

II. Literaturübersicht

1. Der Magen-Darm-Trakt des Schweines und seine Mikroflora

1.1. Allgemeine Betrachtung der Mikroflora

Das Zusammenleben der verschiedenen Bakterienarten im Magen-Darm-Trakt (MDT) kann als ein offenes Ökosystem angesehen werden, von dem je nach Zusammensetzung der unterschiedlichen Keime der Wirt profitieren, aber auch Schaden nehmen kann (GEDEK, 1993, 1994). Im Idealfall sind die einzelnen Bakterienarten in einem dynamischen Gleichgewicht (**Fließgleichgewicht**) aufeinander abgestimmt. Dieser ausgewogene Gleichgewichtszustand wird als **Eubiose** (griechisch = „gutes“ Zusammenleben) bezeichnet (HAENEL, 1960). Beim Auftreten von Störungen spricht man von einer **Dysbiose** (griechisch = „schlechtes“ Zusammenleben) (SCHEUNERT, 1920; HAENEL, 1982). Eine Dysbiose ist aber nicht unbedingt an das gleichzeitige Auftreten von Darminfektionserregern gekoppelt (LUCKEY, 1982). Die typische Mikroflora der einzelnen Darmabschnitte schwankt dabei innerhalb bestimmter Grenzen und ist fortlaufenden Veränderungen unterworfen. Die verschiedenen Darmabschnitte stellen unterschiedliche Habitate dar, deren Artenvielfalt und Bakterienzusammensetzung vom Zwölffingerdarm bis zum Blinddarm deutlich zunehmen. Dabei umfasst die intestinale Mikroflora neben den Bakterien auch Protozoen und Pilze. Insgesamt werden mehrere hundert Spezies vermutet, wovon heute 400 bis 500 bekannt bzw. kultivierbar sind (DOHMS, 2004).

Grundsätzlich zählt man die Bakterienspezies, die den Verdauungstrakt dauerhaft besiedeln, zur **obligaten (residenten, autochthonen)** Flora, während die Bakterienspezies, die nur vorübergehend anzutreffen sind, zur **passageren (transienten, allochthonen)** Flora (FINEGOLD, 1983) gehören. Speziesvertreter der obligaten Bakterien sind z. B. *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.* oder *Lactobacillus spp.*, Vertreter der transienten Flora sind z. B. *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.* oder *Proteus spp.*. Während im Magen und proximalen Dünndarm vorwiegend eine aerobe Keimflora anzutreffen ist, dominieren im distalen Dünndarm und Dickdarm die Anaerobier. Bei nahezu allen Säugetieren besteht die Darmflora zu über 95 % aus Anaerobiern (MOORE und HOLDEMANN, 1972), die zu allermeist im Dickdarm anzutreffen sind. Die Bakterienpopulationen einer intakten autochthonen Mikroflora bilden eine stabile Einheit und bewerkstelligen dies durch unterschiedliche Mechanismen. Ihre wichtigste Eigenschaft ist ihr Durchsetzungsvermögen ge-

genüber der lebenslangen Kontamination des MDTes über die Nahrung, das Trinkwasser und die inspirierte Atemluft (KOOPMANN *et al.*, 1981).

Um den Zustand der Eubiose aufrecht zu erhalten bzw. zu erzielen, muss das Zusammenleben von Wirt und Darmflora als empfindliches Ökosystem ausbalanciert sein. Der Idealzustand des mikrobiellen Besatzes wird auch als **Homöostase** bezeichnet und stellt die Voraussetzung für eine optimale Tierleistung dar.

Die Darmflora wird unterschieden zwischen **Haupt-, Begleit- und Restflora**. Im **Fließgleichgewicht** beträgt der Anteil der Hauptflora (dominante Flora) weit **über 90 %** der Gesamtflora (BUSCH *et al.*, 1999) und besteht größtenteils aus Anaerobiern (z.B. Bifidobakterien). Die Begleitflora hat im eubiotischen Zustand einen Anteil von ca. 1 % und besteht u. a. aus Enterokokken. Zur Restflora mit unter 0,01 % der Gesamtflora gehören zu meist schädliche Mikroorganismen (MO) wie Pseudomonaden, Proteus oder Staphylokokken (BUSCH *et al.*, 1999; GEDEK, 1994).

Ob das oben beschriebene Fließgleichgewicht erreicht wird, hängt nicht zuletzt von der Stabilität der intestinalen Mikroökologie durch Interaktionen zwischen Wirtstier (**allogen**) und seiner Umgebung auf der einen Seite, und von den Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen mikrobiellen Spezies des Darmes (**autogen**) auf der anderen Seite ab (FULLER, 1989). Zu den allo genen Faktoren gehören nach SAVAGE (1982, 1989) das Angebot an Nährstoffen, der pH-Wert, die Darmperistaltik, das darmassoziierte Immunsystem, die Körpertemperatur, die Beschaffenheit der Darmmukosa und das Oxidations-Reduktions-Potential. Zu den Interaktionen zwischen den verschiedenen Bakterienarten (autogen) zählen insbesondere die Nahrungskonkurrenz, die Erzeugung ungünstiger Entwicklungsbedingungen wie Veränderung des pH-Wertes und des Redoxpotentials oder auch die Erzeugung schädlicher Substanzen wie flüchtige Fettsäuren und Bakteriozine (DONALDSON, 1968).

