Aus dem
Bundesinstitut für Risikobewertung
und
dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Einfluss von *Enterococcus faecium* als Probiotikum auf *Salmonella* Typhimurium DT104 am Infektionsmodell Schwein

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

vorgelegt von
István Szabó
Tierarzt aus Gyöngyös, Ungarn

Berlin 2008

Journal Nr.: 3268

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Lothar H. Wieler
Zweiter Gutachter :	Univ.-Prof. Dr. Ortwin Simon
Dritter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Lahrmann

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):
probiotics, *Enterococcus faecium*, experimental infection, *Salmonella*, pigs, shedding, colonization, translocation, immune system

Tag der Promotion: 17.03.2009

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: 978-3-86664-577-6
Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008
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 2009
choriner str. 85 - 10119 berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Szüleimnek

és

Kathrinnak

TABELLENVERZEICHNIS……..3

ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... 6

1 EINLEITUNG 8

2 LITERATURÜBERSICHT 10

2.1 Salmonella 10

2.1.1 Salmonellendiagnostik beim Schwein 12
2.1.2 Kulturelle Untersuchungen 13
2.1.3 Serologische Untersuchungen 14
2.1.4 Pathogenese, Klinik und Epidemiologie von *Salmonella* beim Schwein 15
2.1.5 Salmonellose des Menschen.....19
2.1.6 Schwein als Tiermodell – Challenge-Versuche mit Salmonellen 21
2.1.7 Aspekte zur Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit.....24
2.1.7.1 Bestandshygiene.....24
2.1.7.2 Schlachtung und Weiterverarbeitung.....28

2.2 Probiotika.....29

2.2.1 Wirkungsweise der Probiotika 30
2.2.1.1 Wirkung der Probiotika auf den Makroorganismus (Schwein).....34
2.2.1.2 Studien über Probiotika und pathogene Keime.....35
2.2.2 Gesetzliche Regelungen zur Probiotikafütterung in der Tierernährung.....37

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....40

3.1 Allgemeiner Versuchsaufbau 40

3.2 Versuchstiere.....40

3.2.1 Herkunft der Schweine.....40
3.2.2 Transport, Unterbringung und Fütterung der Schweine.....41
3.2.3 Infektionsstamm, Infektion der Tiere.....41
3.2.4 Klinische Untersuchungen.....44
3.2.5 Tötung der Tiere.....45

3.3 Probenmaterial und - entnahme.....45

3.3.1 Kotproben 45
3.3.2 Blutproben.....45
3.3.3 Gewebeproben 46

3.4 Methoden.....46

3.4.1 Bakteriologische Untersuchungen.....46
3.4.1.1 Qualitativer Nachweis der Salmonellen 47
3.4.1.2 Quantitativer Nachweis der Salmonellen 47
3.4.2 Serologische Untersuchungen 49
3.4.3 Statistische Auswertung.....50

4 ERGEBNISSE 51

4.1 Klinische Symptomatik 51

4.1.1 Allgemeinverhalten 51
4.1.2 Wasser- und Futteraufnahme 51
4.1.3 Körpertemperatur 52
4.1.4 Gewicht 54
4.1.5 Kotkonsistenz 55
4.2 Qualitativer und quantitativer Salmonellennachweis in den Kotproben 57

4.3 Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Untersuchung der Organproben 59

4.3.1 Tonsille (Tonsilla veli palatini) 59
4.3.2 Mandibularlymphknoten 61
4.3.3 Milz 61
4.3.4 Leber 62
4.3.5 Niere 63
4.3.6 Colon descendens 65
4.3.7 Jejunallymphknoten (Lnn. jejunales) 66
4.3.8 Muskulatur 68
4.3.8.1 Vorderbein (*M. flexor digitalis superficialis*) 68
4.3.8.2 Hinterbein (*M. semimembranosus*) 70
4.3.8.3 Zwerchfellpfeiler (*Diaphragma; Pars lumbalis*) 71
4.4 Nachweis von *Salmonella*-Antikörpern im Blutserum 72

4.4.1 Anti-*Salmonella*-IgG 74
4.4.2 Anti-*Salmonella*-IgM 75
4.4.3 Anti-*Salmonella*-IgA 76

5 DISKUSSION 78

5.1 Challenge-Infektion und klinische Symptomatik 79

5.2 Ausscheidung der Salmonellen im Kot 82

5.3 Organmanifestation 83

5.4 Immunologische Aspekte 84

6 SCHLUSSFOLGERUNGEN 89

7 ZUSAMMENFASSUNG 90

8 SUMMARY 91

9 LIERATURVERZEICHNIS 92

10 ANHANG 110

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Übersicht über die Methoden zum Nachweis von Salmonellen..... 12

Tabelle 2: Darstellung verschiedener Challenge-Studien mit Salmonellen am Tiermodell Schwein 22

Tabelle 3: Wirkungsweise von verschiedenen Probiotika. Eine Auswahl verschiedener Referenzen aus den Jahren 1964 - 2007 32

Tabelle 4: Zugelassene Probiotika in der Tierernährung in der EU (Dezember 2007) 39

Tabelle 5: Wurfgrösse und Anzahl getöteter Versuchstiere zu den jeweiligen Zeitpunkten der Tötung..... 41

Tabelle 6: Verwendete Infektionsdosis in den einzelnen Fütterungsgruppen 43

Tabelle 7: Klassifizierung der Kotbeschaffenheit 44

Tabelle 8: Gewebeproben zur kulturellen Untersuchungen von *Salmonella* Typhimurium DT104 46

Tabelle 9: Zusammenfassende Darstellung der Salmonellenkonzentration (log KbE/g) in den Tonsillen der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 60

Tabelle 10: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Mandibularlymphknoten der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 61

Tabelle 11: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Milzproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 62

Tabelle 12: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Leberproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 63

Tabelle 13: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises der Nierenproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe..... 63

Tabelle 14: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus dem Gewebe des Colon descendens der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 65

Tabelle 15: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den jejunalen Lymphknoten der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 67

Tabelle 16: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Muskulatur des Vorderbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 69

Tabelle 17: Zusammenfassende Darstellung der Salmonellenkonzentration (KbE/g) in der Muskulatur des Vorderbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 69

Tabelle 18: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Muskulatur des Hinterbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe..... 70

Tabelle 19: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Zwerchfellmuskulatur der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 71

Tabelle 20: Zusammenfassende Ergebnisse der statistischen Auswertung zum Nachweis der Antikörper Isotypen IgG, IgM und IgA zwischen der Kontroll- und Probiotikagruppe 73

Tabelle 21: Zusammenfassende Ergebnisse der statistischen Auswertung zur Anzahl der serologisch positiv getesteten Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe für die Antikörper Isotypen IgG, IgM und IgA 73

Tabelle 22: Zusammensetzung des in der Studie verwendete Grundfutters (g/kg). 110

Tabelle 23: Gemessene Körpertemperaturen der Tiere in °C, bei denen mindestens einmal 40°C oder höhere Körpertemperatur gemessen werden konnte. 111

Tabelle 24: Entwicklung der Kotbeschaffenheit in der Kontrollgruppe. Die Tabelle zeigt die Tiere (13/16), die mindestens einmal breiiger Kot abgesetzt haben. 112

Tabelle 25: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Probiotikagruppe. 113

Tabelle 26: Qualitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen. 114

Tabelle 27: Qualitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen.. 114

Tabelle 28: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen.. 115

Tabelle 29: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen.. 115

Tabelle 30: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 3 Stunden p.i. 116

Tabelle 31: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 3 Stunden p.i. 116

Tabelle 32: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 24 Stunden p.i. 117

Tabelle 33: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 24 Stunden p.i. 117

Tabelle 34: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 72 Stunden p.i. 118

Tabelle 35: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 72 Stunden p.i. 118

Tabelle 36: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 28 Tage p.i. 119

Tabelle 37: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 28 Tage p.i. 119

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Infektion eines Ferkels mit *Salmonella* Typhimurium DT104 via Magenschlundsonde 44

Abbildung 2: Darstellung der Entwicklung der Körpertemperatur in der Kontroll- und Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums (°Ausreißer; *Extremwerte). 52

Abbildung 3: Anteil der Tiere in der Kontroll- und Probiotikagruppe, bei denen Körpertemperaturen von und über 40°C gemessen wurden. 53

Abbildung 4: Entwicklung des Körpergewichtes während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen..... 54

Abbildung 5: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen. 56

Abbildung 6: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen.. 56

Abbildung 7: Verlauf und Vergleich der Ausscheidung von *Salmonella* Typhimurium DT104 im Kot von Tieren der Probiotika- und Kontrollgruppe..... 58

Abbildung 8: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Tonsillen zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe..... 60

Abbildung 9: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Nieren zu den verschiedenen Zeitpunkten der Tötung in der Kontroll- und Probiotikagruppe.. 64

Abbildung 10: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 im Colon descendens zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe..... 66

Abbildung 11: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Jejunallymphknoten zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe…….68

Abbildung 12: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in der Zwerchfellmuskulatur zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe..... 72

Abbildung 13: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgG (Elisa Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe. 74

Abbildung 14: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgM (Elisa Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe. 76

Abbildung 15: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgA (Elisa-Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe 77

1 EINLEITUNG

Erklärtes Ziel des gesundheitlichen Verbraucherschutzes ist es, den Eintrag der von Tieren stammenden Lebensmittelinfektionserreger beginnend bei der Primärproduktion zu senken (KRANKER et al., 2003). Eine der möglichen Alternativen scheint der Einsatz von Probiotika in der Tierernährung zu sein. In der EU hat eine Vielzahl verschiedener Mikroorganismenpräparate eine Zulassung als Futtermittelzusatzstoff erhalten. Die Probiotika werden unter anderem mit dem Ziel eingesetzt, die intestinale Mikroflora derart zu beeinflussen, dass die Gesundheit und somit auch Leistungsfähigkeit des Tieres positiv beeinflusst werden.

Vor dem Hintergrund der zunehmenden Entwicklung von Resistenzen gegenüber Antibiotika und dem daraus resultierenden Ziel der Minimierung des Antibiotika-Einsatzes sowohl in der Human- als auch der Tiermedizin hat v. a. in der Tierproduktion der Einsatz von Probiotika einen hohen Stellenwert eingenommen. Demgegenüber ist der Wissenstand über Wirkungsweise der Probiotika beim Tier äußerst lückenhaft. Die in den Jahren 2001 bis 2007 von der Deutschen Forschunggemeinschaft geförderte Forschergruppe (FOR) 438 befaßte sich daher in einem integrativen Ansatz mit der Analyse der Wirkmechanismen von Probiotika beim Schwein. Erste Ergebnisse aus dieser Forschungsarbeit zeigten, dass Ferkel aus der mit Probiotika behandelten Gruppe offensichtlich weniger mit pathogenen Keimen belastet waren als die Kontrolltiere. Zusätzlich wurde anhand von *in vitro*-Modellen demonstriert, dass das Probiotikum *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 das Eindringen von *Salmonella* Typhimurium in intestinale Epithelzellen deutlich hemmen kann.

Zur Klärung der Frage, ob eine wirksame Infektionsabwehr in analogen Fütterungsversuchen auch *in vivo* beobachtet werden kann, sind gezielte Infektionsversuche mit pathogenen Keimen in einer definierten Dosis und unter vergleichbaren Bedingungen am Zieltier der einzig sinnvolle Versuchsansatz. Ob die beobachteten Effekte *in vitro* tatsächlich eine erhöhte Infektionsabwehr *in vivo* hervorrufen, kann nur unter experimentellen Bedingungen durch den Vergleich der endogenen Besiedlung von Organen und der Ausscheidung des zu untersuchenden pathogenen Erregers im Kot bei mit und ohne Probiotikum gefütterten Tieren untersucht werden.

Bei der Planung der vorliegenden experimentellen Studie richtete sich die Wahl von Infektionsstamm (*Salmonella* Typhimurium DT104) und Tiermodell (Schwein) für die Challengeversuche nach der in Deutschland aktuell bestehenden Salmonellen-Situation.

Die vorliegende Arbeit soll zum besseren Verständnis der Wirkung von Probiotika auf pathogene Mikroorganismen am Modell Schwein beitragen. Im Vordergrund stand dabei die

Frage, ob es Unterschiede bei mit und ohne *Enterococcus faecium* exponierten Ferkeln (Zufütterung des Probiotikums über die Muttersauen ab dem 14. Säugetag) gibt, die nach dem Absetzen mit *Salmonella* Typhimurium DT104 infiziert und nach 3, 24, 72 Stunden sowie 28 Tagen getötet wurden. Zum Vergleich der mit Probiotikum behandelten Ferkel (nachfolgend Probiotikagruppe) und ohne Applikation des Probiotikums (nachfolgend Kontrollgruppe) sollten folgende Parameter vergleichend untersucht werden:

- klinischer Verlauf der Salmonelleninfektion,
- Ausscheidungsdynamik der Salmonellen mit dem Kot,
- mikrobielle Belastung ausgewählter Organe mit Salmonellen,
- humorale Immunantwort am Beispiel von anti-*Salmonella*-IgG, -IgM und -IgA.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Salmonella

Die Gattung *Salmonella (S.)* ist ein Mitglied der Familie *Enterobacteriaceae*, zu der u.a. auch die Gattungen *Escherichia* und *Yersinia* zählen (WOESE et al., 1990; MAIDAK et al., 2001). Salmonellen sind gramnegative, fakultativ anaerobe, fast ausnahmslos bewegliche, gerade Stäbchenbakterien mit einer Größe von 0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm (LE MINOR, 1984; SELBITZ, 1992).

Die erstmalige Darstellung von Salmonellen aus einem Humanisolat gelang vor mehr als 140 Jahren. 1880 wies Eberth einen Erreger mikroskopisch nach, der aus der Milz und den Mesenteriallymphknoten eines an Typhus abdominalis verstorbenen Menschen stammte (LE MINOR, 1994). Gaffky gelang es, 1884 den Erreger das erste Mal zu kultivieren (KAUFFMANN, 1978).

Die taxonomische Einteilung der Salmonellen gab in der Geschichte der Salmonellen immer Anlass für Diskussionen. In der Anfangsphase wurden die Isolate je nach den betreffenden klinischen Symptomen benannt und als unterschiedliche Spezies betrachtet (KAUFFMANN, 1966). So wurde beispielsweise der von Eberth entdeckte Erreger des Typhus als *Eberthella typhosa* (später *S. typhi*) benannt.

1966 teilte Kauffmann das Genus *Salmonella* aufgrund biochemischer Eigenschaften (O- und H-Antigen) in vier Gruppen ein (Kauffmann-White Schema, heute White-Kauffmann-Popoff Schema), wodurch bis heute über 2.500 verschiedene Serovare von Salmonellen klassifiziert wurden.

Aufgrund molekularbiologischer Erkenntnisse vermuteten LE MINOR et al. (1982), dass die Gattung *Salmonella* nur aus einer einzigen Spezies besteht, *S. choleraesuis.* Die Subspezies und Serovare wurden in sechs Gruppen eingeteilt (*S. choleraesuis* ssp. c*holeraesuis, S. choleraesuis,* ssp*. salamae, S. choleraesuis* ssp*. arizonae, S. choleraesuis* ssp*. diarizonae, S. choleraesuis* ssp*. houtenae, S. choleraesuis* ssp. *bongori)*. Wenige Jahre später benannten LE MINOR et al. (1986) eine neue Subspezies (*S. choleraesuis* ssp*. indica*). Die Vorschläge, sowohl die Spezies als auch die Subspezies „*choleraesuis*“ durch „*enterica*“ zu ersetzen (LE MINOR und POPOFF, 1987) und die Subspezies „*bongori*“ als eigene *Salmonella* Spezies zu bezeichnen (REEVES et. al*.,* 1989), bildeten den Gegenstand einer fast zwanzig Jahre andauernden Diskussion. Die Vorschläge wurden im Jahr 2005 schließlich anerkannt.

Auf dem heutigen Stand der Taxonomie wird die Gattung *Salmonella* in zwei Spezies unterteilt, *S. enterica* und *S. bongori*, wobei *S. enterica* in weitere Subspezies (*S. enterica*

ssp. *enterica* , *S. enterica,* ssp. *salamae, S. enterica* ssp. *arizonae, S. enterica* ssp. *diarizonae, S. enterica* ssp. *houtenae, S. enterica* ssp. *indica)* unterteilt wird.

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Infektionsstamm ist die genetisch veränderte (Plasmid-vermittelte GFP-Markierung), multiresistente Variante eines *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Serovar Typhimurium DT104, der im Folgenden mit der Kurzform *Salmonella* (*S.*) Typhimurium DT104 bezeichnet wird.

2.1.1 Salmonellendiagnostik beim Schwein

Für den Nachweis von Salmonellen im Schwein wird eine große Anzahl von direkten und indirekten Nachweisverfahren beschrieben. Eine zusammenfassende Übersicht gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1: Übersicht über die Methoden zum Nachweis von Salmonellen

Direkter Nachweisverfahren	
Matrices: Organe, Kot, Se- und Exkrete, Lebensmittel, Futter, Umwelt	
Gram Färbung	Darstellung von Bakterien in der Lichtmikroskopie
Kultivierung	
Ausstrich Abklatsch	Übertragung von Salmonellen direkt aus der Matrix auf festes Nährmedium
Voranreicherung	Revitalisierung subletal vorgeschädigter Keime
Selektivanreicherung	Unterdrückung der Begleitflora
Feste Nährböden	Übertragung von Bakterien aus der Anreicherung auf feste Nährböden
Typisierung	
Biochemische Typisierung	Zuordnung von *Salmonella* Serovaren mittels biochemischer Eigenschaften
Serologische Typisierung	Endgültige Zuordnung von *Salmonella* Serovaren mittels Antigenanalyse
Phagentypisierung	Bestimmung der Phagentypen von *Salmonella* Serovaren
Molekularbiologische Verfahren	Feintypisierung der Salmonellen anhand verschiedener Gensequenzen unterschiedlichen Ursprungs (Plasmid, Ribosomen, Genom)
Plasmidprofil-Elektrophorese RFLP Pulsfeldgelelektrophorese Ribotyping PCR	
Indirekte Nachweisverfahren	
Matrices: Blutserum, Fleischsaft	
ELISA Serumlangsamagglutination Komplementbindungsreaktion	Nachweis spezifischer Antikörper gegen Salmonellen im Serum oder Fleischsaft

2.1.2 Kulturelle Untersuchungen

Salmonellen sind anspruchslos zu kultivieren. Das Wachstum erfolgt bei einer Temperatur von 5,2 - 46,2°C (Optimum bei 35 – 45°C), einem pH-Wert zwischen 4 und 8 und einer Wasseraktivität von ca. 0,93 (BAUMGART, 1997). Schwierigkeiten entstehen jedoch durch die häufig hohe Anzahl von Begleitflora bei gleichzeitig niedriger Anzahl von Salmonellen. Weitere Probleme können bei der Kultivierung auftreten, wenn durch die Be- und Verarbeitungsprozesse subletal vorgeschädigte Keime (z.B. im Lebensmittel) vorhanden sind. So empfiehlt es sich, bei dem qualitativen Nachweis von Salmonellen eine nicht selektive Voranreicherung (z.B. mit Peptonwasser) durchzuführen (SELBITZ et al., 1995), die der Revitalisierung der subletal vorgeschädigten Keime dienen soll. Eine selektive Anreicherung (z.B. Tetrathionat-Bouillon) dient darauffolgend zur Unterdrückung der Begleitflora (WALTMANN, 2000).

Ein direkter Ausstrich und somit die Möglichkeit eines kulturellen quantitativen Nachweises aus Kot- und Organproben ist nur in der akuten Phase der Infektion sinnvoll. Der Direktausstrich eignet sich für den Nachweis bei klinisch unauffälligen, chronisch oder persistent infizierten Tieren aufgrund der geringen Salmonellenzahl im Darm (im Vergleich zu der absoluten Keimzahl der Darmflora) jedoch nicht (WALTMANN, 2000).

Salmonellen werden zur Unterscheidung von anderen Enterobakterien auf Differenzierungs- und / oder Selektivnährböden gezüchtet. Oft werden die Nährböden Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar (BPLS-Agar), Rambach-Agar oder der Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD-Agar) verwendet (BAUMGART, 1997).

Das XLD-Agarmedium hemmt das Wachstum coliformer Keime aufgrund seines Natriumdeoxycholat Gehaltes. Der Abbau von Xylose, Lactose und Saccharose zu Säure durch die wachsenden Kolonien erzeugt aufgrund der pH-Wert Verschiebung einen Farbumschlag. Salmonellen bauen Xylose vollständig ab und decarboxylieren Lysin. Dadurch steigt der pH-Wert und es kommt zu einer zentralen Schwärzung der Kolonie. Falls das Resistenzspektrum des zu untersuchenden Keimes bekannt ist, kann die Selektivität des XLD-Agarmediums durch die Zugabe von antibiotisch wirkenden Substanzen (Novobiozin, Nalidixisäure) erhöht werden.

Die Untersuchung von Lebensmitteln in Deutschland erfolgt nach der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren (ASUV) nach § 64 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) (ehemaliger § 35 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes (LMBG), die sich eng an die Norm 6579 der Normierungsorganisation ISO („International Organization for Standardization“, engl.) anlehnt.

Der Kern des horizontalen Nachweises von Salmonellen ist ein seit Jahrzehnten praktiziertes Prozedere, das aus nicht selektiver Voranreicherung, selektiver Voranreicherung, Ausstrich

auf feste Nährmedien und anschließende biochemische und serologische Bestätigung der Isolate besteht. Diese finden ebenfalls eine allgemeine Verwendung bei der Isolierung von Salmonellen aus anderen Matrices, sowie Organ- und Kotproben und diversen Umweltproben (WALTMAN, 2000).

Die EN ISO 6579:2002/A1: 2007: Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonella spp., beschreibt in Anhang D als einzige Selektivanreicherung den modifizierten-halbfesten Rappaport-Vassilidis Agar (MSRV) für Tierkot und Proben aus der Primärproduktion. Das MSRV-Medium wird nach einer nicht selektiven Voranreicherung als Selektivanreicherung eingesetzt. Diese Eigenschaft des Mediums basiert auf dem Zusatz von Malachitgrün, gegen das die Salmonellen resistent sind. Des Weiteren wird mittels MSRV-Medium die Vermehrung von Salmonellen bei 42°C, hohem osmotischen Druck und einem niedrigen pH-Wert ermöglicht. Die halbfeste Konsistenz des Mediums nutzt die Eigenschaft der Eigenbeweglichkeit der Salmonellen aus. Dieses Verfahren hat sich nach einer Einarbeitungsphase von verschiedenen Untersuchungseinrichtungen als ein sensitives Verfahren zur Isolierung von Salmonellen aus Geflügelkot etabliert (MALORNY et al., 2007). Mehrere Studien mit Matrices aus Schweinen berichten ebenfalls über die erfolgreiche Anwendung dieser Methode (DORN et. al., 2007; SCHERER et al., 2008).

Für den qualitativen Salmonellennachweis aus Kot- und Organproben in der vorliegenden Arbeit kam diese Methode ebenfalls zum Einsatz (siehe Material und Methoden).

2.1.3 Serologische Untersuchungen

Die Salmonellen haben wie alle Vertreter der Familie *Enterobacteriaceae* Oberflächen- (somatische oder O) und Geißel- (H, Phase I und II) Antigene. Das somatische Antigen ist ein hitzestabiles Lipopolysaccharid und ein Bestandteil des in der Zellwand lokalisierten Lipopolysaccharid-Protein-Komplexes. Bei dem Geißelantigen hingegen handelt es sich um ein in den Geißeln sitzendes hitzelabiles Protein (GRIMONT et al., 2000).

Das zusätzliche Vorkommen von Hüllenantigenen (K-Antigene, heute Vi-Antigene) ist ebenfalls möglich (*S. Typhi, S. Paratyphi* und *S. Dublin*). Die unterschiedliche Zusammensetzung der Antigene ist nach einer Antigenformel aus dem Kauffmann-White-Schema (heute: White-Kauffmann-Popoff Schema), welches derzeit insgesamt 2.579 Serovare umfasst (ANONYMUS, 2007a) definiert.

Das Funktionsprinzip der immunologischen Nachweisverfahren beruht auf der spezifischen Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Das nachzuweisende Antigen (z.B. LPS Salmonellenantigene) wird zunächst an einen festen Träger (z.B. Polystyrolkunststoffplatten) gebunden (immobilisiert), anschließend werden die an das Antigen gebundenen Antikörper

durch einen markierten anti-Antikörper sichtbar gemacht. Als Markierung dienen radioaktive Isotope (Radioimmuntest), fluoreszierende Farbstoffe (Immunfluoreszenztest) oder Enzyme (ELISA) (HAHN et al., 1994).

Bei einem ELISA (enzyme-linked immuno-sorbant assay) handelt es sich um ein immunologisches Nachweisverfahren, bei dem die Bindung des mit einem Enzym markierten Antikörpers (Konjugat) erst nach Zugabe eines Substrates sichtbar wird, da das Enzym das Substrat (farblos) zu einem farbigen Abbauprodukt umbaut. Bei den Enzymen handelt es sich in der Regel um Peroxidase oder alkalische Phosphatase (HAHN et al.). Die darauffolgende Farbentwicklung wird mit einem Photometer gemessen. Die Extinktion steht in direkter Korrelation mit der Konzentration der gegen Salmonellen gerichteten Antikörper in der Probe.

Bei den meisten kommerziell erhältlichen ELISA-Kits handelt es sich um direkte „Sandwich–ELISA“. Diese Testsysteme detektieren ausschließlich oder überwiegend Immunoglobulin G-Antikörper (IgG). Inzwischen gibt es neuartige ELISA-Systeme, die auf demselben Prinzip basieren, jedoch zusätzlich die Antikörperklassen M (IgM) und A (IgA) differenzieren können. Dies ermöglicht eine Beschreibung der Infektionsdynamik am Einzeltier und der Unterscheidung zwischen einer akuter (ab Tag 5 p.i.) und chronischen Infektion (LEHMANN, 2004; EHLERS et al., 2006).

SZABO et al. (2008) beschreiben bei experimentell mit *S.* Typhimurium hohe Sensitivitäten eines auf Vollzelllysat-Antigen basierenden Testsystems, der die Antikörperantwort nach den drei wichtigsten Immunglobulinklassen IgG, IgM und IgA analysiert, wobei die hohe Sensitivität hauptsächlich in der frühen Detektierbarkeit des Isotyps IgM begründet lag.

2.1.4 Pathogenese, Klinik und Epidemiologie von *Salmonella* beim Schwein

Als Reservoir der Salmonellen gelten Säugetiere, Menschen, Insekten, Nager, Vögel, Reptilien sowie kontaminiertes Futter und Tränkwasser (CLARKE und GYLES, 1993; BÖHM, 1993; TSCHÄPE und KÜHN, 1995; MEERBURG et al., 2006). Auch die unbelebte Umwelt spielt eine Rolle als Vektor für die Übertragung der Schweine-Salmonellose, wie Oberflächengewässer und das Erdreich (WINFIELD und GROISMAN, 2003).

Für das Schwein sind grundsätzlich zwei Aspekte der Salmonelleninfektion zu unterscheiden. Zum einen ein fleischhygienischer Aspekt, der durch klinisch gesunde Ausscheider im Laufe des Schlachtprozesses entsteht und zum anderen ein klinischer, durch akut erkrankte Schweine. An Ersterem ist eine große Vielfalt an Serotypen beteiligt. Klinische Erkrankungen beim Schwein werden hingegen durch die zwei schweineadaptierten Serotypen *Salmonella* Choleraesuis und *S.* Typhisuis sowie durch *Salmonella* Typhimurium

hervorgerufen, wobei diese Erkrankungen - im engeren Sinne Salmonellosen - sehr selten sind (WALDMANN und PLONAIT, 2004).

Eine Salmonellen-Infektion entwickelt sich meist in drei Phasen: als erstes findet die Kolonisation des Erregers im Darm statt, darauf folgt die Adhäsion und die Invasion der Enterozyten, und letztendlich die Verbreitung in die Lymphknoten und Organe (BERENDS et al., 1996).

Die Erkrankung äußert sich in perakuten, akuten und chronischen Verlaufsformen. Symptome sind neben Fieber und Zyanose von Rüsselscheibe, Ohren und Bauchdecke, pneumonische oder enteritische Symptome. Eine Septikämie ist ebenfalls möglich (SELBITZ, 2002; WALDMANN und PLONAIT, 2004).

Bei einer Infektionsdosis von 10^9 Keimen/Tier mit *S.* Typhimurium beschreiben KAMPELMACHER et al. (1969) bei 8 Wochen alten Ferkeln eine meist klinisch inapparent verlaufende Infektion. Dieselbe Infektionsdosis mit einem *S.* Typhimurium DT104 Stamm verursachte bei vier Wochen alten Absetzferkeln leichte klinische Verläufe bei 70% der Versuchstieren (SCHERER et al., 2008). Eine Infektionsdosis von 10^8 Keimen/Tier verursacht einen relativ leichten klinischen Verlauf und gute Wiederfindungsraten der Erreger im Kot (BAUM und HARRIS, 1999). Bei mit *S.* Typhimurium infizierten 5 Wochen alten Absetzferkeln bewirkte eine Infektionsdosis von 10^{10} Keimen/Tier wiederholte Durchfallperioden und eine Salmonellenausscheidung über insgesamt 120 Tage (WILCOCK und OLANDER, 1978). MARG et al. (2001) beschreiben bei experimentell induzierter Salmonellose mit dem multiresistenten *S.* Typhimurium DT104 Stamm ebenfalls milde klinische Symptome. Weitere experimentelle Infektionen mit *S.* Typhimurium DT104 erzeugten bei sechs Wochen alten Absetzferkeln bei einer Infektionsdosis von 10^9 Keimen/Tier milde klinische Symptome, bei einer guten Wiederauffindbarkeit der Keime (BRUMME, 2006).

Die Übertragung von Salmonellen erfolgt meistens über den fäkal-oralen Weg (FEDORKA-CRAY et al., 2000). Mehrere Studien mit experimentell infizierten Tieren berichten über hohe Ausscheidungsraten im Kot, insbesondere in der akuten Phase der Infektion. SCHERER et al. (2008) konnten eine Salmonellenkonzentration von 10^6 KbE, GUTZMANN et. al. (1976) von 10^7 KBE pro Gramm Kot in den ersten Tagen der Infektion nachweisen.

Über eine aerogene Salmonelleninfektion bei Geflügel und Mäusen wurde bereits in den sechziger Jahren berichtet (CLEMMER et al., 1960; DARLOW et al., 1961). Obwohl die Möglichkeit eines aerogenen Infektionsweges der Salmonelleninfektion beim Schwein allgemein akzeptiert war (WATHS et al., 1988), wurden die ersten Beweise erst kürzlich geliefert. OLIVEIRA et al. (2006) berichten über experimentelle Infektionen mit Absetzferkeln, bei denen eine aerogene Infektion mit *S.* Typhimurium bestätigt werden konnte. Auch

FEDORKA-CRAY et al. (2000) weisen auf eine nicht unerhebliche Rolle der Tonsillen und der Lunge bei der Invasion und Verbreitung von Salmonellen im Schwein hin.
Im Gegensatz zu der Vielzahl der Salmonella-Pathogenitätsstudien bei Mäusen sind vergleichbare Studien mit Schweinen selten (FEDORKA-CRAY et al., 2000). Grundsätzlich sind alle *Salmonella*-Isolate als pathogen einzustufen, sowohl für den Menschen als auch für Tiere, wobei der Grad der Pathogenität von verschiedenen Faktoren abhängt (SELBITZ et al., 1992). So wird die Pathogenität der Salmonellen u.a. bestimmt durch ein breites Spektrum von virulenzassoziierten Proteinen, die zellbiologische Störungen, Modifikationen und Blockaden verursachen können. Diese äußern sich u.a. in cholera-ähnlichen Durchfällen mit Wasser- und Elektrolytverlust sowie entzündlichen Prozessen. Ferner können Salmonellen auch im retikuloendothelialen System persistieren und in Gewebe oder verschiedene Organe eindringen, was typhusartige Krankheitsbilder verursachen kann.
Da Salmonellen in der Lage sind, in den Phagozyten und Leukozyten zu überleben und sich zu vermehren, ist die Möglichkeit einer Translokation in das darmassoziierte lymphatische Gewebe gegeben (REED et al., 1986; WELLS, 1990). Die Translokation von pathogenen Keimen aus dem Darm in andere Organe ist von der Fähigkeit des Immunsystems abhängig, pathogene Erreger zu kontrollieren (SHU et al., 2000).
BÄUMLER et al. (2000) beschreiben die Fähigkeit von Salmonellen zum Eindringen und Vermehren in das darmassoziierte Lymphgewebe (Gut Associated Lymphoid Tissue=GALT) als eines der wichtigsten Virulenzmerkmale. Das Eindringen von Salmonellen in den Wirt ist deshalb am häufigsten im Ileum lokalisiert und beginnt mit der Adhäsion an das Darmepithel, über die Payerschen Plaques. Die Fähigkeit der Salmonellen zur Invasion ist genetisch in der *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1) in über 30 Genen kodiert (DARWIN und MILLER, 1999). Nach der Penetration lösen Salmonellen entzündliche Reaktionen aus (CLARK und GYLES, 1993) und werden von Makrophagen aufgenommen, wobei die Überlebensfähigkeit in den Makrophagen hauptsächlich durch die *Salmonella*-Pathogenitätsinsel 2 (SPI2) kodiert ist (HEESEMANN und HENSEL, 2000).
Salmonellen können im weiteren Verlauf der Infektion das Darmgewebe (GALT) verlassen und durch efferente lymphatische Gänge und den Ductus thoracicus in die Vena cava gelangen und eine systemische Erkrankung verursachen (BÄUMLER et al., 2000).
Obwohl *S.* Choleraesuis noch vor einigen Jahren das vorherrschende Serovar beim Schwein in Westeuropa war (LAVAL et al., 1992; BAGGESEN und CHRISTENSEN, 1997; HELMUTH et al., 1997), wird es seit längerer Zeit nicht mehr so häufig nachgewiesen. Dem Nationalen Referenzlabor für Salmonellen zufolge wurde in Deutschland in den Jahren 1998 bis 2006 *S.* Choleraesuis in acht Fällen und in 2007 garnicht nachgewiesen (Dorn, 2008). Das Serovar *Salmonella* Typhisuis spielt nur eine sehr untergeordnete praktische Rolle, wohingegen *Salmonella* Derby nach *Salmonella* Typhimurium das im Jahr 1999 im Nationalen

Referenzlabor für Salmonellen aus Proben von Schweinen am zweithäufigsten isolierte Serovar war (DORN et al., 2002). Sowohl das Serovar Derby als auch andere Serovare wie z.B. *S.* Heidelberg, wurden erstmals im Zusammenhang mit Lebensmittelinfektionen beschrieben.
Das derzeitige Infektionsgeschehen beim Schwein wird in Deutschland und vielen anderen Ländern von nicht adaptierten Salmonellenserovaren bestimmt, unter denen *Salmonella* Typhimurium die größte Rolle spielt.
Es treten sowohl Stämme des Volltyps als auch der Minusvariante Copenhagen auf, denen das O-Antigen 5 fehlt. Besondere Bedeutung besitzt zur Zeit der Lysotyp DT104, der ursprünglich beim Rind vorkam und sich seit etwa 1994 auch auf das Schwein ausgebreitet hat. Bereits 1996 gehörten 30,8% aller in Deutschland typisierten Typhimurium-Isolate beim Schwein zu diesem Typ (RABSCH et al., 1998). Das bedeutsamste Merkmal ist die Resistenz gegen 5 wichtige Chemotherapeutika (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamide, Tetracycline). 55,68% aller im Nationalen Veterinärmedizinischen Referenzlabor für Salmonellen im Jahr 2007 isolierten porcinen Stämme gehörten zum Serovar Typhimurium, 55,55% davon waren dem Lysotyp DT104 zuzuordnen (MALORNY, 2008).
Neben *Salmonella* Typhimurium kommen aber auch viele andere nicht wirtsadaptierte Serovare beim Schwein vor, z.B. Enteritidis, Agona, Infantis, wobei das Serovar Enteritidis beim Schwein längst nicht soviel Bedeutung hat wie beim Geflügel.

Für die Infektion mit wirtsadaptierten Salmonellen sind infizierte Tiere der gleichen Art die wichtigsten Infektionsquellen. Für das derzeitige Salmonellengeschehen in Europa beim Schwein sind aber die nicht adaptierten Salmonellen bestimmend, in erster Linie Typhimurium. Auch sie können natürlich über infizierte Tiere wie Jungsauen oder Mastläufer in einen bisher Salmonellen-freien Bestand eingeschleppt werden. Weitere Infektionsquellen sind aber vor allem das Futter, Nagetiere, Wildvögel, die kontaminierte Umgebung (Stallanlagen, Geräte, Transportfahrzeuge), Wasser, andere Tierarten mit Kontakt zum Schweinebestand, aber auch der Mensch. Die Infektion mit *S.* Typhimurium und anderen nicht adaptierten Salmonellen kann durchaus zu klinischen Erkrankungen führen. Sie treten vor allem nach dem Absetzen auf und äußern sich als fieberhafte Durchfallerkrankungen, die über 3 bis 7 Tage andauern (WALDMANN und PLONAIT, 2004).
Sehr viel häufiger und für die Zoonosenproblematik bedeutsamer sind die latenten Infektionen, bei denen es zwar zu einer Besiedlung des Schweineorganismus mit den Salmonellen kommt, diese Infektion aber nicht zur deutlich sichtbaren Erkrankung des Tieres führt. Die betroffenen Tiere erscheinen völlig gesund und auch die Fleischuntersuchung nach der Schlachtung führt nicht zu auffälligen Befunden. Diese Schweine werden also, wenn

keine zusätzlichen Untersuchung mit geeigneten Labormethoden erfolgt, als gesunde Tiere gehandelt, in andere Bestände eingestellt bzw. zur Lebensmittelgewinnung genutzt. Die Fähigkeit der Salmonellen zur Auslösung einer latenten Infektion und Erregerpersistenz ist ein wesentliches epidemiologisches Merkmal.

