in the immune system. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology Band 20. DLG Verlag, Frankfurt (Main).

Khalaji, S., Zaghari, M., Nezafati, S. (2011). The effects of mannan-oligosaccharides on cecal microbial populations, blood parameters, immune response and performance of broiler chicks under controlled condition. *African Journal of Biochemistry Research* **5**: 160-164.

Khoury, K. A., Floch, M. H., Hersh, T. (1969). Small intestine mucosal cell proliferation and bacterial flora in the conventionalization of the germfree mouse. *The Journal of Experimental Medicine* **130**: 659-670.

Kim, G. B., Seo, Y. M., Kim, C. H., Paik, I. K. (2011). Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. *Poultry Science* **90**: 75-82.

Kirchgessner, V. M., Eder, K., Müller, H. L., Jamroz, D. (1999). Zur energetischen Bewertung von Nichtstärke-Polysacchariden beim Geflügel. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **81**: 51-55.

Klis, F. M., Boorsma, A., De Groot, P. W. (2006). Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* **23**: 185-202.

Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews* **26**: 239-256.

Kogan, G., Kocher, A. (2007). Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science* **109**: 161-165.

Kogut, M. H., Klasing, K. (2009). An immunologist's perspective on nutrition, immunity, and infectious diseases: introduction and overview. *The Journal of Applied Poultry Research* **18**: 103-110.

Kogut, M. H., Swaggerty, C., He, H., Pevzner, I., Kaiser, P. (2006). Toll-like receptor agonists stimulate differential functional activation and cytokine and chemokine gene expression in heterophils isolated from chickens with differential innate responses. *Microbes and Infection* **8**: 1866-1874.

Kollár, R., Reinhold, B. B., Petráková, E., Yeh, H. J. C., Ashwell, G., Drgonová, J., Kapteyn, J. C., Klis, F. M., Cabib, E. (1997). Architecture of the yeast cell wall: β(1→6)-glucan interconnects mannoprotein, β(1→3)-glucan and chitin. *Journal of Biological Chemistry* **272**: 17762-17775.

König, H. E., Korbel, R., Liebich, H.-G. (2009). Anatomie der Vögel - Klinische Aspekte und Propädeutik. Schattauer GmbH, Stuttgart, Deutschland.

Korver, D. R. (2012). Implications of changing immune function through nutrition in poultry. *Animal Feed Science and Technology* **173**: 54-64.

Kumprecht, I., Zobac, P. (1997). The effect of mannan-oligosaccharides in feed mixtures on the performance of chicken broilers. *Zivocisna Vyroba* **42**: 117-124.

Lachmann, P. J., Hughes-Jones, N. C. (1984). Initiation of complement activation. *Springer Seminars in Immunpathology* **7**: 143-162.

Larbier, M., LeClercq, B. (1994). Nutrition and Feeding of Poultry. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Li, J., Li, D. F., Xing, J. J., Cheng, Z. B., Lai, C. H. (2006). Effects of β-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Journal of Animal Science* **84**: 2374-2381.

Li, Z., Yang, Z. B., Yang, W. R., Wang, S. J., Jiang, S. Z., Wu, Y. B. (2012). Effects of feed-borne *Fusarium* mycotoxins with or without yeast cell wall adsorbent on organ weight, serum biochemistry, and immunological parameters of broiler chickens. *Poultry Science* **91**: 2487-2495.

Lipke, P. N., Ovalle, R. (1998). Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *Journal of Bacteriology* **180**: 3735-3740.

Ljungdahl, L. G., Hugenholtz, J., Wiegel, J. (1989). Acetogenic and acid-producing Clostridia. Clostridia; Series: Biotechnology Handbooks **3**: 145-191, Springer, USA.

Lowry, V. K., Farnell, M. B., Ferro, P. J., Swaggerty, C. L., Bahl, A., Kogut, M. H. (2005). Purified β-glucan as an abiotic feed additive up-regulates the innate immune response in

immature chickens against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *International Journal of Food Microbiology* **98**: 309-318.

Mader, A. (2011). Biological effects of industrial plant residues in pigs. Dissertation. University of Veterinary Medicine Vienna, Austria.

Malinen, E., Kassinen, A., Rinttilä, T., Palva, A. (2003). Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiology* **149**: 269-277.

Matur, E., Ergul, E., Akyazi, I., Eraslan, E., Inal, G., Bilgic, S., Demircan, H. (2011). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* extract on haematological parameters, immune function and the antioxidant defence system in breeder hens fed aflatoxin contaminated diets. *British Poultry Science* **52**: 541-550.

McCann, M. E. E., Newell, E., Preston, C., Forbes, K. (2006). The use of mannan-oligosaccharides and/or tannin in broiler diets. *International Journal of Poultry Science* **5**: 873-879.

Mehdi, A., Hasan, G. (2012). Immune response of broiler chicks fed yeast derived mannan oligosaccharides and humate against Newcastle disease. *World Applied Sciences Journal* **18**: 779-785.

Middelbos, I. S., Godoy, M. R., Fastinger, N. D., Fahey, G. C. (2007). A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. *Journal of Animal Science* **85**: 3022-3032.

Miguel, J. C., Rodriguez-Zas, S. L., Pettigrew, J. E. (2004). Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. *Journal of Swine Health and Production* **12**: 296-307.

Miles, R. D., Janky, D. M., Harms, R. H. (1984). Virginiamycin and broiler performance. *Poultry Science* **63**: 1218-1221.

Mogadam, N., Azizpour, A. (2011). Ameliorative effect of glucomannan-containing yeast product (Mycosorb) and sodium bentonite on performance and antibody titers against Newcastle disease in broilers during chronic aflatoxicosis. *African Journal of Biotechnology* **10**: 17372-17378.