Die Hauptfunktionen der intestinalen Mikroflora wurden von DOHMS (2004) und GUARNER *et al.*, (1998), in Tabelle 1 dargestellt, zusammengefasst:

Metabolische Funktionen	<ul style="list-style-type: none"> - fermentativer Abbau von nicht-verdaulichen Nahrungsbestandteilen und endogenen Schleimstoffen - Rückgewinnung von Energie als kurzkettige Fettsäuren Bildung von Vitaminen - Absorption von Ionen
Trophische Funktionen	<ul style="list-style-type: none"> - Mitwirkung bei der Zellproliferation des Darmepithels - Differenzierung, Entwicklung und Aufrechterhaltung des darmassoziierten Immunsystems
Protektive Funktionen	<ul style="list-style-type: none"> - Schutz gegen pathogene Keime durch Aufbau einer mikrobiellen Barriere - Reduzierung des Übergangs von Bakterien aus dem Darmlumen ins Lymphsystem (bakterielle Translokation)

Tab. 1: Hauptfunktionen der intestinalen Mikroflora (Dohms, 2004; GUARNER *et al.*, 1998)

1.2. Der Magen-Darm-Trakt des Schweines

1.2.1. Anatomische Besonderheiten

Bei der Betrachtung der physiologischen Anordnung der Darmabschnitte beim Schwein fällt im Vergleich zu anderen Monogastern das kegelförmige Dickdarmkonvolut auf, das in seinen Außenbereichen kranzförmig vom *Jejunum* umgeben ist. Der gesamte Anfangsteil des *Colons* ist morphologisch zu einem "Vergärungsraum" ausdifferenziert und in verzögerte Fermentationskammern mit einem gerichteten Fluss des Nahrungsbreis gegliedert. Die abrupte Verengung des *Colonkegels* im unteren Teil führt zu einem Rückstau der Futtermassen und begünstigt damit den langsam ablaufenden Zelluloseabbau strukturierter Kohlenhydrate. Über diesen Mechanismus des Darmes verfügen nur die *Suidae*, über einen ähnlichen, variierten Darmaufbau verfügen z. B. die Pferde. Abbildung 1 zeigt die schematische Darstellung des Schweinedarmes.

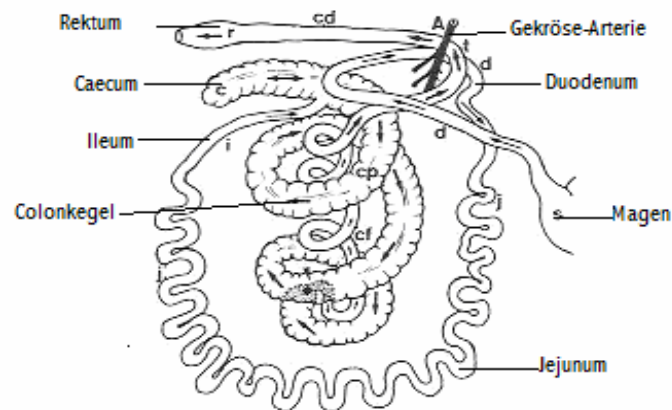


Abbildung 1: schematische Darstellung des Schweinedarmes

1.2.2. Entwicklung der Mikroflora im Magen-Darm-Trakt

Bis zum Zeitpunkt der Geburt ist der heranwachsende Fetus keimfrei. Die mikrobielle Besiedlung beginnt bereits während der Geburt und in den ersten Lebensstunden (SCHULZE, 1977, 1978). Die Tiere werden bereits durch die Keime des Genitaltraktes kontaminiert und nehmen fortan Keime aus der Umgebung auf. Besonders der MDT nimmt in den ersten Lebensstunden erhebliche Mengen von Bakterien auf (SMITH und JOHNS, 1963). Begünstigt durch den hohen pH-Wert des Magens, siedeln sich zu Beginn besonders *E. coli*, Mikro- und Streptokokken sowie Clostridien an. Die Besiedlung mit Laktobazillen verläuft dagegen langsamer. Nach etwa drei Tagen hat sich der Magen-pH-Wert niedrig genug eingestellt, um eine Bakterienvermehrung zu unterdrücken. Nachfolgend erniedrigen sich die Keimgehalte von *E. coli*, Strepto- und Mikrokokken sowie Clostridien im Dünndarm zugunsten der Laktobazillen, die nun die zahlenmäßig stärkste Gruppe in diesem Darmabschnitt bilden. Durch die Produktion von Milchsäure helfen die Laktobazillen, diesen pH-Wert aufrecht zu erhalten (WIEHLER, 1989).