Nach einer Erhebung der Untersuchung von Proben aus den Bundesländern war im Jahr 2005 mit 5,56% eine vergleichbare Salmonellenbelastung gegenüber dem Vorjahr (2004: 5,60%) und ein Anstieg bei Einzeltieren auf 3,55% (2004: 3,12%) festzustellen (HARTUNG, 2006). Diese Daten basieren auf 20.000 bakteriologischen Untersuchungen in repräsentativ ausgewählten Schweineherden. Über 70% der isolierten Salmonellen gehörten zum Serovar *S.* Typhimurium, wie im Vorjahr. *S.* Enteritidis wurde bei Schweinen nur in wenigen Fällen nachgewiesen. Die *Salmonella*-Rate von Zuchtschweinen in Einzeltieruntersuchungen hat sich mehr als verdreifacht auf 7,85% (2004: 2,15%), wobei die Zahl der Untersuchungen auf mehr als das Doppelte des Vorjahres stieg. Bei Herdenuntersuchungen wurden zehnmal so viele Zuchtherden untersucht wie im Vorjahr. Dabei wurden in nur 2,31% der Fälle Salmonellen nachgewiesen. Das Verhältnis von *S.* Typhimurium zu den anderen Salmonellen ist bei allen Schweineuntersuchungen weitgehend ähnlich. *S.* Enteritidis wurde bei Zuchtschweinen 2005 nicht isoliert.
Die Zahl der Mitteilungen über immunologische Untersuchungen von Einzeltieren bei Schweinen hat gegenüber dem Vorjahr um 50% zugenommen. Über Herdenuntersuchungen haben ein Bundesland und über Einzeltieruntersuchungen vier Bundesländer Ergebnisse mitgeteilt. Bei den Herdenuntersuchungen wurden in 67% der Fälle positive Nachweise geführt. Bei den Einzeltieruntersuchungen sind die Nachweisraten von *Salmonella*-Antikörpern auf 14% positive Proben (in 2004 8%) weiter angestiegen. In wieweit diese Ergebnisse für Deutschland insgesamt representativ sind, bleibt allerdings offen.

2.1.5 Salmonellose des Menschen

Die Salmonellose des Menschen gehört zu den bedeutendsten Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes, die am häufigsten durch Lebensmittel übertragen werden (TSCHÄPE und BOCKEMÜHL, 2002), weshalb die Salmonellose eine laut Infektionsschutzgesetz meldepflichtige Krankheit ist (ANONYMUS, 2002).
Nach wie vor ist *S.* Enteritidis die häufigste Ursache (70%) bei menschlichen Erkrankungen in Deutschland, gefolgt von *S.* Typhimurium (24%). Nachdem in den letzten Jahren die Erkrankungen durch *S.* Typhimurium kontinuierlich zunahmen, ist in 2006 der relative Anteil etwas zurückgegangen und der von *S.* Enteritidis hingegen angestiegen (HARTUNG, 2007). Der Höhepunkt der Salmonelleninfektionen in Deutschland liegt anderthalb Jahrzehnte

zurück, so wurden in 1992 195.400 Erkrankungsfällen gemeldet (KÜHN, 1995). In den Folgejahren sank die Zahl der Erkrankungsfälle kontinuierlich, im Jahr 2006 jedoch stiegen dem RKI zufolge die gemeldeten Salmonelleninfektionen des Menschen gegenüber dem Vorjahr um 0,6% auf 52.575 Erkrankungen leicht an (HARTUNG, 2007). Es ist jedoch anzunehmen, dass aufgrund eines meist kurzzeitigen Kranheitsverlaufes ohne Arztbesuch und der häufig fehlenden bakteriologischen Untersuchung nur 10 bis 20% der Fälle gemeldet werden (ANONYMUS, 2000).

Der Durchfall ist das typische Krankheitsbild einer Salmonellose beim Menschen. Nach einer Inkubationszeit von 5 bis 72 Stunden können in der akuten Phase der Infektion andere Symptome, wie Fieber, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen auftreten (ALPERS und JANSEN, 2004). Systemische Salmonellosen können schwerwiegende Komplikationen (Perikarditis, neurologische Erkrankungen, Osteomyelitis, Nierenversagen) verursachen und selten (2%) auch tödlich verlaufen (BAIRD-PARKER, 1994; MANSFIELD und FORSYTHE, 2000). Die Erkrankung dauert meist einigen Stunden bis Tage. Salmonellosen treten am häufigsten in den warmen Monaten des Jahres auf (GERICKE et al., 1999) und hängen stark mit dem Alter und Immunstatus der Patienten zusammen. Die typische Risikogruppe für eine Infektion mit pathogenen Keimen inklusive Salmonellen sind Kinder unter zehn und Erwachsene über sechzig Jahre, des Weiteren Schwangere und immunsupprimierte Personen (MOSSEL und STRUIJK, 1993).
Die Quelle der meisten durch Lebensmittel verursachten Salmonellosen sind Schweinefleisch, Eier und Geflügelfleisch, insbesondere deren rohe und ungenügend erhitzte Zubereitungen (RASCH und SCHRADER, 1998). Deutschland ist eine der Mitgliedstaten der EU mit dem höchsten Pro-Kopf-Verzehr an Schweinefleisch (ANONYMUS, 2006a). Laut STEINBACH und HARTUNG (1999) werden ca. 20% der menschlichen Salmonellosen durch infiziertes Schweinefleisch bzw. deren Produkte verursacht. Als Erreger der durch Schweinefleisch verursachten Salmonellosen wurde in der Europäischen Union in den meisten Fällen *S.* Typhimurium identifiziert (ANONYMUS, 2006a).

Die direkte Übertragung von Salmonellen von Mensch zu Mensch und durch Tiere die Salmonellen ausscheiden ist sehr selten. Eine Ausnahme kann jedoch der enge Kontakt mit Heimtieren darstellen (BLAHA, 1992; KRAUSS et al., 1997; ANONYMUS, 2002).

2.1.6 Schwein als Tiermodell – Challenge-Versuche mit Salmonellen

Das Schwein dient seit Jahrzehnten als Tiermodel zur Klärung verschiedener wissenschaftlicher Fragestellungen sowohl in der biomedizinischen als auch in der angewandten Forschung. Einerseits findet das Schwein in zunehmender Masse als Versuchsstier in der Humanmedizin Verwendung, um möglichst gut bestimmte Abläufe im menschlichen Organismus simulieren zu können. So werden Schweine als Modell für die Untersuchung bestimmter humaner Erkrankungen, physiologischer Vorgänge und pathophysiologischer Zusammenhänge eingesetzt. Schweine dienten als Tiermodell zur Untersuchung kardiovaskulärer Störungen beim Menschen und Reanimationsforschung (ALMOND et al., 1996).

Andererseits sind Schweine als landwirtschaftliche Nutztiere und im Rahmen der Lebensmittelsicherheit und des gesundheitlichen Verbraucherschutzes von großer Bedeutung. Fütterungs- und Infektionsversuche sollen klären, wie die Qualität des Fleisches verbessert und wie die Übertragung von pathogenen Erregern durch Schweinefleisch und Schweinefleischprodukte auf den Verbraucher verringert werden kann. Weiterhin sind Fragen zum allgemeinen und speziesbezogenen Infektionsgeschen durch pathogene Erreger zu einem zentralen Forschungsthema geworden. Diesbezüglich sind in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Challenge-Versuche mit Salmonellen am Tiermodell Schwein durchgeführt worden. Eine Zusammenfassung relevanter Studien wird in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Darstellung verschiedener Challenge-Studien mit Salmonellen am Tiermodell Schwein

***Salmonella*-Serovar**	**Infektionsweg**	**Referenz**	**Thematik der Studie**
S. Choleraesuis	oral	OLSON et al. (1977)	Effekte von Furasolidon und Karbadox
S. Choleraesuis	Intraperitoneal	LASSEN et al. (1980)	Erhöhte Anfälligkeit für Salmonellen bei Bleiexposition
S. Typhisuis	oral	FENWICK et al. (1987)	Einfluß von Antibiotika
S. Typhimurium	oral	WOOD et al. (1989)	Gewebsmanifestation
S. Typhimurium	i.v. lipopolysaccharid Antigene von *S.* Typhimurium	CORT und KINDAHL (1990)	Endotoxin-Effekt im frühen Stadium der Trächtigkeit
S. Newport	oral	WOOD et al. (1991)	Ausscheidung, Organmanifestation
S. Typhimurium *S.* Infantis	oral	NIELSEN et al. (1995)	Immunantwort mittels ELISA
S. Typhimurium	intranasal bei oesophagostomisierten Schweinen	FEDORKA-CRAY et al. (1995)	Infektionswege
S. Typhimurium	oral	FEDORKA-CRAY et al. (1995)	Übertragung von Salmonellen durch Kot
S. Chlerasuis	oral, intranasal	GRAY et al. (1995)	Infektionswege
S. Typhimurium LT2	oral	DLABAC et al. (1997)	Pathogenitätsstudie in SPS-Ferkeln
S. Choleraesuis	intranasal	FEDORKA-CRAY et al. (1999)	Mucosale Immunität im Caecum
S. Typhimurium *S.* Choleraesuis	oral	GENOVESE et al. (1999)	Prophylaxe mittels Lymphokinen in experimenteller Infektion
S. Typhimurium	oral	EBNER und MATTHEW (2000)	Effekt von Antibiotka auf die Salmonellen-ausscheidung beim Ferkel
S. Typhi	oral	METCALF et al. (2000)	Infektionsdynamik
S. Dublin *S.* Choleraesuis *S.* Gallinarum/Pullorum	oral	STEINBACH et al. (2000)	Wirtspezifität
S. Choleraesuis	oral	ANDERSON et al. (2000)	Ausscheidungsverhalten
S. Typhimurium DT104	oral	MARG et al. (2001)	Einfluß von Transport
S. Typhimurium	oral	HURD et al. (2001)	Übertragung mittels kontaminierter Umwelt

Salmonella-Serovar	Infektionsweg	Referenz	Thematik der Studie
S. Typhimurium	oral	TURNER (2002)	Effekt von verschiedenen Pflanzenarten auf *S.* Infektion
S. Typhimurium F98 *S.* Infantis	oral	FOSTER et al. (2003)	Apathogener *S.* Infantis Stamm schützt vor klinischen Infektionen
S. Choleraesuis	oral	GENOVESE et al. (2003)	„Kompetitive Ausschluss Kultur“ gegen Salmonellen
S. Typhimurium	oral	STEINBACH et al. (2003)	Humorale Immunantwort
S. Typhimurium	oral	COTE et al. (2004)	Gewebsmanifestation
S. Typhimurium DT104	oral	DELSOL et al. (2004)	Effekt von Enrofloxacin
S. Typhimurium DT12	oral	MIKKELSEN et al. (2004)	Effekt der physikalischen Eigenschaften des Futters bei *S.* Infektionen
S. Typhimurium	oral	BURKEY et al. (2004)	Diätetischer Effekt von Mannanoligosacchariden und Chloraten vor und nach Challenge
S. Typhimurium	oral	BRUMME et al. (2006)	Enfluss von Virulenzfaktoren auf Klinik, Gewebsmanifestation und Immunantwort
S. Typhimurium	oral	CALLAWAY et al. (2006)	Sozialer Stress verursacht erhöhte Kotausscheidung
S. Typhimurium	oral	JENSEN et al. (2006)	Infektionsdynamik
S. Typhimurium DT104	in vitro Darmabschnitte	NIEWOLD et al. (2006)	Intestinale Immunität
S. Typhimurium *S.* Agona	aerogen	OLIVIERA et al. (2006)	Aerogene Infektion
S. Typhimurium *S.* Choleraesuis	oral	SKJOLAAS et al. (2006)	Chemokie und Zytokin-Expression beim Schwein
S. Typhimurium	oral	STEENHARD et al. (2006)	Interaktionen zwischen Salmonellen und intestinalen Parasiten
S. Typhimurium	oral	CASEY et al. (2007)	Einfluss von Probiotika auf Infektion
S. Typhimurium	intranasal	BEARSON et al. (2007)	Einfluß auf die Motalität im Wirt
S. Typhimurium *S.* Choleraesuis	oral	FRASER et al. (2007)	Effekt auf Wachstum, ILGF1, TNFα in Absetzferkeln

Salmonella-Serovar	Infektionsweg	Referenz	Thematik der Studie
S. Typhimurium DT104	oral	SCHERER et al. (2008)	Langzeitstudie über Infektionsdynamik, Ausscheidung, Gewebsmanifestation, Transport
S. Typhimurium DT104	oral	SZABO et al. (2008)	Langzeitstudie über Immunantwort

2.1.7 Aspekte zur Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit

2.1.7.1 Bestandshygiene

Da das Überleben von Salmonellen nicht wirtsgebunden ist, bezeichnen BERENDS et al. (1996) die Salmonelleninfektion vor allem als ein Hygieneproblem. Die entscheidende Rolle des Hygienemanagements in einem Betrieb ist allgemein bekannt und häufig beschrieben (BERENDS et al., 1996; FUNK et al., 2001; BELOEIL et al., 2004; LO FO WONG et al., 2004).
STÄRK et al. (2002) beschreiben in ihren Artikel unterschiedliche Meinungen von dreißig Experten aus elf Ländern zum Thema Infektionsstatus von Salmonellen in Schweinebeständen, der Übertragung von Salmonellen während des Transports und im Wartestall vor der Schlachtung. Alle Experten waren einhellig der Meinung, dass eine umfassende Betriebshygiene inklusive des Rein-Raus-Prinzips eine wichtige Komponente für die Überwachung der Salmonellen darstellt. Die Gewichtung der einzelnen Komponenten fiel jedoch unterschiedlich aus. Dänische Experten sahen die Rolle der Futtermittelhygiene an erster Stelle, wobei amerikanische Kollegen die Hygienemaßnahmen zur Vermeidung der Kontaminationen durch Nagertiere und Menschen in den Vordergrund stellten. Die Experten aus den USA vertraten außerdem die Meinung, dass die Ausscheidung von Salmonellen durch latent infizierte Schweine und die dadurch entstehende Infektion von gesunden Tieren vermehrt während des Transports und im Wartestall vor der Schlachtung geschieht.

In Deutschland existiert ein Leitfaden zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen in der Schweineproduktion (Schweinezucht, Schweinemast). In der Anlage 1 dieses Leitfadens ist ein Maßnahmenkatalog zur Erkennung und Beseitigung der Eintragsquellen für Salmonellen in schweinehaltenden Betrieben dargestellt (ANONYMUS, 1998). Nach dem QS-Leitfaden werden Maßnahmen für das Salmonellenmonitoring im Bestand und zur Reduzierung des

Eintrages von Salmonellen in die Lebensmittelkette zum Zeitpunkt der Schlachtung festgelegt (ANONYMUS, 2007b).

Folgende Maßnahmen zur schrittweisen Reduzierung der Salmonellenbelastung im Bestand sind laut QS-Leitfaden festgelegt:

- Intensivierung der allgemeinen Sauberkeit und Hygiene, dieses betrifft insbesondere solche Betriebsbereiche, die nicht routinemäßigen gereinigt und desinfiziert werden (Zu- und Abluftschächte, Kabelschächte, Staubablagerungen, Zwischenräume von Spaltenböden, Waagen etc.).
- Benutzung stallspezifischer Schutzkleidung, Reinigung und Desinfektion der Stiefel und Gerätschaften zur Minimierung der Verschleppung von Salmonellen von einer Tiergruppe zur anderen.
- Intensivierung der Schadnagerbekämpfung, Beseitigung der Flucht-, Versteck- und Nistmöglichkeiten für Schadnager (tote Ecken, Abfall etc.).
- Aufbau eines strategischen, permanenten Schadnagerbekämpfungsprogramms einschließlich Erfolgskontrollen, konsequentes Fernhalten jeglicher Haustiere aus dem Stall- und Futterbereich.
- Vermeidung des Eindringens von Wildtieren, insbesondere von Vögeln.
- Zusätzliche Maßnahmen, wie: Ansäuern des Futters mit gekapselten Säuren; eventuell nur Säurezusatz, Laktuloseeinsatz; Änderung der Futterzusammensetzung; Änderung der Futterart von mehlförmigem zu strukturiertem Futter; Trinkwasserdesinfektion; Impfung im Herkunftsbetrieb; Herkunftswechsel.

Die Desinfektion sollte mit hochwirksamen Mitteln wie z.B Formalin und Peressigsäure durchgeführt werden. Die Gewährleistung einer effektiven Reinigung und Desinfektion ist von großer Bedeutung. Demnach sollte der Stall über eine längere Zeit (ca. 4 Wochen) leer stehen bevor er neu belegt wird (DAHL et al., 1997). DAVIES et al. (1997) sehen jedoch keinen Vorteil der Rein-Raus-Belegung gegenüber der konventionellen einstufigen Produktion.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Salmonellenreduzierung in Schweinebetrieben ist die Futterhygiene. Die Kontamination des Futters mit Salmonellen erfolgt meistens durch mit Salmonellen infizierte Insekten, Schadnager und Vögel. Dementsprechend kann die Kontamination während der Gewinnung, Bearbeitung, Lagerung und des Transportes des Futters stattfinden (DAVIES et al., 2004; OSTERBERG et al., 2006). Die Serovaren *S.* Typhimurium und *S.* Enteritidis spielen unter den durch Futter übertragenen Salmonellen eine eher geringe Rolle (BISPING, 1993; DORN et al., 2004). Bei der Reduktion und

Eliminierung von Salmonellen in Futtermitteln können mehrere Faktoren eine Rolle spielen. Die Wärmebehandlung des Futters wird dabei häufig praktiziert. DOYLE und MAZZOTTA (2000) beschreiben eine nahezu vollständige Elimination von Keimen durch eine Behandlung des Futters mit heißem Dampf und darauffolgender Heißhaltung bei 90°C. Ebenfalls effektiv und dabei auch schonend ist die Behandlung des Futters mit organischen Säuren (z.B. Propionsäure). Aufgrund des herabgesetzten pH-Wertes kommt es zur Reduktion von Salmonellen, zudem dienen die Säuren als Energieträger (AL TARAZI und ALSHAWABKEH, 2003; MATLHO et al., 1997). Die allgemeinen Ausführungen über die Futtermittelhygiene in Deutschland sind in dem Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (ANONYMUS, 2006b) beschrieben.
Die strengen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie das Futtermanagement können zu einer Reduktion jedoch nicht zu einer vollständigen Eliminierung von Salmonellen aus kommerziellen Schweinebeständen führen (ERDMANN et al., 2005).

Um große wirtschaftliche Verluste zu vermeiden und um die Symptome zu lindern, ist der Einsatz von Antibiotika ausschließlich im Falle einer klinischen Erkrankung angezeigt. Aus veterinärmedizinischer Sicht sind prophylaktische Maßnahmen, sowie Vakzinierungen sehr wichtig. Seit 2002 ist in Deutschland zur Bekämpfung der *S.* Typhimurium-Infektion des Schweines ein attenuierter Lebendimpfstoff (Salmoporc®; Impfstoffwerke Dessau-Tornau GmbH, Rosslau) zugelassen.

Verschiedene Stressfaktoren (Transport, sozialer Stress nach Umsetzen, Bestandvermischung) können zu einer verstärkten Ausscheidung von Salmonellen und sogar zu klinischen Symptomen führen. Mehrere Studien berichten, dass Transportstress bei Schweinen mit einer subklinischen Salmonelleninfektion zu vermehrter Keimausscheidung führt (ISAACSON et al., 1999; FEHLHABER und ALTER, 1999; MARG et al., 2001). Diese Tiere können während des Transportes aber vor allem in den Warteställen eines Schlachthofes andere Tiere aus Salmonellen-freien Beständen infizieren, was überwiegend über den fäkal-oralen Infektionsweg erfolgt. Studien zeigen, dass Salmonellen-freie Schweine bereits nach wenigen Stunden Aufenthalt in einer kontaminierten Umwelt infiziert werden können. Eine Kolonisation von verschiedenen Organen kann binnen 3-4 Stunden nach der Aufnahme des Erregers erfolgen (FEDORKA-CRAY et al., 1995; HURD et al., 2001).
Die Reinigung und Desinfektion von Transportfahrzeugen und Wartestellen in den Schlachthöfen ist eine grundlegende Maßnahme zur Unterdrückung der Verbreitung von Salmonellen und somit zur Verringerung des Eintrages in die Lebensmittelkette. BOES et al. (2001) weisen darauf hin, dass *Salmonella*-positive Bestände grundsätzlich von *Salmonella*-

negativen Beständen getrennt werden sollen, sowohl während des Transports als auch in den Wartestellen vor der Schlachtung. Die Reinigung und Desinfektion von Wartestellen kann jedoch kein Effekt auf die Prävalenz von Salmonellen bei bereits *Salmonella*-positiven Schweinen erzielen (SCHMIDT et al., 2004).

Im März 2007 wurde die *Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-Verordnung)* erlassen (ANONYMUS, 2007c). Grundlage der Verordnung ist die regelmäßige serologische Untersuchung der Endmastbetriebe. Schweinehalter, die über mehr als 50 Mastplätze verfügen und Schlachtschweine erzeugen, sind verpflichtet, diese innerhalb von 14 Tagen vor oder bei der Schlachtung auf Antikörper gegen Salmonellen untersuchen zu lassen. Die Beprobung ist gleichmäßig pro Betrieb und Jahr zu verteilen. Die vorgeschriebenen Pflichtproben werden je nach Menge der zur Schlachtung abgegebenen Schweine pro Betrieb und Jahr kalkuliert. Die Betriebe werden aufgrund ihrer Salmonellen Prävalenz in die Prävalenzkategorien I bis III eingeteilt. Für einen niedrigen Betriebsstatus (Kategorie I) dürfen positive Befunde 20% nicht überschreiten. Für einen mittleren Status (Kategorie II) sind maximal 40% positive Befunde zulässig und bei einem hohem Betriebsstatus (Kategorie III) sind mehr als 40% positive Befunde festgestellt worden. Bei diesem Status sind die Ursachen des Salmonelleneintrages in den Bestand festzustellen, sowie Reinigung- und Desinfektionsmaßnahmen durchzuführen. Die regelmäßige Überwachung des Bestandes dient der Schätzung der Salmonellenprävalenz und der Früherkennung des Salmonelleneintrages in einen Schweinebestand und bildet die Grundlage von Bekämpfungsmaßnahmen. Sie schafft somit die Voraussetzung, die Weiterverbreitung von Salmonellen innerhalb der Erzeugerketten und den Eintrag von Salmonellen in die Lebensmittelkette zu reduzieren Eine effektive Salmonellenbekämpfung ist nur durch abgestimmte Bekämpfungsmaßnahmen zwischen allen Produktionsstufen einer Erzeugerkette (ANONYMUS, 2006a) gewährleistet.

2.1.7.2 Schlachtung und Weiterverarbeitung

Der enge Zusammenhang zwischen *Salmonella*-positiven Schweinen und der Kontamination von Schlachtkörpern wird in mehreren Studien beschrieben (MORGAN, et al., 1987; BORCH et al., 1996; BERENDS et al., 1997; BOTTELDOORN et al., 2004).
HALD et al. (2003) beschreiben die Ergebnisse einer Studie, in der das Vorkommen von Salmonellen und die Risikofaktoren einer Kontamination von Schlachtkörpern in zwölf Schlachthöfen von fünf europäischen Ländern untersucht wurde. Es wurden 5,3% von 3.485 Schlachtkörpern und 13,8% von 3.573 untersuchten Umweltproben als *Salmonella*-positiv getestet, wobei letztere vor allem aufgrund des kontaminierten Brühwassers. So empfiehlt sich zur Reduktion der Schlachtkörperkontamination eine ausreichend hohe Temperatur des Brühwassers und die sachgerechte Reinigung und Desinfektion der Instrumente.

Die prinzipiellen Maßnahmen zur Reduzierung der Kreuzkontamination mit Salmonellen während des Schlachtprozesses laut QS-Leitfaden sind:

- Getrennte Schlachtung von Schweinen aus Kategorie III Beständen (am Ende des Schlachttages, an bestimmten Schlachttagen) mit anschließender Reinigung und Desinfektion.
- Überprüfung der Nüchternanlieferung.
- Regelmäßige Überprüfung der Hygiene bei Eviszeration (z.B. Einfügen des Rektums in Plastiktüte zu Beginn der Eviszeration).
- Regelmäßige Überprüfung der Hygiene der Darmschalen.
- Regelmäßige Überprüfung der Hygiene der Polierer/Peitschenmaschinen.
- Getrennte Untersuchung des Kopf- und Rachenbereiches sowie des Restes des Schlachtkörpers.
- „Putzen“ des Schlachtkörpers durch verschiedene Personen für definierte Teilbereiche.
- Regelmäßige Überprüfung der Laufwege der Mitarbeiter (Verschleppungen).

Die Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien listet Lebensmittelsicherheitskriterien, Prozesshygienekriterien und Art der Probenahme sowie die Probenhäufigkeit für Schlachthöfe und Hackfleisch auf. So gilt zum Beispiel als Lebensmittelsicherheitskriterium für die Lebensmittelkategorie „Hackfleisch/Faschiertes, Fleischzubereitungen und Fleischerzeugnisse – in Verkehr gebracht, während der Haltbarkeitsdauer – “ eine Nulltoleranz für Salmonellen.
Das HACCP-Konzept (Hazard Analysis and Critical Control Point) soll die Sicherheit von Lebensmitteln auf jeder Stufe eines Lebensmittelherstellungsprozesses gewährleisten

(BLACKBURN, 1993; BYRNE, 1996). Das Hygienepaket der EU schreibt vor, dass nur noch Lebensmittel, die die HACCP-Richtlinien erfüllen, innergemeinschaftlich gehandelt und aus Drittländern eingeführt werden dürfen (ANONYMUS, 2004). Des Weiteren sind noch im Rahmen der „Guten Hygienepraxis“ entsprechende Präventivmaßnahmen (z.B. Reinigungsprogramm, Personalhygiene, Schulungsprogramm, Schädlingsbekämpfung, Wareneingangskontrolle) zu praktizieren.

2.2 Probiotika

Das Interesse an der Mikroflora des Darmes wird aus zahlreichen Studien deutlich. Diese zeigten, dass sich in der Darmflora sowohl potentiell pathogene als auch nützliche Keime befinden und dass letztere dafür benutzt werden könnten, die Aktivitäten der ersten Gruppe zu beeinflussen. Diese Ergebnisse führten zu dem „Probiotika Konzept“.

Bereits im Jahre 1908 vermutete METCHNIKOFF, dass oral aufgenomme *Lactobacillus* Stämme die toxinproduzierenden Mikroorganismen im Darm verdrängen und somit einen gesundheitsfördernden Effekt haben können. LILLEY und STILLWELL (1965) beschrieben Probiotika vor mehr als vierzig Jahren als Sekretionssubstanzen von Ciliaten, die das Wachstum von Protozoen stimulieren können. PARKER’s Definition (1974) beschrieb Probiotika als Organismen und Substanzen mit einem gesundheitsfördernden Effekt. FULLER (1992) legte den Schwerpunkt der Probiotika auf die Unterstützung des Gleichgewichts der Darmflora und laut FREITAG et al. (1998) greifen Probiotika im positiven Sinne in die Besiedlung der Darmflora ein. Dieser Aspekt wird für die Definition von Probiotika in der Tierernährung noch heute verwendet. Probiotika sind lebende Mikroorganismen, die die Darmflora für das Wirtstier positiv beeinflussen.

GALDEANO et al. (2007) betonen die stimulierende Wirkung der Probiotika auf das Immunsysten und empfehlen die folgende Definition: „Lebende Mikroorganismen, die als Lebensmittel und Futtermittelzusatz die Zusammensetzung und Eigenschaften der Darmflora und entzündliche Reaktionen beeinflussen, die unspezifischen intestinalen Barrieren verbessern und die lokale und systemische Immunreaktionen verstärken können“.

Der Begriff „Probiotika“ wird im weiteren Sinne in der Humanernährung und Medizin auch für Präparate benutzt, die auf abgestorbenen Kulturen und deren Stoffwechselprodukte basieren, zum Beispiel Präparate, die das mikrobiologische und enzymatische Gleichgewicht der Haut und Schleimhäute verbessern (JANSEN et al., 1995; REUTER, 2001).

Zu den in der Tierernährung derzeit zugelassenen Probiotika (Tabelle 4) gehören Bakterien und verschiedene Stämme der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*.

Die Lactobacillen sind grampositive, sporenlose, meist unbewegliche, Stäbchen, die mit Milchsäure als Endprodukt Kohlenhydrate fermentativ abbauen. Lactobacillen sind in der Lage, einen Biofilm zum Schutz der Darmschleimhaut zu bilden (BURKHARDT, 1992). Aufgrund ihrer Säuretoleranz setzen sie sich in der Darmflora rasch durch (SCHLEGEL, 1992). Die Milchsäurebakterien sind fähig, antimikrobiell wirksame Stoffe wie Acidophilin, Acidolin, Lactobacillin beziehungsweise Lactocidin zu bilden (SANDINE, 1979).
Von Bedeutung sind weiterhin Enterokokken. Dies sind gram-positive, nicht sporenbildende, milchsäureproduzierende, anaerobe oder fakultativ anaerobe Bakterien (LYHS et al., 1999) und gehören zur natürlichen Darmflora des Menschen und warmblütiger Tiere.
SEFERT und GESLER (1997) beschreiben das stäbchenförmige, grampositive Bakterium *Bacillus cereus* als geeignetes Probiotikum aufgrund seiner guten probiotischen Wirksamkeit und der großen Tenazität der Sporen in der Umwelt. *Bacillus cereus* wird dem Futter in Sporenform zugesetzt. Nach der Magenpassage kommt es zur Auskeimung und zur Überführung in die vegetative Form und zur Wirkung im proximalen Dünndarm (ROTH, 1997) unter anderem durch die Beteiligung an der Bildung eines Biofilms auf der Darmschleimhaut (GEDEK, 1986). In Fütterungsstudien verbesserte *B. cereus* var. toyoi die systemische Immunantwort gegen virale Antigene in Absetzferkeln (SCHIERAK et al., 2007) und reduzierte die Durchfallhäufigkeit nach dem Absetzen (TARAS et al., 2005). Die Ergebnisse von SCHAREK et al. (2007) deuten darauf hin, dass die Verfütterung von *B. cereus* var. toyoi an Sauen zu positiven Auswirkungen auf die Gesundheit von Ferkeln führen kann, unabhängig davon, ob diese ebenfalls das Probiotikum erhielten.

Seit langer Zeit werden Hefekulturen als Wachstumsfaktoren für Pansenmikroben in der Wiederkäuerernährung eingesetzt (ECKLES und WILLIAMS, 1925; STECKLEY et al., 1979; CARTER und PHILLIPS, 1994). Hefe ist als eine reiche Quelle von Vitaminen, Enzymen, Nährstoffen und anderen wichtigen Co-Faktoren bekannt (NEWBOLD, 1995).

2.2.1 Wirkungsweise der Probiotika

Die vagen Formulierungen des Begriffes „Probiotika“ deuten darauf hin, dass über die Mechanismen der Wirkung von Probiotika nur wenig bekannt ist.
Die Wirkungsweise der Probiotika ist vielfältiger Natur. Zahlreiche Studien liefern häufig Bestätigungen über den positiven Effekt der Probiotika. Die Tabelle 3 stellt eine Zusammenfassung der bisher vornehmlich diskutierten Wirkungsweisen und eine Auswahl von relevanten Referenzen dar. Grundsätzlich muss davon ausgegangen werden, dass sich die Wirkungsweise von Keimen, die als Probiotika eingesetzt werden, voneinander unterscheiden. So verhalten sich *Enterococcus spp.* deren natürliche Umgebung der Darm

ist anders als *Bacillus spp.*, die durch Keimung in vegetative Zellen überführt werden und zwar in einer Umgebung, in der sie normalerweise nicht vorkommen.

Da die Wirkung meist auf einem indirekten Weg erfolgt, kann ein Effekt erst nach einem längeren Zeitraum der Verfütterung erwartet werden. Dabei besteht eine wesentliche Voraussetzung zur Erzielung der gewünschten Wirkungseffekte darin, dass dem Tier relativ hohe Keimzahlen von einigen hunderttausend bis Millionen je Gramm Futter in einem noch lebensfähigen Zustand kontinuierlich zugeführt werden (GEDEK, 1993; TANNOCK, 1999; SIMON et al., 2001; REUTER, 2001).

Tabelle 3: Wirkungsweise von verschiedenen Probiotika. Eine Auswahl verschiedener Referenzen aus den Jahren 1964 - 2007

Wirkungsweise	Probiotika	Modell	Referenzen
Aggregation von Probiotika und pathogenen Keimen	Hypothese*	-	STEWART et al. (1995)
Förderung der erwünschten Darmflora	*Enterococcus faecium* – Veränderung des Anteils *E. faecium* in der Darmflora	Huhn	NETHERWOOD et al. (1999)
		Hund	RINKINEN et al. (2002)
		Schwein	VAHJEN et al. (2007)
	Enterococcus faecium – Reduktion der *E. coli* Kolonisation	Schwein	SCHAREK et al. (2005)
		Schwein	STROMPFOVA et al. (2006)
Direkter Antagonismus	*Lactobacillus* – Bildung von antibakteriellen Stoffen und Säuren	-	FULLER und GIBSON (1997) SANDINE (1979) STEWART et al. (1995) OUWEHAND et al. (1999)
Kompetitive Exklusion	*Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus* – Besetzung von Adhäsionsstellen in Darm	-	GEDEK (1993) FULLER und GIBSON (1997)
		in vitro	JIN et al. (2000)
		in vitro	RINKINEN et al. (2002)
		Mensch	RUAS-MADIEDO et al. (2006)
Nährstoffkonkurrenz	Hypothese*	-	OZAWA und FRETER (1964) STEWART et al.(1995) FULLER und GIBSON (1997)
pH- Wert - Senkung durch Säurebildung	*Lactobacillus*	-	GEDEK (1992) OHASHI et al., (2001)
		Mensch	BEZKOROVAINY (2001)
Immunantwort	*Lactobacillus, Bifidobacterium, Sacharomyces* – Stimulation von Makrophagen und Leukozyten	-	PERDIGON et al. (1995) PETZOLD und MÜLLER (1986)
		Mensch	JAHN et al. (1996)
		Mensch	SCHIFFRIN et al. (1997)
		Maus	SHU und GILL (2001)
		Hund	WIEß (2003)
	Lactobacillus – Erhöhte Sekretion von sekretorischer IgA	Ratte	BUTS et al. (1990)
	Enterococcus faecium - Erhöhte Sekretion von sIgA	Hund	BANYACOUB et al. (2006)

*Hypothese: die Beschreibung der Wirkungsweise stützt sich nicht auf in vitro bzw. in vivo Studien

Wirkungsweise	Probiotika	Modell	Referenzen
Immunantwort	*Lactobacillus* – Erhöhte Bildung von IgA und sIgA	Maus	LINK-AMSTER und ROCHAT (1994)
	Enterococcus faecium - Erhöhte Bildung von IgG	Mensch	MIKES et al. (1995)
	Lactobacillus – Erhöhte Bildung spezifischer Antikörper für Choleratoxin bei Mäusen	Maus	TEJADA-SIMON et al., (1999)
	Lactobacillus - erhöhte Sekretion von IFN- in der Milz	Maus	GILL et al. (2001)
	E.coli Nissle 1917 - Erhöhte Sekretion von sIgA	Mensch	LODINOVA-ZADNIKOVA et al. (1992)
	Bacillus cereus var. *Toyoi* – Änderung verschiedener immunologischen Parametern	Schwein	SCHIERACK et al. (2007)
Inhibition	*Saccharomyces boulardii* - Unterdrückung der mikrobiellen Toxinbildung	in vitro	BRANDAO et al. (1998)
	Lactobacillus, Streptococcus – Freisetzen von Gallensäure	Mensch	FLOCH (1972)
	Enterococcus faecium- Inhibition des Wachstums von *S.* Enteritidis.	in vitro	THEPPANGNA et al. (2006)
	Enterococcus, Saccharomyces - Inhibition des Wachstums von *S.* Typhimurium	Maus	MAIA et al. (2000)
Einfluss auf die Darmschleimhaut	*Lactobacillus, Saccharomyces boulardii, Enterococcus faecium* – Vergrösserung des Epithels, Verstärkung der Absorption	Mensch	JAHN et al. (1996)
		Mensch	WINKLER et al. (2005)
		Schwein	LODEMANN et al. (2006)
		Schwein	REITER (2005)

2.2.1.1 Wirkung der Probiotika auf den Makroorganismus (Schwein)

SIMON et al. (2007) berichten über die Auswertung von 49 Publikationen von 1972 bis 2007, die sich mit Probiotika in Schweinen befassen. Die Verwendung von mehreren Stämmen von insgesamt elf verschiedenen Probiotika-Spezies haben in den Studien bezüglich der Leistung und der Durchfallhäufigkeit nach dem Absetzen verschiedene Ergebnisse erbracht. Ein signifikant positiver Effekt der Probiotika konnte bei 35% der Studien bezüglich der durchschnittlichen Lebendgewichtzunahme pro Tag und bei 25% der Studien bezüglich des Futteraufwandes festgestellt werden. Dabei war in der Probiotikagruppe die Lebendgewichtzunahme 5% (Median) höher als in der Kontrollgruppe. Bezüglich des Futteraufwandes lag der Median bei 0%. TARAS et al. (2005) konnten in Fütterungsversuchen mit *Bacillus cereus* var. toyoi bei Absetzferkeln eine Erhöhung der Lebendgewichtzunahme um 11% und eine sehr deutliche Verbesserung des Futteraufwandes um 9% gegenüber der Kontrollgruppe verzeichnen. Dagegen konnten TARAS et al. (2005) in Fütterungsversuchen mit *Enterococcus faecium* NCIMB 10415, keinen signifikanten Einfluss auf die Gesamtleistung und eine 1%ige Verbesserung des Futterumsatzes bei Absetzferkeln nachweisen.

