

5. DISKUSSION

5.1 Vorbemerkungen

In der vorliegenden Arbeit sollten die möglichen Aspekte der Wirkungsweise des Probiotikums *Enterococcus faecium* hinsichtlich des Einflusses auf zootecnische Leistungen und die Durchfallhäufigkeit bei Ferkeln untersucht werden.

Die in der Literatur beschriebenen Wirkungen bei *in vivo*-Untersuchungen mit Probiotika an Schweinen variieren stark. Die Ergebnisse weisen bei den verdauungsphysiologischen Parameter wie Gewichtszunahmen, Futtermittelverwertung und scheinbare Verdaulichkeit, bzw. Durchfallhäufigkeit eine große Variabilität auf. So ist bei Huang *et al.* (2004) eine signifikante Steigerung der Tagesgewichtszunahmen (und damit der Futtermittelverwertung) bei mit Laktobazillus-Stämmen vorbehandelten Schweinen festzustellen. Ebenso lag eine signifikante Abnahme der Durchfallhäufigkeit in diesen Gruppen vor (Huang *et al.*, 2004).

In anderen Untersuchungen wurden bezüglich der Durchfallhäufigkeit jedoch keine Unterschiede festgestellt (Bothe *et al.*, 1989; Kirchgessner *et al.*, 1993). Auch bei einem Ferkelaufzuchtversuch mit Zugabe von BioPlus 2 B[®] (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*) wurden gegenüber der Kontrollgruppe keine absicherbaren Leistungsvorteile erzielt (Lindermayer und Propstmeier, 2003).

Auch wenn hinsichtlich der Ergebnisse offensichtlich eine starke Inhomogenität besteht (Pollmann *et al.*, 1980), so wird die Verwendung von Probiotika dennoch positiv diskutiert. Durch den absehbaren Wegfall antibiotischer Leistungsförderer und dem immer stärker werdenden Drängen der Verbraucher nach „natürlichen“ Futterzusätzen wird der Bedarf an Alternativen groß.

So hat das Wissenschaftliche Gremium für Zusatzstoffe, Erzeugnisse und Stoffe in der Tierernährung (FEEDAP) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) in diesem Jahr ein Gutachten über den probiotischen Futtermittelzusatzstoff Toyocerin[®] (*Bacillus cereus*) veröffentlicht, in dem die Behörde zu dem Schluss kommt, dieses Produkt könne bei Mastschweinen wirksam sein. Das Gutachten basiert dabei auf fünf Versuchsansätzen mit Mastferkeln, in denen sämtliche Probiotikagruppen signifikant höhere Tageszunahmen zeigen (EFSA, 2004).

Eine in oben genannten Bilanzversuchen ermittelte bessere Futtermittelverwertung (Kirchgessner *et al.*, 1993; Kyriakis *et al.*, 1999) könnte auf einer gesteigerten Absorption von Nährstoffen basieren, wohingegen eine verringerte Durchfallhäufigkeit durch eine reduzierte Sekretion zu erklären wäre.

Die möglichen Wirkungsmechanismen von Probiotika sind im Abschnitt „LITERATUR“ zusammengestellt worden. In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Hypothese veränderte Transportphysiologie geprüft.

5.2 Versuchskritik

Ein Erklärungsansatz der starken Inhomogenität der Ergebnisse bezüglich der zootecnischen Parameter selbst bei ähnlichen Versuchskonzepten beruht wahrscheinlich auf den Einflussfaktoren, die bei der Entwicklung der Tiere eine Rolle spielen. Die genetische Abstammung der Tiere, das Alter, die Zusammensetzung des Futters (Pollmann *et al.*, 1980) und die Dosierung des Probiotikums (Gedek *et al.*, 1993; Thelen und Pallauf, 1996) kann zwar mit anderen Arbeitsprotokollen abgestimmt werden (Thelen, 1997), nicht jedoch die unmittelbaren Umweltbedingungen, denen das Tier ausgesetzt ist und die vom jeweiligen Betriebsmanagement beeinflusst werden.

Im Versuchsansatz der vorliegenden Untersuchungen wurden die Muttersauen per Zufall aus dem Sauenbestand des Instituts für Tierernährung ausgewählt. Es handelte sich dabei um Schweine (Deutsche Landrasse x Duroc oder Deutsche Landrasse/Duroc x Deutsche Landrasse/Hampshire), wie sie in der Praxis auch als Mastschweine eingesetzt werden.