Mohamed, M. A., Hassan, H. M. A., El-Barkouky, E. M. A. (2008). Effect of mannan oligosaccharide on performance and carcass characteristics of broiler chicks. *Journal of Agriculture and Social Sciences* **4**: 13-17.

Moore, P. R., Evenson, A., Luckey, T. D., McCoy, E., Elvehjem, C. A., Hart, E. B. (1946). Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *Journal of Biological Chemistry* **165**: 437-441.

Morales-López, R., Auclair, E., Garcia, F., Esteve-García, E., Brufau, J. (2009). Use of yeast cell walls; β-1,3/1,6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. *Poultry Science* **88**: 601-607.

Morales-López, R., Auclair, E., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., García, F., Brufau, J. (2010). Effects of different yeast cell wall supplements added to maize- or wheat-based diets for broiler chickens. *British Poultry Science* **51**: 399-408.

Morales-López, R., Brufau, J. (2013). Immune-modulatory effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* cell wall in broiler chickens inoculated with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *British Poultry Science* **54**: 247-251.

Mourão, J. L., Pinheiro, V., Alves, A., Guedes, C. M., Pinto, L., Saavedra, M. J., Spring, P., Kocher, A. (2006). Effect of mannan oligosaccharides on the performance, intestinal morphology and cecal fermentation of fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology* **126**: 107-120.

Muir, W. I., Bryden, W. L., Husband, A. J. (2000). Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental & Comparative Immunology* **24**: 325-342.

Munyaka, P. M., Echeverry, H., Yitbarek, A., Camelo-Jaimes, G., Sharif, S., Guenter, W., House, J. D., Rodriguez-Lecompte, J. C. (2012). Local and systemic innate immunity in broiler chickens supplemented with yeast-derived carbohydrates. *Poultry Science* **91**: 2164-2172.

Muthusamy, N., Haldar, S., Ghosh, T. K., Bedford, M. R. (2011). Effects of hydrolysed *Saccharomyces cerevisiae* yeast and yeast cell wall components on live performance, intestinal histo-morphology and humoral immune response of broilers. *British poultry Science* **52**: 694-703.

Nakashimada, Y., Michinaka, A., Watanabe, K., Nishio, N., Fujii, T. (2011). Brewer's yeast cell wall affects microbiota composition and decreases *Bacteroides fragilis* populations in an anaerobic gut intestinal model. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **111**: 178-184.

Naumann, C., Bassler, R. (2012). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln 3. Aufl. 1976 Gesamtwerk einschl. 1.-8. Ergänzungslieferung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

Nerren, J. R., Kogut, M. H. (2009). The selective Dectin-1 agonist, curdlan, induces an oxidative burst response in chicken heterophils and peripheral blood mononuclear cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **127**: 162-166.

Newman, K. (1994). Mannan-oligosaccharides: natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. Biotechnology in the feed industry: Proceedings of Alltech's 10th Annual Symposium. Nottingham, UK.

Nochta, I., Halas, V., Tossenberger, J., Babinszky, L. (2010). Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on the apparent ileal digestibility of nutrients, N-balance and growth performance of weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **94**: 747-756.

Nochta, I., Tuboly, T., Halas, V., Babinszky, L. (2009). Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on some immunological variables in weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **93**: 496-504.

Novak, M., Vetvicka, V. (2008). β-Glucans, history, and the present: immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *Journal of Immunotoxicology* **5**: 47-57.

Ofek, I., Beachey, E. H. (1978). Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* **22**: 247-254.

Ofek, I., Hasty, D. L., Sharon, N. (2003). Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **38**: 181-191.

Okano, K., Yoshida, S., Yamada, R., Tanaka, T., Ogino, C., Fukuda, H., Kondo, A. (2009). Improved production of homo-d-lactic acid via xylose fermentation by introduction of xylose assimilation genes and redirection of the phosphoketolase pathway to the pentose phosphate pathway in l-lactate dehydrogenase gene-deficient *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology* **75**: 7858-7861.

Oliveira, M. C., Figueiredo-Lima, D. F., Faria Filho, D. E., Marques, R. H., Moraes, V. M. B. (2009). Effect of mannanoligosaccharides and/or enzymes on antibody titers against infectious bursal and Newcastle disease viruses. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **61**: 6-11.

Orlean, P. (1997). The molecular and cellular biology of the yeast *Saccharomyces:* cell cycle and cell biology. Biogenesis of yeast wall and surface components. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Osumi, M. (1998). The ultrastructure of yeast: cell wall structure and formation. *Micron* **29**: 207-233.

Owens, B., McCracken, K. J. (2007). A comparison of the effects of different yeast products and antibiotic on broiler performance. *British poultry Science* **48**: 49-54.

Oyofo, B. A., DeLoach, J. R., Corrier, D. E., Norman, J. O., Ziprin, R. L., Hilton, H. M. (1989a). Effect of carbohydrates on *Salmonella* Typhimurium colonization in broiler chickens. *Avian Diseases* **33**: 531-534.

Oyofo, B. A., Droleskey, R. E., Norman, J. O., Mollenhauer, H. H., Ziprin, R. L., Corrier, D. E., Deloach, J. R. (1989b). Inhibition by mannose of in vitro colonization of chicken small intestine by *Salmonella* Typhimurium. *Poultry Science* **68**: 1351-1356.

Pascual, M., Hugas, M., Badiola, J. I., Monfort, J. M., Garriga, M. (1999). *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella* Enteritidis colonization in chickens. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 4981-4986.

Patterson, J. A., Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* **82**: 627-631.

Peuranen, S., Kocher, A., Dawson, K. A. (2006). Yeast cell wall preparations prevent the attachment of enteropathogenic *Escherichia coli* on broiler gut mucus. *Reproduction Nutrition Development* **46 (Suppl. 1)**: 111.