Des Weiteren erwähnen die Autoren die Möglichkeit, dass die Wirkung von Probiotika auf die Darmflora von Ferkeln in der frühen Phase der Entwicklung am effizientesten ist, möglicherweise aufgrund einer geringeren mikrobiellen Belastung. Dies korreliert mit den Beobachtungen von SCHAREK et al. (2005) die in derselben Studie über die Beeinflussung des Immunsystems in Form einer Reduktion der intraepithelialen $CD8^+$ Zellen berichten, wobei diese Reduktion am deutlichsten vor dem Absetzen ausfiel. Des Weiteren stellen die Autoren fest, dass die gesunkene Nachweishäufigkeit von *E. coli*-Serovaren im Verdauungstrakt der mit Probiotika gefütterten Ferkel als eindeutiger Effekt der Probiotikafütterung anzusehen ist.

VAHJEN et al. (2007) beobachteten, das der probiotische *Enterococcus faecium* NCIMB10415 eine signifikante Abnahme von *Enterococcus faecalis* in Kot von Ferkeln verursachte. Die Autoren vermuten, dass die Inhibition von den gleichen Spezies zu einer weiteren Änderung der Zusammensetzung der Darmflora führen kann. Positive Effekte der Probiotikafütterung auf die Lebendgewichtzunahme bei Mastschweinen konnten in anderen Studien ebenfalls beobachtet werden (JOUGLAR et al., 2000; COLLINDER et al., 2000; MARTINEZ et al., 2000).

RICHTER et al. (2006) beschreiben drei Versuche mit 120 Mastschweinen, in denen Hefe- (*Saccharomyces cerevisiae*) und *Bacillus*-Kulturen (*B. licheniformis* und *B. subtilis*) verwendet wurden. Bei einem hohen Leistungsniveau konnte kein signifikanter Einfluss der

Probiotika beobachtet werden, es bestand jedoch der Trend zu höherem Magerfleischanteil bei der Supplementation von Probiotika.
In Versuchen mit *Enterococcus faecium* NCIMB10415 und *Bacillus cereus* var. toyoi liess sich ein Rückgang der Durchfallhäufigkeit bei einem Teil der Aufzuchtferkel nachweisen (SIMON et al., 2004; TARAS et al., 2005; TARAS et al., 2006). Die Ursache für die fehlende Wirkung bei anderen Tieren vermuten die Autoren in dem Zusammenhang zwischen dem mikrobiellen Status des Darmes und dem Zeitpunkt der Probiotikaverabreichung. Der Probiotikum-Stamm konnte in dem Kot von Saugferkeln nachgewiesen werden, die selbst noch kein, aber deren Muttertiere während der Trächtigkeit bereits Probiotikum erhalten hatten. Als Ursache wird eine Übertragung durch den fäkal-oralen Weg vermutet. ZEYNER und BOLDT (2006) fütterten *Enterococcus faecium* DSM 10663 NCIMB 10415 den Ferkeln von Geburt an bis zum Absetzen zu und beobachteten dabei eine abnehmende Zahl der an Durchfall leidenden Tiere.
In einer Studie unter Feldbedingungen wurde den Ferkeln als Durchfallprophylaxe nach dem Absetzen *Bacillus licheniformis* und *Bacillus toyoi* zugefüttert. Gegenüber der Kontrollgruppe konnte in der Testgruppe eine Verminderung der Mortalität sowie der Häufigkeit und Schwere der Durchfälle erreicht werden (KYRIAKIS et al., 1998).

2.2.1.2 Studien über Probiotika und pathogene Keime

Experimentelle Studien, in welchen die Wechselwirkung von Probiotika und pathogenen Mikroorganismen untersucht wurden, sind selten. In einer Studie wurden 3 verschiedene Probiotika (*Bacillus*, *Lactobacillus* und *Streptococcus spp.*) an experimentell mit enterotoxämieauslösenden *E. coli* O141:K85 infizierten Absetzferkeln verfüttert. Es konnten keine Unterschiede zwischen der Kontroll- und Testgruppe bezüglich Mortalität, klinischer Symptome oder fäkaler Ausscheidung festgestellt werden (DE CUPERE et al., 1992).
POLLMANN et al. (2005) haben die Auswirkung von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 auf die natürliche Neuinfektion des Darmes mit Chlamydien bei Absetzferkeln untersucht, bei deren Muttersauen eine *Chlamydia suis* Infektion festgestellt werden konnte. Die Ergebnisse zeigen, dass in der Probiotikagruppe weniger Ferkel (60%) als Chlamydienträger identifiziert werden konnten als in der Kontrollgruppe (85%) ohne Probiotikazusatz.
CASEY et al. (2007) untersuchten die Entwicklung einer *Salmonella* Typhimurium Infektion bei Absetzferkeln, denen eine Kombination von fünf probiotischen Stämmen (1 *Pediococcus* und 4 *Lactobacillus spp.*) zugefüttert wurde. In diesem Fall ließ sich eine Abnahme sowohl der Häufigkeit, Schwere und Dauer von Durchfall als auch der Salmonellen-Ausscheidungsrate beobachten.

SCHROEDER et al. (2006) untersuchten die vorbeugende Wirkung des probiotischen *Escherichia coli* Nissle 1917 Stamms nach Challenge. Drei Wochen alte Absetzferkel wurden nach einer einwöchigen Behandlung mit dem probiotischen *E. coli* Stamm mit dem enterotoxischen *Escherichia coli* Abbotstown infiziert, die Kontrollgruppe hingegen erhielt nur den probiotischen Stamm. Das Auftreten eines nur leicht sekretorischen Durchfalls bei 70% der Tiere in der Testgruppe, sowie die Tatsache, dass die anderen Tiere der Gruppe keine Veränderung der Kotkonsistenz zeigten und auf epithelialer Ebene keine histologischen Unterschiede zwischen Kontroll- und Testgruppe ersichtlich waren, führten die Autoren auf die präventive antisekretorische Wirkung des *Escherichia coli* Nissle 1917 Stamms zurück.
NEMECOVA et al. (2007) untersuchten den Einfluss von *Lactobacillus plantarum*, in Zusammenhang mit zwei Zuckerarten (Maltodextrin Maldex 150 und Raftifeed IPX Fructooligosacchariden) auf die Adhäsion von *E. coli* O8: K88 an die Schleimhaut des Dünn- und Dickdarmes in 33 infizierten Absetzferkeln. Die kombinierte Fütterung von *Lactobacillus plantarum* mit den zwei Zuckerarten führte zu einer deutlich geringeren Adhäsion von *E. coli* sowohl im Dünn- als auch im Dickdarm.
Maia et al. (2002) testeten die Wirkung von probiotischen *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* und *Saccharomyces cerevisiae* in mit *Salmonella* Typhimurium infizierten Mäusen. Die probiotischen Stämme wurden kombiniert oder einzeln eine Woche vor dem Challenge verabreicht. Bei den Tieren, denen *E. faecium* verabreicht wurde, konnte nach dem Challenge eine schnellere Regeneration, niedrigere Mortalität und Morbidität beobachtet werden. Allerdings ließ sich ein direkter Effekt von *E. faecium* auf die Reduktion von *S.* Typhimurium im Darm nicht nachweisen. Die Autoren vermuten hinter der protektiven Wirkung vielmehr immunmodulatorische Effekte.

Auch in vitro Studien wurden die Wechselwirkungen zwischem Probiotika und pathogenen Erregern untersucht. THEPPANGNA et al. (2006) isolierten *Enterococcus faecium* und *Enterococcus gallinarum* Stämme aus einem komerziellen probiotischen Produkt und untersuchten die Auswirkung dieser Stämme auf das Wachstum von *Salmonella* Enteritidis Stamm IFO3313 in einer Zellkultur. Die Ergebnisse zeigten, dass sich die *Enterococcus* Stämme hemmend auf das Wachstum von *S.* Enteritidis auswirkten, wobei dieser Effekt bei *Enterococcus faecium* vermutlich auf die Produktion von Enterocin zurückgeführt werden konnte, da das für die Enterocin Produktion zuständige Gen in dem *E.* gallinarum Stamm nicht vorhanden war. Welche inhibitorischen Substanzen bei *E. gallinarum* eine Rolle spielen, wurde in der Studie jedoch nicht geklärt.
In einer von RINKINEN et al. (2002) durchgeführten Studie wurde die Fähigkeit bestimmter probiotischer Stämme (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Lactobacillus pentosus* UK1A, *L. pentosus* SK2A, *Enterococcus faecium* M74 und *E. faecium*

SF273) zur Hemmung der Adhäsion von ausgewählten Zoonose-Erregern (*Staphylococcus intermedius*, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Clostridium perfringens* und *Campylobacter jejuni*) auf der caninen jejunalen Schleimhaut untersucht. Die Adhäsion von *C. perfringens* wurde durch die *Lactobacillus* Stämme deutlich reduziert, wobei die Haftung von *S. typhimurium* und *S. intermedius* nicht wesentlich beeinflusst wurden. Beide untersuchten Enterococcus Stämme verbesserten jedoch erheblich die Adhäsion von *Campylobacter jejuni*.

2.2.2 Gesetzliche Regelungen zur Probiotikafütterung in der Tierernährung

Der Einsatz von Probiotika in der Tierernährung wird durch die *Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung (Futterzusatzstoff-Verordnung)* gesetzlich geregelt.

Nach den Begriffsbestimmungen der Futterzusatzstoff-Verordnung sind Futtermittelzusatzstoffe solche Stoffe, Mikroorganismen oder Zubereitungen, die keine Futtermittelausgangserzeugnisse sind und bewusst den Futtermitteln oder Wasser zugesetzt werden, um eine oder mehrere Funktionen zu erfüllen.

Die Futtermittelzusatzstoffe werden je nach Funktionsweise und Eigenschaften einer oder mehreren Kategorien zugeordnet:

- technologische Zusatzstoffe: Stoffe, die den Futtermitteln aus technologischen Gründen zugesetzt werden;
- sensorische Zusatzstoffe: Stoffe, die nach der Zugabe zu einem Futtermittel, die organoleptischen Eigenschaften dieses Futtermittels bzw. die optischen Eigenschaften der aus den Tieren gewonnenen Lebensmittel verbessert oder verändert;
- ernährungsphysiologische Zusatzstoffe
- zootechnische Zusatzstoffe: Zusatzstoffe, welche die Leistung von gesunden Tieren oder die Auswirkungen auf die Umwelt positiv beeinflussen sollen.

Innerhalb dieser Kategorien werden die Futtermittelzusatzstoffe entsprechend ihrer Hauptfunktion einer oder mehreren sogenannten Funktionsgruppen wie z.B. Konservierungsmittel, Farbstoffe, Verdaulichkeitsförderer zugeordnet. Probiotika werden als "mikrobielle Zusatzstoffe zur Stabilisierung der Darmflora" bezeichnet. Sie dienen also der Erhaltung und Wiederherstellung der Eubiose, d.h. des ausgewogenen Gleichgewichtszustandes zwischen Magen-Darm-Flora und Wirtsorganismus.

Die zugelassenen Zusatzstoffe sind in dem Gemeinschaftsregister der Futtermittelzusatzstoffe gemäß der *Verordnung 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung* aufgelistet und werden ständig aktualisiert.
Die aktuellste Ausgabe des Registers ist vom 20. Dezember 2007. Die in der EU derzeit zugelassenen Probiotika sind in der Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Zugelassene Probiotika in der Tierernährung in der EU (Dezember 2007)

Spezies	Stamm	Tierart*
Enterococcus faecium	NCIMB 10415	**Ferkel, Sau, Mastschwein,** Kälber, Masthähnchen
	DSM 10663/NCIMB 10415	**Ferkel,** Kälber, Masthähnchen, Mastputen, Hunde
	NCIMB 11181	**Ferkel,** Kälber, Masthähnchen
	CECT 4515	Ferkel, Kälber, Masthähnchen
	DSM 7134	**Mastschweine, Ferkel, Sau,** Masthähnchen, Mastkälber, Kälber
	DSM 3530	**Sau,** Masthähnchen
Bacillus cereus var. toyoi	NCIMB 40112/CNCM I-1012	**Mastschweine, Ferkel, Sau,** Masthähnchen, Mastkaninchen, Mastkälber, Kälber, Zuchtziegenböcke, Legehennen
Pediococcus acidilactici	CNCM MA 18/5M	**Mastschwein,** Masthähnchen
Lactobacillus acidophilus	D2/CSL CECT 4529	Legehennen
	DSM 13241	Hunde und Katzen
Saccharomyces cerevisiae	NCYC Sc 47	**Sau, Ferkel,** Kaninchen, Kühe, Mastlämmer,
	CNCM I-1079	**Sau**
	CNCM I-1077	**Mastschweine,** Kühe, Mastkälber
	CBS 493.94	**Ferkel,** Kälber, Mastkälber, Kühe
	MUCL 39885	**Ferkel,** Mastkälber, Kühe
Klyveromyces marxianus	Var. lactisK1 BCCM/Mucl 39434	Kühe
	-fragilis B0399 MUCL 41579	**Ferkel**
Bacillus subtilus	C-3102 (DSM 15544)	Masthähnchen
	DSM 17299 (O35)	Masthähnchen
Lactobacillus farciminis	CNCM MA 67/4R	**Ferkel,** Mastputen, Masthähnchen, Legehennen
Enterococcus faecium	ATTC 53519 + 55593	Masthähnchen
Enterococcus faecium + Lactobacillus rhamnosus	DSM 7134 + DSM 7133	**Ferkel,** Kälber
Bacillus licheniformis + Bacillus subtilis	DSM 5749 + DSM 5750	**Mastschweine, Ferkel, Sau,** Kälber, Mastputen,

* verschiedene Kategorien der Rasse Schwein sind fett markiert

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Allgemeiner Versuchsaufbau

Die tierexperimentellen Untersuchungen bestanden aus zehn analog verlaufenden, zeitlich versetzten Versuchen. Es wurden sowohl mit der Probiotikagruppe (Zusatzfütterung mit *Enterococcus faecium*) als auch mit der Kontrollgruppe (keine Zusatzfütterung) jeweils fünf Versuche durchgeführt.

Pro Versuch wurden die Ferkel aus jeweils einem Wurf (6-10 Tiere) einen Tag nach dem Absetzen eingestallt und mit dem Infektionstamm *Salmonella* Typhimurium DT104 infiziert. Während einer Beobachtungszeit von 28 Tagen wurde der klinische Verlauf beobachtet und in regelmäßigen Abständen Kot- und Blutproben gesammelt, wobei die Kotproben kulturell, qualitativ und quantitativ und die Blutproben serologisch auf *S.* Typhimurium DT104 untersucht wurden.

Nach 3, 24 und 72 Stunden p.i. wurden jeweils zwei Tiere und 28 Tage p.i. die übrigen Tiere (je nach Wurfgrösse) getötet und zehn Organproben entnommen. Die Organproben wurden ebenfalls kulturell, qualitativ und quantitativ auf Salmonellen untersucht.

3.2 Versuchstiere

3.2.1 Herkunft der Schweine

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 4 Wochen alte Absetzferkel der Hybridrasse (Piretrain x Euroc). Die Tiere stammten aus dem Institut für Tierernährung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Die Tiere jeder Versuchs- (Probiotikagruppe) bzw. Kontrollgruppe stammten aus jeweils einem Wurf (mit Ausnahme der vierten Probiotikagruppe, bei der ein Tier aus einem anderen Wurf stammte). Die Anzahl der Tiere für jede Gruppe ist in Tabelle 5 dargestellt. Zum Nachweis der Salmonellenfreiheit wurden nach dem Einstallen Blut- und Kotproben von jedem Tier entnommen. Sowohl die Untersuchung der Seren mittels *Salmotype® Pig STM-WCE* (LDL, Leipzig) auf *Salmonella*-Antikörper, als auch die kulturelle Untersuchung der Kotproben auf Salmonellen verlief in allen Fällen mit negativem Ergebnis.

Tabelle 5: Wurfgrösse und Anzahl getöteter Versuchstiere zu den jeweiligen Zeitpunkten der Tötung

Versuchsgruppe	Wurfgrösse	Tötung 3h p.i.	Tötung 24h p.i.	Tötung 72h p.i.	Tötung 28d p.i.
Probiotikagruppe 1	10	2	2	2	4
Probiotikagruppe 2	10	2	2	2	4
Probiotikagruppe 3	8	2	2	2	2
Probiotikagruppe 4	8+1	2	2	2	3
Probiotikagruppe 5	6	2	2	2	0
Gesamt	**43**	**10**	**10**	**10**	**13**
Kontrollgruppe 1	9	2	2	2	3
Kontrollgruppe 2	10	2	2	2	4
Kontrollgruppe 3	8	2	2	2	2
Kontrollgruppe 4	9	2	2	2	3
Kontrollgruppe 5	10	2	2	2	4
Gesamt	**46**	**10**	**10**	**10**	**16**

3.2.2 Transport, Unterbringung und Fütterung der Schweine

Die Ferkel wurden aus der Domäne Dahlem (Freie Universität Berlin) in einem desinfizierten Anhänger in das Bundesinstitut für Risikobewertung transportiert und dort in den klimatisierten Versuchstierstall (S2) des Zentrums für Experimentelle Tierhaltung verbracht.
Die Fütterung der Ferkel in der Kontrollgruppe erfolgte auf der Grundlage von Weizen- und Sojabohnenmehl. Die Zusammensetzung des Futters ist im Anhang dargestellt.
Die Tiere der Probiotikagruppe erhielten zum selben Futter zusätzlich den probiotischen Stamm *Enterococcus faecium* NCIMB 10415. Der Stamm wurde in einem verkapselten Form des in der EU zugelassenen probiotischen Futterzusatzstoffes Cylactin LBC ME10 (Cerbios Pharma-, Charg-Nr. C00020-P00009 & C00013-P00006 & C00001, Barbengo, Schweiz), vor der Fütterung mit dem Futter vermischt. Die Konzentration von *E. faecium* NCIMB 10415 im Futter betrug 2,0 (± 0,4) x 10^5 lebensfähige Zellen / g Futter.

3.2.3 Infektionsstamm, Infektion der Tiere

Bei dem Infektionsstamm handelte es sich um den multiresistenten *S.* Ttyphimurium Stamm (DT104), der zusätzlich mit Nalidixinsäureresistenz und einer plasmidgebundenen GFP-Markierung versehen wurde. Das Plasmid (pFVP25.1) trägt zusätzlich das Kanamycin Resistenzgen *aph.* Das Feldisolat wurde aus klinisch infizierten Schweinen isoliert und wurde aus der Stammsammlung des Instituts für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt.

Die Nalidixinsäureresistenz dieses Stammes wurde im nationalen Referenzlabor für Salmonellen des Bundesinstitutes für Risikobewertung erzeugt (Laboridentifikation des Stammes: BB 440). Hierfür wurde Luria-Bertani (LB) Vollmediumagar (1.10690, Merck) mit 50µl/ml Nalidixinsäurezusatz (Serva) hergestellt und mit einem Nalidixinsäure-resistenten und mit –sensiblen Keim getestet. Der multiresistente *Salmonella* Typhimurium DT104 Stamm wurde über Nacht bei hoher Schüttelfrequenz in 10ml LB-Vollmedium Lösung geschüttelt. Aus der Anreicherung wurden am nächsten Tag je 100µl auf 10 LB-Vollmediumagarplatten mit Nalidixinsäurezusatz ausgespatelt. Die Platten wurden bei 37°C über Nacht bebrütet. Bei einer spontanen Mutationsrate von $1/10^9$ oder $1/10^{10}$ bestand die Wahrscheinlichkeit, nach der Inkubation 1 bis 4 Kolonien der resistenten Mutante zu finden. Diese Kolonien wurden auf LB-Vollmediumagar mit Nalidixinsäurezusatz ausgestrichen und bei 37°C über Nacht bebrütet. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die nalidixinsäureresistente Mutante wurde mit dem Ausgangsstamm (*S.* Typhimurium DT104) molekularbiologisch (PCR) und serologisch (Agglutination) verglichen.
Die plasmidgebundene GFP-Markierung wurde in dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin durchgeführt (Laboridentifikation des Stammes: BB 441).

Der Infektionsstamm wurde ein Tag vor dem Infektionsversuch als Starterkultur in 5ml Luria-Bertani (LB) Vollmediumsbouillon (110285, Merck, Darmstadt) über Nacht bei 37°C angesetzt. Am Tag der Infektion wurden 100ml LB-Vollmediumsbouillon mit 1ml der Starterkultur beimpft. Diese Schüttelkultur wurde kontinuierlich in einem Schüttelgerät (Model G25, New Brunswick Scientific Co. Inc., New Jersey) geschüttelt und in regelmäßigen Zeitabständen anhand einer Eichkurve mit einem Klett-Trübungsgerät (Klett Summerson Photoelectric Calorimeter, A.H.Thomas Company, Philadelphia) untersucht. Nach einer dreieinhalbstündigen Schüttelzeit wurde ein Klett-Wert von 80 gemessen, der etwa einer Keimzahl von $1x10^9$ KBE/ml entspricht. Die genaue Keimzahl für die jeweilige Fütterungsgruppe wurde mittels Spiralplattenverfahren bestimmt und ist in der Tabelle 6 dargestellt. Aus dieser Suspension (Klett-Wert 80) wurden 10ml-Spritzen (1/Tier) mit je 1ml aufgezogen und um die weitere Vermehrung der Keime zu verhindern, im Kühlschrank bis zur Infektion gelagert. Unmittelbar vor dem Verabreichen des Inokulums an die Versuchstiere wurden die zehn 1ml Suspensionsportionen mit je 9ml auf 37°C vorgewärmtem 1% gepufferten Peptonwasser (107228, Merck, Darmstadt) aufgefüllt.

Tabelle 6: Verwendete Infektionsdosis in den einzelnen Fütterungsgruppen

Versuchsgruppe	Infektionsdosis
Probiotikagruppe 1	5,3 x 10^9 KbE/Tier (log 9,72)
Probiotikagruppe 2	8,4 x 10^9 KbE/Tier (log 9,92)
Probiotikagruppe 3	6,8 x 10^9 KbE/Tier (log 9,83)
Probiotikagruppe 4	7,7 x 10^9 KbE/Tier (log 9,88)
Probiotikagruppe 5	7,4 x 10^9 KbE/Tier (log 9,86)
Kontrollgruppe 1	6,2 x 10^9 KbE/Tier (log 9,79)
Kontrollgruppe 2	6,8 x 10^9 KbE/Tier (log 9,83)
Kontrollgruppe 3	7,8 x 10^9 KbE/Tier (log 9,89)
Kontrollgruppe 4	8,8 x 10^9 KbE/Tier (log 9,94)
Kontrollgruppe 5	9,0 x 10^9 KbE/Tier (log 9,54)

Die Infektion wurde unmittelbar nach dem Transport der Tiere in dem voll klimatisierten Versuchstierstall des Zentrums für Experimentelle Tierhaltung des Bundesinstituts für Risikobewertung vorgenommen. Das Inokulum wurde den Ferkeln in einem Infektionsstand in Bauchlage über eine Ernährungssonde (Fa. Rüsch, Kernen) verabreicht (Abbildung 1). Die Sonden wurden mit je 5ml 1% gepuffertem Peptonwasser (107228, Merck) nachgespült. Vor dem Eingriff wurden die Tiere mit dem Sedativum Stressnil® (Wirksoff: Azaperon, 40mg/ml, Jannsen-Cilag) mit einer Dosis von 1ml/Tier sediert.

Abbildung 1: Infektion eines Ferkels mit *Salmonella* Typhimurium DT104 via Magenschlundsonde

3.2.4 Klinische Untersuchungen

Nach der experimentellen Infektion erfolgte eine Beurteilung des Allgemeinzustandes der Ferkel nach dem allgemeinen Untersuchungsgang für Säugetiere, insbesondere im Hinblick auf Allgemeinverhalten, Gewicht, Wasser- und Futteraufnahme, Körpertemperatur, Erbrechen, Kotkonsistenz und Atmung. Zur Klassifizierung der Kotbeschaffenheit wurde ein in Tabelle 7 dargestelltes Schema entwickelt.

Tabelle 7: Klassifizierung der Kotbeschaffenheit

Kategorie	Eigenschafften
1	Absetzferkelkot, hart, körnig
2	geformt, hart
3	geformt, weich
4	breiig
5	flüssig-breiig
6	flüssig-wässrig

3.2.5 Tötung der Tiere

Die Tiere wurden unmittelbar vor der Sektion mit Ursotamin® (Wirkstoff: Ketamin-Hydrochlorid, 150mg/ml, Serumwerk, Bernburg) und Stresnil® (Wirkstoff: Azaperon, 40mg/ml, Jannsen-Cilag) sediert. Die Tötung erfolgte daraufhin auf dem Sektionstisch mittels intraperitonealer Verabreichung von Eutha® 77 (Wirkstoff: Pentobarbitalum natricum, 400 mg/ml, Essex).

3.3 Probenmaterial und - entnahme

Für die bakteriologischen und serologischen Untersuchungen wurden Kotproben (*intra vitam*) und Gewebeproben (*post mortem*) bzw. Blutproben (*intra vitam* und *post mortem*) von jedem Schwein entnommen.

3.3.1 Kotproben

Die Kotproben wurden die erste Woche p.i. täglich und in den weiteren drei Wochen p.i. zweimal pro Woche genommen. Die Entnahme erfolgte rektal in einer Menge von 10g Kot/Probe. Als Probengefäße dienten Kotröhrchen (Heiland; Hamburg). Die Kotproben wurden unmittelbar nach der Probennahme untersucht.

3.3.2 Blutproben

Die Blutproben wurden unmittelbar vor der Infektion, nach der Einstallung der Tiere und anschließend alle sieben Tage p.i. genommen. Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der *Vena jugularis* in Rückenlage der Tiere. Als Probengefäße dienten Vacuetten ® (Greiner, Frickhausen). Die Serumgewinnung erfolgte nach einer 24-stündigen Lagerung bei 4°C durch Zentrifugation für 10 Minuten bei 3000 x g. Im Anschluss daran wurde das Blutserum als Überstand abpipettiert und in Cryo.s® Röhrchen (Greiner, Frickhausen) bei -20°C gelagert.

3.3.3 Gewebeproben

Die Sektion wurde in der Pathologie des Zentrums für Experimentelle Tierhaltung des Bundesinstituts für Risikobewertung durchgeführt. Es wurden 10 Gewebeproben pro Tier entnommen (Tabelle 8) und in sterile Glaspetrischalen verbracht. Anschließend wurden die Proben für den kulturellen Salmonellennachweis ins Labor gebracht.

Tabelle 8: Gewebeproben zur kulturellen Untersuchungen von *Salmonella* Typhimurium DT104

Nr.	Gewebeproben
1	Tonsille (Tonsilla veli palatini)
2	Mandibularlymphknoten (Lnn. mandibulares)
3	Dickdarm (Colon descendens)
4	Dünndarmlymphknoten (Lnn. jejunales)
5	Leber
6	Milz
7	Niere
8	Vorderbeinmuskulatur (M. flexor digitalis superficialis)
9	Hinterbeinmuskulatur (M. semimembranosus)
10	Zwerchfellpfeiler (Diaphragma; Pars lumbalis)

3.4 Methoden

3.4.1 Bakteriologische Untersuchungen

Die bakteriologische Untersuchung der Kot- und Gewebeproben erfolgte nach dem Anhang D der EN ISO 6579:2002/A1: 2007.

Die Kot- und Gewebeproben (Tabelle 8) wurden steril entnommen, zerkleinert und in einem Stomacherbeutel (Seward, London, UK) mit 1% Peptonwasser (107228, Merck) in einer 1:10 Verdünnung eingewogen. Angestrebt wurde eine Einwage von 10g, verdünnt mit 90ml 1% Peptonwasser. Anschliessend wurde die Einwaage 2 Minuten lang bei höchster Stufe im Stomacher 400 (Seward, London, UK) homogenisiert. Aus dieser homogenisierten Lösung wurde eine abfallende logarithmische Verdünnungsreihe hergestellt, bei den wöchentlichen entnommenen Kotproben bis zur Verdünnungsstufe 10^{-8} und bei den während der Sektion anfallenden Kot- und Gewebeproben bis zur Stufe 10^{-5}.

3.4.1.1 Qualitativer Nachweis der Salmonellen

Für die bakteriologische, qualitative Untersuchung der Kot- und Gewebsproben auf *Salmonella* Typhimurium wurde für die nicht selektive Voranreicherung und als Medium für Verdünnungsreihen 1% Peptonwasser (1.12535, Merck, Darmstadt) verwendet. Als Selektivnährböden für die qualitative *Salmonella*-Diagnostik wurden das modifizierte Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Agarmedim (CM900100; SR161E, Oxoid) und das Xylose-Lysine-Desoxycholat Agarmedium mit Nalydixinsäurezusatz (XLD-NAL) (P051108A, Oxoid, Hampshire, UK) eingesetzt.

Das verbleibende Homogenisat wurde in Kolben überführt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Aus dieser Voranreicherung wurden jeweils 0,1ml in 3 Tropfen auf MSRV Agarmedium aufgetragen. Die Platten wurden 72 Stunden bei 42°C bebrütet und anschließend anhand der Schwärmzone und der Farbe beurteilt. Nach 24 Stunden erfolgte eine Überimpfung aus der Schwärmzone auf XLD-NAL Agarmedium mit anschließender 24 stündiger Inkubation bei 37°C.

3.4.1.2 Quantitativer Nachweis der Salmonellen

Als Selektivnährböden für die quantitative *Salmonella*-Diagnostik diente ebenfalls das Xylose-Lysine-Desoxycholat Agarmedium mit Nalydixinsäurezusatz (XLD-NAL) (P051108A, Oxoid, Hampshire, UK).

Aus jeder Verdünnungsstufe wurden jeweils 100µl auf eine Platte XLD-NAL Agarmedium im Doppelansatz mittels WASP Spiral Plater (Whitley, UK) aufgetragen. Die Platten wurden 48 Stunden bei 37°C bebrütet und anschließend mit dem ProtoCOL 60000 (Synoptics LtD, UK) Keimzählgerät ausgewertet. Sofern Keimzahlen unter der Nachweisgrenze des Spiralplattenverfahrens (100 KBE/g) zu erwarten waren, ist bei der Kotuntersuchung parallel zum Spiralplattenverfahren ein Spatelverfahren durchgeführt worden, dessen Nachweisgrenze bei 10 KBE/g liegt.
Das Kernstück der Spiralplattenmethode ist eine präzisionsgenau gebaute Verteilungsautomatik, welche die Probenflüssigkeit auf die Oberfläche einer sich drehenden Agarplatte abgibt. Der Verteilerarm trägt die Probe in Form einer Archimedischen Spirale auf der Platte von innen nach außen fortlaufend auf. Eine kurvengesteuerte Spritze gibt ein sich kontinuierliches verringerndes Probenvolumen ab, woraus sich ein Verdünnungseffekt von bis zu 1:10.000 auf einer einzigen Platte ergibt. Nach dem Bebrüten erscheinen die Kolonien

auf der von der aufgetragenen Probe beschriebenen spiralförmigen Spur mit von innen nach außen wachsenden Abständen. Die Auswertung erfolgt ebenfalls vollautomatisch mit dem Protcoll 60000 Keimzählgerät mit einer hochauflösender Kamera und einer auf Windows™ basierenden Software. Der automatisierte Koloniezähler benutzt ein Bildanalysesystem, um Kolonien auf den undurchlässigen und transparenten Nährbodenplatten zu zählen und Kolonien auf Deckung und Größe zu analysieren.

Bei dem Spatelverfahren wird aus den hergestellten Verdünnungsreihen jeweils 1ml pro Verdünnungsstufe auf XLD-NAL-Agarmedium gegeben und in kreisender Bewegung gleichmäßig mit einem sterilen Spatel verteilt. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden bei 37°C werden die Kolonien gezählt und ein gewichteter Mittelwert aus den Kolonienzahlen der niedrigsten und nächsthöheren auswertbaren Verdünnungsstufe nach folgender Formel errechnet:

$$\hat{c} = \frac{\sum c}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0{,}1}$$

$\hat{c}$ gewichteter Mittelwert der Kolonienzahl

$\sum c$ Summe der Kolonien aller Platten die zur Berechnung herangezogen werden

n_1 Anzahl der platten der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe

n_2 Anzahl der platten der nächsthöheren Verdünnungsstufe

Die Keimzahl (KBE/g Kot) ergibt sich durch Multiplikation des $\hat{c}$-Wertes mit dem Verdünnungsfaktor.

3.4.2 Serologische Untersuchungen

Als serologisches Testsystem wurde das ELISA-Testsystem, *Salmotype® Pig STM-WCE* (LDL, Leipzig) eingesetzt. Dieses Testsystem ermöglicht einen isotypischen Nachweis von Anti-*Salmonella* Typhimurium-Antikörpern in Schweineseren. Das Testsystem enthält alle dafür benötigten Reagenzien. Laut Anleitung zum Testkit ist eine Log_2-Titration für jede Serum- und Kontrollprobe vorzunehmen, um konkrete Aussagen zur Dynamik der Immunantwort nach Infektion und/oder Impfung und zur Menge der produzierten Antikörper treffen zu können. Die Auswertung basiert auf einer Software mittels Referenzstandard-Methode. Es wurden entsprechend den untersuchten Isotypen (IgA, IgM, IgG) drei Mikrotiterplatten verwendet, die mit einem Vollzelllysat-Antigen beschichtet sind. Das Antigen bindet während der ersten Inkubationszeit die *Salmonella*-Typhimurium-spezifischen Antikörper. Es wurden 200µl Serum in einer Verdünnung (in Pufferlösung) von 1:100 (IgM, IgG) bzw. 1:50 (IgA) in die Reihen A und E der der Mikrotiterplatten aufgetragen. Die weiteren Reihen der Mikrotiterplatte wurden mit je 100µl Puffer versehen. Danach erfolgte eine vertikale log_2 Titration von den Reihen A und E, so dass am Ende des Verfahrens die Kontroll- und die Serumproben in vier log_2 Titrationsstufen vorlagen. Anschließend wurden die Mikrotiterplatten 90 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Die nicht gebundenen Antikörper und andere Serumbestandteile wurden nach der Inkubationsphase in einem dreifachen Waschvorgang mit 300µl Puffer pro Vertiefung herausgewaschen. Im nächsten Schritt wurden (100µl pro Vertiefung) klassenspezifische Detektionsantikörper-Enzym-Konjugate (anti-Schwein-IgA auf Mikrotiterplatte Nr. 1, anti-Schwein-IgM auf Mikrotiterplatte Nr. 2, anti-Schwein-IgG auf Mikrotiterplatte Nr. 3) aufgetragen. Nach einer Inkubationsphase von 60 Minuten bei Zimmertemperatur erfolgte ein fünffacher Waschvorgang mit 300µl Puffer pro Vertiefung. Die Visualisierung der Enzymreaktion fand durch Zugabe von Substratlösung (100µl TMB pro Vertiefung) statt. Die Reaktion wurde nach Ablauf von 10 Minuten Inkubationszeit mit einer Stopplösung unterbrochen. Unmittelbar darauf wurden die Platten mit dem Photometer MRX Mikroplatten-Leser (Dynatech, USA) bei 450nm gemessen. Die OD% Rohdaten wurden mittels der Software SalmoSoft™ (LDL, Leipzig) ausgewertet.

3.4.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde unter Anwendung der SPSS 12.0. Software (SPSS, Inc., Chicago, IL) durchgeführt. Um den Einfluss von Probiotikafütterung, Zeit nach der Infektion, des Ebers und Geschlecht auf die verschiedenen quantitativen Variablen, wie Salmonellenkonzentration im Kot und in diversen Gewebeproben zu untersuchen, wurde eine Mehr-Weg-Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Dieses Verfahren ermöglicht es, mehrere unabhängige Variable in die Berechnung miteinzubeziehen. Um eventuelle Unterschiede zwischen der Probiotika- und Kontrollgruppe an bestimmten Untersuchungstagen festzustellen, wurden die quantitativen Ergebnisse beim Vorliegen einer Normalverteilung auch mit dem Student's t-Test und bei fehlender Normalverteilung der Werte mit dem nicht parametrischen Mann-Whitney U-Test ausgewertet. Die Unterschiede zwischen der Probiotika- und Kontrollgruppe bezüglich der qualitativen Ergebnisse (Anzahl der *Salmonella*-positiven Proben) wurden für jeden Parameter mittels des Chi-Quadrat-Tests ausgewertet. Als Signifikanzniveau wurde in den Berechnungen eine Irrtumswahrscheinlichkeit von maximal 5% ($P<0,05$) angenommen.
Die Ergebnisse zu Salmonellenausscheidung und -organmanifestation, Entwicklung des Körpergewichtes sowie isotypenspezifischen Antikörperaktivitäten wurden mit Hilfe der Box-Whisker-Plots dargestellt.

4 ERGEBNISSE

4.1 Klinische Symptomatik

Die Symptome einer Salmonelleninfektion konnten sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Probiotikagruppe beobachtet werden.

4.1.1 Allgemeinverhalten

Am Tag der Einstallung zeigten die Tiere eine gesteigerte Empfindlichkeit, die mit Übererregbarkeit, Schreckhaftigkeit und Fluchtreaktionen zu beschreiben ist. Unmittelbar nach der Infektion wurde eine mittelgradige Verschlechterung des Allgemeinbefindens beobachtet, wobei die Tiere hauptsächlich schliefen. Im wachen Zustand zeigten sie einen matten, sehr apathischen Eindruck. Ab dem ersten Tag p.i. bis zum Zeitpunkt der Tötung war die Verhaltensweise aller Tiere der beiden Gruppen eher unauffällig. Die Ferkel zeigten Interesse an ihrer Umgebung, waren lebhaft, spielten und führten Rangkämpfe durch.

4.1.2 Wasser- und Futteraufnahme

Acht bis zehn Stunden p.i. konnte bei allen Tieren der Kontroll- und Probiotikagruppe die erste Wasser- und Futteraufnahme beobachtet werden. Ab dem ersten Tag p.i. war die Wasser und Futteraufnahme in den beiden Gruppen als physiologisch anzusehen.

4.1.3 Körpertemperatur

Der Vergleich der Entwicklung der Körpertemperatur in der Kontroll- und Probiotikagruppe ist in der Abbildung 2 dargestellt und zeigt zwei tendenziell ähnliche Verläufe.

