

3. Ergebnisse

3.1 Leistungsparameter

3.1.1 Lebendmasse, Wurfgröße sowie Ferkelverluste der Sauen

Die Leistungsdaten von je zehn Sauen pro Gruppe sind in Tab. 2 zusammengefasst. Alle Sauen des Versuchs hatten bei Versuchsbeginn vergleichbare Körpergewichte (190.7 ± 8.8 kg vs. 198.5 ± 6.9 kg, $P=0,48$) und waren mit Ausnahme einer Sau der Probiotikagruppe (3. Wurf) maximal zum 2. Mal belegt. Von anfangs 26 Sauen wurden 4 bzw. 2 Sauen aus der Probiotika- und Kontrollgruppe nachträglich vom Versuch ausgeschlossen, da sie zu geringe Wurfgrößen aufwiesen oder eine zwingend notwendige Behandlung der Sau mit Antibiotika (z.B. bei Mastitis) vorgenommen wurde.

Bei der Zahl der lebend- bzw. totgeborenen Ferkel konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden. Ferkelverluste während der ersten drei Lebenstage schienen tendenziell niedriger in der Probiotikagruppe ($P = 0.09$). Ferkelverluste während der gesamten Saugferkelperiode (3. – 28. Tag) unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 3: Körpermasse, Wurfgröße und Ferkelverluste während der Laktation

	Kontrolle				Probiotikum				P-Wert
	N	Median	Minimum	Maximum	N	Median	Minimum	Maximum	
Gewichtsverlust(kg)	5	22	16	39	10	21,4	10,5	34,5	0,496
ADFI (kg)*	10	4,73	4,22	5,26	10	4,61	4,15	5,23	0,699
Wurfgröße									
lebend geboren	10	11	9	15	10	10,5	9	14	0,61
tot geboren	10	1	0	2	10	0	0	2	0,834
Säugende Ferkel									
3. Tag	10	10	7	16	10	10	9	13	0,703
7. Tag	10	10	8	13	10	10	9	12	0,85
14. Tag	10	10	8	13	10	9,5	7	12	0,454
28. Tag	10	9	7	12	10	9	6	11	0,933
Ferkelverluste									
0.-3.d	10	1	0	4	10	0	0	1	0,084
0.-7.d	10	1	0	5	10	1	0	2	0,324
0.-14.d	10	1,5	0	5	10	1,5	0	4	0,675
0.-28.d	10	3	0	7	10	2	0	4	0,431

*ADFI: durchschnittliche tägliche Futteraufnahme

3.1.2 Leistungsdaten der Ferkel

Von ursprünglich 232 Saugferkeln und 177 abgesetzten Ferkeln konnten letztlich 153 Ferkel (77 bzw. 76 aus Kontroll- und Probiotikagruppe) zur Analyse der Leistungsdaten herangezogen werden. Die geringere Zahl erklärt sich aus natürlichen Ferkelverlusten sowie den jeweils 5 zur Tötung am 14., 28., 35. und 56. Lebenstag entnommenen Tieren.

Die Werte für durchschnittliche Tageszunahmen (ADG), durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme (ADFI) sowie das Lebendmasse-Zuwachs : Futtermittelaufnahme-Verhältnis (G:F) unterlagen im Untersuchungszeitraum (28.-56. Tag) erheblichen Schwankungen. Innerhalb der ersten Woche nach dem Absetzen schwankten die Werte für ADG und G:F um das 4-9fache innerhalb der 25% / 75% - Quartile.

Über den gesamten Untersuchungszeitraum konnten zwischen den Gruppen keine nennenswerten Unterschiede hinsichtlich Körpermasse (am 56. Tag) beobachtet werden (20.4 ± 0.5 vs. 20.0 ± 0.4 kg, $P = 0.71$). Am 43. und 49. Tag waren die Körpermassen in der Kontrollgruppe im Schnitt höher als in der Probiotikagruppe (42. Tag: 12.1 ± 0.3 vs. 11.4 ± 0.2 kg, $P = 0.043$; 49. Tag: 15.9 ± 0.4 vs. 15.1 ± 0.3 kg, $P = 0.065$). Diese besseren Zunahme waren aber begleitet von höheren Futtermittelaufnahmen in dieser Gruppe. Allenfalls bei der G:F konnten tendenziell höhere Werte in der Probiotikagruppe beobachtet werden ($P = 0.11$).

3.1.3 Kotkonsistenz / Durchfall

Die Kotkonsistenz von 63 Kontrolltieren und 62 Probiotikatiern aus jeweils acht Würfen wurde über vier Wochen nach dem Absetzen beurteilt. Flüssiger Kot trat zu 65% (Kontrolle) bzw. 81% (Probiotikum) innerhalb der ersten Woche nach dem Absetzen auf. In beiden Gruppen wurde flüssiger Kot am häufigsten zwischen dem 4. bis 6. Tag nach dem Absetzen beobachtet, wobei in der Kontrollgruppe 46% der Beobachtungen in diesen Zeitraum fielen, in der Probiotikagruppe hingegen 67%.

In der Probiotikagruppe trat veränderte Kotkonsistenz nur in 4% der Fälle nach dem 42. Lebenstag, also ab dem 8. Tag nach dem Absetzen auf, in der Kontrollgruppe waren es dagegen 23%.

Flüssiger Kot (Score 4) trat in allen Würfen auf, während Diarrhöe (definiert als flüssiger Kot an mindestens zwei aufeinander folgenden Tagen) in 88% der Würfe der Kontrollgruppe auftrat; in der Probiotikagruppe waren hingegen nur 63% der Würfe betroffen.

Im gesamten Zeitraum nach dem Absetzen traten in der Probiotikagruppe signifikant weniger flüssiger Kot als in der Kontrollgruppe auf (40% vs. 64%, $P \leq 0.02$). Diarrhöe wurde ebenfalls signifikant weniger in der Probiotikagruppe als in der Kontrollgruppe beobachtet (21% vs. 38%, $P \leq 0.05$). Bei der Betrachtung der Summe an Ta-

gen mit flüssigem Kot oder Durchfall konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

3.2 Bakterielle Stoffwechselprodukte in Darminhalt

3.2.1 Ammoniak- Konzentrationen in Digesta

Bei den Ammoniak-Konzentrationen in den Darmabschnitten waren mit einer Ausnahme tendenzielle Unterschiede ($P \leq 0,1$) zwischen den Gruppen zu beobachten. So waren in der Kontrollgruppe am 28. und 56. Tag im Magen und Colon, am 35. Tag in Jejunum 1 und 2 sowie am 56. Tag im Jejunum 2 Ammoniak tendenziell höher als in der Probiotikagruppe. Dagegen waren in der Probiotikagruppe am 14. Tag in beiden Jejunum- Abschnitten die Ammoniak- Werte tendenziell höher als in der Kontrollgruppe, am 35. Tag im Jejunum 1 dagegen signifikant ($P \leq 0,05$) niedriger als in der Kontrollgruppe (Abb.1 und 2). Die Ammoniak- Konzentrationen in Digesta sind in Tab. 15 im Anhang 6.4 zusammengefasst.