Diese wurden ebenfalls per Zufall einer Kontroll- und einer Probiotikagruppe zugeordnet. Abgesehen vom Probiotikazusatz war die Fütterung und die Haltung der Gruppen und der dazugehörigen Ferkel identisch (siehe Abschnitt „MATERIAL UND METHODEN“).

Somit wurde versucht, den Ablauf des Versuches und damit die unmittelbaren Haltungsbedingungen soweit wie möglich zu standardisieren und praxisnah zu

gestalten. Wie bereits erwähnt, konnte die genaue Dosisaufnahme des Probiotikums durch die ad libitum-Fütterung nicht ermittelt werden.

Die Präparation der Gewebestücke zum Einbau in die Ussing-Kammern erfolgte ebenfalls einheitlich. Es wurden die der Mukosa anhaftenden Gewebeschichten manuell vorsichtig entfernt. Dabei kann es zu Dehnungen der Schleimhaut kommen, welche die in der Ussing-Kammer gemessenen elektrophysiologischen Werte des Gewebes beeinflussen könnten (Stockmann *et al.*, 1999).

Es wurden vor Versuchsbeginn Probeschnitte im Institut für Anatomie untersucht und somit die Art der Präparation festgelegt, jedoch wurde die jeweilige Präparation und damit die freigelegte Schleimhaut nicht histologisch untersucht, so dass über die Vollständigkeit der Abtrennung übriger Gewebeschichten keine Aussagen gemacht werden können.

Auch ein unvollständiges Abtrennen der übrigen Gewebeschichten von der in die Ussing-Kammern einzuspannenden Mukosa kann die Messwerte beeinflussen. Wie Fromm *et al.* in ihren Untersuchungen feststellten, kann durch Reste von subepitheliale Gewebe der transepitheliale Widerstand fälschlich zu hoch, dagegen der Kurzschlussstrom und der Nettotransport zu niedrig eingeschätzt werden (Fromm *et al.*, 1985; Gitter *et al.*, 1998; Hemlin *et al.*, 1988).

Wie bereits bei der Beschreibung der Ussing-Kammer-Apparatur angemerkt, werden dem Gewebe zur Vermeidung von Quetschungen am Rand Gummiringe untergelegt. „Edge damage“ kann zu veränderten (falschen) Werten von I_{SC} und R_t führen (Stockmann *et al.*, 1999).

In der vorliegenden Untersuchung wurde versucht, die auftretenden hohen Variationen der gemessenen absoluten Werte zwischen den Epithelien eines Tieres und zwischen den Tieren durch Verwenden der Δ – Werte zu normieren. Trotz dieser Maßnahmen ergaben sich erhebliche Unterschiede, die jedoch qualitativ gut reproduzierbar waren. Es erfolgte nach Zugabe der verschiedenen Lösungen immer ein Anstieg, bzw. Abstieg der elektrophysiologischen Werte.

Weiterhin bestanden Unterschiede zwischen den Altersgruppen der Tiere. Die Tötungen und damit Probennahmen erfolgten am 14., 28., 35. und 56 Tag. Aufgrund der Entwicklung des Darmes ist es verständlich, dass Unterschiede hinsichtlich der Absorptions- und Sekretionsraten bestehen. Zudem werden die Tiere in dieser Phase

abgesetzt, dies bedeutet eine enorme Umstellung der gesamten Darmfunktionen (Boudry *et al.*, 2002; Hedemann *et al.*, 2003; Kimura, 1996).

Aus diesem Grund wurde die Darstellung der einzelnen Altersstufen gewählt.

5.3 L-Glutamin

Mit der Zugabe von L-Glutamin und der Messung des Kurzschlussstroms (ΔI_{SC}) sollten eventuelle Unterschiede in der Absorptionsleistung von Aminosäuren zwischen Probiotika-gefütterten Tieren und der Kontrollgruppe überprüft werden. Eine erhöhte Absorption von Aminosäuren könnte eine Erklärung für die in vorherigen Untersuchungen festgestellte erhöhte Tageszunahme bei mit Probiotika behandelten Schweinen sein.

Die verwendete Konzentration entspricht in etwa der in anderen Untersuchungen eingesetzten Menge an Glutamin (Grondahl und Skadhauge, 1997; Winckler *et al.*, 1999).

Bei dem Vergleich der Gruppen fällt die in allen vier Altersstufen vorhandene Tendenz der Probiotika-gefütterten Tiere zu höheren Werten ins Auge. Diese Tendenz ist statistisch nicht als signifikant einzustufen.