Zwei Stunden vor der Infektion und unmittelbar nach der Einstallung wurden in der Kontrollgruppe Körpertemperaturen von 38,4 bis 39,9°C und in der Probiotikagruppe von 37,6 bis 39,7°C gemessen.

Zehn Stunden p.i. zeigten in der Kontrollgruppe 6% der Tiere (2/36) und in der Probiotikagruppe 9% der Tiere (3/33) erhöhte Temperaturen und Fieber über 40°C.

Der prozentuale Anteil der Tiere, die an den einzelnen Tagen erhöhte Temperaturen beziehungsweise Fieber hatten ist in der Abbildung 3 dargestellt. In der Anlage (Tabelle 23) sind die gemessenen Körpertemperaturen für alle Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe dargestellt, bei denen mindestens einmal 40°C oder höhere Körpertemperatur gemessen wurde.

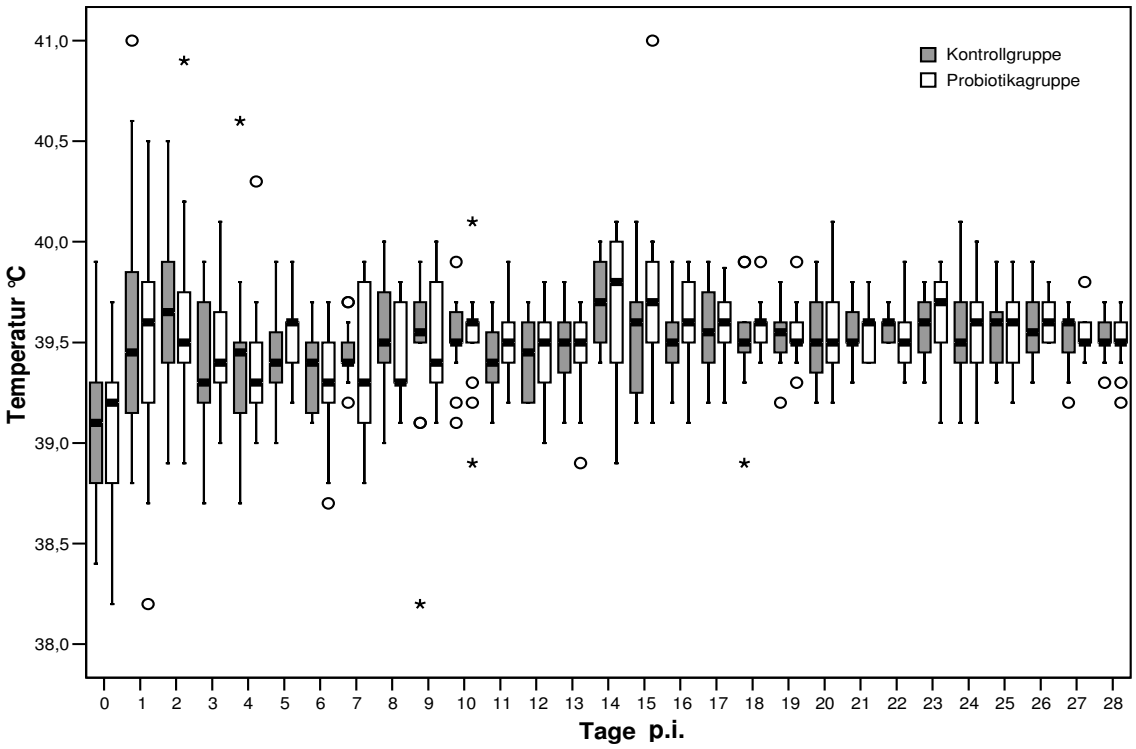

Abbildung 2: Darstellung der Entwicklung der Körpertemperatur in der Kontroll- und Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums (°Ausreißer; *Extremwerte)

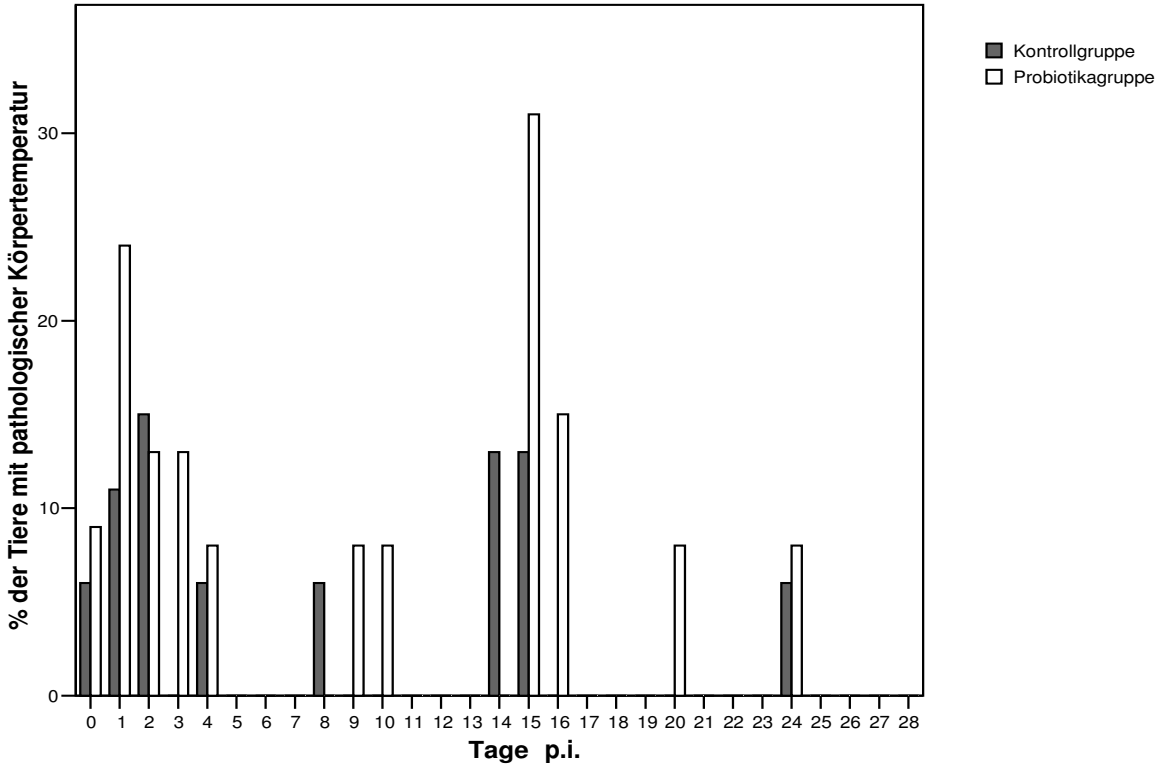

Abbildung 3: Anteil der Tiere in der Kontroll- und Probiotikagruppe, bei denen Körpertemperaturen von und über 40°C gemessen wurden.

Am ersten Tag p.i. wurden in der Kontrollgruppe bei 11% (4/36) und in der Probiotikagruppe bei 24% (8/33) der Tiere Temperaturen über 40°C gemessen, und am zweiten Tag p.i. betrug der Anteil 15% (4/26) in der Kontrollgruppe und 13% (3/23) in der Probiotikagruppe. Am dritten Tag p.i. zeigten die Tiere der Kontrollgruppe keine Abweichungen von der physiologischen Körpertemperatur, wogegen 13% (3/23) der Tiere in der Probiotikagruppe weiterhin erhöhte Körpertemperaturen aufwiesen.

Der Verlauf der Körpertemperatur über den gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen zeigt, dass insgesamt 5 der 16 Tiere (31%) in der Kontrollgruppe und 6 der 13 Tiere (46%) in der Probiotikagruppe Fieber hatten.

Mittels statistischer Untersuchung (ANOVA) konnte kein Einfluss der Fütterung auf die Entwicklung der Körpertemperatur festgestellt werden.

4.1.4 Gewicht

Sowohl in der Kontroll- als auch in der Probiotikagruppe konnte eine physiologische Entwicklung des Körperbaus bzw. des Körpergewichtes beobachtet werden. Die sehr ähnliche Gewichtzunahme der Tiere in beiden Fütterungsgruppen ist in Abbildung 4 dargestellt.

Die statistische Auswertung (ANOVA) ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Probiotika- und Kontrollgruppe.

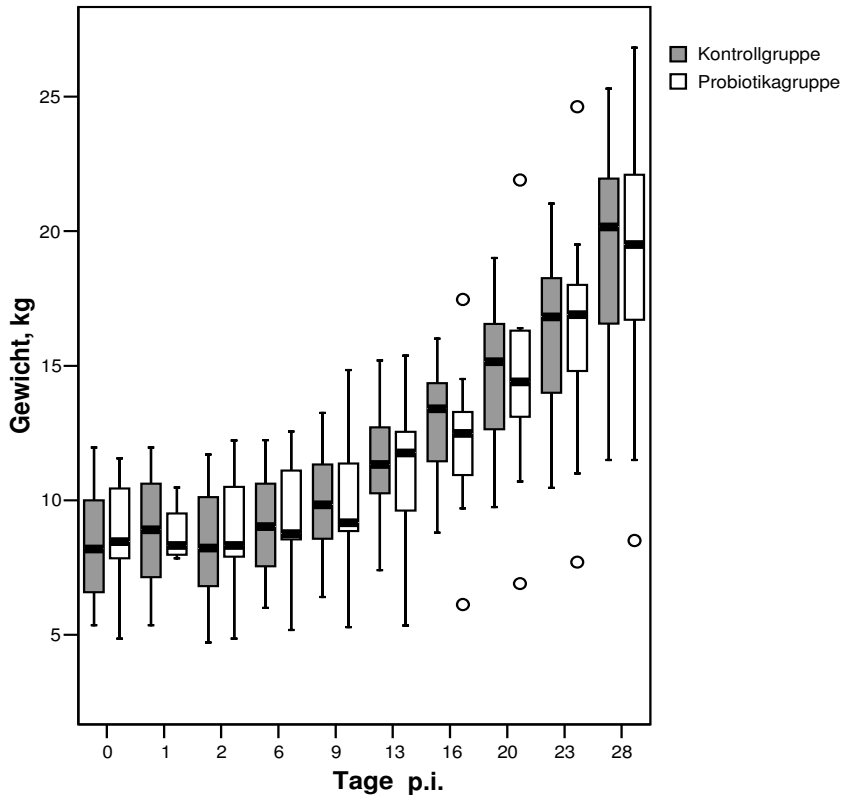

Abbildung 4: Entwicklung des Körpergewichtes während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen. Tiere, die nach 3, 24 und 72 Stunden getötet wurden, sind nicht in der Abbildung dargestellt (° Ausreißer).

4.1.5 Kotkonsistenz

Die Tiere beider Fütterungsgruppen setzten sowohl vor als auch unmittelbar nach der experimentellen Salmonellen-Infektion Kot mit physiologischer Beschaffenheit ab. Die Kotkonsistenzen variierten von hart-körnig, geformt-hart bis geformt-weich.

19% der Tiere (7/36) in der Kontrollgruppe (Abbildung 5) setzten am ersten Tag p.i. breiigen Kot ab, wohingegen in der Probiotikagruppe (Abbildung 6) 18% (6/33) der Tiere breiigen Kot absetzten und ein Tier bereits Durchfall hatte (flüssig-breiiger Kot).

Zwei Tage p.i. wiesen 35% (9/26) aus der Kontrollgruppe und 44% der Tiere (10/23) aus der Probiotikagruppe eine breiige Kotbeschaffenheit ohne weitere Anzeichen von Durchfall auf. Bis zum dritten Tag p.i. konnte bei 3% der Tiere in beiden Gruppen Durchfall beobachtet werden, wobei 6% (Kontrollgruppe) und 8% (Probiotikagruppe) der Tiere breiigen Kot absetzte.

Unter den Tieren, die über 28 Tage p.i. beobachtet wurden, zeigten 3 Tiere (N=16) in der Kontrollgruppe und ein Tier (N=13) in der Probiotikagruppe keinerlei Anzeichen einer Abweichung von der physiologischen Kotkonsistenz. Im Vergleich dazu hatten 6 Tiere in der Kontrollgruppe und 8 Tiere in der Probiotikagruppe Durchfall, der bei 50% dieser Tiere schwer verlief.

Detaillierte Angaben zur Entwicklung der Kotbeschaffenheit sind für alle Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe im Anhang (Tabelle 24 und Tabelle 25) dargestellt.

Die statistische Auswertung mittels Chi-Quadrat-Test ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Entwicklung der Kotbeschaffenheit zwischen der Probiotika- und der Kontrollgruppe.

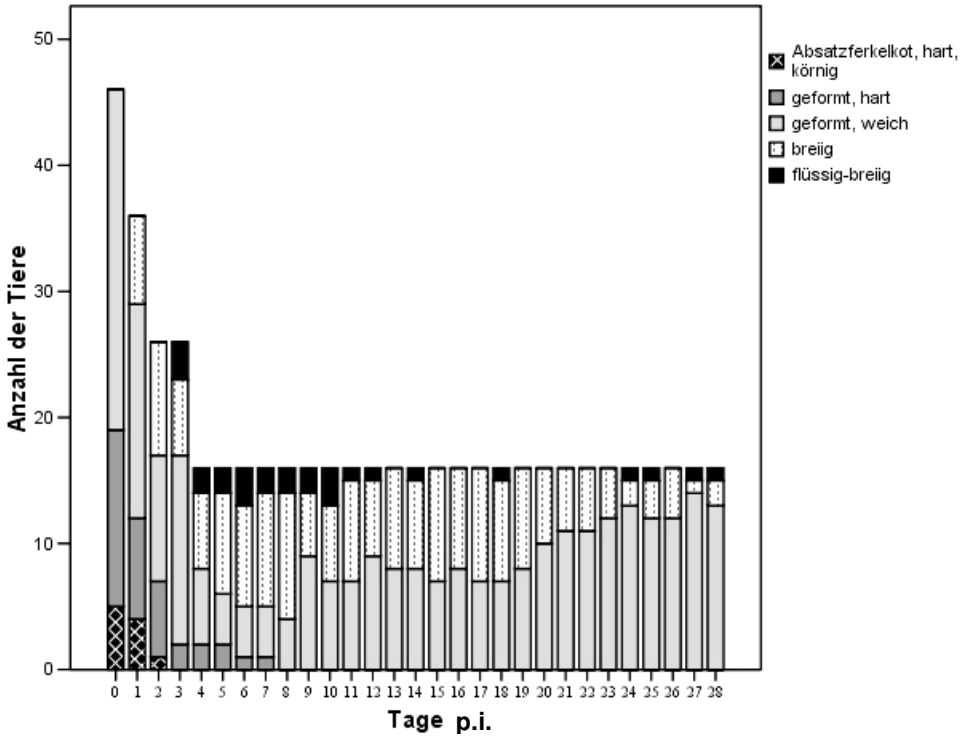

Abbildung 5: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen.

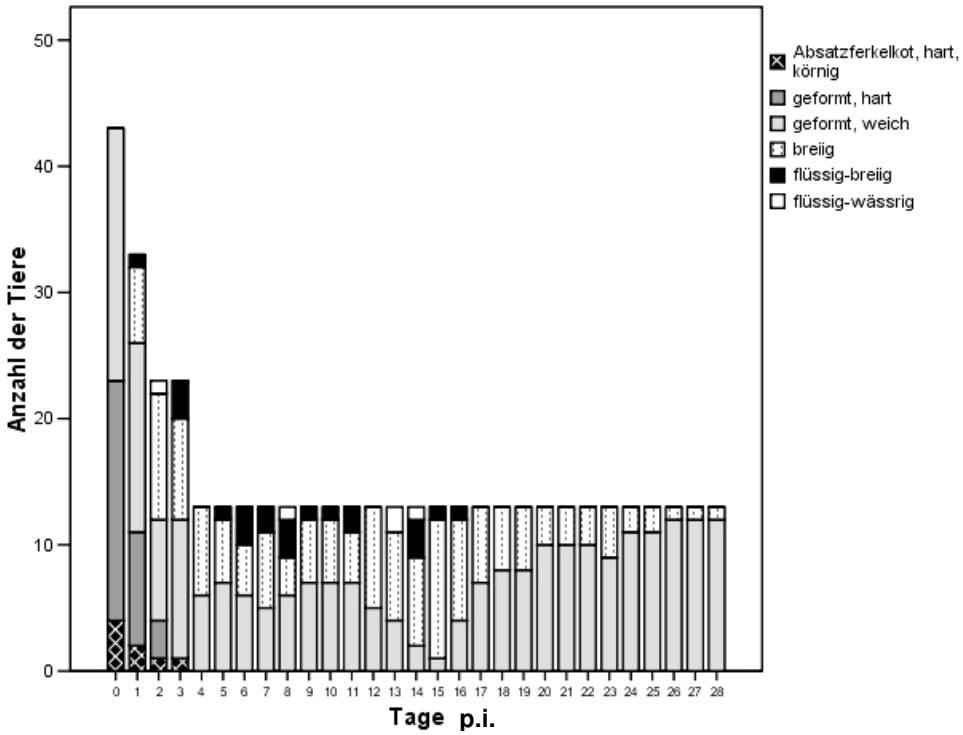

Abbildung 6: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums von 28 Tagen.

4.2 Qualitativer und quantitativer Salmonellennachweis in den Kotproben

Die Daten (KbE/g Kot) zur Ausscheidung der Salmonellen im Kot sind für die Schweine der Kontroll- und Probiotika-Gruppe aus dem Anhang (Tabelle 28 und Tabelle 29) zu entnehmen. Zum Zweck der statistischen Auswertung und Darstellung der Ergebnisse wurden die logarithmierten Werte dieser Daten verwendet.

Die Untersuchung der Kotproben, die 2 Stunden vor der Infektion genommen wurden ergab, dass alle Tiere zu diesem Zeitpunkt *Salmonella*-negativ waren. Ab dem ersten Tag p.i. bis zum Versuchsende waren alle Kotproben der Probiotikagruppe (Tabelle 26) bei der kulturellen, qualitativen Kotuntersuchung *Salmonella*-positiv, bis auf eine Probe, die am Tag 28 p.i. als negativ getestet wurde. In der Kontrollgruppe (Tabelle 27) jedoch konnten bereits am dreizehnten Tag p.i. bei 31% der Tiere (5/16) keine Salmonellen im Kot nachgewiesen werden. Diese Tendenz war für die Tiere der Kontrollgruppe auch an den Folgetagen der Untersuchung bis zum Schlachttag zu beobachten.

Der Infektionsstamm wurde bei 44% (7/16) der Ferkel in der Kontrollgruppe ab dem 13. bis 15. Tag p.i. durchgehend im Kot nachgewiesen, wobei 56% (9/16) der Tiere in den letzten zwei Beobachtungswochen durchgehend (19%) oder intermittierend als negativ getestet worden sind.

Die Ergebnisse der quantitativen Untersuchung zeigen, dass die höchste Salmonellen-Ausscheidung bei allen Tieren der beiden Fütterungsgruppen in den ersten drei Tagen p.i. erfolgte und Werte von log 3 bis log 8,1 KBE/g Kot in der Kontrollgruppe (Tabelle 28) beziehungsweise log 3 – log 7,8 KBE/g Kot in der Probiotikagruppe (Tabelle 29) erreichte.
Ab dem 4. - 5. Tag p.i. war eine kontinuierliche Abnahme der Ausscheidungsrate zu beobachten (Abbildung 7). Die in der Kontrollgruppe ermittelten *Salmonella*-Keimzahlen im Kot zeigten, dass 44% (7/16) der Tiere bereits ab dem achten Tag p.i und 88% (14/16) ab dem 13. Tag p.i. weniger als log 1 KbE/g Kot ausschieden.
In der Probiotikagruppe lagen die Werte ab dem 13. Tag p.i. bei 69% (9/13) mit < log 2,6 KbE/g Kot; 23% (3/13) der Tiere zeigten während des gesamten Versuchablaufes eine gleichmäßig erhöhte Salmonellenausscheidung, die nicht unter log 2,3 KbE/g Kot sank. Ein Tier zeigte ein ähnliches Ausscheidungsverhalten, jedoch wurden an drei Tagen (Tag 6, 8 und 15 p.i.) Werte unter log 2 KbE/g Kot gemessen.

Die statistische Analyse (Chi-Quadrat-Tests) ergab, dass die Anzahl von *Salmonella*-positiven Kotproben bei den Schweinen der Probiotika-Gruppe am 13 (p=0.048), 15 (p=0.020), 20 (p=0.020) und 22 (p=0.048) Tag p.i. signifikant höher war als bei denen der Kontrollgruppe.

Die statistische Berechnung mittels Student's t-Test zum Vergleich der quantitativen Salmonellenausscheidung zwischen der Kontroll- und der Probiotikagruppe an den einzelnen Tagen ergab ähnliche Ergebnisse. Signifikant höhere Werte wurden am 4 (p=0.040), 13 (p=0.036), 15 (p=0.001), 20 (p=0.000), 22 (p=0.019) und 28 (p=0.010) Tag p.i. für die Tiere der Probiotikagruppe im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe ermittelt.

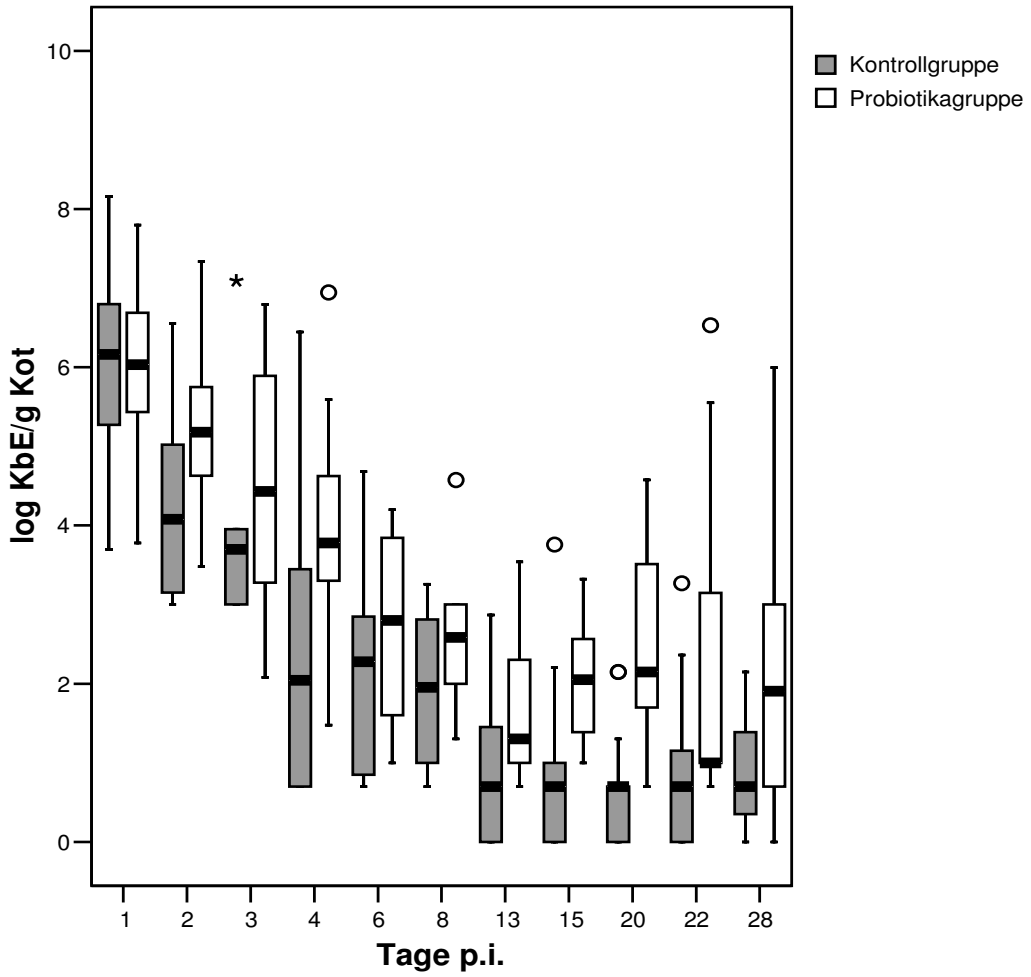

Abbildung 7: Verlauf und Vergleich der Ausscheidung von *Salmonella* Typhimurium DT104 im Kot von Tieren der Probiotika- und Kontrollgruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

4.3 Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Untersuchung der Organproben

Die ermittelten Daten (KbE/g Gewebe) zur Gewebsmanifestation der Salmonellen bei den Tieren der Probiotika- und Kontrollgruppe zu den unterschiedlichen Tötungsterminen (3, 24, 72 Stunden und 28 Tage p.i.) sind aus dem Anhang (Tabelle 30 bis Tabelle 37) zu entnehmen. Zum Zweck der statistischen Auswertung und Darstellung wurden die logarithmierten Werte dieser Daten verwendet.

4.3.1 Tonsille (Tonsilla veli palatini)

Bei allen Tieren die nach 3, 24 und 72 Stunden p.i. getötet wurden, konnte der Infektionsstamm, ungeachtet der Fütterung, in den Tonsillen nachgewiesen werden. Bereits 3 Stunden p.i. wurde eine Konzentration von log 5,7 KBE/g (Kontrollgruppe) und log 5,3 KBE/g (Probiotikagruppe) gemessen.

Bei zwei Tieren der Probiotika- und einem Tier der Kontrollgruppe konnten keine Salmonellen in den Tonsillen nach der vierwöchigen Beobachtungszeit nachgewiesen werden, wobei die Salmonellenkonzentration in den Tonsillen der anderen Tiere in den meisten Fällen zwischen log 3 und log 5 KBE/g lag.

Die mehrfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) ergab einen hochsignifikanten Einfluss ($p=0,003$) der Fütterung, wonach die Salmonellenkonzentration in den Tonsillen der Tiere aus der Probiotikagruppe signifikant höher als die der Tiere der Kontrollgruppe war. Der Vergleich der beiden Fütterungsgruppen an den einzelnen Tötungstagen mittels Student's t-Test ergab keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 9), obwohl bei der Betrachtung der grafischen Darstellung (Abbildung 8) und der p-Werte (nah an der Signifikanzgrenze nach 24 und 72 Stunden) erkennbar wird, dass die Salmonellenkonzentration in den Tonsillenproben der Probiotikagruppe tendenziell höher ist.

Tabelle 9: Zusammenfassende Darstellung der Salmonellenkonzentration (log KbE/g) in den Tonsillen der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

	Probiotikagruppe					Kontrollgruppe					t-Test
	n	**Min**	**Max**	**MW**	**s**	**n**	**Min**	**Max**	**MW**	**s**	**p-Wert**
3 Std. p.i.	10	1	5,3	3,1	1,2	10	1	5,7	2,5	1,4	0,32
24 Std. p.i.	10	2,3	5,9	3,5	1,1	10	1	4,6	2,3	1,5	0,06
72 Std. p.i.	10	1	5,2	3,5	1,7	10	1	4,6	2,3	1,1	0,07
28 d. p.i.	13	0	5,8	3,9	1,8	16	0	5,3	2,8	1,7	0,11
Gesamt	43	0	5,9	3,6	1,5	46	0	5,7	2,6	1,4	0,003 (ANOVA)

Anzahl (n); Minimum (Min); Maximum (Max); arithmetischer Mittelwert (MW); Standardabweichung (s)

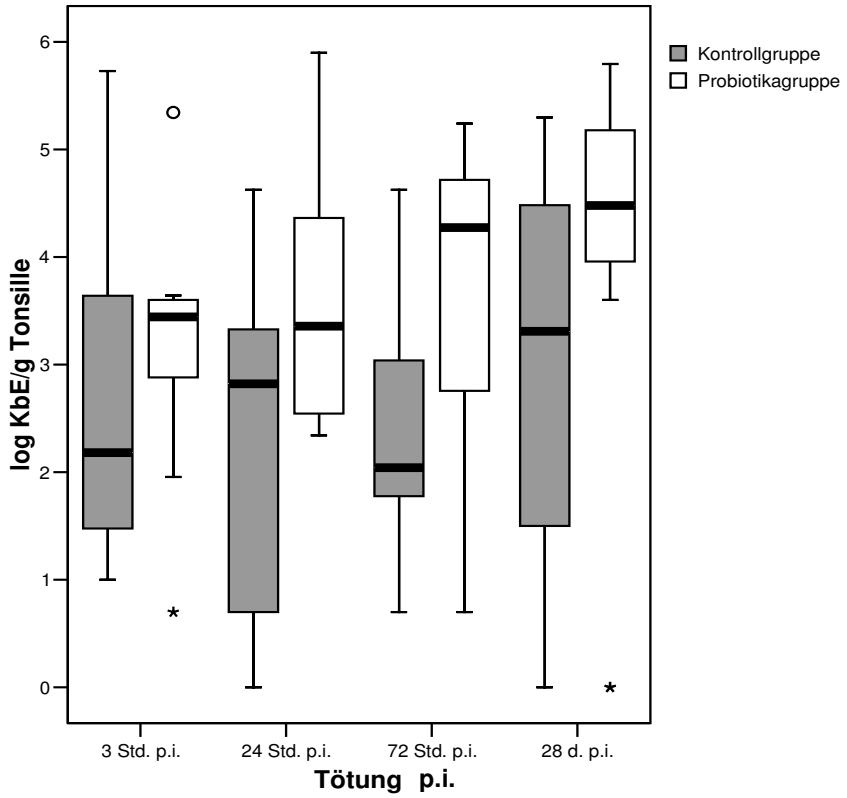

Abbildung 8: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Tonsillen zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

4.3.2 Mandibularlymphknoten

Drei Stunden p.i. konnten bei 60% (6/10) der Tiere aus der Kontrollgruppe und 50% (5/10) aus der Probiotikagruppe Salmonellen in den Mandibularlymphknoten nachgewiesen werden. Drei Tage p.i. waren 90% (9/10) der Lymphknoten der Tiere beider Fütterungsgruppen *Salmonella*-positiv. Vier Wochen p.i. konnten bei 50% (8/16) der Kontrolltiere und bei 69% (9/13) der mit dem Probiotikum gefütterten Tiere Salmonellen nachgewiesen werden. Die ermittelten Keimzahlen lagen meistens unter der Nachweisgrenze (log 1 KbE/g). Die höchsten Werte lagen bei der Kontrollgruppe bei log 2,7 KbE/g (24 h p.i.) und bei der Probiotikagruppe bei log 3,1 KbE/g (72 h p.i.). Der Vergleich des Anteils der *Salmonella*-positiven und –negativen Lymphknotenproben mittels Chi-Quadrat-Test zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Probiotika- und Kontrollgruppe (Tabelle 10).

Tabelle 10: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Mandibularlymphknoten der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Milzuntersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson
		positiv	negativ		p-Wert
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	6	4	10	0,653
	Probiotikagruppe	5	5	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	0,160
	Probiotikagruppe	8	2	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	9	1	10	1,000
	Probiotikagruppe	9	1	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	8	8	16	0,296
	Probiotikagruppe	9	4	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	28	18	46	0,263
	Probiotikagruppe	31	12	43	

4.3.3 Milz

Bei allen Tieren der Kontroll- und Probiotikagruppe konnten Salmonellen in der Milz in den meisten Fällen nur qualitativ nachgewiesen werden. Das Verhältnis der *Salmonella*-positiven und –negativen Milzproben nach Tötungszeitpunkten und Fütterungsgruppen ist der Tabelle 11 zu entnehmen. In zwei Fällen der Probiotikagruppe lag die Anzahl der Salmonellen über der quantitativen Nachweisgrenze (log 2,4 KbE/g nach 3h und log 2,6 KbE/Tier nach 24 Std.).

Die statistische Auswertung bezieht sich auf den Vergleich der qualitativen Ergebnisse, da die quantitativen Ergebnisse meistens unter log 1 KbE/g lagen und somit die Daten keine entsprechende Streuung zeigten. Obwohl der Chi-Quadrat-Test aufgrund der niedrigen Fallzahl keine signifikanten Unterschiede an den verschiedenen Tötungstagen nachweisen konnte, lassen die p-Werte (p=0,057) 24 Stunden p.i. einen deutlichen Effekt vermuten. Demnach ist die Manifestation des Infektionsstammes in der Milz der Tiere aus der Probiotikagruppe nach 24 Stunden p.i. tendenziell höher als die der Tiere der Kontrollgruppe.

Tabelle 11: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Milzproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Milzuntersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	2	8	10	0,170
	Probiotikagruppe	6	4	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	4	6	10	0,057
	Probiotikagruppe	9	1	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	1,000
	Probiotikagruppe	5	5	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	0	16	16	0,192
	Probiotikagruppe	2	11	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	11	35	46	0,009
	Probiotikagruppe	22	21	43	

4.3.4 Leber

Bei allen Tieren der beiden Fütterungsgruppen konnte der Infektionsstamm in der Leber vorwiegend nur qualitativ nachgewiesen werden (log 1 KbE/g). Das Verhältnis der *Salmonella*-positiven und –negativen Leberproben nach Tötungszeitpunkten und Fütterungsgruppen ist der Tabelle 12 zu entnehmen. In der Kontrollgruppe ließen sich 24 Sunden p.i. bei zwei Tieren (log 1,6 KbE/g) beziehungsweise 72 Stunden p.i. bei einem Tier (log 1,3 KbE/g) Salmonellen über der Nachweisgrenze erfassen. In der Probiotikagruppe lag bei je einem Tier 3 Stunden (log 1,5 KbE/g) und 24 Stunden (log 1,9 KbE/g) p.i. die Salmonellenkonzentration in den entsprechenden Proben über der Nachweisgrenze.

Die statistische Auswertung (Chi-Quadrat-Test) zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen (Tabelle 12).

Tabelle 12: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den Leberproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Leberuntersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	0,650
	Probiotikagruppe	7	3	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	6	4	10	0,303
	Probiotikagruppe	9	1	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	8	2	10	1,000
	Probiotikagruppe	8	2	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	3	13	16	1,000
	Probiotikagruppe	3	10	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	22	24	46	0,202
	Probiotikagruppe	27	16	43	

4.3.5 Niere

An den ersten drei Tötungsterminen wiesen in der Kontrollgruppe 60-80% und in der Probiotikagruppe 50-80% der Tiere Salmonellen in der Niere auf, wobei 28 Tage p.i. in der Kontrollgruppe bei 10% (1/10) und in der Probiotikagruppe bei 30% (3/10) der Tiere Salmonellen in den Nieren nachgewiesen werden konnte. 28 Tage p.i. lag der Anteil der positiven Proben in der Kontrollgruppe bei 6,5% (1/16) und in der Probiotikagruppe bei 23% (3/13) (Tabelle 13).

Tabelle 13: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises der Nierenproben der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Nierenuntersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	6	4	10	0,628
	Probiotikagruppe	8	2	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	7	3	10	1,000
	Probiotikagruppe	8	2	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	8	2	10	0,350
	Probiotikagruppe	5	5	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	1	15	16	0,299
	Probiotikagruppe	3	10	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	22	24	46	0,526
	Probiotikagruppe	24	19	43	

Die höchste Salmonellenkonzentration wurde in der Probiotikagruppe 3 Stunden p.i. (lg 2,4 KbE/g) und in der Kontrollgruppe 24 Stunden p.i. (lg 2,6 KbE/g) festgestellt (Abbildung 9), wobei 24 Stunden p.i. ein quantitativer Salmonellennachweis bei 60% (6/10) der Tiere aus der Probiotikagruppe und 30% (3/10) aus der Kontrollgruppe möglich war.

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels ANOVA (p=0,206), Student's t-Test und Chi-Quadrat zeigten, dass keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Salmonellennachweises in der Niere zwischen den Tieren der beiden Fütterungsgruppen gab.

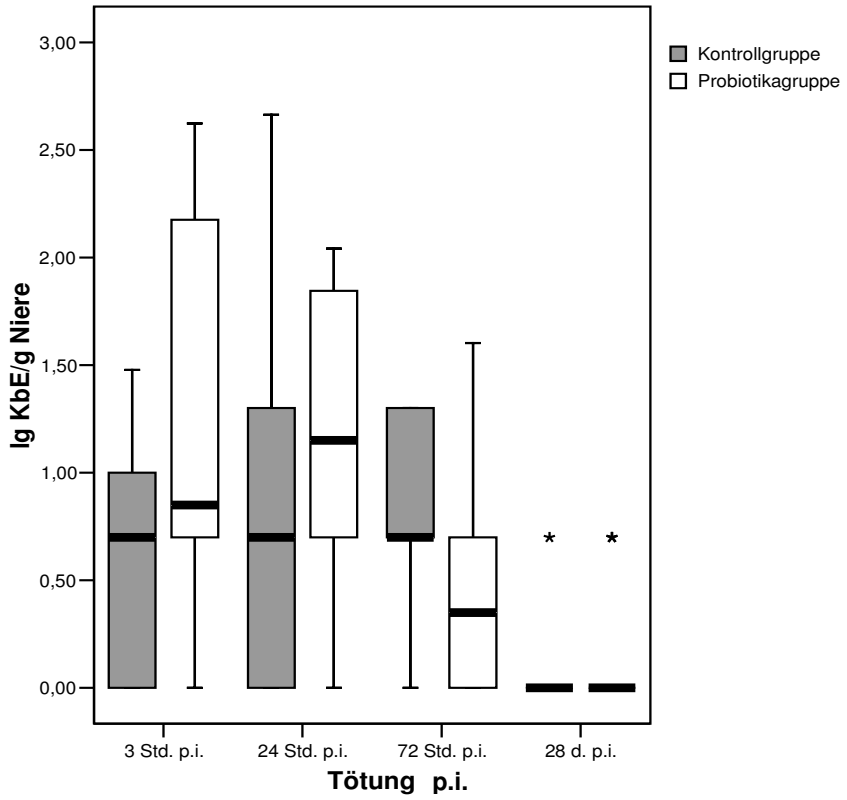

Abbildung 9: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Nieren zu den verschiedenen Zeitpunkten der Tötung in der Kontroll- und Probiotikagruppe. (*Extremwerte).

