

V. Zusammenfassung

Barbeline Justina Altherr: Untersuchungen zum Einfluss von *Bacillus cereus* var. *toyoi* auf die zelluläre Immunität des Schweines

In der Nutztierfütterung wurden Probiotika erfolgreich eingesetzt, um die Tiergesundheit und die Leistungsparameter positiv zu beeinflussen. Untersuchungen *in vivo* und *in vitro* haben gezeigt, dass mit der Nahrung aufgenommene probiotische Mikroorganismen die lokale und systemische Immunantwort modulieren können. Die zugrunde liegenden Wirkmechanismen werden bislang unterschiedlich diskutiert.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die Wirkung eines probiotischen Bakteriums auf das Immunsystem unter standardisierten Bedingungen zu charakterisieren.

Zu diesem Zweck wurden Parameter der zellulären Immunität von Ferkeln nach der Verabreichung von *Bacillus cereus* var. *toyoi* im Vergleich zu einer unbehandelten Ferkelgruppe untersucht. Zu Beginn des Versuchs wurden 10 tragende Sauen und ihre Würfe zufällig einer Versuchs- oder Kontrollgruppe zugeteilt. Sauen der Versuchsgruppe erhielten von *Bacillus cereus* var. *toyoi* (in Zellzahlen) 3×10^8 /kg ursprüngliche Substanz (uS) mit dem Futter vom 91. Tag *ante partum* bis zum 28. Tag *post partum* und ihre Ferkel $1,2 \times 10^9$ /kg uS ab der Zufütterung am 14. Lebenstag. Tiere der Kontrollgruppe erhielten dieselbe Basismischung ohne Probiotika-Supplementierung. Aus jedem Wurf wurden zufällig 4 Ferkel ausgewählt, die am 14., 28., 35. und 56. Lebenstag euthanasiert wurden. Allen Ferkeln wurden Blutproben aus der *Vena jugularis* und Darmproben aus dem proximalen Jejunum (Ansatzstelle der *Plica duodenocolica* entnommen. In konsekutiven Kryostatschnitten der Darmproben wurde die absolute Zahl der CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$ -T-Lymphozyten, CD25⁺, CD21⁺ und CD11R1⁺ Zellen nach Detektion mit fluorochrom-konjugierten Antikörpern ermittelt. Aus dem Blut wurden periphere Blutmononukleäre Zellen (PBMCs) gewonnen und darin der relative Anteil von CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$ -T-Lymphozyten, CD14⁺, CD21⁺ Zellen und deren Subpopulationen durch Markierung mit fluorochrom-konjugierten Antikörpern durchflusszytometrisch bestimmt. Nach der Stimulierung mit Phorbol 12-myristat 13-acetat wurde der Anteil IFN- γ produzierender Zellen an PBMCs durchflusszytometrisch analysiert. Die Auswertung aller Messergebnisse erfolgte mit einer explorativen Datenanalyse und dem nichtparametrischen U-Test nach Mann und Whitney.

Nach Lokalisation und Altersentwicklung entsprachen die erhobenen Befunde aus der intestinalen Mukosa den Erkenntnissen aus der Literatur. In diesem Sinne entwickelten sich die Fütterungsgruppen mit wenigen Ausnahmen weitgehend gleichsinnig. Signifikante

Unterschiede zwischen der mit *Bacillus cereus* var. *toyoi* behandelten Ferkelgruppe und der unbehandelten Kontrollgruppe waren in der Anzahl intraepithelialer CD8⁺ Lymphozyten nachzuweisen, sowie in der Anzahl CD25⁺ Zellen und $\gamma\delta$ -T-Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae*. Nach der Gabe von *Bacillus cereus* var. *toyoi* waren am 35. Lebenstag signifikant mehr CD8⁺ Lymphozyten, CD25⁺ Lymphozyten und $\gamma\delta$ -T-Zellen in der probiotisch behandelten Gruppe zu finden.

Die erhobenen Befunde aus dem Blut der Versuchstiere wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen probiotisch behandelter und unbehandelter Tiergruppe auf. Tendenzielle Unterschiede bei der Häufigkeit von B-Lymphozyten konnten jedoch aufgezeigt werden. Der Anteil CD21⁺ Lymphozyten an PBMCs war in der probiotisch behandelten Gruppe höher als in der Kontrollgruppe. Der Anteil IFN- γ produzierender Zellen an PBMCs war in beiden Fütterungsgruppen annähernd gleich groß. Die Häufigkeit nahm in der probiotisch behandelten Gruppe mit dem Alter tendenziell zu, während sie in der unbehandelten Kontrollgruppe tendenziell abnahm.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen für die Beeinflussung der mukosalen zellulären Immunität durch *Bacillus cereus* var. *toyoi*. Die differenzierte Betrachtung weist insbesondere auf eine Wirkung des probiotischen Bakteriums auf das Mukosaepithel hin.