Der stetige Anstieg der ΔI_{SC} -Werte im Verlauf der Altersgruppen (abgesehen von der Altersgruppe der 56 Tage alten Tiere) könnte auf ein sich entwickelndes Darmsystem zurückzuführen und zu erklären sein (Austic, 1985).

Wie Untersuchungen belegen konnten, kommt es um die Zeit des Absetzens zu einem langsamen Anstieg der Enzymproduktion im Gastrointestinaltrakt (Hahn *et al.*, 1988; Madej *et al.*, 1999).

Des Weiteren kommt es durch das Absetzen der Tiere im Alter von 4 Wochen zu einer grundlegenden Nahrungsumstellung. Ist die Milch verhältnismäßig reich an Fett und Protein, so erhält ein Absatzferkel eine hauptsächlich Kohlenhydrat-basierte Diät.

Ein Absinken der Werte bei Tieren in der Altersgruppe 56 Tage (dieses Absinken der Werte gilt für alle Versuchsansätze) könnte demnach mit einem sich an eine veränderte Nahrung adaptierenden Darmsystem zu erklären sein (Buddington *et al.*, 2001).

Der altersabhängige Verlauf der Absorption von Peptiden scheint dieser Annahme zu entsprechen (Himukai *et al.*, 1980; Wu *et al.*, 1995).

Ferner ist es möglich, dass die Ausbildung von Transportern und/oder Enzymen zur Absorption von Aminosäuren in der Mukosa dem Wachstum des Darmes gewissermaßen unterlegen ist (Buddington *et al.*, 2001). Dies würde bedeuten, dass relativ zur Größe des Darmes eine geringere Menge an Transportern bzw. Enzymen vorhanden ist und sich dies bei Versuchen mit den Ussing-Kammern in niedrigeren elektrophysiologischen Werten darstellt. Die Größe des eingespannten Darmepithels ist bei Ussing-Kammer-Versuchen unabhängig von der Gesamtgröße des Darmes immer konstant.

Auch wenn sich diese Ergebnisse nicht statistisch absichern lassen, so geben sie dennoch einen Hinweis darauf, dass bei einer Behandlung mit *Enterococcus faecium* die Tendenz zu einer vermehrten Absorption von Aminosäuren (L-Glutamin) besteht. Darauf weisen auch Ergebnisse bei Untersuchungen der praecaecalen Verdaulichkeit von Aminosäuren bei Probiotikagaben hin (persönliche Mitteilung, Simon 2003).

Der Grund hierfür könnte eine gesteigerte Ausbildung der Transporter selbst und/oder eine gesteigerte maximale Absorptionsrate der vorhandenen Transporter sein.

Ausgehend von der Tatsache, dass die durch oben genannte Faktoren begrenzte Aufnahme von Nährstoffen (hier: Aminosäuren) ein limitierender Faktor bezüglich des Wachstums bei juvenilen Lebewesen ist, so wäre durch die Bereitstellung größerer Mengen von Aminosäuren ein gesteigertes Wachstum möglich.

5.4 PGE₂

Wie bereits weiter oben beschrieben, wurde durch die Applikation von PGE₂ dessen sekretorische Wirkung (Hayden *et al.*, 1996) genutzt, um Unterschiede der Fütterungsgruppen bezüglich der Sekretionsfähigkeit des Darmes (und damit deren Anfälligkeit für Diarrhöen) aufzudecken. Der genaue Mechanismus ist im Abschnitt „LITERATUR“ beschrieben.

Die gewählten vier verschiedenen Konzentrationen ergaben sich in Anlehnung an entsprechende Literaturwerte (Larsen *et al.*, 2001; Unmack *et al.*, 2001). Durch diese Konzentrationsstufen sollte zusätzlich (bei Vorhandensein einer protektiven Auswirkung des Probiotikums) die Reaktionsfähigkeit des Darmes gegenüber der sekretionsstimulierenden Wirkung untersucht werden.

Die antisekretorische Wirkung von Probiotika (hauptsächlich *Saccharomyces boulardii*) in Bezug auf eine Toxin-induzierte Sekretion wurde bereits mehrfach untersucht und auch nachgewiesen (Czerucka *et al.*, 1989; Czerucka *et al.*, 1994; Vidon *et al.*, 1986). Dabei wurde vor allem von Czerucka *et al.* auch der genaue Mechanismus einer verringerten Wasser- und Elektrolytsekretion dargestellt. So führt eine Steigerung der Konzentration der intrazellulären Botenstoffe cAMP und Ca^{2+} zu einer erhöhten Chlorid-Sekretion. Dieser Mechanismus wird durch das Probiotikum *Saccharomyces boulardii* gehemmt (Brandao *et al.*, 1998; Czerucka und Rampal, 2002; Czerucka *et al.*, 1994).