Ab einem Alter von vier Tagen sind ausreichend anaerobe Bedingungen im Dickdarm vorhanden, so dass mit der Ansiedlung von *Bacteroides spp.* eine stabile Darmflora aufgebaut werden kann. Eine plötzliche Futterumstellung, wie sie mitunter bei der Umstellung von Milchnahrung auf Vormast-Fertigfutter praktiziert wird, kann bei unausgewogener Zusammensetzung sehr schnell zu einer Dysbiose führen. So konnte in einer Studie mit plötzlicher Futterumstellung der Saugferkel auf Vormastfutter mit Beimengung eines enterotoxischen *E.-coli*-Stammes gezeigt werden, dass 70-80 % dieser Tiere an Durchfall erkrank-

ten, während bei gleicher Futterbeimengung bei Ferkeln, die schon während der Saugphase Gelegenheit zur Futteraufnahme hatten, nur unregelmäßig Durchfall auftrat (AWAD-MASALMEH und WILLINGER, 1981). Während im Dünndarm vor allem fakultative Anaerobier zu finden sind, siedeln sich im distalen Teil des MDTes strikte anaerobe Bakterien an, die Energie aus den unverdaulichen Futterbestandteilen gewinnen. Tabelle 2 zeigt die Verteilung ausgewählter Mikroorganismen.

Dünndarm	$10^5 - 10^8 / g$	Dickdarm	$10^9 - 10^{12} / g$
Bacteroides	$10^4 - 10^7$	Bifidus	} $10^9 - 10^{10}$
Streptokokken	} $10^3 - 10^6$	Bacteroides	
Laktobakterien		Enterobakterien	$10^5 - 10^7$
Enterobakterien		Enterokokken	$10^2 - 10^5$
		Lactobazillen	} $10^3 - 10^5$
		Clostridien	
		Fusobakterien	
		Veillornellen	} 10^3
		Staphylokokken	
		Hefen	}
		Proteus	
		Pseudomonas	$>10^3$

Tabelle 2: Quantitative Verteilung ausgewählter Mikroorganismen in Dünn- und Dickdarm (GEDEK, 1991)

2. Probiotika

Die Bezeichnung „probiotisch“ stammt ursprünglich aus dem Griechischen („pro bios“ bedeutet „für das Leben“) und wurde vor ca. vierzig Jahren von LILLY und STILWELL (1965) geprägt. Sie bezeichneten damit Substanzen, die von Ciliaten produziert werden und das Wachstum anderer Protozoen stimulieren können. PARKER (1974) definierte mit Probiotika „Organismen und Substanzen, die einen gesundheitsfördernden Effekt auf ein Tier haben“ und beschrieb damit Tierfuttermittelzusätze, die das Gleichgewicht der intestinalen Flora verbessern können. FULLER (1989) erweiterte die Definition von PARKER und bezeichnete Probiotika als „lebende mikrobielle Futterzusatzstoffe, die sich wohltuend auf die meisten Tiere auswirken, indem sie ihre intestinale Mikroflora verbessern“. SALMINEN *et al.* erweiterten (1999) Fullers Definition: „Probiotika sind mikrobielle Zellzubereitungen oder Bestandteile von mikrobiellen Zellen, die positive Effekte auf die Gesundheit und das Wohlbefinden des Wirtes haben.“ Sie schlossen damit zum einen auch nicht lebende Mikroorganismen und deren Zellbestandteile mit ein, zum anderen berücksichtigten sie damit die Ergebnisse aktuellster Studien, bei denen die probiotischen Effekte auch in anderen Bereichen als der intestinalen Mikroflora nachgewiesen wurden.

2.1. Die verschiedenen Probiotika

Als Probiotika finden Mikroorganismen unterschiedlichster Art Verwendung. Zum Spektrum gehören grampositive (z.B. *Lactobacillus sp.*) und gramnegative Bakterien (z. B. *E. coli*-Stamm Nissle 1917), Sporenbildner (z. B. *Bacillus sp.*) sowie Hefen (z. B. *Saccharomyces boulardii*) und Schimmelpilze. In der Tierernährung wird, speziell in der Nutztierernährung, eine Auswahl definierter Stämme als Probiotika genutzt, die zu den Gruppen der Milchsäurebakterien, Bazillen oder Hefen gehören.