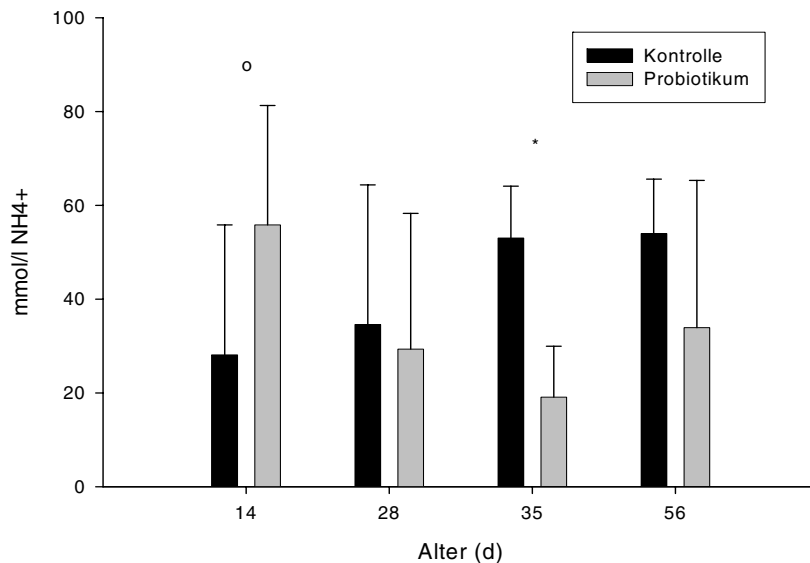


Abb. 1: Ammoniak- Konzentrationen im Jejunum 1 (Mittelwerte mit Standardabweichung). o = $P \leq 0,1$, * = $P \leq 0,05$

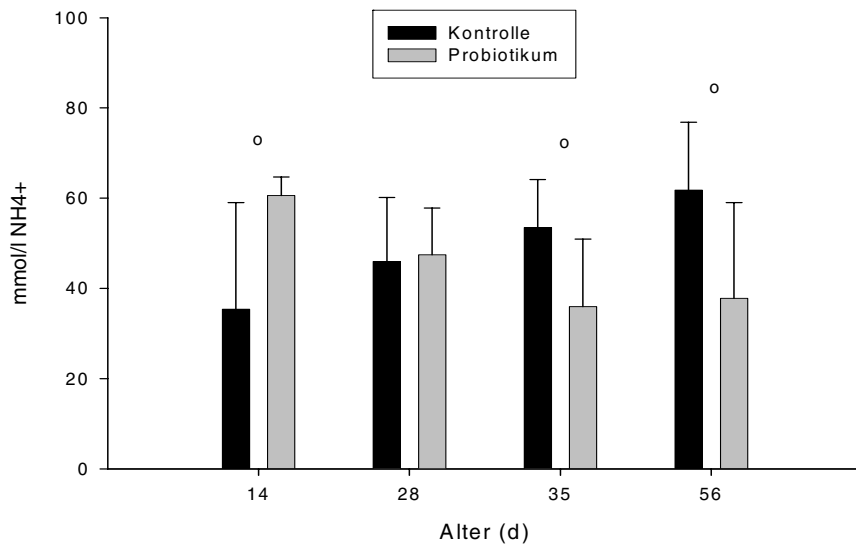


Abb. 2: Ammoniak- Konzentrationen im Jejunum 2 (Mittelwerte mit Standardabweichung). o = $P \leq 0,1$

3.2.2 Konzentrationen von Gesamt- Laktat in Digesta

Bei den Gesamt- Laktat- Konzentrationen konnte in keinem Abschnitt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Nur am 56. Tag war in der Probiotikagruppe die Konzentration im Jejunum 2 tendenziell höher als in der Kontrollgruppe ($P \leq 0,1$).

Gesamt- Laktat- Konzentrationen in Magen, Jejunum 2 und Colon sind aus Tab. 16 in Anhang 6.5 abzulesen. Im Jejunum 1 sowie Ileum waren keine ausreichende Anzahl Proben für eine aussagekräftige Statistik vorhanden (fehlender Darminhalt).

3.2.3 Flüchtige Fettsäuren (FFS) in Digesta

Auch bei den Konzentrationen der flüchtigen Fettsäuren im Verdauungstrakt (Jejunum 2 und Colon) waren nur vereinzelt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. So waren im Jejunum am 56. Tag i-Valerat signifikant höher in der Probiotikagruppe als in der Kontrollgruppe, im Colon waren dagegen am 28. Tag i-Valerat und i-Butyrat signifikant niedrigere Werte als in der Kontrollgruppe gemessen worden. Die Konzentrationen der FFS in Digesta sind in den Tabellen 17 und 18 im Anhang 6.6 zusammengefasst.

3.2.4 pH-Werte in Mageninhalt von Ferkeln

Die Fütterung der *E. faecium*- supplementierten Diät führte zu keiner signifikanten Veränderung des pH-Wertes im Magen. Bei den Tieren der Probiotikagruppe war tendenziell eine Verringerung des pH-Wertes am 14. Lebenstag gegenüber der Kontrolle zu beobachten (Tab. 4, $P \leq 0,1$).

Tab. 4: pH- Werte im Mageninhalt

Alter	Gruppe	N	MW	SD	P-Wert
14 Tage	Kontrolle	5	3,73	0,72	0,095
	Probiotikum	4	2,73	0,85	
28 Tage	Kontrolle	5	3,75	2,25	0,518
	Probiotikum	4	4,54	0,48	
35 Tage	Kontrolle	5	4,36	0,45	0,172
	Probiotikum	5	3,81	0,69	
56 Tage	Kontrolle	5	3,84	1,31	0,651
	Probiotikum	5	4,13	0,42	

3.3 Nachweis bakterieller Gruppen in Digesta durch selektive Kultivierung

Bei den Zellzahlen von Enterokokken (SB-Agar), Coliformen (Endo-Agar), Milchsäurebakterien (MRS) und Gesamt- Anaerobiern (Columbia-Blut-Agar) waren über den gesamten Versuchszeitraum bis auf wenige Ausnahmen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (Man-Whitney-U-Test). Am 35. Tag waren die Zellzahlen auf MRS-Agar im Ileum und am 56. Tag im Colon in der Probiotikagruppe signifikant höher ($P \leq 0,05$) als in der Kontrollgruppe. Ebenso war die Zellzahl der Gesamt- Anaerobier (Columbia-Blut-Agar) am 56. Tag im Colon signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Im Ileum waren am 35. Tag zudem Zellzahlen von Coliformen und Gesamt- Anaerobier tendenziell höher in der Probiotikagruppe ($P \leq 0,1$), ebenso die Zahl der Enterokokken im Magen am 28. Tag.