Pluske, J. R., Hampson, D. J., Williams, I. H. (1997). Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock Production Science* **51**: 215-236.

Qureshi, M. A., Heggen, C. L., Hussain, I. (2000). Avian macrophage: effector functions in health and disease. *Developmental & Comparative Immunology* **24**: 103-119.

Redmond, S. B., Tell, R. M., Coble, D., Mueller, C., Palić, D., Andreasen, C. B., Lamont, S. J. (2010). Differential splenic cytokine responses to dietary immune modulation by diverse chicken lines. *Poultry Science* **89**: 1635-1641.

Refstie, S., Baeverfjord, G., Seim, R. R., Elvebø, O. (2010). Effects of dietary yeast cell wall β-glucans and MOS on performance, gut health, and salmon lice resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed sunflower and soybean meal. *Aquaculture* **305**: 109-116.

Rehman, H., Böhm, J., Zentek, J. (2008). Effects of differentially fermentable carbohydrates on the microbial fermentation profile of the gastrointestinal tract of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **92**: 471-480.

Rehman, H. U., Vahjen, W., Awad, W. A., Zentek, J. (2007). Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition* **61**: 319-335.

Reisinger, N., Ganner, A., Masching, S., Schatzmayr, G., Applegate, T. J. (2012). Efficacy of a yeast derivative on broiler performance, intestinal morphology and blood profile. *Livestock Science* **143**: 195-200.

Rinttilä, T., Kassinen, A., Malinen, E., Krogius, L., Palva, A. (2004). Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology* **97**: 1166-1177.

Rodriguez-Estrada, U., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Sweetman, J. (2013). Effects of inactivated *Enterococcus faecalis* and mannan oligosaccharide and their combination on growth, immunity, and disease protection in Rainbow Trout. *North American Journal of Aquaculture* **75**: 416-428.

Roeder, A., Kirschning, C. J., Rupec, R. A., Schaller, M., Weindl, G., Korting, H. C. (2004). Toll-like receptors as key mediators in innate antifungal immunity. *Medical Mycology* **42**: 485-498.

Röhe, I. (2013). Effects of feed structure on animal performance, gastrointestinal morphology, gut-associated lymphoid tissue and jejunal glucose transport in laying hens. Dissertation. Freie Universität Berlin, Deutschland.

Ross, G. D., Cain, J. A., Lachmann, P. J. (1985). Membrane complement receptor type three (CR3) has lectin-like properties analogous to bovine conglutinin as functions as a receptor for

zymosan and rabbit erythrocytes as well as a receptor for iC3b. *The Journal of Immunology* **134**: 3307-3315.

Roura, E., Baldwin, M. W., Klasing, K. C. (2012). The avian taste system: an update. Proceedings of the 23rd Annual Australian Poultry Science Symposium. Sydney, Australia.

Sadeghi, A. A., Ahmadi-Mazhin, H., Shawrang, P., Mohammadi-Sangcheshmeh, A. (2012). Effects of MOS and heat activated sodium bentonite as aflatoxin absorbents on antibody titers against Newcastle disease and infectious bursal disease viruses in broiler chickens. *World Applied Sciences Journal* **18**: 127-129.

Sadeghi, A. A., Mohammadi, A., Shawrang, P., Aminafshar, M. (2013). Immune responses to dietary inclusion of prebiotic-based mannan-oligosaccharide and β-glucan in broiler chicks challenged with *Salmonella* Enteritidis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **37**: 206-213.

Salminen, S., Bouley, C., Boutron, M.-C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R., Isolauri, E., Moreau, M.-C., Roberfroid, M., Rowland, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition* **80 (Suppl. 1)**: 147-171.

Samudovska, A., Spisakova, V., Demeterova, M., Hresko, S. (2012). The influence of fungal β-glucan on nonspecific immunity in broiler chicks. *Acta Veterinaria* **62**: 511-519.

Santin, E., Maiorka, A., Macari, M. (2001). Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *The Journal of Applied Poultry Research* **10**: 236–244.

Santin, E., Paulillo, A. C., Maiorka, A., Satiko Okada Nakaghi, L., Macari, M., Fischer da Silva, A. V., Alessi, A. C. (2003). Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *International Journal of Poultry Science* **2**: 341-344.

Sauerwein, H., Schmitz, S., Hiss, S. (2007). Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weanling piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **91**: 369-380.

Selbitz, H.-J., Truyen, U., Valentin-Weigand, P. (2010). Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke Verlag, Stuttgart.

Shafey, T. M., Al-Mufarej, S., Shalaby, M. I., Jarelnabi, A. J. (2001). Effects of mannan oligosaccharides on antibody response to infectious bronchitis, infectious bursal disease and Newcastle disease in chickens. *Journal of Applied Animal Research* **19**: 117-127.

Shahir, M. H., Afsarian, O., Ghasemi, S., Tellez, G. (2014). Effects of dietary inclusion of probiotic or prebiotic on growth performance, organ weight, blood parameters and antibody titers against influenza and newcastle in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* **13**: 70-75.

Shanmugasundaram, R., Selvaraj, R. K. (2012). Effect of killed whole yeast cell prebiotic supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters. *Poultry Science* **91**: 107-111.

Shanmugasundaram, R., Sifri, M., Jeyabalan, R., Selvaraj, R. K. (2014). Effect of yeast cell product (CitriStim) supplementation on turkey performance and intestinal immune cell parameters during an experimental lipopolysaccharide injection. *Poultry Science* **93**: 1-9.

Shanmugasundaram, R., Sifri, M., Selvaraj, R. K. (2013). Effect of yeast cell product supplementation on broiler cecal microflora species and immune responses during an experimental coccidial infection. *Poultry Science* **92**: 1195-1201.