4.3.6 Colon descendens

Der Infektionsstamm konnte bereits 3 Stunden p.i. bei 30% (3/10) der Tiere der Kontrollgruppe und bei 80% (8/10) der Tiere der Probiotikagruppe nachgewiesen werden. Sowohl 24 als auch 72 Stunden p.i. wurden alle Darmgewebeproben beider Fütterungsgruppen positiv auf Salmonellen getestet. Nach der vierwöchigen Beobachtungszeit waren die Darmproben bei 50% (8/16) der Kontrolltiere und 69% (9/13) der Probiotikatiere *Salmonella*-positiv.
Die statistische Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test zum qualitativen Salmonellennachweis im Colon descendens ergab, dass 3 Stunden p.i. der Anteil der Tiere der Probiotikagruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher war (Tabelle 14).

Tabelle 14: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus dem Gewebe des Colon descendens der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Untersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nch Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	3	7	10	0,025
	Probiotikagruppe	8	2	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	10	0	10	-
	Probiotikagruppe	10	0	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	10	0	10	-
	Probiotikagruppe	10	0	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	7	9	16	0,170
	Probiotikagruppe	9	4	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	30	16	46	0,023
	Probiotikagruppe	37	6	43	

Die Ergebnisse der quantitativen Untersuchung zum Salmonellennachweis im Colon descendens sind in der Abbildung 10 dargestellt. Danch konnte die höchste Manifestation von Salmonellen in beiden Fütterungsgruppen 24 und 72 Stunden p.i. nachgewiesen werden.

Der Vergleich zum quantitativen Salmonellennachweises im Darmgewebe der beiden Fütterungsgruppen an den einzelnen Tötungstagen wurde mit dem nicht parametrischen Mann-Whitney U-Test durchgeführt. Ein signifikant höherer Nachweis von Salmonellen ließ sich 3 Stunden p.i. bei den Tieren der Probiotikagruppe (p=0,045) feststellen. Der

Unterschied nach 24 Stunden p.i. lag mit einem p-Wert von 0,063 nah an die Signifikanzgrenze.

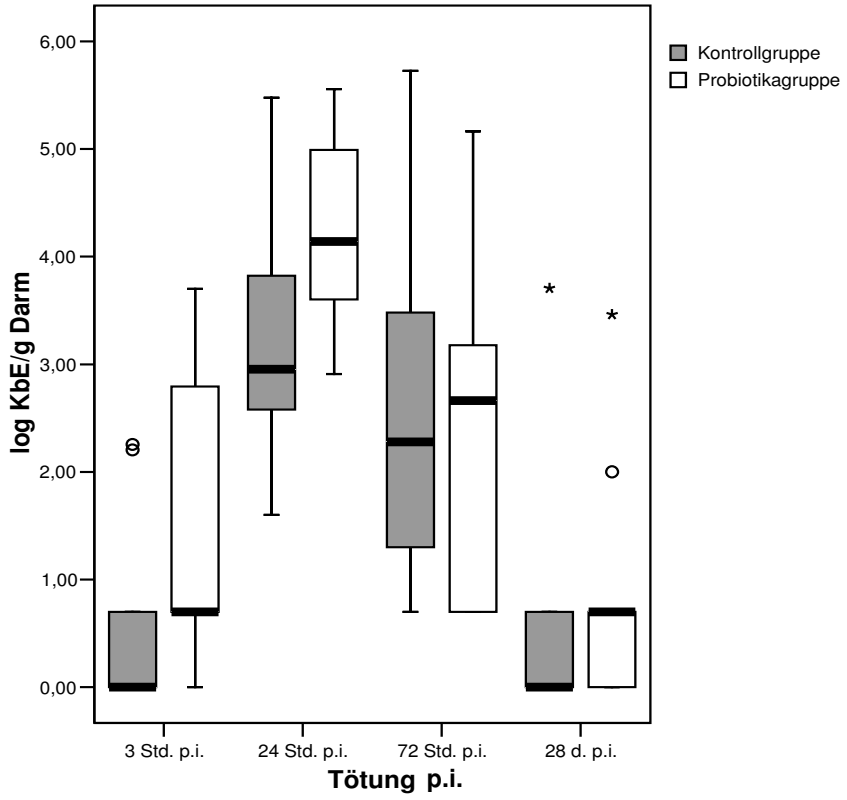

Abbildung 10: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 im Colon descendens zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

4.3.7 Jejunallymphknoten (Lnn. jejunales)

Der qualitative Salmonellennachweis in den Jejunallymphknoten ergab, dass 3 Stunden p.i. bei 60% (6/10) der Tiere der Kontrollgruppe und 90% (9/10) der Tiere in der Probiotikagruppe der Infektionsstamm nachgewiesen werden konnte. Ähnlich wie bei den Darmproben aus dem Colon descendens wurden auch die Jejunallymphknoten beider Fütterungsgruppen sowohl 24 als auch 72 Stunden p.i. positiv auf Salmonellen getestet. Nach der vierwöchigen Beobachtungszeit waren die Lymphknoten bei 50% (8/16) der Tiere der Kontrollgruppe und 69% (9/13) der Probiotikagruppe *Salmonella*–positiv (Tabelle 15).

Tabelle 15: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus den jejunalen Lymphknoten der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Untersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	6	4	10	0,121
	Probiotikagruppe	9	1	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	10	-	10	-
	Probiotikagruppe	10	-	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	10	-	10	-
	Probiotikagruppe	10	-	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	8	8	16	0,296
	Probiotikagruppe	9	4	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	34	12	46	0,083
	Probiotikagruppe	38	5	43	

Die Ergebnisse der quantitativen Untersuchung ist in der Abbildung 11 zusammengefasst. Danach konnten die höchsten quantitativen Werte für die Manifestation der Salmonellen in den Jejunallymphknoten 24 und 72 Stunden p.i. nachgewiesen werden.

Die statistische Auswertung (ANOVA, Chi-Quadrat-Test, Student's t-Test) zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontroll- und Probiotikagruppe bezüglich der Salmonellenmanifestation in den Jejunallymphknoten.

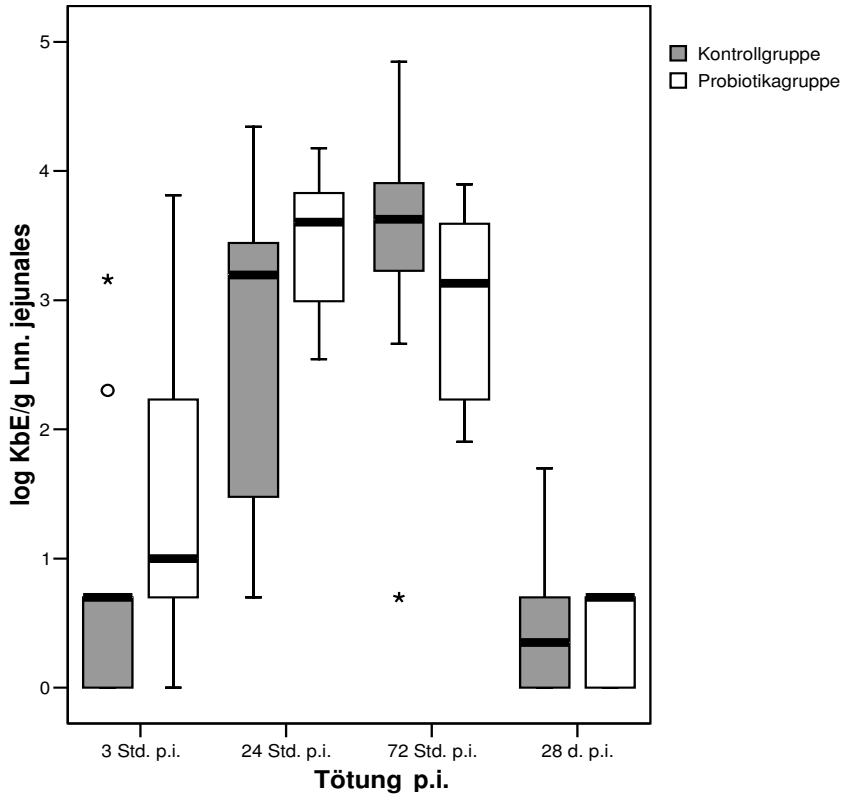

Abbildung 11: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Jejunallymphknoten zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

4.3.8 Muskulatur

4.3.8.1 Vorderbein (*M. flexor digitalis superficialis*)

Bei den Tieren der Kontroll- und Probiotikagruppe konnten Salmonellen in der Vorderbeinmuskulatur vorwiegend nur qualitativ nachgewiesen werden (Tabelle 16). Die Muskelproben der Tiere der Probiotikagruppe waren zu 70% (8/10) *Salmonella*-positiv, die entsprechenden Proben der Kontrollgruppe hingegen zu 30% (3/10). Quantitative Ergebnisse waren in der Kontrollgruppe bei zwei Tieren jeweils 24 Stunden p.i. (log 1,6 KbE/g) und 72 Stunden p.i. (log 2,2 KbE/g) messbar. In der Probiotikagruppe ließen sich quantitativ die Salmonellen 3 Stunden p.i. bei drei Tieren mit einem Höchstwert von log 2,2

KbE/g, 24 Stunden p.i. bei zwei Tieren (Höchstwert: log 2,0 KbE/g) und 72 Stunden p.i. ebenfalls bei zwei Tieren (Höchstwert: log 2,4 KbE/g) nachweisen.

Tabelle 16: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Muskulatur des Vorderbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Untersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	3	7	10	0,070
	Probiotikagruppe	8	2	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	4	6	10	0,656
	Probiotikagruppe	6	4	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	1,000
	Probiotikagruppe	4	6	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	3	13	16	0,406
	Probiotikagruppe	5	8	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	15	31	46	0,056
	Probiotikagruppe	23	20	43	

Die Auswertung der qualitativen Ergebnisse mittels Chi-Quadrat-Test (Tabelle 16) ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Probiotika- und Kontrollgruppe.

Da die meisten quantitativen Ergebnisse bei ≤ log 1 KbE/g lagen, wurde die statistische Auswertung mittels eines nicht parametrischen Testes (Mann-Whitney U-Test) durchgeführt. Es zeigte sich (Tabelle 17), dass die Salmonellenkonzentration in den Muskelproben des Vorderbeins in der Probiotikagruppe 3 Stunden p.i. signifikant höher war als in der Kontrollgruppe (p=0,015).

Tabelle 17: Zusammenfassende Darstellung der Salmonellenkonzentration (KbE/g) in der Muskulatur des Vorderbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

	Probiotikagruppe					Kontrollgruppe					Mann-Whitney U-Test
	n	Min	Max	MW	s	n	Min	Max	MW	s	p-Wert
3 Std. p.i.	10	0	2,9	1,0	0,9	0	0,7	0,2	0,3	0	0,015
24 Std. p.i.	10	0	2,0	0,7	0,7	0	1,6	0,4	0,6	0	0,440
72 Std. p.i.	10	0	2,4	0,5	0,8	0	2,2	0,5	0,7	0	0,866
28 d. p.i.	13	0	0,7	0,3	0,4	0	0,7	0,1	0,3	0	0,246
Gesamt	43	0	2,9	0,6	0,7	0	2,2	0,3	0,5	0	0,036

Anzahl (n); Minimum (Min); Maximum (Max); arithmetischer Mittelwert (MW); Standardabweichung (s)

Der Vergleich der quantitativen Ergebnisse ohne Berücksichtigung der Tötungstermine mittels Mann-Whitney U-Test (p=0,036) ergab, dass die Anzahl der Salmonellen in den Muskelproben der Tiere der Probiotikagruppe signifikant höher war als bei denen der Kontrollgruppe.

4.3.8.2 Hinterbein (*M. semimembranosus*)

Bei den Tieren der Kontroll- und Probiotikagruppe ließen sich Salmonellen in den meisten Fällen nur qualitativ nachweisen (Tabelle 18). Bei den Tieren der Probiotikagruppe waren 3 Stunden p.i. bereits 70% (7/10) der Proben *Salmonella*-positiv, wohingegen in der Kontrollgruppe nur 30% (3/10) der Proben entsprechend Salmonellen enthielten.
Quantitativ messbare Ergebnisse wurden in der Probiotikagruppe bei zwei Tieren 3 Stunden p.i. (log 1,7 KbE/g) und 72 Stunden p.i. (log 1,3 KbE/g) und in der Kontrollgruppe bei einem Tier, 24 Stunden p.i. (log 2,2 KbE/g) nachgewiesen.

Tabelle 18: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Muskulatur des Hinterbeines der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Untersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	3	7	10	0,179
	Probiotikagruppe	7	3	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	0,650
	Probiotikagruppe	7	3	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	0,315
	Probiotikagruppe	6	4	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	2	14	16	1,000
	Probiotikagruppe	5	8	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	15	31	46	0,020
	Probiotikagruppe	25	18	43	

Aufgrund der fehlenden quantitativen Ergebnisse wurde dazu keine statistische Auswertung durchgeführt. Obwohl die Auswertung der qualitativen Ergebnisse mittels Chi-Quadrat-Test (Tabelle 18) keine signifikanten Unterschiede zwischen der Probiotika- und Kontrollgruppe an den verschiedenen Tötungstagen ergab, lässt sich jedoch der Trend erkennen, dass die Anzahl der *Salmonella*-positiven Muskelproben in der Probiotikagruppe höher war als in der Kontrollgruppe. Ein Vergleich alle Tiere der Probiotikagruppe mit allen Tieren der Kontrollgruppe ohne Berücksichtigung der Tötungstermine mittels Chi-Quadrat-Test

(p=0,020) ergab eine signifikant höhere Anzahl der *Salmonella*-positiven Muskelproben aus dem Hinterbein in der Probiotikagruppe als in der Kontrollgruppe.

4.3.8.3 Zwerchfellpfeiler (*Diaphragma; Pars lumbalis*)

Bereits 3 Stunden p.i. konnte der Infektionsstamm bei 50% (5/10) der Tiere der Kontrollgruppe und bei 80% (8/10) der Tiere der Probiotikagruppe in der Zwerchfellmuskulatur nachgewiesen werden. In beiden Fütterungsgruppen waren 90% (9/10) der Proben 24 Stunden p.i. *Salmonella*-positiv. Nach der vierwöchigen Beobachtungszeit ließen sich in 25% (4/16) der Proben in der Kontrollgruppe und in 31% (4/13) der Proben der Probiotikagruppe Salmonellen nachweisen (Tabelle 19).

Tabelle 19: Zusammenfassende Darstellung des qualitativen Salmonellennachweises aus der Zwerchfellmuskulatur der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe

Tötung	Futter	Qualitative Untersuchung		Gesamt	Chi-Quadrat nach Pearson p-Wert
		positiv	negativ		
3 Std. p.i.	Kontrollgruppe	5	5	10	0,350
	Probiotikagruppe	8	2	10	
24 Std. p.i.	Kontrollgruppe	9	1	10	1,000
	Probiotikagruppe	9	1	10	
72 Std. p.i.	Kontrollgruppe	8	2	10	1,000
	Probiotikagruppe	7	3	10	
28 d. p.i.	Kontrollgruppe	4	12	16	1,000
	Probiotikagruppe	4	9	13	
Gesamt	Kontrollgruppe	26	20	46	0,515
	Probiotikagruppe	28	15	43	

Quantitativ auswertbare Ergebnisse zum Nachweis von Salmonellen in der Zwerchfellmuskulatur waren bei 30% (27/89) der Tiere vorhanden, wobei die Höchstwerte (log 2,4 – 3,8 KbE/g) 3 und 24 Stunden p.i. festgestellt wurden (Abbildung 12).

Nach den Ergebnissen der statistischen Auswertung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen nachgeweisen werden.

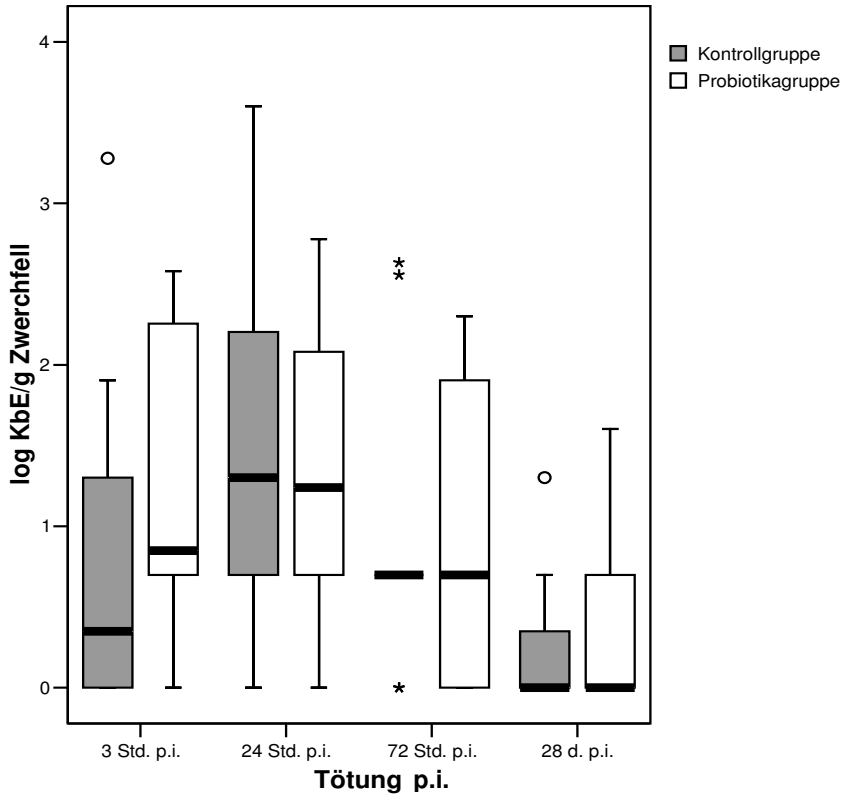

Abbildung 12: Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in der Zwerchfellmuskulatur zu den verschiedenen Zeitpunkten des Tötens, bei der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte

4.4 Nachweis von *Salmonella*-Antikörpern im Blutserum

In der Tabelle 20 sind die Ergebnisse zum quantitativen Nachweis der Salmonellen-Antikörper für IgG, IgM und IgA für die Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe zusammenfassend dargestellt. Die Ergebnisse zum Anteil der als *Salmonella*-positiv getesteten Schweine geht zusammenfassend für die einzelnen Antikörper-Isotypen aus der Tabelle 21 hervor.

Tabelle 20: Zusammenfassende Ergebnisse der statistischen Auswertung zum Nachweis der Antikörper Isotypen IgG, IgM und IgA zwischen der Kontroll- und Probiotikagruppe

		Probiotikagruppe				Kontrollgruppe				t-Test
		min	**max**	**Mw**	**s**	**min**	**max**	**Mw**	**s**	**p - Wert**
Tag 7 p.i.	**IgG**	3,0	65,4	15,0	6,9	0,37	83,88	21,0	7,4	0,417
	IgM	22,0	625,3	218,3	92,7	10,00	204,27	50,5	14,5	0,009
	IgA	13,0	159,3	46,2	28,9	10,00	17,00	14,7	1,8	0,024
Tag 14 p.i.	**IgG**	7,3	127,1	37,2	31,8	2,57	185,46	34,9	9,2	0,896
	IgM	68,7	464,0	196,0	90,5	18,00	575,45	127,7	24,1	0,245
	IgA	15,0	300,6	102,3	52,4	14,00	125,25	43,8	13,0	0,029
Tag 21 p.i.	**IgG**	10,8	323,2	84,7	47,8	1,93	202,21	42,3	4,1	0,185
	IgM	9,7	223,5	98,7	33,1	18,00	191,36	77,3	12,2	0,346
	IgA	16,0	399,8	155,7	63,7	15,00	156,70	66,5	13,8	0,005
Tag 28 p.i.	**IgG**	10,1	236,4	80,2	37,0	5,12	287,64	79,0	8,3	0,972
	IgM	15,0	129,3	50,7	11,0	20,00	145,72	63,2	14,5	0,457
	IgA	18,0	303,0	164,0	75,0	14,00	308,56	85,2	23,3	0,016

Minimum (Min); Maximum (Max); arithmetischer Mittelwert (MW); Standardabweichung (s)

Tabelle 21: Zusammenfassende Ergebnisse der statistischen Auswertung zur Anzahl der serologisch positiv getesteten Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe für die Antikörper Isotypen IgG, IgM und IgA

		Kontrollgruppe			Probiotikagruppe			Chi-Quadrat-Test
		p	**n**	**f**	**p**	**n**	**f**	**p - Wert**
Tag 7 p.i.	**IgG**	1	13	-	1	12	-	0,957
	IgM	2	12	-	11	2	-	0,000
	IgA	-	14	-	5	8	-	0,010
Tag 14 p.i.	**IgG**	2	12	-	3	10	-	0,557
	IgM	7	6	1	12	1	-	0,053
	IgA	5	7	2	9	3	1	0,218
Tag 21 p.i.	**IgG**	3	8	-	5	6	2	0,622
	IgM	8	4	2	10	1	2	0,370
	IgA	9	5	--	11	1	1	0,147
Tag 28 p.i.	**IgG**	4	8	2	8	4	1	0,310
	IgM	7	6	1	4	7	2	0,551
	IgA	9	5	-	9	3	1	0,481

seropositiv (p); seronegativ (n); fraglich (f)

4.4.1 Anti-*Salmonella*-IgG

Ein positives Ergebnis im ELISA für anti-*Salmonella*-IgG zeigte sich bei 57% (8/14) der Tiere der Kontrollgruppe zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Infektion (7, 14, 21 und 28 Tage p.i.).

In der Probiotikagruppe wurden 62% (8/13) der Tiere serologisch positiv auf anti-*Salmonella*-IgG ähnlich wie in der Kontrollgruppe zu unterschiedlichen Zeitpunkten getestet.

Die Ergebnisse zum quantitativen IgG-Nachweis bei den Tieren der Kontroll- und Probiotikagruppe für die unterschiedlichen Tage nach der Infektion sind in der Abbildung 13 dargestellt.

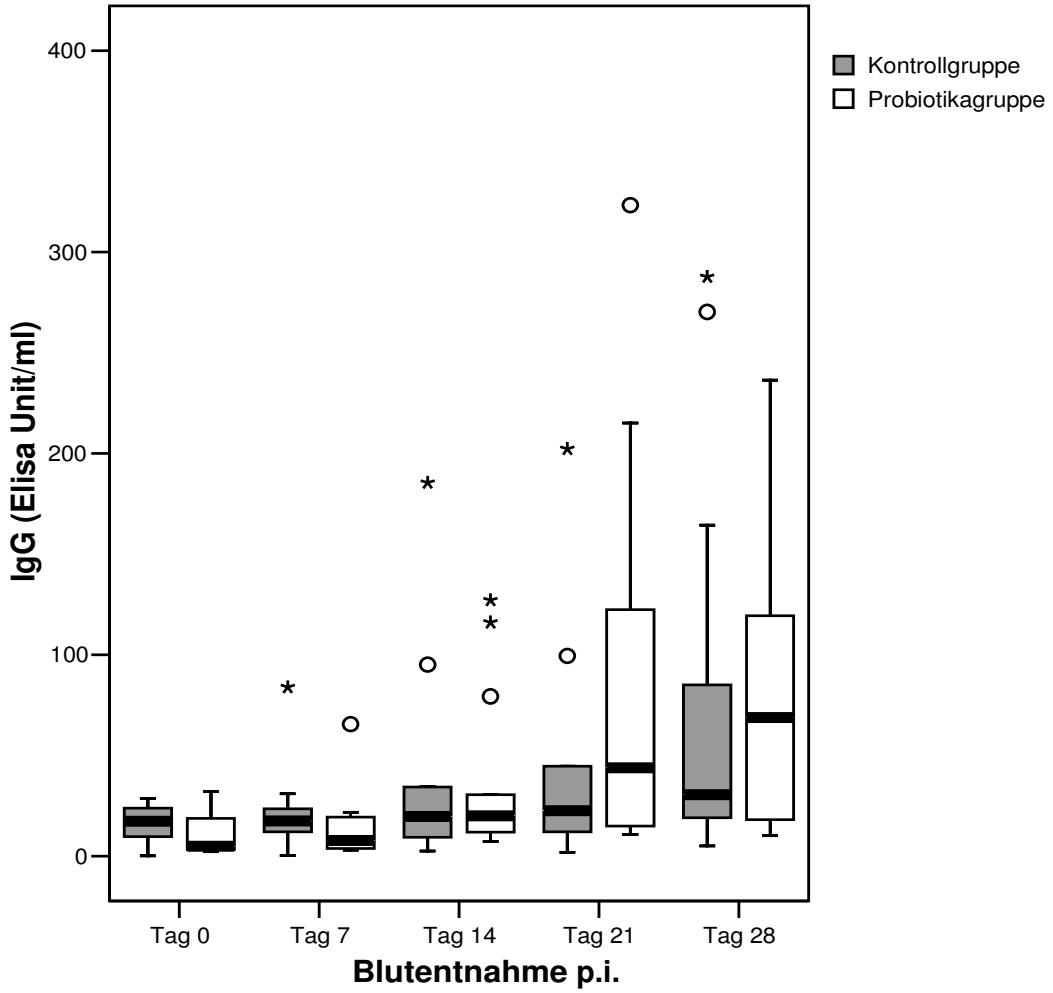

Abbildung 13: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgG (Elisa Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

Bei der statistischen Auswertung zum quantitativen Nachweis von anti-*Salmonella*-IgG mittels Student's t-Test (Tabelle 20) und zur Anzahl seropositiver Tiere mittels Chi-Quadrat-Test (Tabelle 21) unter Berücksichtigung der Tage nach der Infektion konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Fütterungsgruppen festgestellt werden.

4.4.2 Anti-*Salmonella*-IgM

In der Probiotikagruppe war bereits in der ersten Woche p.i. anti-*Salmonella*-IgM im Serum bei 85% (11/13) und 14 Tage p.i. bei 100% der Tiere nachweisbar. 21 Tage p.i. verringerte sich der Anteil 77% (10/13) und nach der vierwöchigen Beobachtungszeit wurden nur noch 31% (4/13) der Tire als serologisch positiv getestet, wobei die Werte bei zwei Tieren im fraglichen Bereich lagen. In der Kontrollgruppe konnte eine Serokonversion erst zwei Wochen p.i. beobachtet werden. Nach drei und vier Wochen p.i. zeigten die beiden Fütterungsgruppen ein ähnliches Bild der IgM-Titerentwicklung.
Die Ergebnisse zum quantitativen Nachweis von anti-*Salmonella*-IgM unter Berücksichtigung der Tage nach der Infektion sind für die Kontroll- und Probiotikagruppe in der Abbildung 14 dargestellt.

Nach dem Ergebnis der statistischen Auswertung mit dem Student's t-Test waren die bei den Tieren der Probiotikagruppe am siebten Tag p.i. ermittelte IgM-Werte signifikant höher als der bei den Tieren der Kontrollgruppe (Tabelle 20). Außerdem konnte mit dem Chi-Quadrat-Test gezeigt werden, dass die Anzahl der für IgM seropositiven Tiere in der Probiotikagruppe ebenfalls am Tag 7 p.i. signifikant höher (p=0,000) lag als der entsprechende Anteil in der Kontrollgruppe (Tabelle 21).

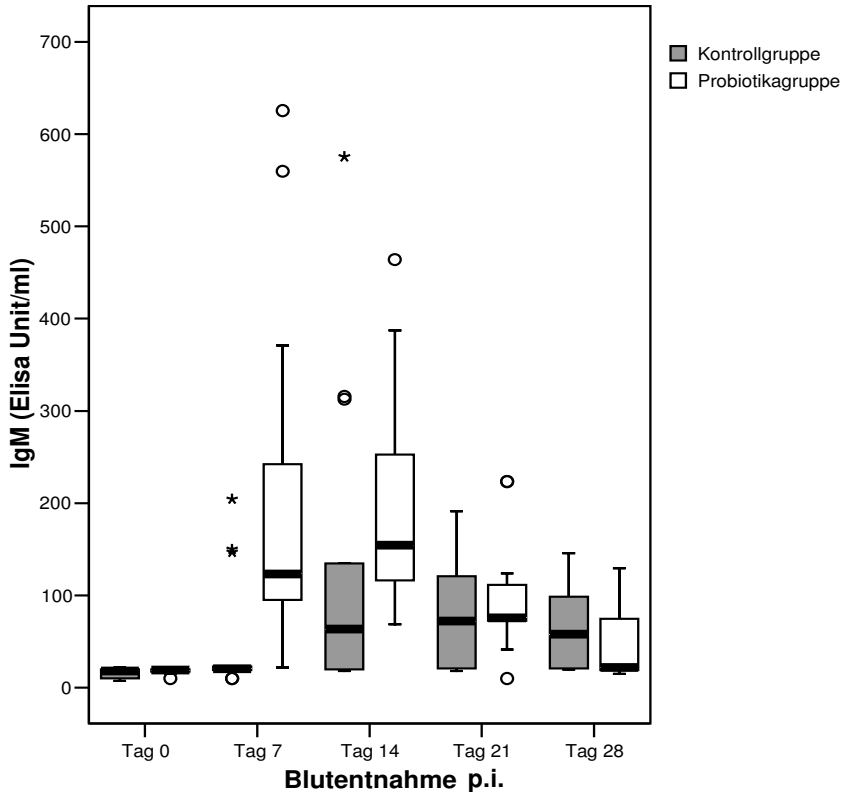

Abbildung 14: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgM (Elisa Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer; *Extremwerte).

4.4.3 Anti-*Salmonella*-IgA

Zwei Wochen p.i. wurden 36% (5/14) der Tiere der Kontrollgruppe positiv auf anti-*Salmonella*-IgA getestet. Eine Woche später wurden 50% (7/14) und vier Wochen p.i. 64% (9/14) als positiv erkannt.

In der Probiotikagruppe konnten bereits 7 Tage p.i. 38% (5/13) der Tiere als IgA-positiv getestet werden. Zwei Wochen p.i. waren es 77% (10/13) und nach 21 bzw. 28 Tagen p.i. lag der Anteil der positiven Tiere bei 92% (12/13).

Die Ergebnisse zum quantitativen Nachweis von anti-*Salmonella*-IgA unter Berücksichtigung der Tage nach der Infektion sind für die Kontroll- und Probiotikagruppe in der Abbildung 15 dargestellt.

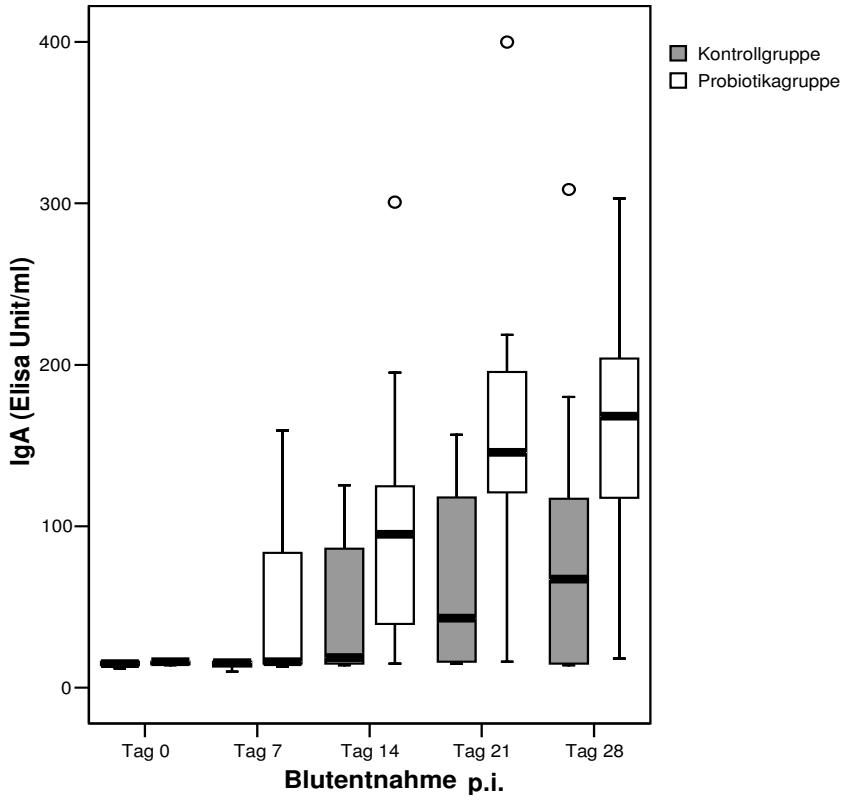

Abbildung 15: Ergebnisse zum Nachweis von anti-*Salmonella*-IgA (Elisa-Unit/ml) im Serum der Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe (°Ausreißer).

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels Chi-Quadrat-Tests ergaben, dass die Anzahl der auf anti-*Salmonella*-IgA positiv getesteten Tiere am 7. Tag p.i. in der Probiotikagruppe signifikant höher war als in der Kontrollgruppe.

Die Auswertung mittels Student's t-Tests zeigte, dass die IgA-Werte der Tiere der Probiotika-Gruppe am 7., 14., 21., 28. Tag p.i. im Vergleich zu den Tieren der Kontrolgruppe signifikant höher waren (Tabelle 20).

5 DISKUSSION

Bei der Planung dieser experimentellen Studie richtete sich die Wahl von Infektionsstamm (*Salmonella* Typhimurium DT104) und Tiermodell (Schwein) für die Challengeversuche nach der in Deutschland aktuell bestehenden Salmonellen-Situation. *Salmonella* Typhimurium ist ein bakterieller, vornehmlich über Lebensmittel übertragener Zoonoseerreger und nach *S.* Enteritidis einer der häufigsten Verursacher der humanen Salmonellose, die aufgrund immer wieder auftretender Krankheitsfälle mit teilweise letalem Ausgang ein zentrales Problem im öffentlichen Gesundheitswesen darstellt. Bei 20% dieser Erkrankungen geht man davon aus, dass die ursächlich beteiligten Erreger über das Schlachtschwein durch kontaminiertes Fleisch und Fleischprodukte in die Lebensmittelkette gelangen (STEINBACH et al., 1999). Über 70% der in Schweinebeständen isolierten Salmonellen gehören dabei zum Serovar *S.* Typhimurium, insbesondere der Phagentyp DT104 (HARTUNG, 2006). Damit stellt das Schlachtschwein eine der bedeutendsten Ansteckungsquellen für diesen Zoonoseerreger dar.

Der Infektionsstamm *Salmonella* Typhimurium DT104 wurde zunächst im Labor durch Selektion gegen Nalidixinsäure resistent gemacht. Diese Veränderung diente als zusätzliches Selektionsmerkmal für die sichere und einfachere Isolation des Infektionsstammes. Des Weiteren erfolgte eine plasmidvermittelte GFP-Markierung des Stammes, welche zusätzlich eine Kanamycin-Resistenz vermittelt. Durch die GFP-Markierung ist ein sicherer Nachweis infizierter Zellen in Paraffinschnitten bzw. in Technovit Semidünnschnitten der infizierten Gewebe mittels Laserscanning-Mikroskopie möglich. Diese Untersuchungen waren jedoch Gegenstand einer anderen Arbeitsgruppe im Rahmen des DFG-Projektes zur integrativen Analyse der Wirkmechanismen von Probiotika beim Schwein (FOR 438 DFG). Zur Klärung der Pathogenität des genetisch veränderten Stammes wurden im Rahmen mehrerer Vorversuche vier Wochen alte Absetzferkel mit verschiedenen Infektionsdosen in zwei Gruppen mit dem GFP markierten oder nicht markierten *S.* Typhimurium DT104 Stamm infiziert. Anhand der klinischen Befunde, des Salomonellennachweises in Kot- und Organproben und der Ergebnisse der histologischen Untersuchung konnte belegt werden, dass der GFP-markierte *S.* Typhimurium Stamm ähnlich zum nicht markierten Wildstamm über die relevanten pathogenen Eigenschaften verfügt, um als Challengekeim zur Untersuchung der Wirkung des probiotischen Stammes *Enterococcus faecium* in der eigenen Studie eingesetzt zu werden.

5.1 Challenge-Infektion und klinische Symptomatik

Die physiologische Körpertemperatur bei Schweinen beträgt zwischen 38,0 und 39,0°C. Temperaturerhöhungen entstehen u.a. durch die Abwehrreaktion des Organismus, wodurch die Stoffwechselvorgänge beschleunigt und die Vermehrung pathogener Erreger gehemmt wird. Nach einer Salmonelleninfektion wurde das Auftreten von erhöhter Körpertemperatur beziehungsweise Fieber (40,0-42,0°C) meistens nach einer Inkubationszeit von 24-48 Stunden beobachtet (WALDMANN und PLONAIT, 2004).
Insgesamt war die Anzahl der Fieberfälle in der Probiotikagruppe (46%) höher als die in der Kontrollgruppe (31%). Die ersten Fieberanfälle kamen 24 Stunden p.i. bei fast allen der Tiere in der Probiotikagruppe vor, wohingegen dieses „typische" Anfangszeichen einer Salmonelleninfektion in der Kontrollgruppe, abgesehen von zwei Tieren, ausblieb. Trotz dieser Beobachtungen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren der Probiotika- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Dieses stimmt mit den Ergebnissen anderer Probiotika Fütterungsstudien überein, in denen Absetzferkel mit *Salmonella* Typhimurium (CASEY et al., 2007) oder *Salmonella* Choleraesuis (FEDORCA-CRAY et al., 1999) infiziert wurden.

Bei den Absetzferkeln wurde eine vergleichsweise niedrige Körpertemperatur am Tage der Einstallung und experimentellen Infektion gemessen. Diese Tatsache ist wahrscheinlich auf die Stressfaktoren, wie Absetzen vom Muttertier, Transport, wechselnde Umgebung und Futterumstellung zurückzuführen.