Die Zellzahlen in Digesta sind in Tab. 19 im Anhang 6.7 aufgeführt.

3.4 Spezifische Zellzahlen des Probiotikums in Kot und Digesta

3.4.1 Kultivierung von Enterokokken

Die aerobe Kultivierung von Enterokokken auf SB- Agar brachte einige methodische Probleme mit sich. Die Selektivität des Mediums war ausreichend für den Nachweis in Futterproben, jedoch sowohl bei Kot als auch bei Digesta- Verdünnungen nur bedingt vorhanden. Häufig traten Kolonien auf, die nicht der typischen roten Farbe von *Enterococcus* spp. entsprachen. Stichprobenartige Untersuchung einiger solcher Kolonien und Identifikation durch ein Vitek®- Analysegerät (BioMerieux, Nürtingen - mit freundlicher Unterstützung des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke) ordneten die meisten dieser Kolonien den *Lactobacillus* spp. zu.

Das zur Identifikation der Enterokokken herangezogene Merkmal der Farbstoffumsetzung (Reduktion von Tetrazoliumchlorid) war zudem bei den verschiedenen Kolonietypen unterschiedlich stark ausgeprägt. Es traten Variationen von hellrosa bis dunkelrot auf.

Die Koloniemorphologie war außerdem äußerst heterogen. Enterokokken, die sich häufig auch als das zugesetzte Probiotikum herausstellten, wuchsen in der Regel als 2 bis 3 mm große, feuchte, rotviolette Kolonien mit hellrosa Rand. Dagegen traten noch eine Vielzahl von stecknadelkopfgroßen, feuchten, dunkelroten sowie häufig stecknadelspitzgroßen, trockenen roten Kolonien auf. Insbesondere Letztere waren häufig als feiner Rasen (400- 1000 Kolonien) auf Platten zu finden, auf denen sich eine gut zählbare Anzahl größerer, für das Probiotikum typischer Kolonien befand.

Diese Probleme führten dazu, dass zu Beginn der Untersuchungen mangels Erfahrung Verdünnungen zu hoch ausplattiert wurden und Membranfilter von zu hohen

Verdünnungsstufen abgenommen wurden. Die Folge war eine Reduktion des auswertbaren Probenmaterials mit entsprechend fehlenden Werten, was die statistischen Möglichkeiten erheblich einschränkte.

3.4.2 Spezifische Zellzahlen des Probiotikums im Futter

Sauenfutter sollte entsprechend der Versuchsplanung 4×10^5 Zellen pro Gramm Futter enthalten, Ferkelfutter 8×10^5 Zellen. Im Mittel (MW \pm SD) enthielt nach eigenen Messungen Futter für tragende Sauen $1,6 \times 10^6$ ($\pm 1,2 \times 10^6$), Futter für laktierende Sauen $1,2 \times 10^6$ ($\pm 6,8 \times 10^5$), Saugferkelfutter $1,7 \times 10^5$ ($\pm 1,4 \times 10^5$) und Futter für abgesetzte Ferkel $2,0 \times 10^5$ ($\pm 1,3 \times 10^5$).

1 Granulat- Partikel von Cylactin® LBC ME10 wog im Durchschnitt 0,3 mg, d.h. in 4 g Futterprobe waren rechnerisch bei homogener Verteilung 0,8 mg oder 2,7 Partikel des Granulates vorhanden.

1g Cylactin sollte gemäß Hersteller 10^{10} Zellen enthalten, diese Keimzahl konnte weitestgehend in unserem Labor bestätigt werden. 1 Partikel des Granulates enthielt demnach im Mittel 3×10^6 Zellen.

3.4.3 Koloniehybridisierung und spezifische Zellzahlen aus Kot

Die spezifischen Zellzahlen von *E. faecium* NCIMB 10415 und Gesamt- Enterokokken sind logarithmisch dargestellt als Mittelwerte mit Standardabweichung der Kolonie- bildende Einheiten (KbE) pro Gramm Feuchtmasse.

Die Angaben über das Verhältnis des zugesetzten Bakteriums zur Zahl der Gesamt-Enterokokken beziehen sich bei den Versuchsgruppen ausschließlich auf die aerob kultivierbaren Enterokokken. Eine anaerobe Kultivierung der Proben wurde in dieser Versuchsreihe nicht vorgenommen.

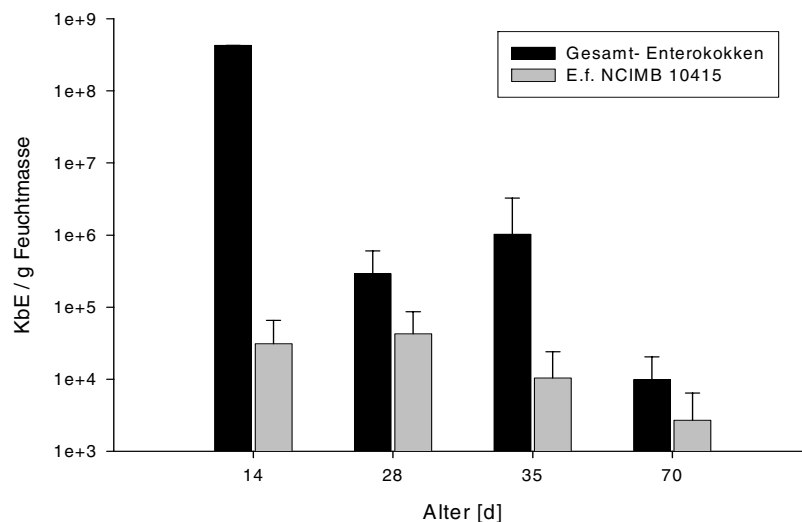


Abb. 3: Spezifische Zellzahl (Mittelwerte mit Standardabweichung) von *E. faecium* NCIMB 10415 und aerob kultivierbare Gesamt-Enterokokken in Ferkelkot – Probiotikagruppe (Y-Achse logarithmisch dargestellt). Anteil positiver Nachweise in den Proben 14d: 6/7; 28d: 5/8; 35d: 2/5; 70d: 5/6

Bereits bei Ferkeln, die ausschließlich von der Mutter ernährt werden (14.Tag), waren zuverlässig spezifische Zellzahlen in Höhe von $3,1 \times 10^4$ ($\pm 3,5 \times 10^4$) Zellen pro Gramm Feuchtmasse im Kot messbar. Die spezifische Zellzahl im Sauenkot betrug zu diesem Zeitpunkt $1,8 \times 10^5$ ($\pm 2,4 \times 10^5$) Zellen pro Gramm Feuchtmasse.