Die vorliegenden Ergebnisse erscheinen anfänglich inhomogen. So ist bei der Gabe von PGE_2 in einer Konzentration von 50 nM eine deutliche Tendenz aller Altersstufen der Probiotika-behandelten Tiere zu niedrigeren Werten sichtbar. Die Werte sind jedoch statistisch nicht signifikant. Diese Tendenz wiederholt sich nicht bei der Zugabe steigender Konzentrationen von PGE_2 .

Es ist eine Zunahme der absoluten Werte in allen Altersgruppen mit steigender PGE_2 -Konzentration unabhängig von der Fütterung feststellbar.

Eine genauere Betrachtung der Mittelwerte bei allen Konzentrationsstufen lässt erkennen, dass die Werte mit dem Altersverlauf (nicht bei den 35 Tage alten Tieren) absinken. Die Werte der 28 Tage alten Tiere liegen deutlich niedriger als die der 14 Tage-Gruppe. Bei dem Alter von 35 Tagen steigen die Werte auf höhere Werte an, um dann in der letzten Altersgruppe (56 Tage) wieder stark abzusinken.

Mit vier Wochen wurden die Tiere abgesetzt und sind in der folgenden Zeit (35 Tage) besonders empfindlich gegenüber Durchfallerregern. Auch wenn ein absoluter Anstieg der Mittelwerte zu diesem Zeitpunkt vorliegt, so zeigen die Probiotika-Tiere in dieser Altersgruppe außer bei einer PGE_2 -Konzentration von 5 μM stets niedrigere Werte als die vergleichbare Kontrollgruppe.

Eine altersabhängige Reduktion einer Toxin-induzierten Hypersekretion wird von verschiedenen Autoren bei Schweinen, Ratten und Menschen beschrieben (Cohen *et al.*, 1988; Cohen *et al.*, 1986; Grondahl *et al.*, 1996). Zu dieser als gesichert geltenden Aussage gibt es mehrere Erklärungsansätze: zum einen existiert bei jungen Individuen eine höhere Anzahl von Toxin-Rezeptoren (Cohen *et al.*, 1988; Cohen *et al.*, 1986), zum anderen könnte eine Abnahme von Mediatoren dieser Toxin-induzierten Hypersekretion der Grund dieser verringerten Sekretion sein (Grondahl *et al.*, 1996).

Mezoff *et al.* beschreiben in ihren Untersuchungen an Schweinen auch eine gesteigerte Hypersekretion direkt nach der Geburt und nach dem Absetzen. Sie fanden eine erhöhte Toxin-Bindungskapazität der jungen Tiere gegenüber Adulten, wobei die abgesetzten Tiere eine besonders deutlich Zunahme aufwiesen. Auch zeigten die neugeborenen bzw. abgesetzten Tiere eine erhöhte Aktivität von zellulären Mediatoren der Hypersekretion (Bindungsaffinität an Toxine, Guanylatzyklase-Aktivität und Menge an Toxin-Rezeptoren) (Mezoff *et al.*, 1991).

Dies würde die in unseren Ergebnissen ebenfalls auftretende auffällige Sensibilität der 35 Tage alten Tiere gegenüber PGE₂ erklären. Wie bereits weiter oben dargelegt, zeigen alle mit Probiotika vorbehandelten Tiere dieser Altersgruppe außer bei einer Konzentration von 5 µM PGE₂ eine weniger ausgeprägte Sekretion als die Kontrolltiere.

Die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass eine Behandlung mit Probiotika die Tiere in der kritischen Phase des Absetzens vor Durchfallerkrankungen schützen kann, indem die Dauer und Stärke der Diarrhöe vermindert wird.

Die Bedeutung einer Zunahme der Chloridsekretion wird ambivalent diskutiert. Im Hinblick auf die Pathogenese der sekretorischen Diarrhöe sind die negativen Auswirkungen evident. Eine moderate Zunahme der Chloridsekretion kann allerdings positive Effekte auslösen. Barrett erforschte diesen Zusammenhang an T84-Zellen und kam zu dem Ergebnis, dass eine Verflüssigung des Darminhaltes die Durchmischung und damit die Absorption von Nährstoffen erleichtern und sogar beschleunigen kann. Des Weiteren werden schädliche Einflüsse wie zum Beispiel Noxen und Erreger verdünnt schneller abtransportiert (Barrett, 1997).