Die Tiere der Kontroll- und Probiotikagruppe zeigten einen weitgehend ähnlichen Verlauf in der Entwicklung des Körpergewichtes. Vergleichbare Daten aus Infektionsversuchen, in denen die Wirkung von Probiotika auf das Lebendgewicht von Schweinen getestet wurde, sind kaum vorhanden. In einer neueren Studie wurde ein eindeutiger positiver Effekt der Probiotika auf die Lebendgewichtzunahme in Irland durch CASEY et al. (2007) beschrieben. Hier wurden Absetzferkel mit *Salmonella* Typhimurium infiziert, wobei eine Probiotikamischung aus fünf probiotischen Stämmen appliziert wurde. Die Lebendgewichtzunahme in der Kontrollgruppe repräsentierte die durchschnittliche Gewichtszunahme von Absetzferkeln, wohingegen die der Probiotikagruppe annähernd um 20% höher lag.
Im Vergleich zu den vorgenannten Studien existieren jedoch zahlreiche Beobachtungen aus Fütterungsstudien ohne Challenge. Die Auswertung von ca. 50 Fütterungsstudien mit verschiedenen Probiotika-Spezies zeigte, dass die durchschnittliche Lebendgewichtzunahme in 35% der Fälle zunahm und eindeutig auf die Fütterung der probiotischen Keime

zurückzuführen war (SIMON et al., 2007). Dieses Ergebnis stimmt nicht mit der Aussage von TARAS et al. (2006) überein, die nicht infizierte Absetzferkel aus demselben Bestand, mit dem gleichen Probiotikum (*Enterococcus faecium*) fütterten und im Vergleich zur Kontrollgruppe keine Unterschiede bei der täglichen Lebendmassezunahme feststellen konnten.
Eine kritische Auseinandersetzung mit den Ergebnissen anderer Studien zur Gewichtsentwicklung der Tiere gestaltet sich schwierig, da die Versuchsdesigns nicht vergleichbar sind. Mehrere Autoren erwähnen außerdem die Möglichkeit einer negativen Korrelation zwischen der wachstumfördernden Wirkung von Probiotika und der verschlechterten Umwelt- und Ernährungszustände, die das Tier belasten. So ist wahrscheinlich die Wirkung von Probiotika viel effektiver bei Tieren mit schlechter Fütterung und/oder Haltung, als bei Tieren, die optimal gefüttert und gehalten werden (MADEC et al., 1998; BROOM et al., 2005; TARAS et al., 2005). Es ist dabei davon auszugehen, dass die Schweine in der eigenen Studie unter optimalen Bedingungen gehalten worden sind.

Der Durchfall zählt zu den eindeutigsten Symptomen einer gastrointestinalen Infektion. Aus mehreren Infektionsstudien wird ersichtlich, dass die Infektionsdosis einen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung der Kotkonsistenz hat. Experimentelle Infektionen mit *S.* Typhimurium und einer Infektionsdosis von 10^9 KBE pro Schwein führten nur in wenigen Fällen (SCHERER et al., 2008) oder sogar überhaupt nicht (KAMPELMACHER et al., 1969) zu einer klinischen Salmonellose. Die in der eigenen Studie verwendete Infektionsdosis von etwa 5 x 10^9 KbE pro Tier verursachte bei den Schweinen lediglich einen leichten klinischen bzw. latenten Verlauf der Salmonelleninfektion. Diese Ergebnisse decken sich mit denen der vorgenannten beiden Studien, wo eine ähnlich hohe Infektionsdosis verwendet worden ist. Andere Beobachtungen berichten jedoch, dass bis zu 80% der Versuchstiere zwei Tage p.i. wässrigen Durchfall hatten (WOOD und ROSE, 1992). Dies könnte mit der höheren Infektionsdosis von 10^{10} KBE pro Schwein zusammenhängen. Das Auftreten von klinischen Symptomen einer Infektion wird neben der Infektionsdosis von anderen wichtigen Faktoren, wie Virulenz und Pathogenität des Infektionstammes, beeinflusst. Bei dem in der vorliegenden Studie verwendeten Infektionsstamm handelte es sich um einen nachgewiesen pathogenen und virulenten *Salmonella* Typhimurium DT104 Stamm, der aus einem natürlich infizierten und klinisch erkrankten Schwein isoliert worden ist.

Mehrere Studien berichten darüber, dass die Verabreichung von Probiotika bzw. probiotischen Präparaten zu einer reduzierten Prävalenz bzw. Stärke von Durchfall führten. In Challenge-Versuchen mit *Salmonella* Typhimurium bei Schweinen (CASEY et al., 2007) und mit *Escherichia coli* O157:H7 bei Kaninchen (OGAWA et al., 2002) wurde eine

signifikant niedrigere Durchfallhäufigkeit in der Probiotikagruppe nachgewiesen. In diesen Studien wurden jedoch als Probiotikum *Pediococcus*- und *Lactobacillus*-Stämme eingesetzt. Auch SCHROEDER et al. (2006) beobachteten ähnliche Symptome bei mit enterotoxischen *Escherichia coli* Abbotstown infizierten und vorher mit probiotischen *Escherichia coli* Nissle 1917 gefütterten Absetzferkeln. 70% der Tiere zeigten einen reduzierten, sekretorischen Durchfall, wobei bei den anderen Tieren dieser Gruppe keine Veränderung der Kotkonsistenz zu sehen war. Nach den Ergebnissen der histologischen Untersuchung des Darmepithels waren zwischen Kontroll- und Testgruppe Unterschiede nicht zu erkennen, was die Autoren auf die antisekretorische Wirkung des Probiotikums zurückführten. Auch die kombinierte Fütterung von *Lactobacillus plantarum* mit den zwei Zuckerarten (Maltodextrin Maldex 150 und Raftifeed IPX Fructooligosacchariden) verursachte eine deutlich niedrigere Adhäsion von *E. coli* O8:K88 sowohl im Dünn- als auch im Dickdarm von Ferkeln (NEMECOVA et al., 2007).

Mehrere Studien zu mit und ohne Probiotikum gefütterten Tieren, die jedoch nicht einer Challenge-Infektion ausgesetzt wurden, zeigten ähnliche Ergenbisse (SIMON et al., 2004; TARAS et al., 2005; TARAS et al., 2006; ZEYNER und BOLDT, 2006). Auch bei Studien mit Tieren aus demselben Bestand und der Fütterung mit dem gleichen Probiotikum wurde über eine Abnahme der Häufigkeit und Schwere von Durchfall in der Probiotikagruppe berichtet (MÄNNER und SPIELER, 1997; TARAS et al., 2005).

In der eigenen Studie konnte eine positive Wirkung des Probiotikums nicht festgestellt werden. Nach dem Challenge hatten mehr Tiere in der Probiotikagruppe (62%) als in der Kontrollgruppe (31%) Durchfall. Diese Symptome sind in der Probiotikagruppe eher kurzzeitig aufgetreten, wohingegen der Durchfall bei den Tieren der Kontrollgruppe von längerer Dauer (2-4 Tage) war. Die beobachteten Unterschiede zum Durchfall zwischen den Fütterungsgruppen waren jedoch nach den Ergebnissen der statistischen Auswertung nicht signifikant. Diese Beobachtungen würden sich mit denen decken, dass die Entwicklung des Körpergewichtes in beiden Gruppen ähnlich verlief.

Auch FEDORCA-CRAY et al. (1999) konnten weder in der Probiotika- noch in der Kontrollgruppe typische klinische Symptome bei experimentell mit *Salmonella* Choleraesuis infizierten Absetzferkeln feststellen. In diesem Fall wurde jedoch der Challenge mit lediglich 10^3 KbE pro Tier bei intranasaler Applikation durchgeführt und als Probiotikum eine „competitive exclusion culture“ (eine Mischung von Mikroorganismen, die aus dem Caecum von Absetzferkeln isoliert wurden) gefüttert.

5.2 Ausscheidung der Salmonellen im Kot

In mehreren Studien wurde die Ausscheidung von Salmonellen mit dem Kot nach experimenteller Infektion ohne Zufütterung eines Probiotikums beschrieben. So zeigten NIELSEN et al. (1995), dass 80% der experimentell infizierten Schweine *S.* Typhimurium in der ersten Woche p.i. ausschieden. Danach sank die Ausscheidungsrate deutlich ab und Salmonellen wurden nur noch intermittierend im Kot nachgewiesen. WOOD et al. (1989) und WOOD und ROSE (1992) konnten eine Ausscheidung von Salmonellen im Kot bei experimentell infizierten Schweinen bis zur 28 Woche p.i. beobachten. Im Gegensatz dazu wiesen KAMPELMACHER et al. (1969) bei Schweinen 14 Wochen p.i. keine Salmonellen im Kot mehr nach. Diese unterschiedlichen Ergebnisse könnten aus verschiedenen Faktoren, wie Infektionsdosis, Virulenz der Infektionsstämme und individuelle Eigenschaften der Versuchstiere, resultieren. Im Vergleich zu diesen Studien betrug der Beobachtungszeitraum nach experimenteller Infektion mit *S.* Typhimurium in der eigenen Studie lediglich vier Wochen. Bezüglich dieses Zeitraumes decken sich jedoch die Ergebnisse der Studie zur Ausscheidung der Salmonellen über den Kot mit denen aus der Literatur.
Ähnlich zu den Beobachtungen anderer Studien (BOES et al., 2001; HURD et al., 2001; MARG et al., 2001; SWANENBURG et al., 1999, SCHERER et al., 2008) zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung, dass klinisch inapparent infizierte Schweine ein Risikofaktor für die horizontale Übertragung von Salmonellen mittels kontaminierten Kot darstellen. Insbesondere während des Transports zu den Schlachthöfen oder beim Warten in den Stallungen vor der Schlachtung kann es zu einer Übertragung der Salmonellen auf nichtinfizierte Schweine kommen.

Nach den wenigen bis jetzt durchgeführten Challenge-Versuchen mit Probiotikafütterung gab es entweder keinen Unterschied zwischen den beiden Fütterungsgruppen, oder die Anzahl der Infektionskeime im Kot war bei den Tieren der Probiotikagruppe reduziert. So berichteten CASEY et al. (2007), dass die Ausscheidung von *S.* Typhimurium am Tag 15 p.i. bei den Schweinen der Kontrollgruppe signifikant höher war als in der Probiotikagruppe. ZHAO et al. (1998) beschreiben einen probiotischen *E. coli* Stamm, der die Anzahl der *E. coli* O157:H7 im Magen-Darmtrakt und auch im Kot von Kälbern reduzierte. LEMA et al. (2001) konnten keine Reduktion von enterohämorrhagischen *E. coli* bei Schafen nach der Zufütterung von *Lactobacillus acidophilus* nachweisen, wohingegen die Fütterung von *Lactobacillu*s in Kombination mit *Streptococcus*-Stämmen oder auch die alleinige Gabe von *Streptococcus* eine signifikant niedrigere Ausscheidung der Infektionskeime im Kot der Probiotikagruppe verursachte. GENOVESE et al. (2000) konnten durch die Gabe einer „competitive exlusion culture“ die Ausscheidungstrate bei mit enterotoxischen *E. coli* infizierten neugeborenen

Ferkeln senken. Mit derselben probiotischen Mischung wurde eine reduzierte Anzahl des Infektionskeimes im Caecum und im Kot bei mit *Salmonella* Choleraesuis infizierten Absetzferkeln nachgewiesen (GENOVESE et al., 2003). Auch FEDORCA-CRAY et al. (1999) konnten bei den Schweinen der Probiotikagruppe eine reduzierte Anzahl von *Salmonella* Choleraesuis im Caecum und dessen Inhalt beobachten. Folglich hängt der Effekt, ob es zu einer verringerten Ausscheidung des Challengekeims kommt, von der Wahl des eingesetzten Probiotikums ab.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen dieser Studien zeigen die eigenen Ergebnisse, dass die Salmonellenausscheidung im Kot der Schweine der Probiotikagruppe an mehreren Tagen (4, 13, 15, 20, 22 und 28 Tage p.i.) signifikant höher war als in der Kontrollgruppe. Dabei korrelierte die Keimausscheidung im Kot der Ferkel der Probiotikagruppe mit der höheren Salmonellenkonzentration im Gewebe des Dickdarms. Über ähnliche Ergebnisse berichten RINKINEN et al. (2002) aus in vitro Versuchen, wo die Anwesenheit von *Enterococcus faecium* die Adhäsion und Kolonisation von *Clostridium perfringens* an die Darmmucosa begünstigte. Analoge Untersuchungen derselben Arbeitsgruppe bezüglich *Salmonella* Typhimurium zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen. Zusammenfassend wurde also der erwartetete Effekt einer niedrigeren Salmonellenausscheidung bei den Tieren der Probiotikagruppe nicht bestätigt. Offensichtlich waren diese Tiere nach der Zufütterung des Probiotikums und nach dem Challenge für Salmonellen empfänglicher als die Tiere der Kontrollgruppe (s. Diskussion immunologische Aspekte).

5.3 Organmanifestation

Die Tonsillen des weichen Gaumens spielen als pharyngeales schleimhautassoziiertes lymphatisches Organ eine Schlüsselrolle bei der Initiierung von Immunantworten da sie für verschieden Mikroorganismen als Eingangspforte dienen (BELZ und HEALTH, 1996). Die Ergebnisse der eigenen Studie zeigen dabei, dass eine sehr hohe Salmonellenkonzentration in den Tonsillen 3 Stunden und 28 Tage p.i. vorhanden war. Auch nach den Ergebnissen anderer Untersuchungen, sind Salmonellen in der Lage, bereits 30 Minuten nach der oralen Aufnahme in die Tonsillen einzudringen und 2-3 Stunden später die Mandibular- und Ileocaecallymphknoten, den Dickdarm und den Caecum zu kolonisieren (BLAHA et al., 1997; HURD et al., 2001; LOYNACHAN et al., 2004).

Selbst in Studien über einen längeren Zeitraum, wurde eine ähnlich hohe Konzentration von *Salmonella* Typhimurium in den Tonsillen von Schweinen 5 Monate p.i. (SCHERER et al., 2008) bzw. sechs Monate p.i. (WOOD und ROSE, 1992) nachgewiesen. Als Ursache wird

die ständige Reinfektion durch den Kontakt mit anderen infizierten Schweinen und deren Kot vermutet.

Die meisten Fütterungsstudien befassten sich mit der Wirkungsweise der Probiotika im gesunden Wirt und nur in wenigen Studien mit Labortieren (Mausmodell) wurde der Einfluss auf die Organmanifestation nach Challenge näher beleuchtet. So konnte am Mausmodell nachgewiesen werden, dass nach der Fütterung von bestimmten *Lactobacillus*-Spezies die Verbreitung von *Salmonella* Typhimurium und enteropathogenen *Echerichia coli* aus dem Darm in andere Organe reduziert werden kann (PERDIGON et al., 1990; PERDIGON et al., 1991; PAUBERT et al., 1995; SHU et al., 2000). Nach dem besten Wissen des Verfassers dieser Arbeit existieren zurzeit keine experimentellen Studien mit Schweinen oder anderen Grosstieren, bei denen die Wirkung von Probiotika anhand der Besiedlung verschiedener innerer Organe nach einer Infektion mit einem ausgewählten pathogenen Erreger untersucht worden ist. Entgegen der ursprünglichen Erwartung war die Salmonellenkonzentration in den Tonsillen der Tiere der Probiotikagruppe signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Als Grund hierfür wird die Tatsache angesehen, dass die Salmonellenausscheidung im Kot der Tiere der Probiotikagruppe höher war und es dadurch zu einer häufigeren Reinfektion der Schweine mit Salmonellen kam. Auch die Ergebnisse zum stärkeren Befall des Darmgewebes und der Muskulatur bei den Tieren der Probiotikagruppe weisen auf eine höhere Empfänglichkeit und Reinfektionsrate mit Salmonenellen als bei den Tieren der Kontrollgruppe hin (s. Diskussion immunologische Aspekte).
Die Untersuchung der Proben der Zwerchfellmuskulatur erbrachte keine Unterschiede in den beiden Fütterungsgruppen. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass etwa 30% dieser Proben in den ersten drei Tagen quantitativ bestimmbare Werte sogar weit über der Nachweisgrenze (log 3,8 KbE/g) aufwiesen, was mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die intensive Durchblutung der Zwerchfellmuskulatur zurückzuführen ist.

5.4 Immunologische Aspekte

Der Immunstatus des Wirtes wird durch einen Komplex von Interaktionen bestimmt, und ist maßgeblich abhängig von der Beschaffenheit des Immunsystems und der Höhe der mikrobiologischen Belastung (BAILEY et al., 2001). Der immunkompetente Wirtsorganismus ist in der Lage, eine gute Abwehrreaktion der Darmschleimhaut gegen luminale Antigene, wie das der Salmonellen, zu entwickeln und auf das Eindringen von kommensalen oder pathogenen Mikroorganismen zu reagieren. Die Barriere der Darmschleimhaut besteht aus

Darmepithel und den Immunzellen, die hochgradig auf die Anwesenheit der physiologischen Darmflora angepasst sind (RAIBAUD, 1992). Die Signale der Darmflora verhindern die Penetration von Immunzellen in die Darmschleimhaut und halten diese so außerhalb des intestinalen Gewebes. Dringen kommensale Mikroorganismen, wie auch probiotische Keime, in das Darmgewebe ein, kommt es zu einer angepassten Reaktion. Gegen pathogene Mikroorganismen jedoch werden spezifische Abwehrmechanismen aktiviert (NEUTRA et al., 2001; JANEWAY et al., 2002). Somit ist die Darmmukosa als eine effiziente Barriere anzusehen, stellt aber auch einen der häufigsten Infektionsorte für Salmonellen dar.

IgM wird zuerst nach einer bakteriellen Infektion durch den Wirtsorganismus gebildet. Nach den Ergebnissen dieser Studie war bereits eine Woche p.i. ein erhöhtes anti-*Salmonlla*-IgM nur bei den Tieren der Probiotikagruppe nachzuweisen, wogegen die Kontrolltiere negativ waren. Zwei Wochen später serokonvertierten auch die Tiere der Kontrollgruppe, wobei die IgM-Werte deutlich unter denen der Probiotikatiere blieben und sich dann drei bis vier Wochen p.i. angeglichen hatten.

Sekretorisches IgA stellt den wichtigsten schützenden humoralen Faktor im Darm dar (KRAEHENBUHL et al., 1992; BENYACOUB et al., 2003) und hemmt die Adhäsion, Kolonisation und Penetration sowie die Aufnahme von Antigenen (HOLMGREN et al., 1992; MCGHEE et al., 1992). Die bei den Tieren der Probiotikagruppe ermittelten IgA-Werte waren an allen Untersuchungstagen (7., 14., 21., 28. Tage p.i.) signifikant höher als bei der Kontrollgruppe. Ähnlich der IgM-Aktivität zeigten die Tiere der Kontrollgrupe eine Woche p.i. keine Serokonversion, wohingegen fast 40% der Probiotikatiere bereits erhöhte IgA–Werte aufwiesen. Diese Beobachtungen decken sich mit denen von BENYACOUB et al. (2003), die im Serum von mit *Enterococus faecium* gefütterten Hunden ebenfalls höhere IgA-Werte im Vergleich zu den Kontrolltieren nachweisen konnten. SCHAREK et al. (2005) konnten bei mit *Enterococcus faecium* gefütterten Absetzferkeln, die jedoch ohne Challenge untersucht wurden, keine Unterschiede der faekalen IgA-Aktivität zwischen beiden Fütterungsgruppen feststellen.

IgG wird nach Antigenkontakt innerhalb von 2 bis 3 Wochen gebildet. Trotz fehlender Signifikanz zeigt sich eine deutliche Tendenz, nach der die Entwicklung des IgG-Titers im Serum der Probiotikagruppe drei und vier Wochen p.i. höher ausfällt als in der Kontrollgruppe. Ähnliche Resultate erzielten BENYACOUB et al. (2003), die im Serum von mit *Enterococus faecium* gefütterten Hunden höhere Werte für IgG gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen konnten. Im Vergleich dazu beobachteten SCHAREK et al. (2005) eine Verringerung des IgG-Titers im Serum von mit *Enterococcus faecium* behandelten Absetzferkeln, die jedoch nicht im Challenge untersucht worden waren. Hierbei handelte es sich wahrscheinlich um die Abnahme der mit dem Kolostrum aufgenommenen maternalen Antikörper.

Die Wirkungsweise von *Enterococcus faecium* basiert zum einen auf der kompetitiven Exklusion, die als eine der wichtigsten gesundheitsfördernden Effekte der probiotischen Keime angesehen wird (FULLER und GIBSON, 1997; RUAS-MADIEDO et al. 2006). GARCÍA-GALAZ et al. (2004) konnten anhand von in vitro Tests die antagonistische Wirkung von *E. faecium* auf *E. coli* K88 zeigen. Andere Studien berichteten über eine Verringerung der pathogenen Darmbakterien nach der Fütterung von *Enterococcus* spp. in Tierversuchen (MARCINÁCOVÁ et al. 2006; STROMPFOVÁ et al. 2006; POLLMANN et al., 2005) und über eine verringerte Durchfallinzidenz bei Ferkeln (ZEYNER und BOLDT, 2006; TARAS et al., 2006). Aber auch negative Effekte auf das Wachstum von Salmonellen wurden mit Hilfe von in vitro Versuchen gezeigt (THEPPANGANA et al., 2006). Über negative Auswirkungen von *E. faecium* auf die Darmflora berichten auch VAHJEN und MÄNNER (2003), die einen deutlichen Anstieg der Salmonellen- und Campylobacter-Zahl im Kot nach der Fütterung von *E. faecium* an Hunde beobachteten.

Die eingesetzten probiotischen Keime (sowohl Gram-positive als auch Gram-negative) führen auch zu immunmodulatorischen Effekten. SCHAREK et al. (2005) vermuten, dass die Probiotikafütterung zu Veränderungen in der Immunmodulation führt und sich somit auf den mikrobiellen Wettbewerb und die intestinale Kolonisation auswirken kann. Somit ist die Reaktion des Immunsystems auch von der Art der als Probiotikum eingesetzten Bakterien und den durch sie hervorgerufenen Mechanismen abhängig. Die immunstimulierende Wirkung von probiotischen Bakterien ist in mehreren Studien z.B. nach der Fütterung von *Enterococcus* spp. beschrieben worden (BENYACOUB et al., 2003; KANASUGI et al., 1997; VINDEROLA et al., 2004). Diese Fähigkeit von *E. faecium* NCIMB10415 wird unter anderem auf die Beeinflussung des darmassoziierten lymphatischen Gewebes und die Induktion von sekretorischem IgA zurückgeführt (RESCIGNO et al., 2001; MACPHERSON et al., 2004). Während in solchen Studien nur wenige Faktoren untersucht und Änderungen nur eines dieser Parameter bezüglich der Immunantwort interpretiert wurden, fehlen jedoch häufig Untersuchungen über die Effekte auf die mikrobielle Flora im Darm. Zwei aktuelle Studien unterstützen die Notwendigkeit solcher Untersuchungen zur Klärung der Wechselwirkung zwischen Probiotika und dem lokalen Immunsystem. So zeigten die Würfe von mit *E. faecium* gefütterten Sauen eine Verringerung der Anzahl von Chlamydien-Infektionen (POLLMANN et al., 2005) und pathogenen *E. coli* – Serovaren. In diesem Zusammenhang wurde jedoch auch über einen reduzierten Anteil von CD8+-Lymphozyten im Darm-Epithel berichtet (SCHAREK et al., 2005). Ähnliche Beobachtungen zur Reduktion von CD8+ Lymphozyten wurden auch bei mit Milchsäurebakterien gefütterten Mäusen gemacht (VITINI et al., 2000). Basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnte bei den Ferkeln der Probiotika-Gruppe nach dem Challenge mit *S.* Typhimurium DT104 eine signifikante

Verringerung der CD8+ Zellen im Jejunum und der CD8αβ+ T-Zellen im Blut nachgewiesen werden (SCHAREK-TEDIN, 2008).

Im Gegensatz zu den vorangegangenen Studien, bei denen die im Darm vorkommenden Populationen von *E. coli* und Chlamydien durch das Probiotikum reduziert wurden, scheint in der vorliegenden Studie die Fütterung von *E. faecium* die Invasion und die Manifestation von Salmonellen, begleitet von einer stärkeren Antikörperreaktion, begünstigt zu haben. Eine Erklärung für diesen Effekt könnte sein, dass es zu einer Verringerung der zytotoxischen CD8+ Lymphozyten im Darmepithel der Ferkel kam, was letztendlich die Ausbreitung der Salmonellen förderte. Dabei stellt sich nun berechtigt die Frage, warum in den vorangegangenen Studien die Reduktion der CD8+ Zellen im Darmepithel nicht zu einer Erhöhung der Zellzahlen von *E. coli* und Chlamydien führte. Die Erklärung könnte sein, dass es sich bei beiden tierexperimentellen Studien um verschiedene Infektionsmodelle handelte.

In der einen Studie waren *E. coli* und *Chlamydia* bereits in der Herde als natürliche Infektion präsent und konnten aus den meisten Sauen isoliert werden. Möglicherweise führte die Fütterung von *E. faecium* zu einer reduzierten lokalen Immunreaktion im Darm der Sauen, wodurch es wiederum zu einer Reinfektion mit *E. coli* und Chlamydien, gefolgt von einer stärkeren humoralen Immunantwort kam. Die Ferkel der mit dem Probiotikum gefütterten Sauen konnten somit durch die maternalen Antikörper besser vor einer Infektion geschützt werden als die Ferkel aus der Kontrollgruppe. Dies würde auch erklären, warum ein positiver Effekt nur dann beobachtet wurde, wenn sowohl die Sauen als auch die Ferkel mit *E. faecium* gefüttert wurden.

In der vorliegenden Challenge Studie hingegen waren die Sauen nicht mit Salmonellen infiziert gewesen (SCHAREK-TEDIN, 2008), wodurch die abgesetzten Ferkel nach dem ersten Kontakt mit Salmonellen nach dem Challenge nicht durch maternale Antikörper geschützt waren. Somit basierte die Infektionsabwehr bei den Ferkeln aussschliesslich auf Grundlage der funktionalen zellulären Antwort. Die Verringerung der CD8+ Zellen durch die vorherige Zufütterung mit *E. faecium* könnte in dieser Situation für die Immunantwort von Nachteil gewesen sein, was eine stärkere Infektion mit Salmonellen bei den Tieren der Probiotikagruppe zur Folge hatte. Diese Hypothese wird duch Beobachtungen einer anderen Studie unterstützt. Danach berichten EMMANUEL et al. (2007), dass *E. faecium* bei Ochsen eine entzündliche Reaktion bei gleichzeitiger Gabe eines probiotischen Hefe-Stammes induzierte. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass die vorherige oder parallele Fütterung von *E. faecium* eine intestinale Infektion mit pathogenen Erregern nach Challenge begünstigt.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die mit *Salmonella* Typhimurium DT104 infizierten Ferkel, die sekundär durch die Muttersau (Milch, Kot) beziehungsweise primär durch das Futter *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 erhielten, weniger in der Lage waren, eine Salmonellen-Infektion abzuwehren als die Tiere der Kontrollgruppe, was durch die erhöhte Ausscheidung im Kot und einen stärkeren Befall bestimmter Organe mit Salmonellen gezeigt wurde. Weiterhin führte die erhöhte Belastung von Salmonellen im Darm und in den Organen zu einer früheren und intensiveren Entwicklung der humoralen Immunität, wie die höheren spezifischen Antikörpertiter belegen. Ob diese erhöhte humorale Reaktion eine Folge der Probiotikabehandlung oder das Ergebnis einer natürlichen Immunantwort aufgrund der erhöhten Salmonellenbelastung war, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden und sollte daher durch weitere experimentelle Studien näher untersucht werden.

6 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Diese Arbeit ist Bestandteil eines interdisziplinären Forschungsvorhabens und liefert erste Ergebnisse über den Einfluss von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 am Modell eines Challengeversuches bei Absetzferkeln. Die Studien der anderen Teilprojekte basieren auf demselben experimentellen Ansatz mit dem Ziel, weiterführende Erkenntnisse auf den Gebieten der Immunulogie, Mikrobiologie, Physiologie und Anatomie zu liefern. Gemeinsames Ziel ist es, einen wissenschaftlichen Beitrag zum besseren Verständnis der Wirkungsmechanismen von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 zu leisten.

Um Probiotika optimal nutzen und den am besten geeigneten probiotischen Stamm für den jeweiligen Zweck auswählen zu können, ist es erforderlich, die spezifischen Wirkungsweisen des untersuchten probiotischen Stammes zu verstehen.

Insgesamt lassen die vorliegenden Ergebnisse eine deutliche Wirkung des Probiotikastammes *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 derart erkennen, dass bei den Absetzferkeln eine frühere und stärkere humorale Immunität nach einer Infektion mit *Salmonella* Typhimurium DT104 hervorgerufen wird. Der probiotische Stamm hat jedoch keine positive Wirkung auf die klinische Symptomatik einer *Salmonella*-Infektion, die Organmanifestation und die Ausscheidung im Kot von Salmonellen in den ersten Wochen bei Absetzferkeln. Im Gegenteil war eine höhere Organmanifestation und Kotausscheidung bei den Tieren der Probiotikagruppe zu beobachten. Deshalb kann *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 zum Einsatz als Probiotikum für einen besseren Schutz vor einer *Salmonella*-Infektion beim Schwein nicht empfohlen werden.

Salmonellen, die von latent infizierten Schweinen über Lebensmittel (Fleisch und Fleischprodukten) auf den Menschen übertragen werden können, stellen ein sehr komplexes Problem dar. Sollten in der nahen Zukunft die Wirkungsweisen diverser probiotischer Keime noch besser erforscht sein und diese Stämme dann auch erfolgreich in der Tierernährung zum Einsatz kommen, wird die gezielte Verringerung des Eintrages der Salmonellen vom Schwein in die Lebensmittelkette weiterhin von mehreren Faktoren abhängig sein. Dazu zählen Regelungen und Maßnahmen auf der Ebene der Tierbestände (Hygienemanagement, Fütterung, Schweine-Salmonellen-Verordnung), der Schlachtung, der Verarbeitung und auch des richtigen Umgangs mit Lebensmitteln im Haushalt.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Einfluss von *Enterococcus faecium* als Probiotikum auf *Salmonella* Typhimurium DT 104 am Infektionsmodell Schwein

Obwohl die fördernde nutritive Wirkung der probiotischen *Enterococcus* spp. auf Mäuse und den Menschen bereits beschrieben wurde, sind experimentelle Studien bei Grosstieren als auch Challenge-Versuche mit pathogenen Mikroorganismen selten.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der oralen Gabe von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 auf mit *Salmonella* Typhimurium DT104 infizierte Absetzverkel untersucht. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Challenge (3, 24, 72 Stunden und 28 Tage p.i.) wurden die klinischen Symptome, die Ausscheidung im Kot und die Verteilung der Salmonellen in ausgewählten Organen als auch die humorale Immunantwort (anti-*Salmonella*-IgG, -IgM und –IgA) im Serum der Ferkel analysiert. Insgesamt wurden 89 Absetzferkel zufällig in die Probiotika- (43 Tiere) und Kontrollgruppe (46 Tiere) eingeteilt. Die Tiere der Probiotikagruppe hatten Kontakt mit *Enterococcus faecium* sekundär über die Muttersau (Kot) und primär durch das Futter ab dem 14. Lebenstag.

Nach dem Challenge mit *Salmonella* typhimurium DT104 zeigten die Ferkel beider Fütterungsgruppen keine schweren klinischen Symptome einer Salmonellose. Allerdings war die Ausscheidung im Kot und die Besiedlung der Organe mit Salmonellen signifikant höher bei den mit *Enterococcus faecium* gefütterten Ferkeln. Gleichermaßen war die humorale Immunantwort gegen Salmonellen (spezifisches Serum-IgM und -IgA) signifikant höher in der Probiotikagruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Nach den Ergebnissen dieser Studie führte die Gabe von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 bei den Absetzferkeln der Probiotikagruppe zu einem geringeren Schutz nach Challenge mit *Salmonella* typhimurium DT104 als bei den Tieren der Kontrollgruppe, was mit der erhöhten Ausscheidung der Salmonellen im Kot und Manifestation in den Organen als auch anhand der stärkeren Produktion spezifischer Antikörper gegen *Salmonella* Typhimurium DT104 bei den Tieren der Probiotikagruppe gezeigt werden konnte. Ob die humoralen Mechanismen, d.h. IgA, IgM und/oder IgG Titer, eine verbesserte Immunantwort auf die Probiotikabehandlung darstellen oder eine natürliche Immunantwort auf die erhöhte Salmonellenbelastung in den Organen sind, muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

8 SUMMARY

Influence of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella* Typhimurium DT104 infection in swine as animal model.

Although beneficial nutritive effects of probiotic *Enterococcus* spp. on different hosts such as mice and humans have previously been reported, experimental studies on large domestic animals, as well as challenge studies with pathogenic microorganism are very rare.

In this study, the influence of oral treatment of pigs with the probiotic bacterium *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 on *Salmonella* Typhimurium DT104 infections in weaning piglets has been investigated. At different periods after challenge (3, 24, 48 h and 28 days p.i.), clinical symptoms, fecal excretion, the distribution of *Salmonella* in selected organs, as well as the humoral immune response (Anti-*Salmonella*-IgG, -IgM, and -IgA) in serum of piglets was analysed. A total of 89 piglets was randomly divided into the probiotic (43 animals) and control group (46 animals). The animals of probiotic group had contact to *Enterococcus faecium* secondarily through the mother sow (milk, faeces) and primarily through the supplemented feed, starting from day 14 post partum.

After challenge with *Salmonella* Typhimurium DT104, piglets of both groups showed no severe clinical signs of salmonellosis. However, fecal excretion and colonization of *Salmonella* in organs was significantly higher in piglets fed with *E. faecium*. Likewise, the humoral immune response against *Salmonella* (specific serum IgM and IgA) was significantly higher in the probiotic group compared to control animals.

Results of this study suggest that application of *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 enhanced the course of infection in weaning piglets challenged with *Salmonella* Typhimurium DT104, which was shown by the increased excretion of *Salmonella* in faeces and manifestation in internal organs as well as the higher production of specific antibodies against *Salmonella* Typhimurium DT104 in animals of the probiotic group. Whether the humoral mechanisms, i.e. IgA, IgM and/or IgG titers, represented an enhanced immune response as a result of the probiotic treatment or the natural immune response to elevated *Salmonella* loads in organs will require further study.

9 LIERATURVERZEICHNIS

1. **Al Tarazi, Y. H. und K. Alshawabkeh**. 2003. Effect of dietary formic and propionic acids on salmonella pullorum shedding and mortality in layer chicks after experimental infection. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **50**:112-117.

2. **Almond, G. W.** 1996. Research applications using pigs. Vet Clin North Am Food Anim Pract **12** :707-716.

3. **Alppers, K. und A. Jansen**. 2004. Infektionen mit Salmonellen beim Menschen., p. 15-18. *In* M. Hartung (ed.), Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2003. Bundesinstitut für Risikobewertung, Hausdruckerei Berlin-Dahlem, Berlin.

4. **Anderson, R. C., K. J. Genovese, R. B. Harvey, L. H. Stanker, J. R. DeLoach, und D. J. Nisbet**. 2000. Assessment of the long-term shedding pattern of Salmonella serovar choleraesuis following experimental infection of neonatal piglets. J Vet Diagn Invest **12**:257-260.

5. **Anonymus**. 1998. Bekanntmachung der Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung. Bundesanzeiger **44**:2905-2906.

6. **Anonymus**. 1999. Epidem. Bulletin. Robert Koch Institut **15**:99-106.

7. **Anonymus**. 2000. Schleswig-Holstein Ärzteblatt. Ärztekammer Schleswig-Holstein **7**.

8. **Anonymus**. 2002. Salmonellose - Erkennung, Bekämpfung und Verhütung. Bundesgesundheitsblatt **45**:68-70.

9. **Anonymus**. 2004. Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004 über Lebensmittelhygiene. ABl. L 226 3.

10. **Anonymus**. 2006a. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on "Risk assessment and mitigation options of Salmonella in pig production. The EFSA Journal **341**:1-131.

11. **Anonymus**. 2006b. Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch. BGB .

12. **Anonymus**. 2007a. Antigenic Formulas of the Salmonella Serovars. P.A.D. Grimont; F.X. Weill.

13. **Anonymus**. 2007b. Salmonellenmonitoring und -reduzierungsprogramm für die Schweinefleischerzeugung. in: QS: Leitfaden für Programme zum Monitoring und zur Reduzierung von Lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern im Rahmen des QS-Prüfzeichens. (Version:01.04.2007). www.q-s.info/fileadmin/download/handbuch/ schwein / LF_Salmonellenmonitoring_Freig_060301. pdf.

14. **Anonymus**. 2007c. Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-Verordnung). Bundesgesetzblatt **1**.

15. **Anonymus**. 2008. Bekämpfungsprogramm der Bundesrepublik Deutschland im Hinblick auf zoonotische Salmonelleninfektionen bei Masthähnchen (Broiler, Gallus-gallus-Spezies) gemäß Artikel 5 Verordnung (EG) Nr. 2160/2003. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz .

16. **Audisio, M. C., G. Oliver, und M. C. Apella**. 1999. Antagonistic effect of Enterococcus faecium J96 against human and poultry pathogenic Salmonella spp. J Food Prot. **62**:751-755.

17. **Bailey, M., F. J. Plunkett, H. J. Rothkotter, M. A. Vega-Lopez, K. Haverson, und C. R. Stokes**. 2001. Regulation of mucosal immune responses in effector sites. Proc Nutr Soc **60**:427-435.

18. **Baird-Parker, A. C.** 1991. Foodborne salmonellosis, *In* Edward Arnold (ed.), Foodborne illness-A Lancet review, London.

19. **Baum, C. L. und D. L. Harris**. 1999. Effect of Feeding Lactobacillus to Pigs Infected with Salmonella typhimurium. Food Safety, Iowa State University. http://www. ipic. iastate. edu/reports/00swinereports/asl-687. pdf .

20. **Baumgart, J.** 2005. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behrs Verlag, Hamburg.

21. **Bäumler, A. J., R. M. Tsolis, und F. Heffron**. 2000. Virulence mechanisms of Salmonella and their genetic basis, p. 57-72. *In* C. a. W. A. Wray (ed.), Salmonella in Domestic Animals. CABI Publishing, Wallingfort.

22. **Bearson, B. L. und S. M. Bearson**. 2008. The role of the QseC quorum-sensing sensor kinase in colonization and norepinephrine-enhanced motility of Salmonella enterica serovar Typhimurium. Microb Pathog **44**:271-278.

23. **Becquet, P.** 2003. EU assessment of enterococci as feed additives. Int J Food Microbiol **88** :247-254.