3.4.4 Koloniehybridisierung und spezifische Zellzahlen aus Digesta

In der Darstellung der spezifischen Zellzahlen (Abb. 4) wurde auf die Darstellung der Standardabweichung verzichtet, da bei den Darminhalten die oben beschriebene methodische Problematik besonders ausgeprägt vorlag und der Verlauf des Graphen somit teilweise auf Einzelwerten beruht. Die Anteile positiver Proben, welche ausschließlich für die Berechnung der Mittelwerte herangezogen wurden, sind in Tab. 4 dargestellt. Der Grund für die geringe Probenanzahl im proximalen Jejunum (Jejunum 1) war häufig fehlender Inhalt.

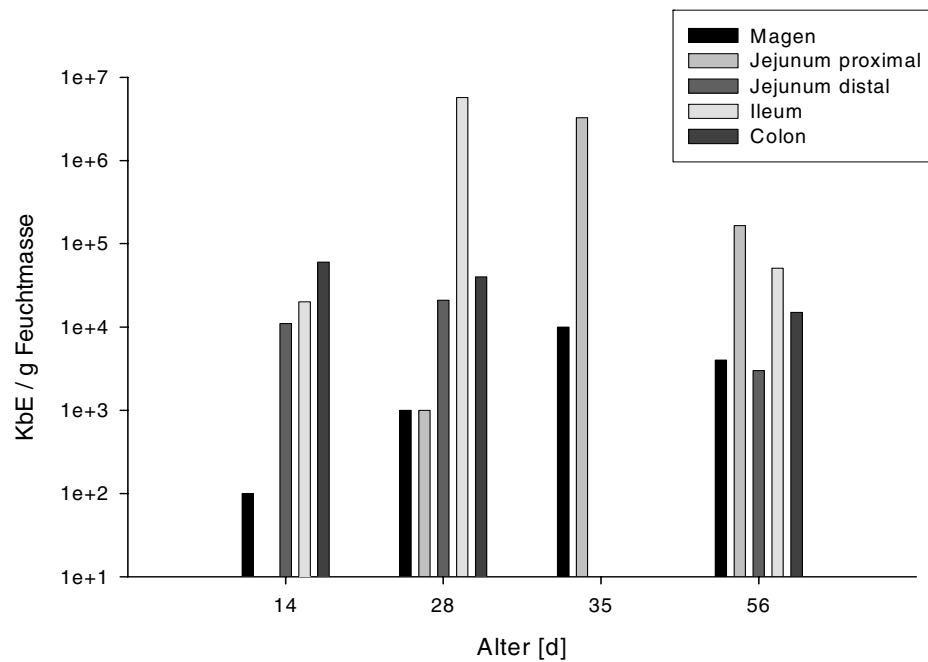


Abb. 4: Spezifische Zellzahlen (gemittelt) von *E. faecium* NCIMB 10415 in Digesta (Probiotikagruppe). Y-Achse logarithmisch dargestellt.

Tab. 5: Anteil der positiven Proben zu untersuchten Proben in Digesta- Probiotikagruppe

	14. Tag	28. Tag	35. Tag	56. Tag
Magen	1(4)	1(4)	2(5)	1(5)
Jejunum 1	0(4)	1(2)	1(5)	1(3)
Jejunum 2	1(4)	1(4)	0(5)	3(5)
Ileum	2(4)	3(4)	0(5)	2(4)
Colon	3(4)	2(4)	0(5)	2(5)

3.5 Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion für *E. coli*- Pathogenitätsfaktoren

3.5.1 Zellzahlen der Coliformen in Sauen- und Ferkelkot

Da die Kolonien für die PCR- Untersuchungen von unterschiedlichen Verdünnungsstufen abgenommen wurden (je nach Höhe der Zellzahl), sind zunächst die Koloniebildenden Einheiten (KbE) von Coliformen in Kot dargestellt. Die KbE pro Gramm Feuchtmasse sind dargestellt als Median sowie Minimum und Maximum als Streuungsmaß je Probenzeitpunkt [Man-Whitney-U-Test (Tab. 6)].

Tab. 6: Zellzahlen der Coliformen in Ferkel- und Sauenkot (KbE/g FM).

Alter	Gruppe	N	Median	Minimum	Maximum	P-Wert
10d a.p.	Kontrolle	4	2,55E+07	2,70E+06	6,50E+07	0,106
	Probiotikum	10	1,95E+06	2,80E+04	5,40E+07	
14d p.p.	Kontrolle	5	1,00E+07	4,00E+06	3,60E+07	0,556
	Probiotikum	4	1,80E+07	7,10E+06	1,27E+08	
7 Tage	Kontrolle	5	1,06E+09	5,30E+08	3,20E+09	0,151
	Probiotikum	5	2,98E+09	8,30E+08	8,40E+09	
14 Tage	Kontrolle	5	3,40E+08	2,20E+08	4,80E+09	1,000
	Probiotikum	5	4,80E+08	3,50E+07	9,00E+09	
21 Tage	Kontrolle	5	1,40E+09	1,30E+08	2,43E+10	1,000
	Probiotikum	5	3,20E+09	6,10E+08	9,00E+09	
28 Tage	Kontrolle	5	1,30E+08	9,00E+06	1,60E+09	0,690
	Probiotikum	5	1,60E+08	9,40E+07	2,72E+10	
35 Tage	Kontrolle	5	1,20E+08	2,70E+06	2,27E+09	0,897
	Probiotikum	5	2,00E+08	2,70E+06	1,51E+09	
70 Tage	Kontrolle	5	1,40E+07	1,30E+06	3,03E+09	0,135
	Probiotikum	5	1,00E+06	1,60E+05	5,60E+07	

Die Zellzahlen im Ferkelkot variierten zwischen $1,6 \times 10^6$ und 9×10^9 KbE pro Gramm Feuchtmasse. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch nicht feststellbar.

3.5.2 Nachweis ausgewählter Pathogenitätsgene aus fäkalen *E. coli*- Isolaten

Insgesamt wurden 770 Isolate (aus Sauen und Ferkelkot) in den beiden Versuchsgruppen untersucht, wovon jeweils 10 Isolate einer Kotprobe entstammten. 390 Isolate stammten aus der Kontrollgruppe und 380 aus der Probiotikagruppe.