Berücksichtigt man diese These, so muss jedoch bedacht werden, dass bei juvenilen Lebewesen eine besonders starke Anfälligkeit und auch eine Gefährdung in Bezug

auf Dehydratation besteht. Weiterhin sollte man sich klar machen, dass dieser Mechanismus nur in engen Grenzen als positiv betrachtet werden kann, bevor nämlich ein pathologischer Verlust von Körperwasser und/oder Elektrolyten eintritt. Diese Gefahr ist bei jungen Tieren durch zum Beispiel noch nicht vollständig ausgebildete immunologische Mechanismen enorm größer als bei erwachsenen. So gibt es bei adulten Tieren antisekretorische Faktoren (ASFs), welche eine Toxin-induzierte Sekretion hemmen können (McEwan *et al.*, 1990). Diese sind bei jungen Schweinen noch nicht oder in sehr geringen Mengen vorhanden. Damit besteht keine Regulation dieses durchaus positiven Sekretionsmechanismus und daher sollte dieser bei juvenilen Tieren immer als pathologisches Geschehen betrachtet werden. Auch unter diesem Aspekt erscheint die Gabe von Probiotika zur Prävention und Behandlung von Durchfallerkrankungen in der kritischen Phase des Absetzens als sinnvoll.

5.5 Glucose

Mit der Zugabe von Glucose wurden mögliche Unterschiede in der Absorptionskapazität zwischen den beiden Fütterungsgruppen untersucht. Glucose ist ein wichtiger Energielieferant. Dieses Molekül tritt nach seiner Absorption sofort in die Glykolyse ein. Viele andere Polysaccharide werden im Darm zu Glucose hydrolysiert und erst in dieser Form aufgenommen.

Die Wahl der verschiedenen Konzentrationen (in diesem Versuchsansatz 0,5, 4, 8 und 12 mmol/l Glucose) geschah in Anlehnung an die Literatur (Breves *et al.*, 2000; Holtug und Skadhauge, 1991). Auch sollte hiermit untersucht werden, ob eine vorhandene höhere Absorption von Glucose bei den mit Probiotika vorbehandelten Tieren ebenfalls ein höheres Sättigungsniveau erreicht als bei den Kontrolltieren.

Bereits in vorherigen Ussing-Kammer-Versuchen zeigte sich, dass eine Behandlung mit Probiotika bei den Geweben die Absorption von Glucose stimuliert (Breves *et al.*, 2000). Wie bereits vorher erwähnt, könnten sich in früheren Fütterungsversuchen festgestellte höhere Tageszunahmen bei mit Probiotika behandelten Tieren mit einer gesteigerten Absorption von Nährstoffen, so auch Glucose, erklären lassen.

Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass die Ausbildung von Glucose-Transportern bereits in der pränatalen Phase geschieht, jedoch in den ersten Lebenswochen erst ihre normale und damit höchste Kapazität erreicht haben und bei adulten Lebewesen wieder etwas absinkt (Darcy-Vrillon *et al.*, 1994; Said *et al.*, 1987; Toloza und Diamond, 1992).

Dieser altersabhängige Effekt spiegelt sich auch in den vorliegenden Ergebnissen in allen Konzentrationen unabhängig von der Fütterung wieder. Es lässt sich bei der zweiten Altersgruppe (28 Tage) im Vergleich zur ersten (14 Tage) ein Anstieg der Werte erkennen. Diese Werte finden sich auch in der dritten Gruppe (35 Tage) wieder und mit der letzten Altersgruppe (56 Tage) fallen die Werte dann etwas ab.

Mit Steigerung der Konzentration zeigen sich auch höhere absolute Mittelwerte des ΔI_{SC} in allen Altersgruppen. Bei den beiden höchsten Konzentrationsstufen von Glucose (8 und 12 mmol/l) lässt sich allerdings kein deutlicher dosisabhängiger Unterschied zwischen den Werten weder der Probiotikagruppen noch der Kontrollgruppen erkennen. Es ist also davon auszugehen, dass sich die Sättigung unter der Behandlung mit Probiotika nicht weiter nach oben verschiebt.