Shao, Y., Guo, Y., Wang, Z. (2013). β-1,3/1,6-Glucan alleviated intestinal mucosal barrier impairment of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Poultry Science* **92**: 1764-1773.

Sharma, J. M. (1997). The structure and function of avian immune system. *Acta Veterinaria Hungarica* **45**: 229-238.

Shashidhara, R. G., Devegowda, G. (2003). Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. *Poultry Science* **82**: 1319-1325.

Siegmann, O., Neumann, N. (2012). Kompendium der Geflügelkrankheiten. Schlütersche Vertragsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover.

Silva, V. K., Della Torre da Silva, J., Torres, K. A. A., Faria Filho, D. E., Hada, F. H., Barbosa de Moraes, V. M. (2009). Humoral immune response of broilers fed diets containing yeast extract and prebiotics in the prestarter phase and raised at different temperatures. *The Journal of Applied Poultry Research* **18**: 530-540.

Sims, M. D., Dawson, K. A., Newman, K. E., Spring, P., Hoogell, D. M. (2004). Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poultry Science* **83**: 1148-1154.

Smiricky-Tjardes, M. R., Flickinger, E. A., Grieshop, C. M., Bauer, L. L., Murphy, M. R., Fahey, G. C. (2003). In vitro fermentation characteristics of selected oligosaccharides by swine fecal microflora. *Journal of Animal Science* **81**: 2505-2514.

Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D., Uni, Z. (2005). Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. *The Journal of Nutrition* **135**: 187-192.

Sokatch, J. R. (1969). Bacterial Physiology and Metabolism. Chapter 6: Fermentation of sugars. Academic Press, New York, USA.

Solis de los Santos, F., Donoghue, A. M., Farnell, M. B., Huff, G. R., Huff, W. E., Donoghue, D. J. (2007). Gastrointestinal maturation is accelerated in turkey poults supplemented with a mannan-oligosaccharide yeast extract (Alphamune). *Poultry Science* **86**: 921-930.

Spring, P., Wenk, C., Dawson, K. A., Newman, K. E. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science* **79**: 205-211.

Spurlock, M. E. (1997). Regulation of metabolism and growth during immune challenge: an overview of cytokine function. *Journal of Animal Science* **75**: 1773-1783.

Stern, N. J., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Perelygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., Pokhilenko, V. D., Levchuk, V. P., Svetoch, O. E., Seal, B. S. (2006). Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50**: 3111-3116.

Svihus, B., Choct, M., Classen, H. L. (2013). Function and nutritional roles of the avian caeca: a review. *World's Poultry Science Journal* **69**: 249-264.

Swaggerty, C. L., Pevzner, I. Y., He, H., Genovese, K. J., Nisbet, D. J., Kaiser, P., Kogut, M. H. (2009). Selection of broilers with improved innate immune responsiveness to reduce on-farm infection by foodborne pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease* **6**: 777-783.

Swanson, K. S., Grieshop, C. M., Flickinger, E. A., Bauer, L. L., Healy, H.-P., Dawson, K. A., Merchen, N. R., Fahey, G. C. (2002). Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *The Journal of Nutrition* **132**: 980-989.

Światkiewicz, S., Arczewska-Wlosek, A., Jozefiak, D. (2014). Immunomodulatory efficacy of yeast cell products in poultry: a current review. *World's Poultry Science Journal* **70**: 57-68.

Taylor, P. R., Brown, G. D., Reid, D. M., Willment, J. A., Martinez-Pomares, L., Gordon, S., Wong, S. Y. C. (2002). The β-glucan receptor, dectin-1, is predominantly expressed on the surface of cells of the monocyte/macrophage and neutrophil lineages. *The Journal of Immunology* **169**: 3876-3882.

Terré, M., Calvo, M. A., Adelantado, C., Kocher, A., Bach, A. (2007). Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves following an enhanced-growth feeding program. *Animal Feed Science and Technology* **137**: 115-125.

Tizard, I. (2002). The avian antibody response. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* **11**: 2-14.

Tohid, T., Hasan, G., Alireza, T. (2010). Efficacy of mannanoligosaccharides and humate on immune response to avian influenza (H9) disease vaccination in broiler chickens. *Veterinary Research Communications* **34**: 709-717.

Tsukada, C., Yokoyama, H., Miyaji, C., Ishimoto, Y., Kawamura, H., Abo, T. (2003). Immunopotentiation of intraepithelial lymphocytes in the intestine by oral administrations of β-glucan. *Cellular Immunology* **221**: 1-5.

Van der Wielen, P. W. J. J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P., van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology* **66**: 2536-2540.

Vancraeynest, D., Necmettin, C., Marien, M., De Gussem, M. (2007). Evaluation of a yeast extract product, containing a guaranteed range of β-glucans, on performance in broilers. Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition: 411 - 413. Strasbourg, France.

Vickers, R. J., Sunvold, G. D., Kelley, R. L., Reinhart, G. A. (2001). Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. *American Journal of Veterinary Research* **62**: 609-615.

Visscher, C. F. (2013). Aufwendungen an Energie und Nährstoffen für Infektionen bei Nutztieren sowie ihre Berücksichtigung in der Fütterung bzw. Diätetik. *Übersichten zur Tierernährung* **41**: 101-156.

Volman, J. J., Ramakers, J. D., Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by β-glucans. *Physiology & Behavior* **94**: 276-284.

Walk, C. L., Bedford, M. R., McElroy, A. P. (2012). Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. *Poultry Science* **91**: 1371-1378.

Walter, J. (2008). Ecological role of Lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 4985-4996.

Wegener, H. C. (2003). Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Current Opinion in Microbiology* **6**: 439-445.

Wenk, C. (2005). Einsatz von Kräutern und deren Extrakten in der Tierernährung: Erwartungen und Möglichkeiten. 4. BOKU-Symposium Tierernährung - Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer: 17 - 27. Wien, Österreich.