53 unterschiedliche Genkombinationen traten bei der vorliegenden Untersuchung auf, wobei alle 9 einzeln, 21 verschiedene Zweierkombinationen, 11 verschiedene Dreierkombinationen, 9 verschiedene Viererkombinationen und 3 verschiedene Fünferkombinationen auftraten.

Vier Einzelgene sowie vier Genkombinationen aus zwei Genen traten häufiger als 15 x im Probenmaterial auf (s. Tab 7).

Tab. 7: Häufig auftretende Genkombinationen (bei 770 untersuchten Isolaten)

Genkombination	Häufigkeit
est2	139
est1b	60
fas	22
fimf41a	49
est1b / stx2e	18
est2 / est1b	123
fedA / stx2e	38
fimf41a / stx2e	30

Die am Häufigsten aufgetretene Kombination war *est2/est1b* mit 123 Nachweisen (12,2 % aller Isolate). Am häufigsten einzeln nachgewiesen wurde das *est2*-Gen (139mal, entspricht 13,7 % aller Isolate).

In Kombination mit weiteren Genen wurde *est2* insgesamt 331mal detektiert. Somit trugen 32,8 % aller Isolate aus Ferkel- und Sauenkot Sequenzen für dieses Gen, wobei im Ferkelkot der Kontrollgruppe am 14. Lebenstag 47,5 % der Isolate und in der Probiotikagruppe 15% der Isolate *est2*- positiv waren. Am 28. Tag betrug das Verhältnis 42 % (Kontrollgruppe) zu 37,5 % (Probiotikagruppe), am 35. Tag hingegen 46 % (Kontrollgruppe) zu 72,5 % (Probiotikagruppe).

Tab. 8: Prozentuale Verteilung ausgewählter Gene (einzeln und kombiniert) am 14. Tag

Gen	Anteil (%)	Anteil (%)
	Kontrollgruppe	Probiotikagruppe
est2	47,5	15
est1b	37,5	15
stx2e	22,5	5
fedA	5	0
fimf41a	2,5	17
fas	0	5

Die fünf untersuchten Adhäsionsgene traten im Untersuchungsgut wesentlich seltener auf als die vier Toxingene. In den 641 PCR-positiven Isolaten beider Gruppen (63,4 % aller Isolate) wurden 761 mal Toxingene, aber nur 260 mal Fimbriengene nachgewiesen; also rund dreimal mehr Toxin- als Fimbriengene.

Bei 36,6 % aller untersuchten Isolate konnte keines der untersuchten Gene nachgewiesen werden, wobei abhängig von der Zugehörigkeit zu einer Versuchsgruppe sowie abhängig vom Probenzeitpunkt Unterschiede in der Häufigkeit auftraten. Allgemein waren vor dem Absetzen der Ferkel vom Muttertier mehr Isolate negativ als danach (durchschnittlich 47 % bzw. 52 % in der Kontroll- bzw. Probiotikagruppe).

In der Säugeperiode der Ferkel (7. und 14. Tag) waren am 7. Tag in der Probiotikagruppe 55 % der Isolate negativ, wogegen in der Kontrollgruppe nur 46 % der Isolate keines der untersuchten Gene aufwies. Im Alter von 14d betrug das Verhältnis 52,5 % negative Isolate in der Probiotikagruppe zu 27,5 % in der Kontrollgruppe. Dabei waren bei allen Saugferkeln der Probiotikagruppe negative Isolate zu finden, bei einem Tier der Kontrollgruppe waren hingegen alle 10 ausgewählten Isolate für ein oder mehr Gene positiv. Bei allen Ferkeln der Kontrollgruppe fanden sich PCR-positive Isolate unter den zehn jeweils Ausgewählten, dagegen waren fielen in der Probiotikagruppe am 7. und 14. Tag je ein Ferkel ohne ein positives Isolat auf.

Auch im Kot der Muttersauen waren 14d p.p. 40 % in der Probiotikagruppe zu 36% in der Kontrollgruppe PCR- negativ.

Am 28. Tag sowie nach dem Absetzen (35. Tag) waren in beiden Gruppen generell weniger Isolate PCR- negativ, wobei auch hier in der Probiotikagruppe 20 % Negative gegen 8 % Negative in der Kontrollgruppe auftraten (35.Tag). In der Kontrollgruppe waren nach dem Absetzen (35. u. 70 Tag) 23 % PCR- negativ, in der Probiotikagruppe dagegen 28,6 % (Tab. 9).

Tab. 9: Anteil PCR- negativer *E. coli*- Isolate an Gesamt- *E. coli*- Isolaten (%)

Probenzeitpunkt	Kontrollgruppe	Probiotikagruppe
Sau 10d a.p.	58	50
Sau 14d p.p.	36	40
Ferkel 7d	46	55
Ferkel 14d	27,5	52,5
Ferkel 21d	64	47,5
Ferkel 28d	24	10
Ferkel 35d	8	20
Ferkel 70d	38	40

Die Genkombinationen *fimf41a* (alleine) und *fimf41a / stx2e* traten zum überwiegenden Teil vor dem Absetzen auf (93,8 % bzw. 81,5 % der gesamten Nachweise bei Ferkeln) wogegen die 73,7 % der Kombination *fedA / stx2e* bei Ferkeln nach dem Absetzen zu finden waren, hier ausschließlich in der Kontrollgruppe.

Die Kombination *est2 / est1b* trat dagegen häufiger in der Probiotikagruppe (25,7 % der Isolate) als in der Kontrollgruppe (16 % der Isolate) auf.

15 von 18 Nachweisen der Kombination *est1b / stx2e* (= 83,3 %) traten im Alter von 70d in der Kontrollgruppe auf, ein Nachweis erfolgte bei einer Sau der Probiotikagruppe 10d ante partum, zweimal wurde die Kombination bei Ferkeln der Probiotikagruppe bei 70d nachgewiesen. Somit trugen nach dem Absetzen 15 % der Isolate der Kontrollgruppe die Genkombination *est1 / stx2e* wohingegen diese Kombination in der Probiotikagruppe nur in 1,4 % der Fälle zu finden war.

Bei den 130 untersuchten Isolaten vom 35. Tag fiel auf, dass abgesehen von der geringen Zahl PCR- negativer Isolate auch die Diversität der Genkombinationen insbesondere im Vergleich zum 28. Tag verringert war. 11 verschiedenen Genkombinationen an 35. Tag (6 einzel- und 5 Zweierkombinationen) standen 26 verschiedenen am 28. Tag gegenüber.