In den vorliegenden Ergebnissen zeigt sich, dass bei allen vier Konzentrationen die mit Probiotika behandelten Tiere in der Altersgruppe der 14 Tage alten Tiere deutlich höhere Absorptionsraten zeigen als die vergleichbaren Kontrolltiere. Außer bei der Konzentration von 4 mmol/l erwiesen sich diese höheren Werte im ΔI_{SC} der 14 Tage-Gruppe als statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen deutlich, dass eine Behandlung mit *Enterococcus faecium* die Absorption von Glucose im Vergleich zur Kontrollgruppe steigert. Durch die Tatsache, dass unter einer Probiotikafütterung bereits in den ersten Lebenswochen eine erhöhte Glucoseabsorption besteht, werden die in dieser Phase bereits ausgebildeten Glucosetransporter (SGLT1) früher als bei den Kontrolltieren zu einer maximalen Transportleistung angeregt. Buts *et al.* fanden bei ihren Untersuchungen, dass die tägliche Gabe von *Saccharomyces boulardii* die Enzymaktivität in der Dünndarmmukosa von Ratten steigert (Buts *et al.*, 1994). Später konnte nachgewiesen werden, dass unter dem Einfluss von *Saccharomyces boulardii* die Expression des Glucosetransporters SGLT1 im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich angestiegen ist (Buts *et al.*, 1999).

So kann die in den ersten Lebenswochen für Wachstum und Stoffwechsel unbedingt notwendige Energie in Form von Glucose vermehrt absorbiert und dem Körper zur Verfügung gestellt werden.

Des Weiteren lässt sich deutlich erkennen, dass die Probiotikagruppen in jeder Altersstufe und Konzentration höhere Absorptionsraten an Glucose besitzen als die Kontrollgruppen (Ausnahmen: 0,5 mmol/l, 28 Tage; 4 mmol/l, 28 Tage; 12 mmol/l, 56 Tage). Diese Werte sind statistisch allerdings nicht signifikant.

Betrachtet man das Zeitfenster des Absetzens (Altersgruppe 2 und 3, 28 und 35 Tage), erkennt man eine klare Homogenität dieser beiden Altersgruppen. Die Werte verändern sich in allen Konzentrationsstufen nicht stark.

Wie bereits erwähnt, wird durch das Absetzen und die damit verbundene Futterumstellung der Darm mit erheblichen Veränderungen konfrontiert. Die in den ersten Lebenswochen aufgenommene Milch enthält hauptsächlich Fett als Energiequelle. Zwar wird die in der Milch enthaltene Laktose im Darm zu Glucose hydrolysiert und in dieser Form absorbiert und die für die Glucoseaufnahme notwendigen Transporter sind bereits ausgebildet, aber diese werden erst mit der Umstellung auf eine kohlenhydratreiche Nahrung nach dem Absetzen in ihrer Leistung voll funktionsfähig und ausgeschöpft (Pacha, 2000).

Gerade in der Phase des Absetzens kommt es bei Schweinen zu einem Rückgang der Tageszunahmen bzw. zu einer Stagnation im Wachstum, weil die notwendige Energie, die mit dem Absetzen von der Milch nun ausschließlich aus einer kohlenhydratreichen Futtermischung gewonnen werden muss, dem Körper nicht mehr ausreichend zur Verfügung gestellt werden kann, da die notwendigen Transportsysteme im Darm sozusagen erst „umgestellt“ müssen.

Diese mit der Futterumstellung verbundene Problematik kann mit dem Einsatz von Probiotika moduliert werden, wie die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren.

Dies führt in der weiteren Entwicklung der Tiere zu Vorteilen: die Umstellung während des Absetzens von Milch (fettreich) auf kohlenhydratreichere Nahrung erfolgt schneller und schonender, da sich die Transportsysteme dafür bereits auf einem höheren Leistungsniveau befinden. Dies könnte einem Leistungsabfall in dieser Lebensphase entgegenwirken, da es zu keinem Energieverlust kommt und der Darm nicht in seiner Leistung gehemmt wird.

Ob die höhere Absorptionsleistung von Glucose in den Probiotikagruppen durch ein vermehrtes Auftreten von Transportern und/oder einer höheren turn-over-Rate von vorhandenen Transportern zustande kommt, bedarf weiterer Klärung. Jedoch kann zum jetzigen Zeitpunkt im Rahmen unserer Forschergruppe festgestellt werden, dass der mit Probiotika behandelte Darm keine größere Oberfläche (und damit Resorptionsfläche) besitzt als ein Darm ohne Vorbehandlung mit Probiotika.

Ganz allgemein erkennt man an den Ergebnissen deutlich eine verbesserte Futtermittelverwertung der mit Probiotika behandelten Tiere.