2.1.1. Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien werden seit Jahrtausenden zur Herstellung fermentierter Milchprodukte oder Silagen genutzt. Einige ihrer Vertreter gehören zur Hauptflora der im Darmtrakt befindlichen Bakterien und sind somit unabdingbarer Bestandteil einer stabilen Darmflora. Wichtige Vertreter dieser Gruppe gehören zu den Gattungen der Laktobazillen, Bifidobakterien und Enterokokken. Einige Vertreter zeigt die Auswahl in Tabelle 3:

Laktobazillen	Bifidobakterien	Enterokokken
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>
<i>L. rahnosus</i>	<i>B. longum</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>B. breve</i>	
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. infantis</i>	
<i>L. plantarum</i>	<i>B. thermophilum</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. animalis</i>	

Tabelle 3: Häufig als Probiotika verwendete Milchsäurebakterien

Nach heutigem Wissensstand beruht die Hauptwirkung der Milchsäure produzierenden Probiotika auf ihre Stoffwechselaktivität im Darm, die Freisetzung mikrobieller Substanzen sowie die Ausbildung eines Biofilms zum Schutz der Darmschleimhaut (BUSCH *et al.*, 1999). Milchsäure vermag ebenso wie das von einzelnen Stämmen gebildete Wasserstoffperoxid (H₂O₂), Bakterien zu hemmen. Ebenso wird lokal der pH-Wert gesenkt, wodurch säurelabile Keime reduziert werden. Weiterhin soll das Anheften anderer Keimar-

ten an das Darmepithel gestört werden können, was durch in-vitro-Tests belegt wurde (STEWART *et al.*, 1995).

Nach oraler Aufnahme und Überstehen der Magenpassage vermehren sich die Milchsäurebakterien im Darm und bilden zusammen mit den Mukopolysacchariden und anderen Schleimsubstanzen eine Art Schutzwall gegen andere Bakterien. In diese Schleimschicht sind Bakterien der Hauptflora des Darmes sowie Immunglobuline eingebettet. Neben spezifischen Abwehrmechanismen haben Milchsäurebakterien auch Einfluss auf die Stärkung der unspezifischen Abwehr. So konnte z. B. eine erhöhte phagozytotische Aktivität von Peritonealmakrophagen (PERDIGON *et al.*, 1986) und neutrophilen Granulozyten (PETZOLD und MÜLLER, 1986) festgestellt werden. Da die Milchsäurebakterien als natürliche Darmbewohner keine Sporen bilden, werden sie häufig mit einer Mikrokapsel umhüllt, um den mechanischen und thermischen Einflüssen bei der Futterherstellung, dem Transport und der Lagerung entgegen zu wirken und damit sie den Weg nach oraler Aufnahme zum Darm unbeschadet überstehen. Den Aufbau einer Mikrokapsel zeigt Abbildung 2:

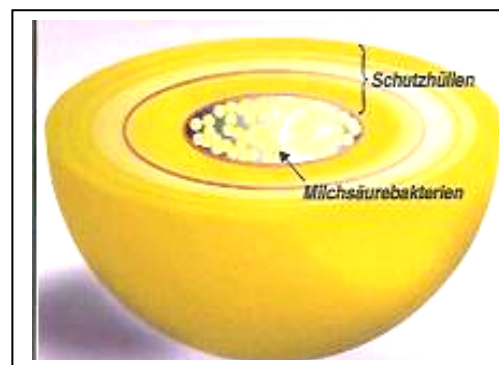


Abbildung 2: Aufbau einer Mikrokapsel

2.1.2. Bazillussporen

Zur Gattung *Bacillus* gehört eine Vielzahl stäbchenförmiger, grampositiver Bakterien, die als aerobe Sporenbildner natürlich im Boden vorkommen. Durch die Versporung als Dauerform (siehe Abbildung 3) verfügen diese MO über einen guten Schutz gegenüber äußeren Einflüssen wie extremer Hitze, Kälte oder mechanischen Einwirkungen, ohne die Lebensfähigkeit zu reduzieren. Die verschiedenen Zellwände ermöglichen der Bazillusspore damit auch für die Nutzung als Probiotikum eine große Stabilität hinsichtlich Herstellung, Lagerung und Transport; sowie der anschließenden Aufnahme durch die Tiere und das

Überstehen des sauren Magen-pH-Wertes bei den Monogastern. Schematisch dargestellt ist eine Bazillusspore in Abbildung 3.

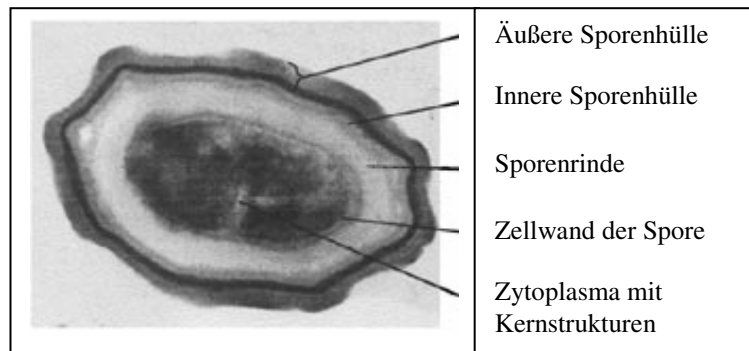


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Bazillusspore (BUSCH *et al.*, 1999)