Wieland, W. H., Orzáez, D., Lammers, A., Parmentier, H. K., Verstegen, M. W. A., Schots, A. (2004). A functional polymeric immunoglobulin receptor in chicken (*Gallus gallus*) indicates ancient role of secretory IgA in mucosal immunity. *Biochemical Journal* **380**: 669-676.

Willing, B. P., Van Kessel, A. G. (2007). Enterocyte proliferation and apoptosis in the caudal small intestine is influenced by the composition of colonizing commensal bacteria in the neonatal gnotobiotic pig. *Journal of Animal Science* **85**: 3256-3266.

Willment, J. A., Gordon, S., Brown, G. D. (2001). Characterization of the human β-glucan receptor and its aternatively spliced isoforms. *Journal of Biological Chemistry* **276**: 43818-43823.

Woodward, S. A., Harms, R. H., Miles, R. D., Janky, D. M., Ruiz, N. (1988). Research note: influence of virginiamycin on yield of broilers fed four levels of energy. *Poultry Science* **67**: 1222-1224.

WPSA (1984). Working group, No. 2-nutrition: the prediction of apparent metabolisable energy values for poultry in compound feeds. *World's Poultry Science Journal* **40**: 181-182.

Yalçinkaya, I., Güngör, T., Basalan, M., Erdem, E. (2008). Mannan oligosaccharides (MOS) from *Saccharomyces cerevisiae* in broilers: effects on performance and blood biochemistry. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **32**: 43-48.

Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Mikkelsen, L. L., Choct, M. (2007). Effects of mannanoligosaccharide on growth performance, the development of gut microflora, and gut function of broiler chickens raised on new litter. *The Journal of Applied Poultry Research* **16**: 280-288.

Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Mikkelsen, L. L., Choct, M. (2008a). Effects of dietary mannanoligosaccharide on growth performance, nutrient digestibility and gut development of broilers given different cereal-based diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **92**: 650-659.

Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Mikkelsen, L. L., Choct, M. (2008b). Effects of mannanoligosaccharide and fructooligosaccharide on the response of broilers to pathogenic *Escherichia coli* challenge. *British Poultry Science* **49**: 550-559.

Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Thomson, E., Mikkelsen, L. L., Choct, M. (2008c). Effects of mannanoligosaccharide in broiler chicken diets on growth performance, energy utilisation, nutrient digestibility and intestinal microflora. *British Poultry Science* **49**: 186-194.

Yitbarek, A., Echeverry, H., Brady, J., Hernandez-Doria, J., Camelo-Jaimes, G., Sharif, S., Guenter, W., House, J. D., Rodriguez-Lecompte, J. C. (2012). Innate immune response to yeast-derived carbohydrates in broiler chickens fed organic diets and challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Science* **91**: 1105-1112.

ZDG (2013). Geflügeljahrbuch 2014. Eugen Ulmer KG, Stuttgart (Hohenheim).

Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J., Biedrzycka, E., Koncicki, A. (2005). Metabolic response of the gastrointestinal tract of turkeys to diets with different levels of mannan-oligosaccharide. *Poultry Science* **84**: 903-909.

Zhang, A. W., Lee, B. D., Lee, S. K., Lee, K. W., An, G. H., Song, K. B., Lee, C. H. (2005). Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poultry Science* **84**: 1015-1021.

Zhang, B., Guo, Y., Wang, Z. (2008). The modulating effect of β-1,3/1,6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **21**: 237-244.

Zhang, S., Liao, B., Li, X., Li, L., Ma, L., Yan, X. (2012). Effects of yeast cell walls on performance and immune responses of cyclosporine A-treated, immunosuppressed broiler chickens. *British Journal of Nutrition* **107**: 858-866.

Zhao, C., Ge, B., De Villena, J., Sudler, R., Yeh, E., Zhao, S., White, D. G., Wagner, D., Meng, J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the greater Washington, D.C., area. *Applied and Environmental Microbiology* **67**: 5431-5436.

Zhao, P. Y., Jung, J. H., Kim, I. H. (2012). Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and diarrhea score in weanling pigs. *Journal of Animal Science* **90**: 833-839.

Žikic´, D., Peric´, L., Ušc´ebrka, G., Stojanovic´, S., Milic´, D., Nollet, L. (2011). Influence of dietary mannanoligosaccharides on histological parameters of the jejunal mucosa and growth performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology* **10**: 6172-6176.