Ein weiterer positiver Effekt einer vermehrten Glucoseabsorption unter einer Behandlung mit Probiotika ist, dass sich dadurch die im Darmlumen vorhandene Menge an Glucose verringert und so auch nicht mehr als Substrat für pathogene Keime zur Verfügung steht, diese also in ihrer Vermehrung gehemmt werden. Dies könnte neben der bereits erwähnten verminderten PGE₂-induzierten Sekretionsneigung unter dem Einfluss von Probiotika (siehe Abschnitt PGE₂) eine Ursache für die verminderte Durchfallrate bei probiotisch gefütterten Tieren sein (Shu *et al.*, 2001).

5.6 Mannitfluxe und Widerstand

Mit Untersuchungen von Mannitfluxen sollten mögliche Unterschiede in der parazellulären Permeabilität zwischen den Probiotika- und den Kontrollgruppen aufgedeckt werden. Frühere Untersuchungen haben ergeben, dass bei mit *Saccharomyces boulardii* vorbehandelten Schweinen die unidirektionalen Mannitfluxe als ein Marker für parazelluläre Permeabilität deutlich niedriger sind als in den Kontrollgruppen (Winckler *et al.*, 1998).

Die parazelluläre Permeabilität bestimmt maßgeblich die Aufrechterhaltung eines definierten Ionengradienten am Epithel. Über den transzellulären Transport erfolgt durch spezifische Transportproteine und Ionenkanäle die Generierung eines gerichteten elektroosmotischen Gradienten und eine für jedes Epithel charakteristische Transportrichtung. Der Erhalt dieses Gradienten wird bestimmt durch die limitierte Rückdiffusion auf dem parazellulären Weg. Der Nettotransport über das Epithel ist also die Summe des engen Zusammenspiels zwischen

transzellulärem Transport und parazellulärer Diffusion. So bestimmt die Dichtigkeit des parazellulären Weges maßgeblich die Transporteigenschaften eines Epithels (Baltes, 2002).

Diese wichtige Barriere kann durch Noxen wie bakterielle Toxine geschädigt werden, so dass durch ein Nachlassen der Dichtigkeit der elektroosmotische Gradient gestört wird.

Eine Verstärkung dieser Dichtigkeit bzw. eine weniger starke Anfälligkeit dieser Barriere sind also durchaus wünschenswert.

Der Widerstand korreliert umgekehrt zur parazellulären Permeabilität. Eine Annahme ist, dass bei erhöhter Permeabilität (sichtbar an den Werten der Mannitfluxe) der gemessene Widerstand entsprechend niedriger ist und umgekehrt.

Aus diesem Grund werden diese Parameter hier zusammen betrachtet.

In diesem Versuchsansatz lassen die Ergebnisse keine deutliche Tendenz erkennen und sind als inhomogen zu bezeichnen.

Ausnahme sind die Tiere in der Altersgruppe 28 Tage. Hier zeigen sich bei Betrachtung der Mittelwerte statistisch signifikant niedrigere Werte der Probiotikagruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Gemäß der Arbeitshypothese sind die vergleichbaren Widerstandswerte dieser Altersgruppe bei den mit Probiotika behandelten Tieren höher als die der Kontrollgruppe, allerdings sind die Werte statistisch nicht abzusichern.

Wie bereits im Abschnitt „LITERATUR“ erörtert, ergaben Untersuchungen mit *Saccharomyces boulardii* an Schweinen eine Verminderung der parazellulären Permeabilität im Jejunum (Winckler *et al.*, 1998). In der selben Arbeit ergab der Einsatz von *Bacillus cereus* var. *toyoi* keinen Einfluss auf diese Barriere. Auch zum Schutz vor einer bakteriellen Translokation im Dickdarm von Ratten konnte eine Mischung aus vier probiotischen Bakterienstämmen in Ussing-Kammer-Versuchen eine Verringerung der parazellulären Permeabilität zeigen (Seehofer *et al.*, 2004), jedoch erscheinen die Ergebnisse verschiedener Arbeiten in diesem Bereich als nicht einheitlich.

So ergaben die Untersuchungen von Kennedy *et al.* mit *Lactobacillus plantarum* an Ratten mit Colitis keine Verringerung der parazellulären Permeabilität (Kennedy *et al.*, 2000). Gotteland *et al.* konnten bei Menschen mit NSAID-bedingter Erhöhung der

intestinalen parazellulären Permeabilität nach der Verabreichung von drei Laktobazillus-Stämmen keine Verbesserung feststellen (Gotteland *et al.*, 2001).