Um ihre Wirksamkeit im oberen Verdauungstrakt voll zu entfalten, müssen die Sporen unter Wasserzutritt und Wärmeeinwirkung auskeimen. Der genaue Wirkmechanismus ist teilweise noch unklar. Vergleichbar mit auskeimendem Getreide steigt auch in der keimenden Bazillusspore drastisch die Stoffwechselaktivität. Diese beinhaltet die Produktion von Stoffwechselprodukten, wodurch die Vermehrung anderer Bakterien gehemmt wird. Unter anderem geschieht dies durch die Produktion von H_2O_2 und organischen Säuren, infolge dessen der pH-Wert gesenkt wird. Dies führt u. a. zu einer Reduktion toxischer Metabolite des bakteriellen Bakterienabbaus wie Ammoniak, Amine, Indole, Skatole sowie eine dadurch bedingte effizientere Proteinausnutzung (GEDEK, 1992).

2.1.3. Hefen

Hefen wie z. B. *Saccharomyces cerevisiae* werden vom Menschen schon seit vielen hundert Jahren für die Herstellung von Lebensmitteln genutzt, sei es z. B. als Backhefe oder zur Produktion alkoholischer Getränke. Dabei unterscheiden sich die probiotisch genutzten Hefen von den gewöhnlichen Brauereihefen, die als Einzelfuttermittel wegen ihres Nährstoffgehaltes in abgetöteter Form verfüttert werden. Die Probiotika-Hefen sind im Magen und Dünndarm stoffwechselaktiv, sterben in den hinteren Darmabschnitten jedoch unter Sauerstoffverbrauch ab.

2.2. Anforderungen an Probiotika als Futterzusatzstoffe

Um als Futterzusatzstoffe genutzt werden zu können, die im Sinne einer Eubiose im Verdauungstrakt wirken, werden heute zahlreiche Anforderungen an ein Probiotikum gestellt. Verschiedene Autoren stellen dabei weitgehend gleiche Forderungen (FULLER, 1989; COLLINS und GIBSON, 1999; DUNNE, 2001; SIMON *et al.*, 2001; GALDEANO und PERDIGON, 2004).

Zur Zulassung als Futterzusatzstoffe sollten Probiotika:

- der Gesundheit des Wirtstieres zuträglich sein (z. B. durch Steigerung der Abwehrkräfte),
- in großer Anzahl lebens- und vermehrungsfähig sein,
- nach Möglichkeit aus der physiologischen Darmflora des Wirtes stammen,
- einen längeren Zeitraum im Gastrointestinaltrakt persistieren können,
- unempfindlich gegen Speichelenzyme, Verdauungsenzyme, Magensäure und Sekrete der Darmanhangsdrüsen (Galle, Pankreas) sein,
- die Vermehrung und Toxinproduktion pathogener Keime durch die Absenkung des pH-Wertes unterdrücken können,
- die Fähigkeit zur Adhäsion an Epithelzellen der Darmwand besitzen,
- über die Fähigkeit zur Stimulierung des Immunsystems verfügen,
- nicht zur Resistenzbildung möglicher genetischer Transfer von Antibiotika beitragen können,
- widerstandsfähig gegen technologische Einflüsse sein (Herstellung, Lagerung, Anwendung) und
- gute sensorische Eigenschaften besitzen.

Allerdings ist anzunehmen, dass ein einzelner probiotischer Mikroorganismus nicht über alle Eigenschaften gleichzeitig verfügen kann (DUNNE, 2001).

Futtermittelrechtlich sind Probiotika als Futterzusatzstoffe zur Stabilisierung der Darmflora geregelt und bedürfen einer Zulassung durch die Kommission der Europäischen Gemeinschaft. Für diese Zulassung sind Nachweise zu erbringen über die Effektivität und Sicher-

heit der Produkte (SIMON *et al.*, 2001). Darüber hinaus müssen die Probiotika in mehreren wissenschaftlichen Studien getestet worden sein (KNEIFEL, 2005).

2.3. Wirkungsmechanismen von Probiotika

Obwohl die Wirkungsmechanismen von Probiotika noch nicht hinreichend wissenschaftlich aufgeklärt sind, gibt es zahlreiche Studien, die eine Gesundheits- und Leistungssteigerung der Wirtstiere belegen (TORTUERO, 1973; SIMON *et al.*, 2001; MÄNNER *et al.*, 2002). Große Unterschiede bestehen bei wissenschaftlich bewiesenen statistisch signifikanten Ergebnissen und der Feststellung „positiver“ Effekte oder Tendenzen ohne signifikanten Einfluss. Es gilt, zukünftig die teilweise in-vitro gewonnenen Ergebnisse durch in-vivo Studien zu reproduzieren.

Die Wirkmechanismen werden von GÖRKE und LIEBLER-TENORIO (2001) unterschieden zwischen

- Interaktionen zwischen probiotischen und anderen intestinalen Mikroorganismen (Wirkung auf die Darmflora) und
- Wirkungen von Probiotika auf den Wirtsorganismus (Wirkung auf das Immunsystem, Schleimhäute, Transportmechanismen u. a.).