Tabelle 20 in Anhang 6.8 stellt zusammengefasst die Prozentzahl der *E. coli*-Isolate, die mindestens eines der neun untersuchten Gene trugen, entsprechend der Zugehörigkeit zu einer Versuchsgruppe sowie zum Probenzeitpunkt dar. Zusätzlich angegeben ist die Anzahl der Tiere, die diese Isolate beherbergten oder auch keines dieser Isolate trugen.

3.6 Denaturierende Gradienten-Gel- Elektrophorese (DGGE)

3.6.1 Ähnlichkeiten der bakteriellen Zusammensetzung in Ferkelkot

3.6.1.1 Sörensen- Ähnlichkeitswerte

Die statistische Untersuchung der aus den Bandenmustern errechneten Sörensen-Ähnlichkeitswerte (Mann-Whitney-U-Test bei 2 unabhängigen Stichproben) ergab am 14. und 56. Tag eine signifikant höhere Ähnlichkeit ($p \leq 0,02$) der Probiotikatiere untereinander verglichen mit der Ähnlichkeit innerhalb der Kontrollgruppe und zwischen den Versuchsgruppen (s. Tab. 10, Abb. 5 und 6).

Tab. 10: Sörensen- Ähnlichkeitswerte der DGGE- Bandenmuster aus Ferkelkot (P= Probiotikagruppe, K= Kontrollgruppe)

Alter	Gruppe	N	Median	Minimum	Maximum	P-Wert		
14 Tage	P untereinander	21	0,53	0,29	0,77	0,0005	0,0153	
	P gegen K	42	0,4	0,18	0,63			0,9855
	K untereinander	15	0,43	0,25	0,96			
28 Tage	P untereinander	15	0,53	0,2	0,74	0,0786	0,2452	
	P gegen K	36	0,35	0,11	0,67			0,8360
	K untereinander	15	0,4	0,12	0,71			
35 Tage	P untereinander	15	0,35	0,13	0,67	0,0859	0,7400	
	P gegen K	36	0,28	0,09	0,48			0,2550
	K untereinander	15	0,31	0,1	0,85			
56 Tage	P untereinander	28	0,475	0,33	0,69	0,0001	0,6645	
	P gegen K	48	0,38	0,22	0,53			0,0002
	K untereinander	15	0,51	0,34	0,62			

Am 14. Tag waren sich die Bandenmuster innerhalb der Probiotikagruppe signifikant ähnlicher als die der Kontrollgruppe (Abb.5). Zwischen den Gruppen war die Ähnlichkeit zu jedem Probenzeitpunkt am geringsten, wobei die Unterschiede am 14. und 56. Tag signifikant ($P \leq 0,05$), am 28. und 35. Tag nur tendenziell ($P \leq 0,1$) waren.

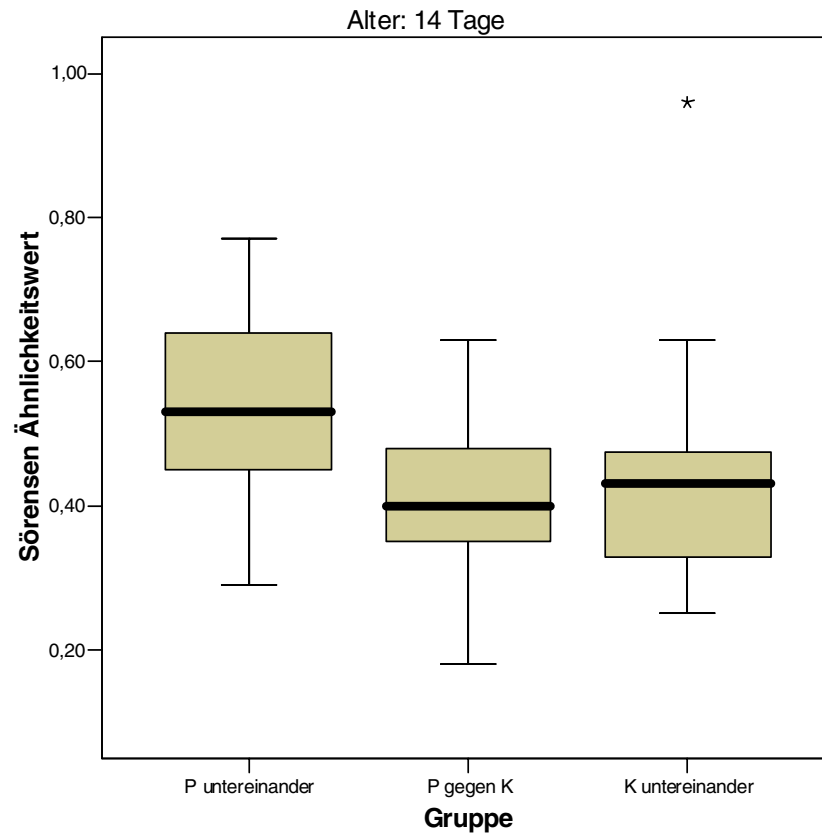


Abb. 5: Sørensen- Ähnlichkeitswerte innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen am 14. Tag (P= Probiotikagruppe, K= Kontrollgruppe) * Extremwert

Am 56. Tag waren die Bandenmuster innerhalb der beiden Gruppen signifikant ($P \leq 0,05$) ähnlicher als die Gruppen zueinander. Die Muster innerhalb der Probiotikagruppe waren sich jedoch nicht ähnlicher als die Muster innerhalb der Kontrollgruppe (Abb. 6).