24. **Beloeil, P. A., P. Fravalo, C. Fablet, J. P. Jolly, E. Eveno, Y. Hascoet, C. Chauvin, G. Salvat, und F. Madec**. 2004. Risk factors for Salmonella enterica subsp. enterica shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. Prev. Vet Med **63**:103-120.

25. **Belz, G. T. und T. J. Heath**. 1996. Tonsils of the soft palate of young pigs: crypt structure and lymphoepithelium. Anat Rec **245**:102-113.

26. **Benyacoub, J., G. L. Czarnecki-Maulden, C. Cavadini, T. Sauthier, R. E. Anderson, E. J. Schiffrin, und W. T. von der**. 2003. Supplementation of food with Enterococcus faecium (SF68) stimulates immune functions in young dogs. J Nutr **133**:1158-1162.

27. **Benyacoub, J., P. F. Perez, F. Rochat, K. Y. Saudan, G. Reuteler, N. Antille, M. Humen, G. L. De Antoni, C. Cavadini, S. Blum, und E. J. Schiffrin**. 2005. Enterococcus faecium SF68 enhances the immune response to Giardia intestinalis in mice. J Nutr **135**:1171-1176.

28. **Berends, B. R., H. A. Urlings, J. M. Snijders, und F. Van Knapen**. 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding Salmonella spp. in pigs. Int J Food Microbiol **30**:37-53.

29. **Berends, B. R., F. Van Knapen, J. M. Snijders, und D. A. Mossel**. 1997. Identification and quantification of risk factors regarding Salmonella spp. on pork carcasses. Int J Food Microbiol **36**:199-206.

30. **Bezkorovainy, A.** 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. Am J Clin Nutr **73**:399-405.

31. **Bisping, W.** 1993. Salmonellen in Futtermitteln. Dtsch Tierärztl Wochenschr **100**:262-263.

32. **Blackburn, C. W.** 1993. Rapid and alternative methods for the detection of salmonellas in foods. J Appl Bacteriol. **75**:199-214.

33. **Blaha, T.** 1993. Die Ausbreitungsdynamik von Salmonellen in Tierbeständen. Dtsch Tierärztl Wochenschr **100**:278-280.

34. **Blaha, T., G. Solano-Aguillar, und C. Pijoan**. 1997. The early colonization pattern of Salmonella Typhimurium in pigs after oral intake., *In* Proceedings of the 2nd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork., Copenhagen.

35. **Boes, J., J. Dahl, B. Nielsen, und H. H. Krog**. 2001. Effect of separate transport, lairage, and slaughter on occurrence of Salmonella typhimurium on slaughter carcasses. Berl Munch. Tierarztl. Wochenschr **114**:363-365.

36. **Borch, E., T. Nesbakken, und H. Christensen**. 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. Int J Food Microbiol **30**:9-25.

37. **Botteldoorn, N., L. Herman, N. Rijpens, und M. Heyndrickx**. 2004. Phenotypic and molecular typing of Salmonella strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouses. Appl Environ Microbiol **70**:5305-5314.

38. **Böhm, R.** 1993. Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt. Dtsch Tierärztl Wochenschr **100**:275-278.

39. **Brandao, R. L., I. M. Castro, E. A. Bambirra, S. C. Amaral, L. G. Fietto, M. J. Tropia, M. J. Neves, R. G. Dos Santos, N. C. Gomes, und J. R. Nicoli**. 1998. Intracellular signal triggered by cholera toxin in Saccharomyces boulardii and Saccharomyces cerevisiae. Appl Environ Microbiol **64**:564-568.

40. **Broom, L. J., H. M. Miller, K. G. Kerr, und J. S. Knapp**. 2006. Effects of zinc oxide and Enterococcus faecium SF68 dietary supplementation on the performance, intestinal microbiota and immune status of weaned piglets. Res Vet Sci **80**:45-54.

41. **Brumme, S.** 2006. Charakterisierung der Virulenzfaktoren invC und sseD des Typ III-Sekretionssystems von Salmonella Typhimurium DT104 mittels ex vivo Zytokin-Expression am experimentell infizierten Schwein. Uni-Leipzig, Vet. med. Diss.

42. **Burkey, T. E., S. S. Dritz, J. C. Nietfeld, B. J. Johnson, und J. E. Minton**. 2004. Effect of dietary mannanoligosaccharide and sodium chlorate on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of weaned pigs challenged with Salmonella enterica serotype Typhimurium. J Anim Sci **82**:397-404.

43. **Burkhardt, F.** 1992. Mikrobiologische Diagnostik. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York.

44. **Buts, J. P., P. Bernasconi, J. P. Vaerman, und C. Dive**. 1990. Stimulation of Secretory Iga and Secretory Component of Immunoglobulins in Small-Intestine of Rats Treated with Saccharomyces-Boulardii. Dig Dis Sci **35**:251-256.

45. **Byrne, M.** 1996. Playing it safe. Food Engeneering **2**:37-43.

46. **Callaway, T. R., J. L. Morrow, T. S. Edrington, K. J. Genovese, S. Dowd, J. Carroll, J. W. Dailey, R. B. Harvey, T. L. Poole, R. C. Anderson, und D. J. Nisbet**. 2006. Social stress increases fecal shedding of Salmonella typhimurium by early weaned piglets. Curr Issues Intest Microbiol **7**:65-71.

47. **Carter, H. E. und G. E. Phillips**. 1994. The nutritive value of yeast proteins. Fed Proc **3**:124-128.

48. **Casey, P. G., G. E. Gardiner, G. Casey, B. Bradshaw, P. G. Lawlor, P. B. Lynch, F. C. Leonard, C. Stanton, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, und C. Hill**. 2007. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with Salmonella enterica Serovar Typhimurium. Appl Environ Microbiol **73**:1858-1863.

49. **Clarke, R. C. und C. L. Gyles**. 1993. Salmonella., p. 133-153. *In* C. L. Gyles and C. O. Thoen (ed.), Pathogeneses of Bacterial Infections in Animals. Iowa State University Press, Iowa.

50. **Clemmer, D. I., J. L. Hickey, J. F. Bridges, D. J. Schliessmann, und M. F. Shaffer**. 1960. Bacteriologic studies of experimental air-borne salmonellosis in chicks. J Infect Dis **106**:197-210.

51. **Collinder, E., G. N. Berge, M. E. Cardona, E. Norin, S. Stern, und T. Midtvedt**. 2000. Feed additives to piglets, probiotic or antibiotic, p. 257. *In* Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia.

52. **Cort, N. und H. Kindahl**. 1990. Endotoxin-induced abortion in early pregnant gilts and its prevention by flunixin meglumine. Acta Vet Scand **31**:347-358.

53. **Cote, S., A. Letellier, L. Lessard, und S. Quessy**. 2004. Distribution of Salmonella in tissues following natural and experimental infection in pigs. Can J Vet Res **68**:241-248.

54. **Dahl, J., A. Wingstrand, B. Nielsen, und D. L. Baggesen**. 1997. Elimination of Salmonella typhimurium infection by the strategic movement of pigs. Vet Rec **140**:679-681.

55. **Darlow, H. M., W. R. Bale, und G. B. Carter**. 1961. Infection of mice by the respiratory route with Salmonella typhimurium. J Hyg (Lond) **59**:303-308.

56. **Darwin, K. H. und V. L. Miller**. 1999. Molecular basis of the interaction of Salmonella with the intestinal mucosa. Clin Microbiol Rev **12**:405-428.

57. **Davies, P. R., W. E. Morrow, F. T. Jones, J. Deen, P. J. Fedorka-Cray, und I. T. Harris**. 1997. Prevalence of Salmonella in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA. Epidemiol Infect **119**:237-244.

58. **Davies, P. R., H. H. Scott, J. A. Funk, P. J. Fedorka-Cray, und F. T. Jones**. 2004. The role of contaminated feed in the epidemiology and control of Salmonella enterica in pork production. Foodborne Pathog Dis **1**:202-215.

59. **De Cupere, F., P. Deprez, D. Demeulenaere, und E. Muylle**. 1992. Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental Escherichia coli enterotoxaemia in weaned piglets. J Vet Med **39**:277-284.

60. **De Cupere, F., P. Deprez, D. Demeulenaere, und E. Muylle**. 1992. Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental Escherichia coli enterotoxaemia in weaned piglets. Zentralbl Veterinarmed B **39**:277-284.

61. **Delsol, A. A., M. J. Woodward, und J. M. Roe**. 2004. Effect of a 5 day enrofloxacin treatment on Salmonella enterica serotype Typhimurium DT104 in the pig. J Antimicrob Chemother **53**:396-398.

62. **Dlabac, V., I. Trebichavsky, Z. Rehakova, B. Hofmanova, I. Splichal, und B. Cukrowska**. 1997. Pathogenicity and protective effect of rough mutants of Salmonella species in germ-free piglets. Infect Immun **65**:5238-5243.

63. **Dorn, C., A. Schroeter, und R. Helmuth**. 2002. Salmonellenvorkommen beim Schwein. Der praktische Tierarzt **84**:930-936.

64. **Dorn, C., A. Schroeter, und R. Helmuth**. 2004. Stagnation auf hohem Niveau. Fleischwirtschaft **4**:76-80.

65. **Doyle, M. E. und A. S. Mazzotta**. 2000. Review of studies on the thermal resistance of Salmonellae. J Food Prot **63**:779-795.

66. **Ebner, P. D. und A. G. Mathew**. 2000. Effects of antibiotic regimens on the fecal shedding patterns of pigs infected with salmonella typhimurium. J Food Prot **63**:709-714.

67. **Eckles, C. H. und Williams V.M.** 1925. Yeast as a supplementary feed for lactating cows. J Dairy Sci **8**:89-93.

68. **Ehlers, J., M. Alt, D. Trepnau, und J. Lehmann**. 2006. Anwendung neuer Immunglobulin-isotypspezifischer ELISA-Systeme zur Erkennung von Salmonelleninfektionen bei Schweinen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **119**:461-466.

69. **Emmanuel, D. G., A. Jafari, K. A. Beauchemin, J. A. Leedle, und B. N. Ametaj**. 2007. Feeding live cultures of Enterococcus faecium and Saccharomyces cerevisiae induces an inflammatory response in feedlot steers. J Anim Sci **85**:233-239.

70. **Erdman, M. M., I. T. Harris, M. Torremorell, V. M. Wilt, und D. L. Harris**. 2005. Occurrence of Salmonella serotype Typhimurium DT104 on a commercial swine farm before, during, and after depopulation and repopulation. J Am Vet Med Assoc **227**:460-466.

71. **Fedorka-Cray, P. J., L. C. Kelley, T. J. Stabel, J. T. Gray, und J. A. Laufer**. 1995. Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of Salmonella typhimurium in swine. Infect Immun **63**:2658-2664.

72. **Fedorka-Cray, P. J., J. S. Bailey, N. J. Stern, N. A. Cox, S. R. Ladely, und M. Musgrove**. 1999. Mucosal competitive exclusion to reduce Salmonella in swine. J Food Prot **62**:1376-1380.

73. **Fedorka-Cray, P. J., J. T. Gray, und C. Wray**. 2000. Salmonella Infections in Pigs, p. 191-208. *In* C. a. W. A. Wray (ed.), Salmonella in in domestic animals. CABI Publishing, Wallingfort.

74. **Fenwick, B. W. und H. J. Olander**. 1987. Experimental infection of weanling pigs with Salmonella typhisuis: effect of feeding low concentrations of chlortetracycline, penicillin, and sulfamethazine. Am J Vet Res **48**:1568-1573.

75. **Floch, M. H., B. Filburn, H. J. Binder, und W. Gershengoren**. 1972. The effect of bile acids on intestinal microflora. Am J Clin Nutr **25**:1418-1426.

76. **Floch, M. H., H. J. Binder, B. Filburn, und W. Gershengoren**. 1972. The effect of bile acids on intestinal microflora. Am J Clin Nutr **25**:1418-1426.

77. **Foster, N., M. A. Lovell, K. L. Marston, S. D. Hulme, A. J. Frost, P. Bland, und P. A. Barrow**. 2003. Rapid protection of gnotobiotic pigs against experimental salmonellosis following induction of polymorphonuclear leukocytes by avirulent Salmonella enterica. Infect Immun **71**:2182-2191.

78. **Fraser, J. N., B. L. Davis, K. A. Skjolaas, T. E. Burkey, S. S. Dritz, B. J. Johnson, und J. E. Minton**. 2007. Effects of feeding Salmonella enterica serovar Typhimurium or serovar Choleraesuis on growth performance and circulating insulin-like growth factor-I, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1beta in weaned pigs. J Anim Sci **85**:1161-1167.

79. **Freitag, M., H. Hensche, H. Schulte-Sienbeck, und B. Reichelt**. 1998. Kritische Betrachtung des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tierernährung. Forschungsber Fachber Agrarwirtsch Soest, Univ.-Gesamthochschule Paderborn, Band 8.

80. **Fuller, R.** 1992. History and development of probiotics. p. 1-7. In: R. Fuller (ed.), Probiotics: the scientific basic. Chapman & Hall Verlag, London.

81. **Fuller, R. und G. R. Gibson**. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scand J Gastroenterol Suppl **222**:28-31.

82. **Fuller, R. und G. R. Gibson**. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scand. J Gastroenterol **32**:28-31.

83. **Funk, J. A., P. R. Davies, und W. Gebreyes**. 2001. Risk factors associated with Salmonella enterica prevalence in three-site swine production systems in North Carolina, USA. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **114**:335-338.

84. **Galdeano, C. M., d. L. de Moreno, G. Vinderola, M. E. Bonet, und G. Perdigon**. 2007. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. Clin Vaccine Immunol **14**:485-492.

85. **García-Galaz, A. R. P.-M. M. D.-C. E. A.-F.** 2004. Resistance of Enterococcus strains isolated from pigs to gastrointestinal tract and antagonistic effect against Escherichia coli K88. Rev Latinoam Microbiol **46**:5-11.

86. **Gedek, B.** 1986. Probiotika in der Tierernährung; Wirkungen auf Leistung und Tiergesundheit. Kraftfutter **3**:80-86.

87. **Gedek, B.** 1992. Mikroorganismen als Leistungsförderer beim Ferkel. Kraftfutter **2**:55-60.

88. **Gedek, B.** 1993. Probiotika zur Regulierung der Darmflora. Tierärztl Umschau **48**:97-104.

89. **Gedek, B., M. Kirchgessner, S. Wiehler, A. Bott, U. Eidelsburger, und F. X. Roth**. 1993. [The nutritive effect of Bacillus cereus as a probiotic in the raising of piglets. 2. Effect and microbial count, composition and resistance determination of gastrointestinal and fecal microflora]. Arch Tierernahr **44**:215-226.

90. **Genovese, K. J., R. C. Anderson, D. E. Nisbet, R. B. Harvey, V. K. Lowry, S. Buckley, L. H. Stanker, und M. H. Kogut**. 1999. Prophylactic administration of immune lymphokine derived from T cells of Salmonella enteritidis-immune pigs. Protection against Salmonella choleraesuis organ invasion and cecal colonization in weaned pigs. Adv Exp Med Biol **473**:299-307.

91. **Genovese, K. J., R. C. Anderson, R. B. Harvey, und D. J. Nisbet**. 2000. Competitive exclusion treatment reduces the mortality and fecal shedding associated with enterotoxigenic Escherichia coli infection in nursery-raised neonatal pigs. Can J Vet Res **64**:204-207.

92. **Genovese, K. J., R. C. Anderson, R. B. Harvey, T. R. Callaway, T. L. Poole, T. S. Edrington, P. J. Fedorka-Cray, und D. J. Nisbet**. 2003. Competitive exclusion of Salmonella from the gut of neonatal and weaned pigs. J Food Prot **66**:1353-1359.

93. **Gericke, B., H. Claus, M. Voight, H. Tschäpe, G. Rasch, H. Holler, und H. Wagner**. 1999. Die epidemiologische Situation der Salmonellose in Deutschland 1997. Bundesgesundheitsblatt **42**:196-205.

94. **Gill, H. S., Q. Shu, H. Lin, K. J. Rutherfurd, und M. L. Cross**. 2001. Protection against translocating Salmonella typhimurium infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic Lactobacillus rhamnosus strain HN001. Med Microbiol Immunol **190** :97-104.

95. **Gray, J. T., P. J. Fedorka-Cray, T. J. Stabel, und T. T. Kramer**. 1996. Natural transmission of Salmonella choleraesuis in swine. Appl Environ Microbiol **62**:141-146.

96. **Grimont, P. A. D., F. Grimont, und P. Bouvet**. 2000. Taxonomy of the Genus Salmonella, p. 1-17. *In* C. a. W. A. Wray (ed.), Salmonella in in domestic animals. CABI Publishing, Wallingfort.

97. **Gutzmann, F., H. Layton, K. Simkins, und H. Jarolmen**. 1976. Influence of antibiotic-supplemented feed on occurrence and persistence of Salmonella typhimurium in experimentally infected swine. Am J Vet Res **37**:649-655.

98. **Hahn, H., D. Falke, und P. Klein**. 1994. Medizinische Mikrobiologie. Springer-Verlag, Berlin.

99. **Hald, T., A. Wingstrand, M. Swanenburg, A. von Altrock, und B. M. Thorberg**. 2003. The occurrence and epidemiology of Salmonella in European pig slaughterhouses. Epidemiol Infect **131**:1187-1203.

100. **Hartung, M.** 2006. Salmonella, p. 13-138. *In* M. HARTUNG (ed.), Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2005. Bundesinstitut für Risikobewertung, Hausdruckerei Berlin-Dahlem, Berlin.

101. **HARTUNG, M.** 2007. Ergebnisse der Zoonoseerhebung 2006 bei Lebensmitteln. Fleischwirtschaft. **10**:109-117.

102. **Heesemann, J. und M. Hensel**. 2000. Infektionsmodelle, Yersinien, Salmonellen, Shigellen und Listerien, p. 220-222. *In* Q. Heesemann and J. Hacker (ed.), Molekulare Infektionsbiologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.

103. **Helmuth, R., A. Kasbohrer, L. Geue, W. Rabsch, und D. Protz**. 1997. Pilot study on the prevalence of Salmonella in slaughterpigs in Germany, p. 107-109. *In* Proceedings of the 2nd international Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork, Kopenhagen, Dänemark.

104. **Helmuth, R.** 2008. Persönliche Mitteilung.

105. **Holmgren, J., C. Czerkinsky, N. Lycke, und A. M. Svennerholm**. 1992. Mucosal immunity: implications for vaccine development. Immunobiology **184**:157-179.

106. **Horter, D. C., K. J. Yoon, und J. J. Zimmerman**. 2003. A review of porcine tonsils in immunity and disease. Anim Health Res Rev **4**:143-155.

107. **Hurd, H. S., J. K. Gailey, J. D. McKean, und M. H. Rostagno**. 2001. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a Salmonella contaminated environment. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **114**:382-384.

108. **Issacson, R. E., R. G. Firkins, R. M. Weigel, F. A. Zuckerman, und J. A. DiPietro**. 1999. Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of Salmonella typhimurium among experimentally infected pigs. Am J Vet Res **60**:1155-1158.

109. **Jahn, H. U., R. Ullrich, T. Schneider, R. M. Liehr, H. L. Schieferdecker, H. Holst, und M. Zeitz**. 1996. Immunological and trophical effects of Saccharomyces boulardii on the small intestine in healthy human volunteers. Digestion **57**:95-104.

110. **Janeway, C. A., Jr. und R. Medzhitov**. 2002. Innate immune recognition. Annu Rev Immunol **20**:197-216.

111. **Jansen, G., B. Deddens, M. Wilkinson, und W. D. van der**. 1995. The influence of Enterococcus faecalis on the morphology and the antibody-binding capacity of the intestinal bacteria of ten healthy human volunteers. Infection **23**:46-50.

112. **Jensen, A. N., A. Dalsgaard, A. Stockmarr, E. M. Nielsen, und D. L. Baggesen**. 2006. Survival and transmission of Salmonella enterica serovar typhimurium in an outdoor organic pig farming environment. Appl Environ Microbiol **72**:1833-1842.

113. **Jin, L. Z., R. R. Marquardt, und X. Zhao**. 2000. A strain of Enterococcus faecium (18C23) inhibits adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli K88 to porcine small intestine mucus. Appl Environ Microbiol **66**:4200-4204.

114. **Jouglar, J. Y., H. Durand, und L. Dussert**. 2000. Evaluation of Saccharomyces cerevisiae I-1079 as a potential alternative to antibiotic growth promoters for piglet feeding, p. 260. *In* Proceedings of the 16th International Pig Veterynary Society Congress, Melbourne, Australia.

115. **Kampelmacher, E. H., W. Edel, P. A. M. Guinee, und L. M. van Noorle Jansen**. 1969. Experimental Salmonella infections in pigs. J Vet Med B **16**:717-724.

116. **Kampelmacher, E. H., W. Edel, P. A. Guinee, und L. M. Noorle Jansen**. 1969. Experimental salmonella infections in pigs. Zentralbl Veterinarmed B **16**:717-724.

117. **Kanasugi, H., T. Hasegawa, Y. Goto, H. Ohtsuka, S. Makimura, und T. Yamamoto**. 1997. Single administration of enterococcal preparation (FK-23) augments non-specific immune responses in healthy dogs. Int J Immunopharmacol **19**:655-659.

118. **Kauffmann, F.** 1966. [On the history of salmonella research]. Zentralbl Bakteriol [Orig.] **201**:44-48.

119. **Kauffmann, F.** 1978. Das Fundament. Munksgaard, Copenhagen.

120. **Kayser, F. H.** 2003. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. Int J Food Microbiol **88**:255-262.

121. **Kim, L. M., J. T. Gray, J. S. Bailey, R. D. Jones, und P. J. Fedorka-Cray**. 2005. Effect of porcine-derived mucosal competitive exclusion culture on antimicrobial resistance in Escherichia coli from growing piglets. Foodborne Pathog Dis **2**:317-329.

122. **Kraehenbuhl, J. P. und M. R. Neutra**. 1992. Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. Physiol Rev **72**:853-879.

123. **Krauss, H., A. Weber, B. Enders, H. G. Schiefer, W. Slenczka, und H. Zahner**. 1997. Zoonosen. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 76-78.

124. **Kühn, H.** 1995. Vorkommen und epidemische Verbreitung, p. 19-35. *In* H. Kühn and H. Tschäpe (ed.), Salmonellosen des Menschen RKI-Schriften. Medizin-Verlag, München.

125. **Kyriakis, S. C., E. D. Tzika, D. N. Lyras, A. C. Tsinas, K. Saoulidis, und K. Sarris**. 1998. Effect of an inactivated Parapoxvirus based immunomodulator (Baypamun) on post weaning diarrhoea syndrome and wasting pig syndrome of piglets. Res Vet Sci **64**:187-190.

126. **Kyriakis, S. C., V. K. Tsiloyiannis, J. Vlemmas, K. Sarris, A. C. Tsinas, C. Alexopoulos, und L. Jansegers**. 1999. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. Res Vet Sci **67**:223-228.

127. **Lassen, E. D., L. J. Hoffman, M. L. Kaeberle, und W. B. Buck**. 1980. Increased susceptibility of lead-exposed swine to Salmonella choleraesuis var kunzendorf. Am J Vet Res **41**:463-468.

128. **Lawal, A., H. Morvan, G. Despez, und B. Corbion**. 1992. Salmonellosis in swine - Reports and Communication, p. 164-175. *In* Proceedings Salmonella and Salmonellosis, Ploufragan/St. Brieuc, Frankreich.

129. **Le Minor, L., M. Veron, und M. Popoff**. 1982. [The taxonomy of Salmonella]. Ann Microbiol (Paris) **133**:223-243.

130. **Le Minor, L. und J. Bockemuhl**. 1984. [Supplement No. XXVII (1983) to the Kauffmann-White scheme]. Ann Microbiol (Paris) **135B**:45-51.

131. **Le Minor, L., M. Y. Popoff, B. Laurent, und D. Hermant**. 1986. [Characterization of a 7th subspecies of Salmonella: S. choleraesuis subsp. indica subsp. nov.]. Ann Inst Pasteur Microbiol **137B**:211-217.

132. **Le Minor, L. und M. Y. Popoff**. 1987. Request for an opinion. Designation of Salmonella enterica sp. nov., nom. Rev., as the type and only species of the Genus Salmonella. Int. J Syst Bacteriol **37**:465-468.

133. **Le Minor, L.** 1994. The genus Salmonella, p. 2760-2774. *In* A. Ballows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harber, and K.-H. Scheiffer (ed.), The Prokaryotes. Springer, New York.

134. **Lehmann, J., T. Lindner, M. Naumann, T. Kramer, G. Steinbach, T. Blaha, J. Ehlers, H.-J. Selbitz, J. Gabert, und U. Roesler**. 2004. Application of a novel pig immunoglobulin-isotype-specific enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Salmonella enterica serovar Typhimurium antibodies in serum and meat juice., p. 383. *In* Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society World Congress, . Vol. 1, Hamburg.

135. **Lema, M., L. Williams, und D. R. Rao**. 2001. Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in lambs by feeding microbial feed supplement. Small Rumin Res **39**:31-39.

136. **Lilly, D. M. und R. H. Stillwell** . 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. Science **147**:747-748.

137. **Link-Amster, H., F. Rochat, K. Y. Saudan, O. Mignot, und J. M. Aeschlimann**. 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. FEMS Immunol Med Microbiol **10**:55-63.

138. **Lo Fo Wong, D. M., J. Dahl, H. Stege, P. J. van der Wolf, L. Leontides, A. von Altrock, und B. M. Thorberg**. 2004. Herd-level risk factors for subclinical Salmonella infection in European finishing-pig herds. Prev Vet Med **62**:253-266.

139. **Lodemann, U., K. Hubener, N. Jansen, und H. Martens**. 2006. Effects of Enterococcus faecium NCIMB 10415 as probiotic supplement on intestinal transport and barrier function of piglets. Arch Anim Nutr **60**:35-48.

140. **Lodinova-Zadnikova, R., H. Tlaskalova-Hogenova, und U. Sonnenborn**. 1992. Local and serum antibody response in full term and premature infants after artificial colonization of the in the intestine with E. coli Nissle 1917 (Mutaflor®). Pediatr Allergy Immunol **3**:43-48.

141. **Loynachan, A. T., J. M. Nugent, M. M. Erdman, und D. L. Harris**. 2004. Acute infection of swine by various Salmonella serovars. J Food Prot **67**:1484-1488.

142. **Lyhs, U., J. Bjorkroth, und H. Korkeala**. 1999. Characterisation of lactic acid bacteria from spoiled, vacuum-packaged, cold-smoked rainbow trout using ribotyping. Int J Food Microbiol **52**:77-84.

143. **Macpherson, A. J. und T. Uhr**. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. Science **303**:1662-1665.

144. **Madec, F., N. Bridoux, S. Bounaix, und A. Jestin**. 1998. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. Prev Vet Med **35**:53-72.

145. **Maia, O. B., R. Duarte, A. M. Silva, D. C. Cara, und J. R. Nicoli**. 2001. Evaluation of the components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged with Salmonella enterica subsp. enterica ser. Typhimurium. Vet Microbiol **79**:183-189.

146. **Maidak, B. L., J. R. Cole, T. G. Lilburn, C. T. Parker, P. R. Saxman, R. J. Farris, G. M. Garrity, G. J. Olsen, T. M. Schmidt, und J. M. Tiedje**. 2001. The RDP-II (Ribosomal Database Project). Nucleic Acids Res **29**:173-174.

147. **Malorny, B., C. Dorn, A. Schroeter, A. Kasbohrer, und R. Helmuth**. 2007. Ringversuchsergebnisse für den kulturellen Nachweis von Salmonellen in Geflügelkot. Berl Münch Tierärztl Wochenschr **120**:334-339.

148. **Malorny, B.** 2008. Persönliche Mitteilung.

149. **Mansfield, L. und S. J. Forsythe**. 1993. Immunomagnetic separation as an alternative to enrichment broth for Salmonella detection. Lett Appl Microbiol **16**:122-123.

150. **Marcinakova, M., M. Simonova, V. Strompfova, und A. Laukova**. 2006. Oral application of Enterococcus faecium strain EE3 in healthy dogs. Folia Microbiol (Praha) **51**:239-242.

151. **Marg, H., H. C. Scholz, T. Arnold, U. Rosler, und A. Hensel**. 2001. Influence of long-time transportation stress on re-activation of Salmonella typhimurium DT104 in experimentally infected pigs. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **114**:385-388.

152. **Martinez, A. A., L. E. Zapata, P. Pradal-Roa, J. Sierra-Diaz, M. P. Pérezolvera, R. Mendoza, Velázquez-Madrazo, und J. A. Cuorón**. 2000. Ileitis, intestinal microflora and performance of growing-finishing pigs fed Saccharomyces cerevesiae, p. 245. *In* Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia.

153. **Matlho, G., S. Himathongkham, H. Riemann, und P. Kass**. 1997. Destruction of Salmonella enteritidis in poultry feed by combination of heat and propionic acid. Avian Dis **41**:58-61.

154. **Männer, K. und A. Spieler**. 1997. Probiotics in piglets - An alternative to traditional growth promoters. Micoecol Ther **26**:243-256.

155. **McGhee, J. R., J. Mestecky, M. T. Dertzbaugh, J. H. Eldridge, M. Hirasawa, und H. Kiyono**. 1992. The mucosal immune system: from fundamental concepts to vaccine development. Vaccine **10**:75-88.

156. **Metcalf, E. S., G. W. Almond, P. A. Routh, J. R. Horton, R. C. Dillman, und P. E. Orndorff**. 2000. Experimental Salmonella typhi infection in the domestic pig, Sus scrofa domestica. Microb Pathog **29**:121-126.

157. **Metchnikoff, E.** 1908. Prolongation of Life. Putmans Sons, New York.

158. **Mikes, A., M. Ferencik, E. Jahnova, L. Ebringer, und I. Ciznar**. 1995. Hypocholesterolemic and immunostimulatory effects of orally applied Enterococcus faecium M-74 in man. Folia Microbiologica **40**:639-646.

159. **Mikkelsen, L. L., P. J. Naughton, M. S. Hedemann, und B. B. Jensen**. 2004. Effects of physical properties of feed on microbial ecology and survival of Salmonella enterica serovar Typhimurium in the pig gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol **70**:3485-3492.

160. **Morgan, I. R., F. L. Krautil, und J. A. Craven**. 1987. Effect of time in lairage on caecal and carcass salmonella contamination of slaughter pigs. Epidemiol Infect **98**:323-330.

161. **Mossel, D. A. A. und C. B. Struijk**. 1993. Workshop on risk assessment of human exposure to pathogenic microorganisms. Int J Food Microbiol **18**:239-244.

162. **Nemcova, R., A. Bomba, S. Gancarcikova, K. Reiffova, P. Guba, J. Koscova, Z. Jonecova, L. Scirankova, und A. Bugarsky**. 2007. Effects of the administration of lactobacilli, maltodextrins and fructooligosaccharides upon the adhesion of E. coli O8:K88 to the intestinal mucosa and organic acid levels in the gut contents of piglets. Vet Res Commun **31**:791-800.

163. **Nemcovà, R., A. Bomba, S. Gacarciková, R. Herich, und P. Guba**. 1999. Der Einfluß der Applikation von Lactobacillus paracasei und Fruktooligosacchariden auf die Kotmikroflora der Absatzferkel. Berl Münch Tierärztl Wschr **112**:225-228.

164. **Netherwood, T., H. J. Gilbert, D. S. Parker, und A. G. O'Donnell**. 1999. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol **65**:5134-5138.

165. **Neutra, M. R., N. J. Mantis, und J. P. Kraehenbuhl**. 2001. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. Nat Immunol **2**:1004-1009.

166. **Newbold, C. J., R. J. Wallace, X. B. Chen, und F. M. McIntosh**. 1995. Different strains of Saccharomyces cerevisiae differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. J Anim Sci **73**:1811-1818.

167. **Nielsen, B., D. Baggesen, F. Bager, J. Haugegaard, und P. Lind**. 1995. The serological response to Salmonella serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. Vet Microbiol **47**:205-218.

168. **Niewold, T. A., E. J. Veldhuizen, M. J. van der, H. P. Haagsman, A. A. de Wit, M. A. Smits, M. H. Tersteeg, und M. M. Hulst**. 2007. The early transcriptional response of pig small intestinal mucosa to invasion by Salmonella enterica serovar typhimurium DT104. Mol Immunol **44**:1316-1322.

169. **Ogawa, M., K. Shimizu, K. Nomoto, M. Takahashi, M. Watanuki, R. Tanaka, T. Tanaka, T. Hamabata, S. Yamasaki, und Y. Takeda**. 2001. Protective effect of Lactobacillus casei strain Shirota on Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 infection in infant rabbits. Infect Immun **69**:1101-1108.

170. **Ohashi, Y., R. Iboue, K. Tanaka, T. Matsuki, Y. Umesaki, und K. Ushida**. 2001. Lactobacillus casei strain Shirota-fermented milk stimulates indigenous Lactobacilli in the pig intestine. J Nutr Sci Vitaminol **47**:172-176.

171. **Oliveira, C. J., L. F. Carvalho, und T. B. Garcia**. 2006. Experimental airborne transmission of Salmonella Agona and Salmonella Typhimurium in weaned pigs. Epidemiol Infect **134**:199-209.

172. **Olson, L. D., D. E. Rodabaugh, und L. G. Morehouse**. 1977. Comparison of furazolidone and carbadox in the feed for treatment of Salmonella choleraesuis in swine. Am J Vet Res **38**:1471-1477.

173. **Osterberg, J., I. Vagsholm, S. Boqvist, und S. S. Lewerin**. 2006. Feed-borne outbreak of Salmonella cubana in Swedish pig farms: risk factors and factors affecting the restriction period in infected farms. Acta Vet Scand **47**:13-21.

174. **Ouwehand, A. C., P. V. Kirjavainen, M. M. Gronlund, E. Isolauri, und S. J. Salminen**. 1999. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. Int Dairy J **9**:623-630.

175. **Ozawa, A. und R. Freter**. 1964. Ecological Mechanism Controlling Growth of Escherichia Coli in Continuous Flow Cultures + in Mouse Intestine. J Infect Dis **114**:235-&.

176. **Parker, R. B.** 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim Nutr Health **29**:4-8.

177. **Paubert-Braquet, M., X. H. Gan, C. Gaudichon, N. Hedef, A. Serikoff, C. Bouley, B. Bonavida, und P. Braquet**. 1995. Enhancement of host resistance against Salmonella typhimurium in mice fed a diet supplemented with yoghurt or milks fermented with various Lactobacillus casei strains. Int J Immunother **11**:153-161.

178. **Perdigon, G., M. E. Nader de Macias, S. Alvarez, G. Oliver, und Pesce de Ruiz Holgado AA**. 1990. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with Lactobacillus casei and Lactobacillus acidophilus. J Dairy Res **57**:255-264.

179. **Perdigon, G., S. Alvarez, und H. A. Pesce de Ruiz**. 1991. Immunoadjuvant activity of oral Lactobacillus casei: influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. J Dairy Res **58**:485-496.

180. **Perdigon, G., S. Alvarez, M. Rachid, G. Aguero, und N. Gobbato**. 1995. Immune system stimulation by probiotics. J Dairy Sci **78**:1597-1606.

181. **Petzoldt, K. und E. Müller**. 1986. Tierexperimentelle und zellbiologische Untersuchungen zur Wirkung von Saccharomyces cerevisiae Hansen CBS 5926 bei der unspezifischen Steigerung des Immunsystems. Arzneim Forsch /Drug Res **36**:1085-1088.

182. **Pollmann, M., M. Nordhoff, A. Pospischil, K. Tedin, und L. H. Wieler**. 2005. Effects of a probiotic strain of Enterococcus faecium on the rate of natural chlamydia infection in swine. Infect Immun **73**:4346-4353.

183. **Rabsch, W., A. Kasbohrer, L. Geue, R. Helmuth, T. Blaha, und D. Protz**. 1998. German strategies for reduction of Salmonella typhimurium in German slaughter pigs, *In* Proceedings of the 4th World Congress Foodborne Infections and Intoxications., Berlin.

184. **Raibaud, P.** 1992. Bacterial interactions in the gut, p. 9-28. *In* R. Fuller (ed.), Probiotics. Chapman & Hall, London, England.

185. **Rasch, G. und C. Schrader**. 1998. Infektionen mit Zoonoseerregern beim Menschen. in: Deutscher Trendbericht über den Verlauf und die Quellen von Zoonose-Infektionen nach der Zoonose-RL (92/117/EWG) für 1997. Bundesinstitut für Gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (Heute: Bundesinstitut für Risikobewertung).

186. **Reed, W. M., H. J. Olander, und H. L. Thacker**. 1986. Studies on the pathogenesis of Salmonella typhimurium and Salmonella choleraesuis var kunzendorf infection in weanling pigs. Am J Vet Res **47**:75-83.

187. **Reeves, M. W., G. M. Evins, A. A. Heiba, B. D. Plikaytis, und J. J. Farmer, III**. 1989. Clonal nature of Salmonella typhi and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of Salmonella bongori comb. nov. J Clin Microbiol **27**:313-320.

188. **Reiter, K.** 2005. Einfluss des Probiotikums Enterococcus faecium SF 68 (NCIMB 10415) auf die Morphologie der Darmschleimhaut des Schweines. FU Berlin, Vet. med. Diss.

189. **Rescigno, M., M. Urbano, B. Valzasina, M. Francolini, G. Rotta, R. Bonasio, F. Granucci, J. P. Kraehenbuhl, und P. Ricciardi-Castagnoli**. 2001. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. Nat Immunol **2**:361-367.

190. **Reuter, G.** 2001. Probiotika-Möglichkeiten und Grenzen ihres Einsatzes in Lebensmitteln, im Tierfutter und in pharmazeitischen Präparaten für Mensch und Tier. Berl Münch Tierärztl Wochenschr **114**:410-419.

191. **Reuter, G.** 2001. [Probiotics--possibilities and limitations of their application in food, animal feed, and in pharmaceutical preparations for men and animals]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **114**:410-419.

192. **Richter, G., H. Hartung, J. Bargholz, E. Herzog, F. Otto, und T. Müller-Dittmann**. 2006. Organische Futterzusätze in der Schweinemast. J Verbr Lebensm **1**:210-221.