Allgemein geht man heute von folgenden Wirkungsmechanismen aus:

- Erzeugung von Hemmstoffen (z. B. kurzkettige Fettsäuren – pH-Wert-Absenkung) sowie Substanzen, die gegen andere Mikroorganismen einen Selektionsvorteil bilden ohne Beeinträchtigung der gewünschten Darmflora (z. B. Synthese antibiotisch wirksamer Substanzen - durch Laktobazillen OXFORD, 1944; - durch Streptokokken, MATTRICK und HIRSCH, 1944; Einfluss flüchtiger Fettsäuren auf das Wachstum von *S. enteritidis*, BOHNHOF *et al.*, 1964)
- Verdrängung bzw. Verhinderung der Anheftung potentiell pathogener Keime an die Darmschleimhaut (z. B. JIN *et al.*, 2000: Verhinderung der Anheftung von *E. coli* K88ac und K88MB an die Darmmukosa bei Fütterung eines *E. faecium* –Stamm 18 C 23)

- Unterdrückung der mikrobiellen Toxinbildung
(z. B. Neutralisation bakterieller Toxine durch *Saccharomyces boulardii*, BRANDAO *et al.*, 1998)
- Stimulierung des lokalen Immunsystems
(z. B. Steigerung der IgA-Produktion bei Verabreichung eines *E.coli*-Stamm Nissle 1917 an neugeborenen Kindern, LODINOVA-ZADNIKOVA *et al.*, 1992)
- Beeinflussung der Wachstumsbedingungen unerwünschter Keime z. B. durch pH-Wert-Absenkung
(z. B. OHASHI *et al.*, 2001, zum Einfluss der mit *L. casei*-Strain Shirota-fermentierten Milch im Darm des Schweines)
- Beeinflussung des Gallensäureabbaus
(z. B. Inhibierung verschiedener grampositiver und gramnegativer Bakterienstämme durch die freigesetzte Gallensäure bei der mikrobiellen Hydrolyse, FLOCH, 1972)
- Beeinflussung des Darmepithels
(z. B. Vergrößerung der Schleimhautoberfläche im *Duodenum*, JAHN *et al.*, 1996; GÖRKE, 2000)
- Verbesserung der Absorptionskapazität
(z. B. Bestimmung elektrophysiologischer Parameter, WINKLER *et al.*, 2005)
- Steigerung unspezifischer Abwehrmechanismen
(z. B. Erhöhung der phagozytotischen Aktivität von Peritonealmakrophagen, PERDIGON *et al.*, 1986; oder Zunahme der Anzahl neutrophiler Granulozyten, PETZOLD und MÜLLER, 1986)

Einige der mikrobiellen Wechselwirkungen im Darm zeigt die Abbildung 4:

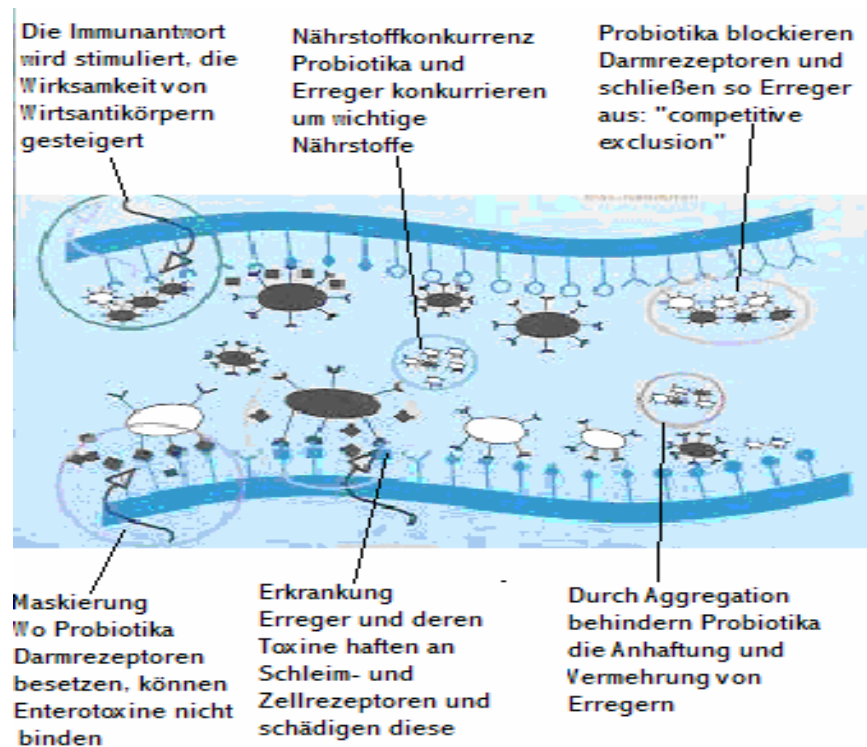


Abbildung 4: Wechselwirkungen von Probiotika im Darm (nach STEWART *et al.*, 1995)