# 9 Anhang

**Tabelle 28:** Geräte und Chemikalien für die Futteruntersuchung

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Ameisensäure (85 %), rein | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Aminosäurenanalysator: Biochrom 20 plus | Amersham Pharmacia Biotech | Piscataway, USA |
| Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat > 99 % p.a. krist. | Carl Roth GmbH&Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Ammoniummonovanadat | Merck KGaA | Darmstadt, Deutschland |
| Analysewaage Typ Genius | Sartorius AG | Göttingen, Deutschland |
| ASpect CS Software | Analytik Jena AG | Jena, Deutschland |
| Atomabsorptionsspektrometer: vario 6 | Analytik Jena AG | Jena, Deutschland |
| Biochrom 20 plus Software | Biochrom Ltd | Cambridge, UK |
| Citronensäure-Monohydrat ≥ 99,5 % p.a. ACS | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Dimethylsulfoxid Rotipuran® ≥ 99,8 % p.a. ACS | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Exsikkator Typ Novus NS 24/29 | Duran Produktions GmbH & Co. KG | Mainz, Deutschland |
| EZChrom Software, Version 6.8 | Scientific Software, Inc. | Pleasanton, USA |
| F57 Filter Bags | Ankom Technology | Macedon, USA |
| Heraeus® Trockenschrank T5042 | Heraeus Holding GmbH | Hanau, Deutschland |
| L-Glutaminsäure | Merck Millipore | Darmstadt, Deutschland |
| Makro-Elementaranalysator: vario max CN | Elementar Analysesysteme GmbH | Hanau, Deutschland |
| Muffelofen Heraeus® Thermicon® P | Thermo Fisher Scientific | Waltham, MA, USA |
| Natriumhydroxid ≥ 99 % | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Petroleumbenzin, reinst | Merck KGaA | Darmstadt, Deutschland |
| Photometer: Ultrospec 2100 pro | Amersham Pharmacia Biotech | Piscataway, USA |
| Rohfaser-Analysator: Ankom2000 Fibre Analyser | Ankom Technology | Macedon, USA |
| Salpetersäure (65 %) | Merck KGaA | Darmstadt, Deutschland |
| Salzsäure (37-38 %) | J.T. Baker | Griesheim, Deutschland |
| Schwefelsäure (95-97 %) | J.T. Baker | Griesheim, Deutschland |
| Sodium Loading Buffer pH 2.20 | Biochrom Ltd | Cambridge, UK |
| Sodium Oxide Buffer 1-4 | Biochrom Ltd | Cambridge, UK |
| SWIFT II Applications Software | GE Healthcare | Buckinghamshire, UK |
| tri-Natriumcitrat-Dihydrat ≥ 99 % p.a. ACS | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Ultra Ninhydrin Reagent Kit | Biochrom Ltd | Cambridge, UK |
| Wasserstoffperoxid Pedrogen® (30 %) | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| XT4 Filter Bags | Ankom Technology | Macedon, USA |
| Zentrifugalmühle, ZM 100 | Retsch GmbH | Haan, Deutschland |

**Tabelle 29:** Geräte und Chemikalien für die Bestimmung der scheinbaren ilealen Verdaulichkeit, des pH-Wertes und prozentualen Trockensubstanzgehaltes

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Analysewaage Typ Genius | Sartorius AG | Göttingen, Deutschland |
| Glasaufschlussröhrchen | SCP Science | Courtaboeuf, Frankreich |
| Greiner Röhrchen 15 ml | Greiner Bio One | Frickenhausen, Deutschland |
| Greiner Röhrchen 50 ml | Greiner Bio One | Frickenhausen, Deutschland |
| Heizblock: SCP Science DigiPREP HT | S-prep GmbH | Überlingen, Deutschland |
| InLab®410 pH-Kombinationselektrode | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| Kjeldahl Tabletten 3,5g /Tablette | AppliChem GmbH | Darmstadt, Deutschland |
| Messkolben 50 ml | EM Techcolor | Eberstadt, Deutschland |
| Photometer: Ultrospec 2100 pro | Amersham Pharmacia Biotech | Piscataway, USA |
| pH-Pufferlösung pH 4 | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| pH-Pufferlösung pH 7 | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| Rotilabo® Rundfilter Typ 15 A | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Schwefelsäure (95-97 %) | J.T. Baker | Griesheim, Deutschland |
| SWIFT II Applications Software | GE Healthcare | Buckinghamshire, UK |
| Vakuum-Gefriertrockner: Alpha 1-4 LSC | Christ GmbH | Osterode, Deutschland |
| Wasserstoffperoxid Pedrogen® (30 %) | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| Zentrifugalmühle, Zm 100 | Retsch GmbH | Haan, Deutschland |

**Tabelle 30:** Geräte und Chemikalien für Bestimmung von D- und L-Laktat

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Analysewaage Typ Genius | Sartorius AG | Göttingen, Deutschland |
| Cellulose-Acetat-Spritzenvorsatzfilter 0,45 µm | VWR International GmbH | Darmstadt, Deutschland |
| Chromeleon® Software version 6.80 | Dionex Corporation | Sunnyvale, USA |
| Heraeus Fresco 21 Microcentrifuge | Thermo Fisher Scientific | Waltham, MA, USA |
| HPLC Agilent 1100 | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Kaliumhexycyanoferrat-II-Tihydrat ≥ 99 %, p.a., ACS | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Kupfer-II-Sulfat (wasserfrei) | Merck, KGaA | Darmstadt, Deutschland |
| Phenomex C18 4.0 L mm x 2,0 ID mm (Vorsäule) | Phenomenex | Torrance CA, USA |
| Phenomex Chirex 3126 (D)-penicillamine 150 x 4,6 mm (Hauptsäule) | Phenomenex | Torrance CA, USA |
| Probengefäße Screw cap vials (Part No. 5182-0714) | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Rüttler: VV 3 | VWR International GmbH | Darmstadt, Deutschland |
| Safe-Lock Tube 2 ml | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |
| Vortexmischer: Heidolph Reax top | Heidolph Instruments GmbH & Co. KG | Schwabach, Deutschland |
| Zinkchlorid Technipur | Merck, KGaA | Darmstadt, Deutschland |

**Tabelle 31:** Geräte und Chemikalien für die Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Gaschromatograph Modell 6890N | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Glasliner Agilent 5183-2037 | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Heidolph Reax top | Heidolph Instruments GmbH & Co. KG | Schwabach, Deutschland |
| HP Chem Station Software | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| n-Hexan Rotisolv® HPLC | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Oxalsäure ≥ 99 % (R.T.) | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| Probengefäße Screw cap vials (Part No. 5182-0714) | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Rüttler: VV 3 | VWR International GmbH | Darmstadt, Deutschland |
| Safe-Lock Tube 2 ml | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |
| Säule HP-INNOWAX 19095N-123 | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Septen Agilent 5183-2037 | Agilent Technologies Deutschland GmbH & Co. KG | Waldbronn, Deutschland |
| Volatile Acid Standard Mix 46975-U | Supelco | Bellefonte, USA |
| Vortex Genie 2 | Scientific Industries, Inc. | New York, USA |
| Zentrifuge: Centrifuge 5415 C | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |

**Tabelle 32:** Geräte und Chemikalien für die Bestimmung von Ammonium

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Ammoniumchlorid 99,995 Suprapur® | Merck KGaA | Darmstadt, Deutschland |
| InLab®410 pH-Kombinationselektrode | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| Mikrotiterplatten, U-Form | Anicrin S.R.L. | Scorze, Italien |
| Mikrotiterplatten-Photometer: TECAN Sunrise | Tecan Deutschland GmbH | Crailsheim, Deutschland |
| MOPS Pufferan® (3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure) ≥ 98 % | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Na-Hypochlorit 0,2 % Alkaline Hypochlorite solution | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| Phenol-nitroprussid-solution | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| pH-Pufferlösung pH 4 | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| pH-Pufferlösung pH 7 | Mettler Toledo GmbH | Gießen, Deutschland |
| Safe-Lock Tube 2 ml | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |
| XFluor™ | Tecan Deutschland GmbH | Crailsheim, Deutschland |

**Tabelle 33:** Geräte und Chemikalien für die DNA-Extraktion, Bestimmung der DNA-Konzentration und qPCR

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| AccuBlock™ Digital Dry Bath | Labnet International Inc. | Edison, USA |
| Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR Master Mix | Agilent Technologies | Santa Clara, USA |
| Deoxyribonucleic acid from calf thymus Type XV | Sigma Aldrich | St. Louis, USA |
| EDTA ≥ 99,5 %, p.a., ACS | Carl Roth GmbH & Co. KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Ethanol ROTIPURAN® ≥ 99,8 %, p.a. | Carl Roth GmbH & Co. KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Heidolph Multi Reax | Heidolph Instruments GmbH & Co. KG | Schwabach, Deutschland |
| Hoechst 33258 | Sigma Aldrich | St. Louis, USA |
| Light Protection Reaction Tubes, 1,5 ml | Greiner Bio-One GmbH | Frickenhausen, Deutschland |
| MxPro QPCR Software | Agilent Technologies | Santa Clara, USA |
| NanoDrop™ 3300 Fluorospectrometer | Thermo Fisher Scientific | Waltham, USA |
| Natriumchlorid ≥ 99,5 %, p.a., ACS | Carl Roth GmbH & Co. KG | Karlsruhe, Deutschland |
| ND - 3300 V. 2.8.0. Software | Nanodrop Technologies | Wilmington, USA |
| PCR Gefäße Optical tube + cap strips | Agilent Technologies | Santa Clara, USA |
| PCR Primer | Eurofins MWG Operon | Ebersberg, Deutschland |
| Safe-Lock Tube 2 ml | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |
| Stratagene Mx3000P QPCR System | Agilent Technologies | Santa Clara, USA |
| Tris PUFFERAN® ≥ 99,9 %, p.a. | Carl Roth GmbH & Co. KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Waage Sartorius BP 110 S | Sartorius AG | Göttingen, Deutschland |
| Wasser, nuklease-frei, sterilfiltriert | Carl Roth GmbH & Co. KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Zentrifuge Eppendorf 5430 | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |

**Tabelle 34:** Verwendete Primer für die qPCR

| Detektierte Bakterien | Primer | Primersequenz (5´--> 3´) | C | Produktgröße | Zielgen | Referenz |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lakto-bazillen | Lac1-F | AGCAGTAGGGAATCTTCCA | 0,4 | 341 bp | 16s rDNA | (Rinttilä *et al.* 2004) |
| | Lac2-R | CACCGCTACACATGGAG | | | | |
| Bifido-bakterien | g-BIFID-F | TCGCGTCYGGTGTGAAAG | 0,4 | 243 bp | 16s rDNA | (Rinttilä *et al.* 2004) |
| | g-BIFID-R | CCACATCCAGCRTCCAC | | | | |
| Entero-bakterien | EntqPCR 3417-F | GTBTCDCCRCGCAGRC | 0,6 | 435 bp | rpoB | (entwickelt im Institut für Tierernährung) |
| | EntqPCR 3852-R | TGCGYCTGGTRATCTA | | | | |
| *Escherichia/ Shigella/ Hafnia* spp. | Entero-F | GTTAATACCTTTGCTCATTGA | 0,4 | 340 bp | 16s rDNA | (Malinen *et al.* 2003) |
| | Entero-R | ACCAGGGTATCTAATCCTGTT | | | | |

C = Primerkonzentration [µM]

**Tabelle 35:** Mengenverhältnisse eines Reaktionsansatzes für die qPCR

| Reaktionsansatz mit Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR Master Mix | Menge bei Primerkonzentration 0,4 µM | Menge bei Primerkonzentration 0,6 µM |
|---|---|---|
| Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR MasterMix | 12,5 µl | 12,5 µl |
| Forward Primer (10µM) | 1 µl | 1,5 µl |
| Reverse Primer (10µM) | 1 µl | 1,5 µl |
| RNase freies Wasser | 9,5 µl | 8,5 µl |