Im Gegensatz zum aktiven, transzellulären Transport ist die passive parazelluläre Diffusion nur wenig kontrolliert und der Übergang von Substanzen daher lediglich durch drei Werte bestimmt: Größe der Barriere, Größe des Moleküls und Ladung des Moleküls (Fanning *et al.*, 1999). Die Hauptbarriere für die parazelluläre Passage von wasserlöslichen Substanzen stellen somit die interzellulären Verbindungsstellen, die sogenannten ‚tight junctions‘, dar. Wie bereits Winckler *et al.* anmerken, sollten weitere Untersuchungen mit Probiotika bezüglich einer Modulierung der intestinalen parazellulären Permeabilität auf tight junctions fokussiert sein (Winckler *et al.*, 1998). Wie bereits beschrieben, kann aus den vorliegenden Ergebnissen einzig eine Verringerung der parazellulären Permeabilität bei probiotisch behandelten Tieren in der Altersgruppe der 28 Tage alten Tiere erkannt werden. Die Problematik des Absetzens während dieser Phase (28 Tage) wurde früher schon beschrieben. Eine Erniedrigung der parazellulären Permeabilität bedeutet eine erhöhte Dichtigkeit des Epithels. Schädliche Substanzen, wie zum Beispiel bakterielle Toxine, würden weniger aus dem Darmlumen in den Körper übertreten, auch wäre ein Flüssigkeitsverlust durch Ausschwemmen von Wasser aus dem Körper ins Darmlumen gehemmt. Demnach bestünde auch hier durch Probiotika ein Schutz der Tiere vor Diarrhöe und den damit verbundenen pathologischen Folgen wie Dehydratation und/oder Elektrolytverlust.

Es gilt als gesichert, dass, wie fast alle Darmfunktionen, auch die Permeabilität der tight junctions einer altersabhängigen Entwicklung unterliegt (Pacha, 2000). Die Permeabilität der intestinalen Barriere bei juvenilen Individuen ist höher als bei erwachsenen. Da die kritische Phase des Absetzens, in welcher der Darm mit einer Vielzahl von Änderungen konfrontiert wird, in den ersten Lebenswochen abläuft, ist anzunehmen, dass auch diese wichtige Funktion des Darmes noch nicht voll und ganz ausgereift ist.

In diesem Versuchsansatz zeigt sich demnach, dass Probiotika auch bei der Modulierung der parazellulären Permeabilität durchaus eine erhöhte Dichtigkeit hervorrufen und so den Darm und das Tier in der Entwicklung positiv beeinflussen können.

5.7 Schlussfolgerung

Beim Studium der Literatur über den Einsatz von mikrobiellen Zusatzstoffen fällt auf, dass die häufig berichteten „positiven“ Ergebnisse in der Regel statistisch nicht abzusichern sind. Dies und die Betrachtung der Arbeitsmethoden lässt erkennen, dass das Wirkprinzip von Probiotika als multifaktoriell anzusehen ist und die genaue Wirkungsweise durch Untersuchung eines Teilaspektes wie in diesem Fall der verdauungsphysiologischen Parameter nicht in jedem Fall zu objektivieren ist.

Dies spiegelt sich auch in den in dieser Arbeit dargelegten Ergebnisse wieder.

Die beschriebenen Resultate lassen die Schlussfolgerung zu, dass eine probiotische Behandlung von Schweinen sich durchaus positiv auf die Verringerung der Durchfallinzidenz und die Aufnahme von Nährstoffen auswirken kann.

Besonders in der kritischen Phase des Absetzens kann die Gabe von Probiotika *in vitro* die Anfälligkeit der Tiere gegenüber Durchfall und/oder gesundheitsbedingter Leistungsdepression verringern und die zotechnischen Leistungen sogar verbessern.

Inwieweit dabei die Dosierung, Dauer und Darreichungsform des Probiotikums eine Rolle spielen, bedarf weiterer Untersuchungen.

Wie schon Bothe et al. klar darlegten, ersparen optimale Haltungsverhältnisse oft den Einsatz von Leistungsförderern (Bothe *et al.*, 1989). Der eventuelle positive Einfluss von Probiotika als Zusatzstoff sollte daher nicht dazu dienen, eventuelle Unzulänglichkeiten in der Tierhaltung zu kompensieren oder zu kaschieren. Da die angesprochenen Verbesserungen von zotechnischen Leistungsparametern nicht eindeutig sind, das heißt bei jedem Tier zwangsläufig eintreten, scheinen sich Probiotika besser zur Prophylaxe und flankierenden Behandlung von Durchfallerkrankungen zu eignen als zum Einsatz gezielter Leistungsförderer.