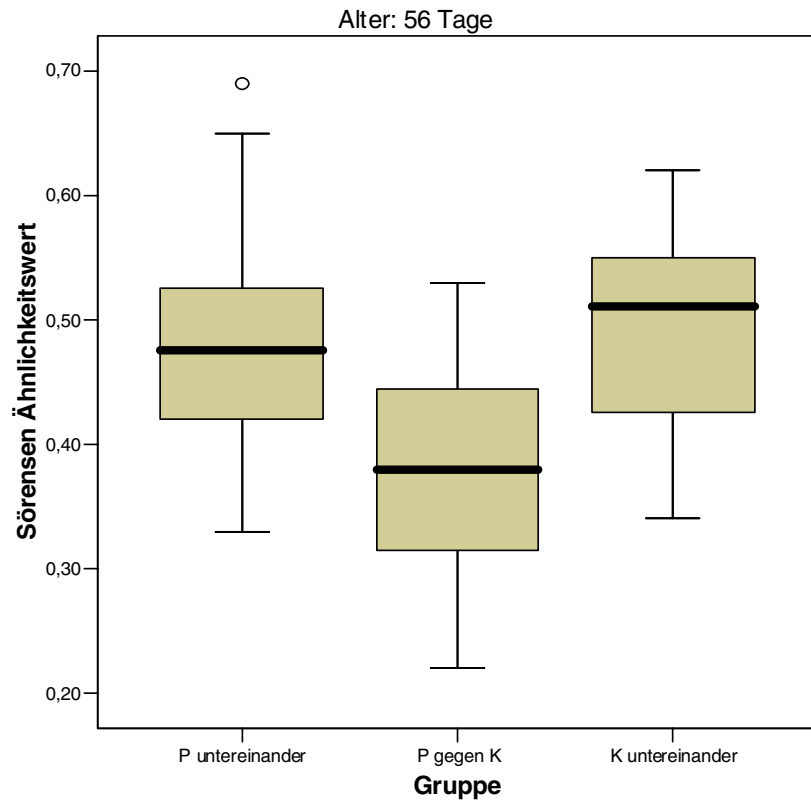


Abb. 6: Sørensen- Ähnlichkeitswerte der Kotproben im Alter von 56 Tagen innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen. (P= Probiotikagruppe, K= Kontrollgruppe)
○ Ausreißerwert

3.6.1.2 UPGMA- Dendrogramme

Distanzbasierte Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Proben wurden mit der Phoretix® Software (s.o.) aus den Sörensen- Ähnlichkeitswerten errechnet und in UPGMA – Dendrogrammen dargestellt.

Im Alter von 14 Tagen zeigt sich eine Gruppierung von 5 der 7 untersuchten Probiotikatiere im UPGMA – Dendrogramm, während sich Kontrolltiere eher verstreut darstellen (Abb. 7).

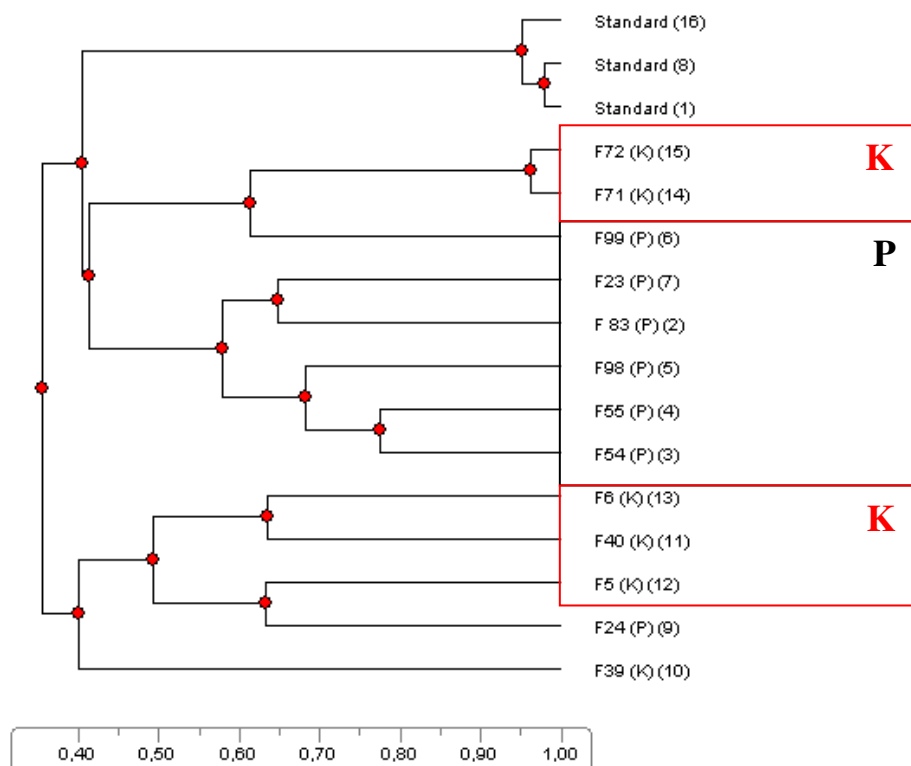


Abb. 7: Cluster-Analyse von DGGE- Bandenmustern aus Ferkelkot vom 14. Tag, dargestellt als UPGMA Dendrogramm. Probiotika- und Kontrolltiere sind durch P und K gekennzeichnet. Der zweite Wert in Klammern gibt die Spur auf dem Gel an.

Auch am 28. und 35. Tag gruppieren sich Probiotika- und Kontrolltiere jeweils in verschiedenen Ästen der erstellten UPGMA- Dendrogramme (s. Abb. 8 und 9).

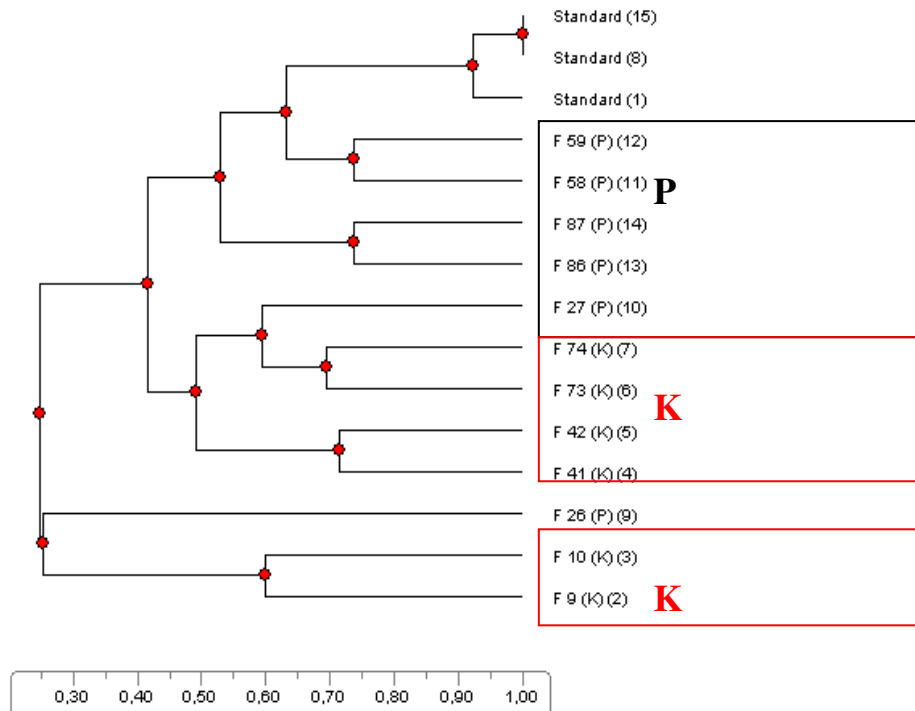


Abb. 8: Cluster-Analyse von DGGE- Bandenmustern aus Ferkelkot vom 28. Tag, dargestellt als UPGMA Dendrogramm. Probiotika- und Kontrolltiere sind durch P und K gekennzeichnet. Der zweite Wert in Klammern gibt die Spur auf dem Gel an.