193. **Rinkinen, M., K. Jalava, E. Westermarck, S. Salminen, und A. C. Ouwehand**. 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal Enterococcus faecium colonization? Vet Microbiol **92**:111-119.

194. **Roth, H.** 1997. Tiergesundheit fördern - mit Leistungsförderern und Bioregulatoren. Kraftfutter **4**:154-166.

195. **Ruas-Madiedo, P., M. Gueimonde, A. Margolles, C. G. D. L. Reyes-Gavilan, und S. Salmineni**. 2006. Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of problotics and enteropathogens to human intestinal mucus. J Food Prot **69**:2011-2015.

196. **Sandine, W. E.** 1979. Roles of Lactobacillus in the intestinal tract. J Food Prot **42**:259-262.

197. **Scharek-Tedin, L.** 2008. Persönliche Mitteilung.

198. **Scharek, L., J. Guth, K. Reiter, K. D. Weyrauch, D. Taras, P. Schwerk, P. Schierack, M. F. Schmidt, L. H. Wieler, und K. Tedin**. 2005. Influence of a probiotic Enterococcus faecium strain on development of the immune system of sows and piglets. Vet Immunol Immunopathol **105**:151-161.

199. **Scharek, L., B. J. Altherr, C. Tolke, und M. F. Schmidt**. 2007. Influence of the probiotic Bacillus cereus var. toyoi on the intestinal immunity of piglets. Vet Immunol Immunopathol. **120**:136-147.

200. **Scherer, K., I. Szabó, U. Roesler, Appel.B., A. Hensel, und Nöckler.K.** 2008. Time course of infection with Salmonella Typhimurium and its influence on fecal shedding, distribution in inner organs and antibody response in fattening pigs. J Food Prot **71**:699-705.

201. **Schierack, P., L. H. Wieler, D. Taras, V. Herwig, B. Tachu, A. Hlinak, M. F. G. Schmidt, und L. Scharek**. 2007. Bacillus cereus var. toyoi enhanced systemic immune response in piglets. Vet Immunol Immunopathol **118**:1-11.

202. **Schiffrin, E. J., D. Brassart, A. L. Servin, F. Rochat, und A. DonnetHughes**. 1997. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: Criteria for strain selection. Am J Clin Nutr **66**:515-520.

203. **Schlegel, H. G.** 1992. Allgemeine Mikrobiologie. Thieme Verlag, Stuttgart.

204. **Schmidt, P. L., A. M. O'Connor, J. D. McKean, und H. S. Hurd**. 2004. The association between cleaning and disinfection of lairage pens and the prevalence of Salmonella enterica in swine at harvest. J Food Prot **67**:1384-1388.

205. **Schroeder, B., S. Duncker, S. Barth, R. Bauerfeind, A. D. Gruber, S. Deppenmeier, und G. Breves**. 2006. Preventive effects of the probiotic Escherichia coli strain Nissle 1917 on acute secretory diarrhea in a pig model of intestinal infection. Dig Dis Sci **51**:724-731.

206. **Seifert, H. S. und F. Gessler**. 1997. Continuous oral application of probiotic B. cereus - an alternative to the prevention of enterotoxemia? Anim Res Dev **46**:30-38.

207. **Selbitz, H. J.** 1992. Lehrbuch der Veterinärmedizinischen Bakteriologie. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart.

208. **Shu, Q., H. Lin, K. J. Rutherfurd, S. G. Fenwick, J. Prasad, P. K. Gopal, und H. S. Gill**. 2000. Dietary Bifidobacterium lactis (HN019) enhances resistance to oral Salmonella typhimurium infection in mice. Microbiol Immunol **44**:213-222.

209. **Shu, Q., F. Qu, und H. S. Gill**. 2001. Probiotic treatment using Bifidobacterium lactis HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and Escherichia coli infection in a piglet model. J Pediatr Gastroenterol Nutr **33**:171-177.

210. **Simon, O., A. Jadamus, und W. Vahjen**. 2001. Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. J Anim Feed Sci **10**:51-56.

211. **Simon, O., W. Vahjen, und D. Taras**. 2004. Ernährung und intestinale Mikrobiota bei Schwein und Geflügel Mikrobiologie und Tierernährung, p. 112-124. *In* 20. Hülsenberger Gespräche, Lübeck, Schriftenreihe der Wilhelm Schaumann Stiftung.

212. **Simon, O., W. Vahjen, und D. Taras**. 2007. Potentials of probiotics in pig nutrition. Feed Mix **15**:2-3.

213. **Skjolaas, K. A., T. E. Burkey, S. S. Dritz, und J. E. Minton**. 2006. Effects of Salmonella enterica serovars Typhimurium (ST) and Choleraesuis (SC) on chemokine and cytokine expression in swine ileum and jejunal epithelial cells. Vet Immunol Immunopathol **111**:199-209.

214. **Stark, K. D., A. Wingstrand, J. Dahl, V. Mogelmose, und D. M. Lo Fo Wong**. 2002. Differences and similarities among experts' opinions on Salmonella enterica dynamics in swine pre-harvest. Prev Vet Med **53**:7-20.

215. **Steckley, J. D., D. G. Grieve, G. K. Macleod, und T. Jr. Moran**. 1979. Brewer´s yeast slurry. II. A source of supplementary protein for lactating dairy cattle. J Dairy Sci **62**:947-953.

216. **Steenhard, N. R., A. Roepstorff, D. L. Baggesen, J. Boes, T. K. Jensen, B. Aasted, und N. Ornbjerg**. 2006. Studies on the interaction between Salmonella enterica ser. Typhimurium and intestinal helminths in pigs. Vet Parasitol **139**:158-167.

217. **Steinbach, G. und M. Hartung**. 1999. Versuch einer Schätzung des Anteils menschlicher Salmonellenerkrankungen, die auf vom Schwein stammende Salmonellen zurückzuführen sind. Berl Münch Tierärzt Wochenschr **112**:296-300.

218. **Steinbach, G., L. Lauterbach, und U. Methner**. 2000. Studies of the phenomenon of host adaptation in Salmonella. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **47**:707-719.

219. **Steinbach, G., U. Methner, und H. Meyer**. 2003. Die Verteilung von Immunglobulinisotypen und von Salmonellenantikörpern in Blutserum und Fleischsaft von Schweinen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr **116**:274-280.

220. **Stewart, C. S., K. Hillmann, F. Maxwell, D. Kekky, und T. P. King**. 1995. Die neuesten Fortschritte in der Probiose beim Schwein: Beobachtungen zur Mikrobiologie des Schweinedarms. Übers Tierernährg **23**:1-26.

221. **Strompfova, V., M. Marcinakova, M. Simonova, S. Gancarcikova, Z. Jonecova, L. Scirankova, J. Koscova, V. Buleca, K. Cobanova, und A. Laukova**. 2006. Enterococcus faecium EK13--an enterocin a-producing strain with probiotic character and its effect in piglets. Anaerobe **12**:242-248.

222. **Swanenburg, M., H. A. P. Urlings, D. A. Keuzenkamp, und J. M. A. Snijders**. 1999. Tonsils of slaughtered pigs as marker sample for Salmonella positive pork, p. 264-265. *In* P. B. Bahnson (ed.), Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella positive pork, Washington, DC, USA.

223. **Szabó, I., K. Scherer, U. Roesler, B. Appel, K. Nöckler, und A. Hensel**. 2008. Comparative examination and validation of ELISA test systems for Salmonella Typhimurium diagnosis of slaughtering pigs. Int J Food Microbiol **124**:65-69.

224. **Tannock, G. W.** 1999. Analysis of the intestinal microflora: a renaissance. Antonie Van Leeuwenhoek **76**:265-278.

225. **Taras, D., W. Vahjen, M. Macha, und O. Simon**. 2005. Response of performance characteristics and fecal consistency to long-lasting dietary supplementation with the probiotic strain Bacillus cereus var. toyoi to sows and piglets. Arch Anim Nutr **59**:405-417.

226. **Taras, D., W. Vahjen, M. Macha, und O. Simon**. 2006. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of Escherichia coli virulence genes during long-term administration of a probiotic Enterococcus faecium strain to sows and piglets. J Anim Sci **84**:608-617.

227. **Tejada-Simon, M. V., Z. Ustunol, und J. J. Pestka**. 1999. Effects of lactic acid bacteria ingestion on basal cytokine mRNA and immunoglobulin levels in the mouse. J Food Prot **62**:287-291.

228. **Theppangna, W., K. Otsuki, und T. Murase**. 2006. Inhibitory effects of Enterococcus strains obtained from a probiotic product on in vitro growth of Salmonella enterica serovar enteritidis strain IFO3313. J Food Prot **69**:2258-2262.

229. **Tschäpe, H. und H. Kühn**. 1995. Einleitung, p. 5-18. *In* H. Kühn and H. Tschäpe (ed.), Salmonellosen des Menschen RKI-Schriften. Medizin-Verlag, München.

230. **Tschäpe, H. und J. Bockemühl**. 2002. Lebensmittelübertragene Salmonellose in Deutschland, p. 491-496. *In* Bundesgesundheitsbl- Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz.

231. **Turner, J. L., S. S. Dritz, J. J. Higgins, K. L. Herkelman, und J. E. Minton**. 2002. Effects of a Quillaja saponaria extract on growth performance and immune function of weanling pigs challenged with Salmonella typhimurium. J Anim Sci **80**:1939-1946.

232. **Turner, J. L., S. S. Dritz, J. J. Higgins, und J. E. Minton**. 2002. Effects of Ascophyllum nodosum extract on growth performance and immune function of young pigs challenged with Salmonella typhimurium. J Anim Sci **80**:1947-1953.

233. **Vahjen W. und K. Männer**. 2003. The effect of a probiotic Enterococcus faecium product in diets of healthy dogs on bacteriological counts of Salmonella spp., Campylobacter spp. and Clostridium spp. in faeces. Arch Tierernahr **57**:229-233.

234. **Vahjen, W., D. Taras, und O. Simon**. 2007. Effect of the probiotic Enterococcus faecium NCIMB10415 on cell numbers of total Enterococcus spp., E. faecium and E. faecalis in the intestine of piglets. Curr Issues Intest Microbiol **8**:1-7.

235. **Vinderola, C. G., M. Medici, und G. Perdigon**. 2004. Relationship between interaction sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell wall protein profiles in indigenous and exogenous bacteria. J Appl Microbiol **96**:230-243.

236. **Vitini, E., S. Alvarez, M. Medina, M. Medici, M. V. de Budeguer, und G. Perdigon**. 2000. Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. Biocell **24**:223-232.

237. **Waldmann, K. H. und H. Plonait**. 2004. Erkrankungen der Verdauungsorgane und des Abdomens, p. 344-348. *In* K. H. Waldmann and M. Wendt (ed.), Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Parey Verlag, Stuttgart.

238. **Waltmann, W. D.** 2000. Methods for the cultural Isolation of Salmonella, p. 355-372. *In* C. a. W. A. Wray (ed.), Salmonella in in domestic animals. CABI Publishing, Wallingfort.

239. **Wathes, C. M., W. A. Zaidan, G. R. Pearson, M. Hinton, und N. Todd**. 1988. Aerosol infection of calves and mice with Salmonella typhimurium. Vet Rec **123**:590-594.

240. **Wells, C.** 1990. Relationship between intestinal microecology and the translocation of intestinal bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek **58**:87-93.

241. **Wieß, M.** 2003. Wirkung von Enterococcus faecium auf den Organismus neonataler Hundewelpen. Ludwig-Maximilians-Universität München, Vet. med. Diss.

242. **Wilcock, B. und H. Olander**. 1978. Influence of oral antibiotic feeding on the duration and severity of clinical disease, growth performance, and pattern of shedding in swine inoculated with Salmonella typhimurium. J Am Vet Med Assoc **172**:472-477.

243. **Winkler, P., M. de Vrese, C. Laue, und J. Schrezenmeir**. 2005. Effect of a dietary supplement containing probiotic bacteria plus vitamins and minerals on common cold infections and cellular immune parameters. Int J Clin Pharmacol Ther **43**:318-326.

244. **Woese, C. R., O. Kandler, und M. L. Wheelis**. 1990. Towards A Natural System of Organisms - Proposal for the Domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **87**:4576-4579.

245. **Wood, R. L., A. Pospischil, und R. Rose**. 1989. Distribution of persistent Salmonella typhimurium infection in internal organs of swine. Am J Vet Res **50**:1015-1021.

246. **Wood, R. L., R. Rose, N. E. Coe, und K. E. Ferris**. 1991. Experimental establishment of persistent infection in swine with a zoonotic strain of Salmonella newport. Am J Vet Res **52**:813-819.

247. **Wood, R. L. und R. Rose**. 1992. Populations of Salmonella typhimurium in internal organs of experimentally infected carrier swine. Am J Vet Res **53**:653-658.

248. **Zeyner, A. und E. Boldt**. 2006. Effects of a probiotic Enterococcus faecium strain supplemented from birth to weaning on diarrhoea patterns and performance of piglets. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) **90**:25-31.

249. **Zhao, T., M. P. Doyle, B. G. Harmon, C. A. Brown, P. O. Mueller, und A. H. Parks**. 1998. Reduction of carriage of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. J Clin Microbiol **36**:641-647.

10 ANHANG

Tabelle 22: Zusammensetzung des in der Studie verwendete Grundfutters (g/kg).

Weizenschrot	61,30
Gerstenschrot	13,00
Sojaschrot (Typ 48)	18,30
Kohlensaurer Kalk	1,60
Monocalciumphosphat	1,49
Mineralvormischung	1,61
Sojaöl	2,00
Lysin	0,30
Methionin	0,04
Probiotikum	0,03
Viehsalz	0,36

Tabelle 23: Gemessene Körpertemperaturen der Tiere in °C, bei denen mindestens einmal 40°C oder höhere Körpertemperatur gemessen werden konnte. Körpertemperaturen ≥ 40 sind grau markiert.

Tage	Probiotikagruppe									Kontrollgruppe					
p.i.	*62/2*	*62/4*	*62/6*	*62/12*	*91/2*	*91/8*	*74/2*	*74/9*	*74/11*	*63/2*	*63/5*	*63/8*	*97/15*	*97/16*	*72/10*
0	39,2	38,5	37,7	37,6	39,5	39,4	39,2	39,1	39,2	39,3	39,3	39,0	38,7	38,6	39,3
1	**40,5**	**40,4**	**40,3**	**40,3**	**40,5**	39,4	39,6	39,6	39,0	39,2	39,6	**40,6**	39,0	39,2	39,7
2	39,5	39,4	39,4	39,4	**40,9**	**40,2**	39,8	**40,0**	39,7	39,7	39,6	39,5	39,1	39,5	**40,1**
3	39,4	39,2	39,3	39,3	39,3	**40,1**	**40,0**	**40,1**	39,5	39,3	39,7	39,2	39,1	39,2	39,9
4	39,6	39,2	39,3	39,2	39,4	**40,3**	39,2	39,3	39,0	**40,6**	39,5	39,5	39,5	39,5	39,8
5	39,6	39,6	39,8	39,7	39,4	39,9	39,3	39,5	39,2	39,6	39,5	39,3	39,3	39,5	39,7
6	38,8	39,0	39,3	39,3	39,5	39,7	38,7	39,7	39,2	39,3	39,4	39,1	39,1	39,5	39,6
7	38,8	39,5	39,2	39,9	39,8	39,9	39,1	39,1	38,9	39,4	39,4	39,5	39,3	39,5	39,4
8	39,2	39,3	39,3	39,2	39,8	39,4	39,3	39,5	39,1	39,4	39,0	39,5	39,8	39,4	**40,0**
9	39,2	39,3	39,3	39,2	39,5	39,4	39,8	**40,0**	39,8	39,5	39,5	39,6	39,6	39,6	39,8
10	39,3	39,5	39,2	39,6	**40,1**	39,7	39,6	39,7	38,9	39,6	39,5	39,5	39,5	39,5	39,7
11	39,3	39,3	39,4	39,6	39,9	39,7	39,6	39,7	39,2	39,5	39,6	39,7	39,1	39,4	39,4
12	39,5	39,3	39,3	39,5	39,8	39,7	39,5	39,7	39,0	39,4	39,6	39,6	39,2	39,6	39,4
13	39,4	39,2	39,1	39,6	39,7	39,7	39,4	39,5	38,9	39,4	39,6	39,6	39,1	39,5	39,7
14	**40,0**	39,2	39,4	39,6	39,8	39,9	**40,1**	**40,0**	**40,1**	**40,0**	39,5	39,6	39,9	39,6	39,8
15	39,6	**41,0**	39,1	39,5	39,7	39,9	39,8	39,9	**40,0**	39,1	39,2	39,1	**40,0**	**40,1**	39,8
16	39,6	39,6	39,1	39,5	39,4	39,8	39,8	39,9	39,8	39,2	39,2	39,5	39,8	39,5	39,5
17	39,6	39,5	39,2	39,2	39,5	39,9	39,7	39,8	39,6	39,5	39,4	39,4	39,6	39,3	39,9
18	39,4	39,6	39,4	39,4	39,5	39,6	39,5	39,9	39,5	39,5	39,4	39,5	39,5	39,4	39,6
19	39,6	39,5	39,3	39,6	39,4	39,5	39,6	39,7	39,5	39,4	39,5	39,6	39,5	39,4	39,6
20	**40,1**	39,2	39,7	39,3	39,6	39,7	39,5	39,5	39,4	39,3	39,2	39,3	39,4	39,4	39,5
21	39,8	39,4	39,6	39,4	39,6	39,4	39,6	39,6	39,4	39,7	39,8	39,6	39,5	39,5	39,5
22	39,8	39,7	39,3	39,6	39,5	39,3	39,4	39,5	39,9	39,5	39,6	39,6	39,5	39,6	39,7
23	39,8	39,7	39,5	39,6	39,5	39,1	39,7	39,8	39,9	39,5	39,5	39,6	39,4	39,7	39,8
24	39,7	39,6	39,4	39,3	39,4	39,1	39,4	**40,0**	39,9	39,5	**40,1**	39,4	39,6	39,5	39,8
25	39,7	39,2	39,4	39,4	39,6	39,2	39,4	39,9	39,9	39,4	39,6	39,3	39,4	39,6	39,9
26	39,5	39,6	39,6	39,6	39,5	39,5	39,5	39,7	39,7	39,5	39,4	39,5	39,4	39,7	39,9
27	39,6	39,4	39,6	39,4	39,5	39,5	39,4	39,5	39,8	39,5	39,6	39,3	39,4	39,6	39,7
28	39,4	39,6	39,5	39,6	39,5	39,7	39,5	39,5	39,7	39,6	39,4	39,3	39,4	39,5	39,6

Tabelle 24: Entwicklung der Kotbeschaffenheit in der Kontrollgruppe. Die Tabelle zeigt die Tiere (13/16), die mindestens einmal breiiger Kot abgesetzt haben. Die pathologischen Kotbeschaffenheiten sind grau markiert.
1 Absetzferkel Kot, hart, körnig; 2 geformt, hart; 3 geformt, weich; 4 breiig; 5 flüssig-breiig; 6 flüssig-wässrig

Tage p.i.	*63/2*	*63/5*	*63/8*	*97/2*	*97/15*	*51/7*	*68/4*	*68/11*	*68/12*	*72/8*	*72/9*	*72/10*	*72/12*
0	3	3	3	2	1	3	3	3	2	2	3	3	3
1	3	3	3	2	1	3	4	4	2	3	4	4	4
2	3	3	3	2	1	3	4	4	2	3	4	4	4
3	3	4	3	3	3	3	3	4	3	3	5	5	4
4	3	4	4	3	3	3	5	4	4	3	5	4	4
5	4	4	4	3	4	3	5	4	4	3	5	4	4
6	4	4	4	3	4	4	5	5	4	4	5	3	4
7	4	4	4	4	4	4	5	5	4	3	4	3	4
8	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4	3	4	4
9	3	4	4	4	3	4	3	4	5	3	3	5	3
10	4	4	4	5	3	4	3	4	5	3	3	5	4
11	3	4	4	4	3	4	4	4	4	3	3	5	4
12	4	4	3	4	3	3	3	4	4	3	3	5	4
13	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	4
14	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3	3	5	3
15	4	4	4	4	4	3	3	4	4	3	3	4	4
16	4	3	3	4	4	3	4	4	4	3	3	4	4
17	4	3	4	4	4	3	4	4	4	3	3	4	4
18	4	3	4	4	4	3	4	4	4	3	3	5	4
19	4	3	3	4	4	3	4	4	4	3	3	4	4
20	3	3	3	3	4	3	4	4	4	3	3	4	4
21	4	3	3	3	4	3	4	4	4	3	3	3	3
22	3	3	3	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4
23	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	3
24	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	5	3
25	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	5	3
26	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4
27	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	5	3
28	3	3	3	3	4	3	3	3	4	3	3	5	3

Tabelle 25: Entwicklung der Kotbeschaffenheit aller Tiere der Probiotikagruppe. Pathologische Kotbeschaffenheiten sind grau markiert.
1 Absetzferkel Kot, hart, körnig; 2 geformt, hart; 3 geformt, weich; 4 breiig; 5 flüssig-breiig; 6 flüssig-wässrig

Tage p.i.	*62/2*	*62/4*	*62/6*	*62/12*	*91/2*	*91/4*	*91/8*	*91/9*	*87/9*	*87/10*	*74/2*	*74/9*	*74/11*
1	2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	3	3	3
2	3	3	3	2	2	4	2	4	2	3	3	3	5
3	3	3	3	2	4	4	2	6	2	3	4	3	4
4	3	5	5	3	4	3	4	4	3	3	3	3	5
5	3	3	3	3	4	4	4	4	3	4	3	4	4
6	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	4	4	5
7	3	3	3	3	3	4	4	5	3	4	5	4	5
8	3	3	4	3	3	4	4	4	3	4	5	4	5
9	4	3	3	3	3	3	5	6	3	4	5	4	5
10	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	5
11	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	5
12	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	5	5
13	4	4	3	3	3	3	4	3	4	4	4	4	4
14	4	6	3	3	3	4	6	3	4	4	4	4	4
15	3	4	6	3	4	5	5	4	4	4	4	5	4
16	4	5	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
17	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	4
18	3	3	3	3	3	4	4	3	4	4	3	4	4
19	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	4	4
20	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	4	4
21	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	3	3
22	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	3	3
23	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	3	3
24	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4	3	4	3
25	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	3	3	3
26	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	3	3	3
27	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3
28	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3
29	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3

Tabelle 26: Qualitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen. Tiere die nach 3, 24 und 72 Stunden getötet wurden sind nicht in der Tabelle enthalten.

Tage p.i.	62/2	62/4	62/6	62/12	91/2	91/4	91/8	91/9	87/9	87/10	74/2	74/9	74/11
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

Tabelle 27: Qualitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen. Tiere die nach 3, 24 und 72 Stunden getötet wurden sind nicht in der Tabelle enthalten.

Tage p.i.	63/2	63/5	63/8	97/1	97/2	97/15	97/16	51/7	51/8	68/4	68/11	68/12	72/8	72/9	72/10	72/12
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
22	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
28	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+

Tabelle 28: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Kontrollgruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen. Tiere die nach 3, 24 und 72 Stunden getötet wurden sind nicht in der Tabelle enthalten.

Tage p.i.	63/2	63/5	63/8	97/1	97/2	97/15	97/16	51/7	51/8	68/4	68/11	68/12	72/8	72/9	72/10	72/12
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
1	6,20E+04	4,50E+06	1,11E+06	1,10E+04	6,35E+06	1,87E+05	5,00E+03	nur ql	nur ql	1,44E+08	8,02E+07	6,70E+05	3,40E+06	1,50E+06	6,30E+06	1,40E+06
2	3,96E+05	3,60E+06	4,60E+05	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03	<1000	9,00E+03	8,70E+04	2,40E+04	1,20E+04	1,40E+04	8,00E+03	1,00E+03	1,27E+05	2,00E+03
3	<1,00E+04	<1,00E+04	<1,00E+04	<1000	<1000	<1000	<1000	5,00E+03	<100	1,00E+03	<1000	9,00E+03	1,00E+03	1,00E+03	1,24E+07	9,00E+03
4	<1,00E+04	<1,00E+04	<1,00E+04	<10	1,10E+02	<10	1,00E+01	<100	<100	2,70E+03	7,00E+02	2,90E+03	<10	<10	2,80E+06	1,20E+04
6	<100	2,00E+03	100	<10	<10	<10	<10	430	170	500	400	1700	10	1,00E+03	4,80E+04	1,90E+02
8	<100	1,00E+02	<100	10	<10	<10	<10	50	580	1700	1700	1800	6,50E+02	30	4,60E+02	80
13	0	7,40E+02	<10	<10	0	<10	0	0	0	20	40	20	40	<10	3,10E+02	<10
15	10	1,60E+02	5,72E+03	0	0	0	0	0	0	20	10	<10	<10	<10	<10	<10
20	<10	1,40E+02	<10	0	0	0	0	0	0	20	140	<10	<10	<10	<10	<10
22	<10	1,86E+03	<10	0	4,00E+01	0	0	0	0	120	230	<10	<10	<10	<10	<10
28	<10	1,40E+02	<10	0	<10	0	<10	80	20	<10	40	30	0	0	<10	<10

Tabelle 29: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Kotproben der Tiere der Probiotikagruppe während des gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen. Tiere die nach 3, 24 und 72 Stunden getötet wurden sind nicht in der Tabelle enthalten.

Tage p.i.	62/2	62/4	62/6	62/12	91/2	91/4	91/8	91/9	87/9	87/10	74/2	74/9	74/11
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
1	<100	4,30E+06	8,93E+05	6,00E+03	4,90E+06	5,38E+05	6,26E+07	1,27E+07	nur ql	2,71E+05	>5000	1,30E+06	6,20E+04
2	1,29E+05	1,97E+07	1,78E+05	7,56E+05	4,17E+05	7,30E+04	5,00E+04	3,60E+04	2,17E+07	1,98E+05	3,00E+03	**	1,10E+04
3	2,27E+06	7,80E+05	2,30E+05	2,85E+06	6,20E+06	5,00E+03	2,70E+04	2,40E+04	4,60E+04	1,00E+03	1,20E+02	1,90E+03	9,50E+02
4	8,80E+06	6,00E+03	8,00E+03	4,00E+03	2,75E+05	2,00E+03	3,90E+05	4,20E+04	3,26E+04	2,00E+03	3,00E+01	1,10E+02	1,40E+02
6	7,00E+03	2,00E+03	<1000	<1000	9,30E+03	<100	1,59E+04	1,00E+02	200	3,00E+03	40	10	10
8	1,00E+03	<1000	1000	<1000	2,00E+02	<100	3,75E+04	7,50E+02	330	30	450	20	100
13	10	<10	<10	<10	1,00E+02	2,00E+02	3,45E+03	2,60E+03	10	20	350	30	20
15	70	180	70	10	3,00E+02	<100	2,10E+03	2,00E+02	20	30	10	450	460
20	60	50	3,24E+03	110	2,47E+04	4,37E+03	7,00E+02	3,77E+04	<10	20	140	<10	250
22	10	10	10	10	3,39E+06	1,40E+03	3,55E+05	3,63E+04	<10	320	10	20	<10
28	50	100	120	80	9,90E+05	1,22E+05	1,00E+03	1,80E+04	0	<10	<10	<10	<10

Tabelle 30: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 3 Stunden p.i.

	63/6	***63/10***	***97/10***	***97/12***	***51/5***	***51/10***	***68/8***	***68/9***	***72/5***	***72/13***
Tonsille	10	320	210	5,35E+05	30	1,10E+02	20	4,37E+03	5,92E+03	70
Mandybular Lnn.	0	<10	0	0	0	30	<10	<10	<10	<10
Milz	0	<10	0	0	0	0	<10	0	0	0
Leber	0	<10	<10	<10	0	10	<10	0	0	0
Niere	0	10	<10	20	0	<10	30	0	<10	0
Darm	0	180	0	<10	0	0	1,60E+02	0	0	0
Darm Lnn.	0	200	<10	<10	0	0	1,45E+03	<10	<10	0
Muskel - VB	<10	<10	0	0	0	0	0	<10	0	0
Muskel - HB	0	<10	0	0	0	0	<10	<10	0	0
Zwerchfell	0	80	0	20	0	0	1,90E+03	<10	10	0

Tabelle 31: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 3 Stunden p.i.

	62/10	***62/11***	***91/1***	***91/5***	***87/8***	***87/15***	***74/3***	***74/7***	***83/6***	***83/11***
Tonsille	1,00E+04	1,00E+04	4,40E+03	2,67E+03	2,20E+05	2,87E+03	<10	1,00E+03	7,60E+02	90
Mandybular Lnn.	<10	<10	<10	0	80	0	0	10	0	0
Milz	<10	<10	2,80E+02	<10	<10	0	0	0	0	<10
Leber	0	<10	0	0	<10	<10	<10	<10	30	<10
Niere	0	1,80E+02	90	0	1,50E+02	10	<10	4,20E+02	<10	<10
Darm	<10	5,00E+03	6,20E+02	<10	0	<10	0	30	<10	1,00E+03
Darm Lnn.	<10	5,20E+03	40	<10	<10	6,50E+03	0	1,70E+02	10	10
Muskel - VB	<10	7,70E+02	<10	50	30	<10	0	0	<10	<10
Muskel - HB	50	<10	<10	10	<10	10	0	<10	0	0
Zwerchfell	<10	10	180	0	2,40E+02	30	<10	3,80E+02	<10	0

Tabelle 32: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 24 Stunden p.i.

	63/1	***63/12***	***97/3***	***97/7***	***51/3***	***51/4***	***68/3***	***68/5***	***72/3***	***72/4***
Tonsille	9,50E+02	4,60E+02	2,00+02	1,05E+04	4,20E+04	3,00E+01	<10	1,62E+03	2,12E+03	<10
Mandybular Lnn.	<10	<10	0	4,60E+02	20	0	0	<10	0	0
Milz	<10	<10	0	0	0	0	<10	0	0	<10
Leber	10	<10	0	40	<10	0	0	40	<10	0
Niere	20	<10	0	4,60E+02	<10	0	<10	1,40E+02	<10	0
Darm	1,00E+04	4,50E+02	40	1,46E+03	3,80E+02	4,00E+01	1,24E+05	3,00E+05	5,50E+02	6,64E+03
Darm Lnn.	2,10E+03	1,00E+04	3,00E+02	2,20E+04	1,26E+03	<10	1,96E+03	2,77E+03	30	<10
Muskel - VB	10	0	0	<10	40	0	0	10	0	0
Muskel - HB	<10	0	0	150	<10	0	<10	0	<10	0
Zwerchfell	1,60E+02	<10	0	>1,00E+04	40	<10	3,90E+02	50	<10	10

Tabelle 33: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 24 Stunden p.i.

	62/5	***62/14***	***91/3***	***91/7***	***87/13***	***87/17***	***74/1***	***74/5***	***83/5***	***83/15***
Tonsille	9,81E+03	>1,00E+04	2,20E+02	3,50E+04	3,00E+02	7,90E+05	9,00E+02	1,30+03	2,30E+04	3,50E+02
Mandybular Lnn.	0	150	0	10	<10	6,80E+02	<10	<10	20	<10
Milz	<10	<10	0	10	<10	3,60E+02	<10	<10	<10	<10
Leber	80	<10	<10	<10	<10	<10	0	<10	<10	<10
Niere	110	10	70	30	110	20	0	0,00E+00	<10	<10
Darm	>1,00E+04	4,16E+03	1,90E+04	2,70E+04	1,00E+04	2,60E+05	1,32E+03	8,10E+02	3,60E+05	9,80E+04
Darm Lnn.	6,75E+03	5,43E+03	3,50E+02	2,97E+03	7,75E+03	9,80E+02	6,40E+02	2,65E+03	6,00E+03	1,50E+04
Muskel - VB	60	100	<10	<10	10	<10	0	0	0	0
Muskel - HB	<10	<10	0	<10	<10	<10	0	0	<10	<10
Zwerchfell	600	10	3,00E+01	<10	2,80E+02	120	0	<10	40	10

Tabelle 34: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 72 Stunden p.i.

	63/11	***63/13***	***97/17***	***97/18***	***51/2***	***51/9***	***68/2***	***68/6***	***72/1***	***72/2***
Tonsille	6,46E+03	1,60E+02	7,00E+01	<10	4,20E+04	110	60	40	1,10E+02	1,09E+03
Mandybular Lnn.	<10	80	0	<10	100	<10	<10	10	10	<10
Milz	<10	<10	0	<10	0	0	0	0	<10	<10
Leber	<10	<10	0	0	<10	20	<10	<10	<10	<10
Niere	20	20	0	0	<10	6,20E+02	<10	<10	<10	<10
Darm	>1,00E+04	4,50E+02	<10	<10	80	5,30E+05	60	20	3,02E+03	5,90E+02
Darm Lnn.	9,11E+03	8,06E+03	<10	4,60E+02	4,61E+03	7,00E+04	1,77E+03	1,69E+03	3,86E+03	5,86E+03
Muskel - VB	<10	0	0	0	<10	150	0	0	<10	<10
Muskel - HB	<10	0	0	0	10	10	0	0	<10	<10
Zwerchfell	4,30E+02	<10	0	0	<10	360	<10	<10	<10	<10

Tabelle 35: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 72 Stunden p.i.

	62/3	***62/9***	***91/6***	***91/12***	***87/4***	***87/6***	***74/6***	***74/8***	***83/1***	***83/4***
Tonsille	2,32E+04	3,08E+04	1,51E+04	5,21E+04	1,68E+05	1,74E+05	5,70E+02	<10	2,80E+03	<10
Mandybular Lnn.	10	60	10	6,00E+02	3,50E+02	1,22E+03	<10	0	10	<10
Milz	0	0	<10	0	0	<10	<10	0	<10	<10
Leber	<10	<10	<10	<10	10	<10	0	0	<10	<10
Niere	0	0	<10	<10	20	40	0	0	0	<10
Darm	2,32E+04	1,50E+03	7,00E+02	1,46E+05	6,40E+02	3,30E+02	<10	<10	10	<10
Darm Lnn.	7,87E+03	5,05E+03	3,90E+03	1,00E+03	1,94E+03	6,10E+02	1,40E+02	80	1,83E+03	1,70E+02
Muskel - VB	0	0	<10	<10	30	2,70E+02	0	0	0	0
Muskel - HB	<10	0	10	<10	<10	20	<10	0	0	0
Zwerchfell	200	0	<10	10	8,00E+01	1,90E+02	0	0	<10	<10

Tabelle 36: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Kontrollgruppe 28 Tage p.i.

	63/2	63/5	63/8	97/1	97/2	97/15	97/16	51/7	51/8	68/4	68/11	68/12	72/8	72/9	72/10	72/12
Tonsille	1,90E+03	2,23E+03	<10	0	<100	100	2,20E+03	2,36E+03	1,07E+05	7,50E+04	1,98E+05	2,70E+02	<10	20	2,00E+04	4,60E+04
Mandybular Lnn.	<10	<10	0	0	<10	0	0	0	0	0	<10	<10	0	<10	<10	<10
Milz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Leber	<10	0	0	0	0	0	0	<10	<10	0	0	0	0	0	0	0
Niere	0	0	0	0	0	0	0	0	<10	0	0	0	0	0	0	0
Darm	0	5,08E+03	<10	0	0	0	0	<10	<10	<10	<10	0	0	0	0	<10
Darm Lnn.	0	<10	<10	<100	0	<100	0	<10	10	0	0	0	<10	0	<10	0
Muskel - VB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10	<10	0	0	0	<10	0
Muskel - HB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10	0	0	<10	0
Zwerchfell	0	<10	0	0	0	0	0	0	0	<10	0	0	0	0	<10	20

Tabelle 37: Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Typhimurium DT104 in den Organproben der Tiere der Probiotikagruppe 28 Tage p.i.

	62/2	62/4	62/6	62/12	91/2	91/4	91/8	91/9	87/9	87/10	74/2	74/9	74/11
Tonsille	9,10E+03	6,10E+04	2,30E+05	1,30E+04	4,20E+05	1,51E+05	6,20E+05	5,92E+04	4,00E+03	3,00E+04	1,50E+04	0	0
Mandybular Lnn.	<10	<10	<10	<10	80	<10	10	<10	0	0	<10	0	0
Milz	0	0	<10	<10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Leber	<10	0	0	0	<10	0	<10	0	0	0	0	0	0
Niere	0	<10	0	<10	<10	0	0	0	0	0	0	0	0
Darm	<10	<10	0	<10	2,90E+03	<10	100	<10	<10	<10	0	0	0
Darm Lnn.	<10	0	<10	<10	<10	<10	<10	<10	0	0	<10	<10	0
Muskel - VB	0	0	0	0	<10	0	<10	<10	0	<10	<10	0	0
Muskel - HB	<10	0	<10	0	<10	0	0	<10	0	<10	0	0	0
Zwerchfell	0	<10	0	<10	40	<10	0	0	0	0	0	0	0

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Lothar H. Wieler danke ich herzlichst für die Überlassung des Dissertationsthemas und die wissenschaftliche Betreuung sowie für die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Karsten Nöckler für die allseits gewährte Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei der Planung und Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei

- Allen Mitarbeitern der Fachgruppe 45 und des Zentrums für experimentelle Tierhaltung des Bundesinstituts für Risikobewertung für jegliche Unterstützung sowie das gute Arbeitsklima. Mein besonderer Dank gilt hier Cornelia Göllner, Sabine Reckinger, Gabriela Schindhelm, Peter Bahn, Wolfgang Barownick und Enno Luge.

- Herrn Matthias Filter für die statistische Betreuung und die freundliche Zusammenarbeit

- Torsten Herold für die stets gewährte freundschaftliche Unterstützung

- Ursula Scherer, die mich in meinen ersten Jahren in Deutschland selbstlos unterstützt hat und die mit ihrer besonderen Art weiterhin ein wichtiger Teil meines Lebens ist.

- Meinen Eltern für ihre allseits gewährte Unterstützung aus der Ferne.

- Meiner Frau, Kathrin Scherer, die mir während der Doktorandenzeit, wie in den letzten elf Jahren zur Seite stand.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

István Szabó Berlin den 29.10. 2008