2.3.1. Beeinflussung des Immunstatus durch Probiotika

Nach ZIMMERMANN *et al.* (2001) können Probiotika die Resistenz gegen Krankheiten verbessern, in dem sie die systemische und mucosale Immunität verändern. So zeigten MC GHEE *et al.* (1992), dass probiotische Stämme an intestinale Zellen bzw. an die luminalen Oberfläche der M-Zellen (MUSCETTOLA *et al.*, 1994) anheften und dadurch die intestinale Immunität beeinflussen können. PERDIGON *et al.* (1992, 1995) wiesen signifikante Unterschiede der systemischen und mucosa-assoziierten Immunantwort nach oraler Gabe von Milchsäurebakterien an Ratten nach. BUTS *et al.* (1990) zeigten ebenso deutlich höhere Konzentrationen von sekretorischem IgA (sIgA) im Darm von Ratten nach Verabreichung von *Saccharomyces boulardii*.

Die Aufnahme von Milchsäurebakterien erhöhte die Bildung spezifischer Antikörper für Choleratoxin bei Mäusen in einem Tierversuch von TEJADA-SIMON *et al.*, (1999) und ebenso bei GILL *et al.* (2001).

In anderen Studien wurde gezeigt, dass Probiotika die Zytokinbildung oder -sekretion modulieren können. So zeigten GILL *et al.* (2001) eine erhöhte Sekretion von IFN- γ durch Milzzellen nach Verabreichung von *L. rhamnosus*. Die Sekretion von IL-4 blieb dabei un-

beeinflusst. In den Tierversuchen von MAASSEN *et al.* (2000) erhöhten sich die Zahlen zytokinproduzierender Zellen (IL-1 β , TNF- α , IL-2) in den Mikrovilli des Darmes bei Mäusen. TEJADA-SIMON *et al.* (1999) untersuchten die Auswirkungen verschiedener Milchsäurebakterien auf die Genexpression verschiedener Zytokine in den Immunzellen der Peyerschen Plaques (PP), Milz und mesenterialen Lymphknoten. Hier konnten keine Effekte durch die Milchsäurebakterien festgestellt werden.

In Humanstudien führte der Verzehr von Milchsäurebakterien zu einer Erhöhung der sIgA-Konzentration in den *Faeces* sowie zu einem Anstieg des Serum-IgA (LINK-AMSTER und ROCHAT, 1994). In anderen Studien wurde dagegen keine oder nur geringgradige Einflüsse auf die Immunglobulin-Konzentration ermittelt. KAILA *et al.* (1992, 1995) untersuchten 39 Kinder mit akuter Rotavirus-Diarrhoe, welche Milchsäurebakterien bzw. ein Placebo-Milchprodukt zum Verzehr erhielten. Sie fanden einen Anstieg der IgA-Sekretion sowie eine Reduktion der Diarrhoe in der Probiotikagruppe. Bei Wiederholung der Studie mit erhitzter inaktivierter Laktobazillus-haltiger Milch blieben die IgA-Konzentrationen unverändert im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch verkürzte sich auch hier die Dauer des Durchfalls.

SCHIFFRIN *et al.* (1997) untersuchten die weißen Blutzellen mit phagozytotischer Antikörper-Aktivität und stellten eine Verdopplung nach dreiwöchiger Aufnahme mit *B. bifidum* und *L. acidophilus* fest.

Die Beispiele der vorgestellten Untersuchungen zeigen, dass die orale Aufnahme probiotischer Kulturen das darmassoziierte wie auch das systemische Immunsystem beeinflussen kann. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind möglicherweise durch die verschiedenen Probandengruppen, den verwendeten Bakterienstämmen, der jeweils oral aufgenommenen Dosis und anderen Ursachen zu suchen und interpretieren.

2.4. Anwendungsgebiete von Probiotika

Die überwiegende Nutzung probiotischer Produkte bei der Fütterung von Nutztieren basiert auf ihren leistungssteigernden Effekten. Diese beinhalten z. B. verbesserte Lebendmassezunahmen, eine günstigere Futtermittelverwertung oder reduzierte Jungtierverluste infolge einer Verhinderung oder Verkürzung von Diarrhoen (MÄNNER und SPIELER, 1997; KYRIAKIS *et al.*, 1999). Ebenso dienen sie der unterstützenden Behandlung bei Infektionskrankheiten, zur Stabilisierung der Darmflora bei erhöhter Stressanfälligkeit wie dem