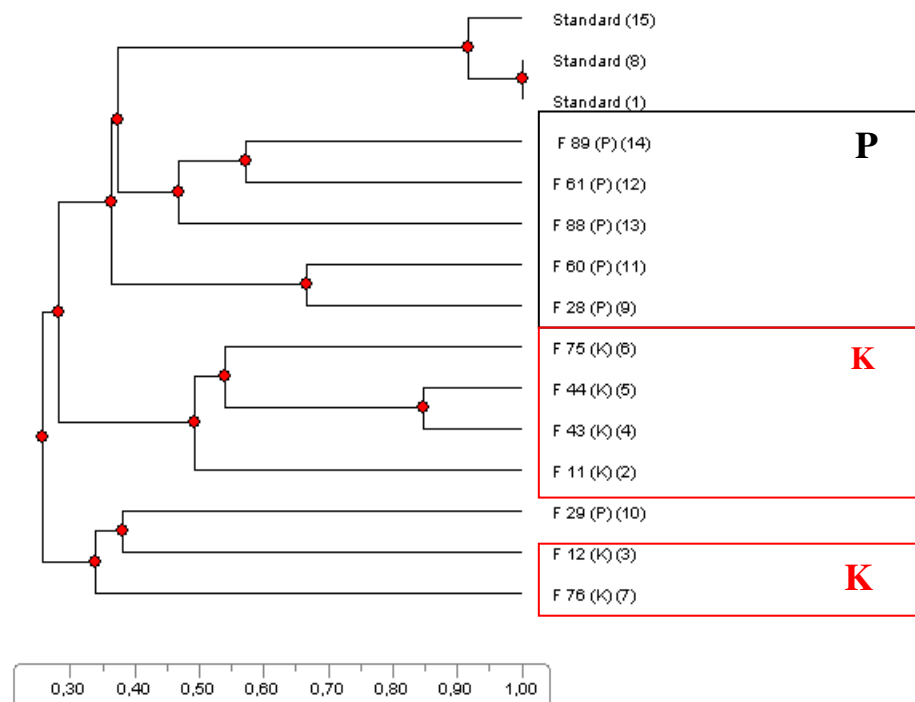


Abb. 9: Cluster-Analyse von DGGE- Bandenmustern aus Ferkelkot vom 35. Tag, dargestellt als UPGMA Dendrogramm. Probiotika- und Kontrolltiere sind durch P und K gekennzeichnet. Der zweite Wert in Klammern gibt die Spur auf dem Gel an.

Am 56. Tag ist wiederum im Dendrogramm eine deutliche Aufteilung der Versuchsgruppen sichtbar (Abb. 10).

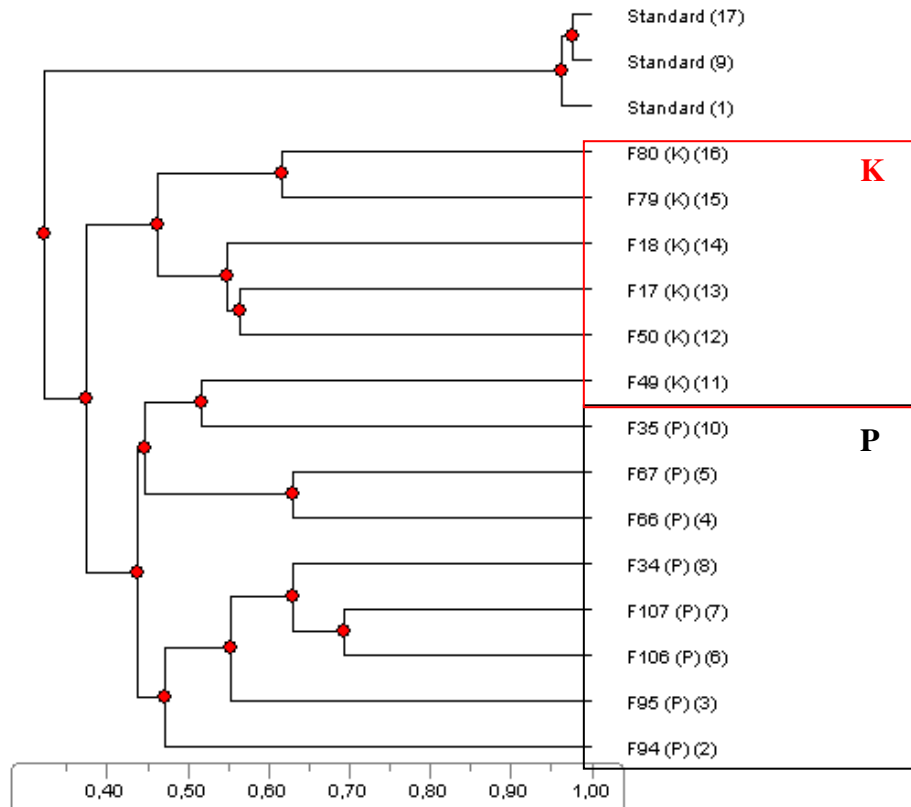


Abb. 10: Cluster-Analyse von DGGE- Bandenmustern aus Ferkelkot vom 56. Tag, dargestellt als UPGMA Dendrogramm. Probiotika- und Kontrolltiere sind durch P und K gekennzeichnet. Der zweite Wert in Klammern gibt die Spur auf dem Gel an.

3.6.2 Bakterielle Diversität im Kot

Bei der Untersuchung der bakteriellen Diversität im Ferkelkot (basierend auf dem Shannon- Index) konnten bis auf den 56. Tag keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

Am 56. Tag war tendenziell ($p < 0,1$) eine höhere bakterielle Diversität in der Kontrollgruppe zu verzeichnen (Tab. 11).

Tab. 11: Shannon- Diversitätsindizes der DGGE- Bandenmuster aus Ferkelkot

Alter	Gruppe	N	Median	Minimum	Maximum	P-Wert
14 Tage	Kontrolle	6	2,52	2,27	2,71	0,796
	Probiotikum	8	2,46	1,54	2,84	
28 Tage	Kontrolle	6	1,59	0,89	2,25	0,109
	Probiotikum	6	1,83	1,72	2,01	
35 Tage	Kontrolle	6	2,05	1,81	2,6	0,423
	Probiotikum	6	2,01	1,49	2,31	
56 Tage	Kontrolle	6	2,31	1,99	2,56	0,059
	Probiotikum	9	1,96	1,37	2,79	