**Tabelle 36:** Reaktionsbedingungen für die qPCR

| | n | Lakto-bazillen | Bifido-bakterien | Entero-bakterien | *Escherichia/Shigella/ Hafnia* spp. |
|---|---|---|---|---|---|
| Aktivierung | 1 | 95 °C/15 min. | 95 °C/15 min. | 95 °C/15 min. | 95 °C/15 min. |
| Denaturierung | 40 | 95 °C/15 sec. | 95 °C/15 sec. | 95 °C/15 sec. | 95 °C/15 sec. |
| Annealing Primermoleküle | | 58 °C/1 min. | 58 °C/1 min. | 55 °C/1 min. | 55 °C/1 min. |
| Elongation der DNA-Fragmente | | 72 °C/1 min. | 72 °C/1 min. | 72 °C/1 min. | 72 °C/1 min. |
| Schmelzkurvenanalytik | 1 | + | + | + | + |

n = Anzahl der PCR Zyklen

**Tabelle 37:** Geräte und Chemikalien für die Bestimmung von intestinalem IgA

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine (TMB) Liquid Substrate | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| Albumin Fraktion V ≥ 98 %, pulv. | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Carbonate-Bicarbonate-Puffer | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| ELISA Platte: Microlon 655092 | Greiner Bio One | Frickenhausen, Deutschland |
| Heidolph Multi Reax | Heidolph Instruments GmbH & Co. KG | Schwabach, Deutschland |
| Heraeus Fresco 21 Microcentrifuge | Thermo Fisher Scientific | Waltham, MA, USA |
| Laborwaage: Acculab Atilon | Sartorius AG | Göttingen, Deutschland |
| Magellan™-Data Analysis Software | Tecan Deutschland GmbH | Crailsheim, Deutschland |
| Mikrotiterplatten-Photometer: TECAN Sunrise | Tecan Deutschland GmbH | Crailsheim, Deutschland |
| PBS Dulbecco w/o Ca++/Mg++ | Biochrom AG Biotechnologie | Berlin, Deutschland |
| Safe-Lock Tube 2 ml | Eppendorf AG | Hamburg, Deutschland |
| Schwefelsäure 95 - 98 % ROTIPURAN® | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| Tris-gepufferte-Kochsalzlösung | Sigma Aldrich Chemie GmbH | Steinheim, Deutschland |
| Tween® 20 | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |

**Tabelle 38:** Geräte und Chemikalien für die durchflusszytometrische Untersuchung

| Bezeichnung | Hersteller | Ort, Staat |
|---|---|---|
| Albumin Fraktion V ≥ 98 %, pulv. | Carl Roth GmbH & Co.KG | Karlsruhe, Deutschland |
| BD CellQuest™ Pro software | Becton Dickinson Bioscience | San José, USA |
| Biocoll Separation Solution 1,077g/ml | Biochrom AG | Berlin, Deutschland |
| Durchflusszytometer: FACS Calibur® | Becton Dickinson Bioscience | San José, USA |
| FACS-Röhrchen | Falcon (Becton Dickinson) | Franklin Lake, USA |
| Goat F (ab) 2 Anti-Mouse IgG1-RPE, Human Adsorbed | Southern Biotech | Birmingham, USA |
| Heraeus Megafuge 1.0 | Thermo Fisher Scientific | Waltham, MA, USA |
| Monoclonal Antibody to Chicken Macrophages + Monocytes Clone KUL01 | Acris Antibodies GmbH | Herford, Deutschland |
| PBS Dulbecco w/o Ca++/Mg++ | Biochrom AG | Berlin, Deutschland |
| S-Monovette® 1,2 ml Lithium-Heparin | SARSTEDT AG & Co | Nümbrecht, Deutschland |

# 10 Publikationsverzeichnis

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits auf folgenden Tagungen präsentiert:

**69. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie**
Göttingen 10. – 12. März 2015
Vodde, H., Zentek, J. – Berlin
Influence of a yeast cell wall product on the performance parameters and the composition and activity of the intestinal microbiota of broiler chickens
Proc. Soc. Nutr. Physiol. 24:101

**14. BOKU-Symposium Tierernährung. Globale Rohstoffe – lokale Lebensmittel: Zielkonflikte für die Tierernährung?**
Wien 09. April 2015
Vodde, H., Zentek, J. – Berlin
Einfluss eines Hefezellwandproduktes auf die zootechnische Leistung sowie die Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota bei Masthühnern
Tagungsband 14:204 – 206

# 11 Danksagung

Mein erster Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek für die Überlassung der interessanten Thematik sowie die Unterstützung während der gesamten Arbeit.

Für die Bereitstellung eines Stipendiums und die gute Zusammenarbeit möchte ich mich bei der Firma MIAVIT bedanken.

Außerdem geht mein Dank an Herrn Univ.-Prof. Marcus G. Doherr, PhD, Dipl. ECVPH, der mir beratend bei der statistischen Auswertung der Daten zur Seite stand.

Zudem möchte ich mich bei dem Institut für Geflügelkrankheiten der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Univ.-Prof. Dr. Hafez Mohamed Hafez sowie dem Institut für Tierphysiologie der LMU München unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. vet. Bernd Kaspers für die Beratung und Analysen einiger Blutparameter bedanken.

Besonders möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Mitdoktoranden des Instituts für Tierernährung für die große Hilfsbereitschaft und das tolle Arbeitsklima bedanken.

Dabei waren mir Frau Petra Huck, Frau Katharina Topp, Frau Luisa Ebersbach, Frau Marita Eitinger und Frau Kirstie Fiedler stets eine große Hilfe im Labor.

Bei Herrn Dr. Wilfried Vahjen, Frau Dr. Anneluise Mader und Frau Dr. Fanny Knorr möchte ich mich für Ihre stetige Hilfsbereitschaft und Beratung bedanken.

Allen Tierpflegern, Herrn Gerd-Rainer Jokiel und Herrn Prof. Dr. Klaus Männer danke ich ganz herzlich für die Hilfe bei der Versorgung meiner Tiere.

Der größte Dank gilt meiner Familie, die mich unermüdlich unterstützt und mir diese Arbeit ermöglicht hat.

# 12 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbst angefertigt und keine anderen als die hier angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.
Ich versichere, dass ich diese Arbeit weder in dieser noch in einer anderen Form bei einer anderen Prüfungsbehörde eingereicht habe.

Berlin, den 25.11.2014

Heike Vodde