

## 6. Zusammenfassung

*Björn Seelig:*

Einfluss der Probiotika *Enterococcus faecium* SF 68 (NCIMB 10415) und *Bacillus cereus* var. *toyoi* auf die Saure und Alkalische Phosphatase sowie auf die endokrinen Zellen der intestinalen Schleimhaut des Ferkels

Probiotische Futter- oder Nahrungs-Zusätze werden sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin, obwohl viele Wirkungsmechanismen dieser Stoffe noch unklar sind, in den letzten Jahren verstärkt eingesetzt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der beiden Keime *Enterococcus faecium* und *Bacillus cereus* var. *toyoi* auf die Enzyme und Hormone der Darmschleimhaut von Ferkeln untersucht.

In drei Fütterungsversuchen wurden jeweils Probiotika als Futterzusatzstoffe verwendet und die gefütterten Tiere mit einer Kontrollgruppe verglichen.

Im ersten Versuch erhielten bereits die tragenden Sauen (Duroc x Deutsche Landrasse) und anschließend 20 Ferkel ab dem 15 Tag nach der Geburt das Probiotikum *E. faecium*. Die Entnahme der Darmproben erfolgte an jeweils 5 Tieren im Alter von 14, 28,35 und 56 Tagen.

Im zweiten identischen Fütterungsversuch erhielten die Sauen und Ferkel eine *Bac. cereus* var. *toyoi* – Diät und wurden wie auch im ersten Fütterungsversuch mit 20 Kontrolltieren verglichen.

Im letzten Versuchsdurchgang wurden nur die abgesetzten Ferkel ab dem 29.Tag p.p. mit dem Keim *E. faecium* gefüttert. In diesem Versuch wurden jeweils die Darmabschnitte Duodenum und Jejunum von je 4 Tieren mit 35 Tagen und 56 Tagen untersucht und mit ebenso vielen Kontrolltieren verglichen.

Die Probenentnahme erfolgte direkt nach Euthanasie der Schweine. Es wurden Gewebeproben aus den Darmabschnitten Duodenum, prox. und dist. Jejunum, Ileum, Caecum, Colon ascendens und Colon descendens entnommen.

Die gewonnenen Proben wurden für den Nachweis der Sauren Phosphatase in 2% Glutaraldehyd mit 0,1M Cacodylatpuffer (pH 7,4) und für den Nachweis der Hormonproduzierenden Zellen in einer modifizierten Bouin'schen Lösung fixiert, die Kupferacetat statt Essigsäure enthielt.

Zur quantitativen Bestimmung der Alkalischen Phosphatase wurden die Gewebsstücke aus den Darmabschnitten Duodenum und Jejunum in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Mithilfe des Substrates p-Nitrophenylphosphat wurde photometrisch der Gehalt der Schleimhaut an dem Enzym Alkalische Phosphatase bestimmt.

Der Nachweis der Sauren Phosphatase am histologischen Schnitt erfolgte nach der Methode von BARKA (mod. n. BURSTONE 1962). Es wurden insgesamt 7 Bewertungspunkte bezüglich Verteilung und Reaktivität der SP-positiven Zellen lichtmikroskopisch untersucht.

Mit Hilfe von polyklonalen Antikörpern gegen Gastrin (RahGastrin, DAKO A.568), Somatostatin (RaSomatostatin, Amersham RPN.1612) und Serotonin (BioPrime SE-100) konnten anhand von 3-5 µm dicken Paraffinschnitten und dem computergestütztem Bildanalyseprogramms Lucia 32-G die Hormon-positiven Zellen pro Flächeneinheit ermittelt werden. Die gemessene Fläche wurde basal durch die Lamina muscularis mucosae und luminal durch das Zottenepithel begrenzt.

Die Auswertung der quantitativen Bestimmung der Alkalischen Phosphatase ergab, dass unabhängig von den Supplementierungsstrategien im Duodenum im Vergleich zu Jejunum immer höhere Aktivitätswerte vorlagen.

Des Weiteren konnte sowohl im Duodenum als auch im Jejunum eine Abnahme der Aktivität der Alkalischen Phosphatase in den ersten Lebenswochen ermittelt werden.

Im Vergleich zu den Kontrolltieren konnten, bezüglich der unterschiedlichen Fütterung mit *E. faecium* und *B. cereus* var. *toyo*, uneinheitliche Ergebnisse für die Testtiere ermittelt werden. Wurden die Tiere mit *E. faecium* gefüttert, so ließ sich die Tendenz erkennen, dass die Aktivität der AP in der Darmschleimhaut bei den Versuchstieren höher war, als bei den Kontrolltieren. Wurden die Ferkel hingegen mit dem Keim *B. cereus* var. *toyo* gefüttert, war eine tendenziell niedrigere Enzymaktivität messbar.

Erhielten nur die Ferkel nach dem Absetzen und nicht die Sauen *E. faecium*, so konnten bei den Versuchstieren ebenfalls niedrigere Werte als bei den Kontrolltieren gemessen werden.

Bei den Auswertungen der verschiedenen Bewertungsparameter der Sauren Phosphatase konnten lediglich geringe Abweichungen nach Fütterung der beiden Probiotika ermittelt werden. Allgemein konnten in der Schleimhaut der hinteren Darmabschnitte niedrigere Aktivitätswerte ermittelt werden, als in den Vorderen. Supranukleär konnte in den Enterozyten des Duodenums und Jejunums der Versuchstiere eine tendenziell stärkere Aktivität gemessen werden als bei den vergleichbaren Kontrolltieren.

Die Auszählung der endokrinen Zellen pro Flächeneinheit ergab, dass ihre Anzahl entlang der longitudinalen Achse des Darms von proximal nach distal stetig abnimmt. Dies ist sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Probiotika-Tieren der Fall, und gilt für alle untersuchten Hormone (Gastrin, Somatostatin, Serotonin).

Es wurde in keinem der Versuche ein Unterschied in der Konzentration der Endokrinozyten in den verschiedenen Altersgruppen gefunden. Ebenso konnte kein Einfluss der beiden verwendeten Probiotika auf die Anzahl der Hormon-produzierenden Zellen im Vergleich zu den Kontrolltieren ermittelt werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass Veränderungen der Enzymbeschaffenheit der Darmschleimhaut von Ferkeln durch die orale Applikation von *E. faecium* und *Bac. cereus* var. *toyoi* möglich sind. Eine Beeinflussung der Gastrin-, Somatostatin- und Serotonin-produzierenden Zellen findet hingegen nicht statt.