Absetzen oder einem Futterwechsel und als begleitende Maßnahme bei Medikamenteneinsatz (NOGOSSEK, 2001). Die Supplementierung über das Futter gilt als der sicherste Weg mit täglicher Verabreichung. Grundsätzlich sollte das jeweilige Probiotikum über eine gesamte Periode kontinuierlich verabreicht werden, da die eingesetzten Stämme sich nicht dauerhaft im Darm ansiedeln können (GUILLOT, 2000). Um ausreichende Wirkstoffmengen im Darm zu erreichen, erfolgt meist eine pauschale Dosierung von ca. $10^7 - 10^9$ Kolonie bildenden Einheiten (KbE) pro kg Trockenfutter. Die Deklaration bei den Futtermittelherstellern ist teilweise uneinheitlich und reicht von der Angabe in KbE/g bzw. KbE/kg bis zu mg/kg. Empfohlen wird die einheitliche Gewichtsangabe in KbE/g. Eine genaue Dosierung und Einsatzempfehlung ist kaum möglich, weil andere Faktoren wie die Stabilität des Futters sowie die spezifischen Wirkungsmechanismen der jeweils enthaltenen Mikroorganismen ebenso wie die individuelle Darmflora des Wirtstieres die Wirksamkeit der Probiotika beeinflussen. Allgemein gilt der Grundsatz, dass die Effizienz der Probiotika-Supplementierung umso größer ist, je instabiler die Zusammensetzung der Darmflora ist (FULLER, 1992). Daraus ergibt sich die Empfehlung einer höheren Einmischrate im Futter, wenn

- die Darmflora der Jungtiere noch nicht etabliert ist
- Stressoren wirken wie z. B. Futterumstellung, Umstallung, Aufteilung in neue Gruppen, verändertes Stallklima oder Transport
- ein erhöhter Infektionsdruck erwartet wird (durch vorgenannte Stressoren)
- die Futterzusammensetzung eine Vermehrung pathogener Keime begünstigt wie z. B. ein geringerer Rohfasergehalt oder ein höherer Gehalt an Puffersubstanzen und
- die Darmflora durch Medikamenteneinsatz geschädigt wird, speziell durch Antibiotika (AWT, 1999).

2.5. *Enterococcus faecium*

2.5.1. Taxonomische Einordnung und Morphologie

Enterococcus faecium (*E. faecium*) gehört zu den milchsäurebildenden Bakterien und daher zur Gruppe der **lactic acid bacteria** (LAB). Bis Ende der 80er Jahre gehörten die Genera *Enterococcus*, *Lactococcus* und *Spreptococcus* zur Familie *Streptococcaceae*. Heute

assoziiert man mit den LAB die Genera *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* und *Weissella* (HOLZAPFEL *et al.*, 1998).

Während 1993 nach DEVRIESE *et al.* zum Genus *Enterococcus* noch 19 Spezies und 4 „Speziesgruppen“ gehörten (*E. faecium* wurde dabei zusammen mit *E. durans*, *E. hirae* und *E. mundtii* der „*Faecium*-Gruppe“ zugeordnet), sind heute 27 verschiedene Spezies bekannt, wobei *E. faecalis* und *E. faecium* die bedeutsamsten sind (DÜTHORN *et al.*, 2004).

Die Genera *Enterococcus spp.* umfassen eine Gruppe gram-positiver, nicht sporenbildender, milchsäureproduzierender Bakterien, die Katalase-negativ und anaerob oder fakultativ anaerob Natur sind (LYHS *et al.*, 1999). *E. faecium* ist koloniemorphologisch *E. faecalis* sehr ähnlich. Alle Enterokokken besitzen das Gruppenantigen D der Lancefield-Gruppe, eine in der Zellwand lokalisierten Glyzerophosphat-Teichonsäure.

E. faecium spp. wachsen auf Schafblut-Agar mit einer deutlichen α -Hämolyse, außerdem in Anwesenheit von 6,5 % NaCl und 40 % Galle. Das pH-Optimum liegt bei 9,6. Zur Abgrenzung von den Streptokokken kann ein Galle-Äsculin-Agar zur Isolierung und der Nachweis der Pyrolodonyl-Peptidase (PRYase) der Enterokokken dienen (MAYR und ROLLE, 2002).

2.5.2. Bedeutung

Enterokokken gehören zur natürlichen Darmflora der Menschen und warmblütigen Tiere. In Kotproben von Schweinen ist *E. faecium* die dominierende Enterokokkenart (DEVRIESE *et al.*, 1994). Obwohl Enterokokken eine relativ schwache Pathogenität besitzen, können sie dennoch verschiedene Organinfektionen hervorrufen, insbesondere bei Menschen und Tieren mit geschwächter Immunabwehr. Als Verursacher nosokomialer Infektionen haben Enterokokken in den letzten Jahren stetig an Bedeutung zugenommen, wobei sich ihr Resistenzverhalten oft als therapeutisches Problem erweist. Unter anderem sind Resistenzen gegen Penicilline, Aminoglycoside und Glykopeptide wie Vancomycin beschrieben (DÜTHORN *et al.*, 2004).

Etwa 60 % aller auf dem Markt befindlichen Probiotika enthalten Enterokokken. Die Fütterungspraxis erstreckt sich vom Nutztierbereich über Hobby- und Zootiere bis auf den

gesamten Klein- und Heimtiersektor. Insbesondere werden von den Herstellern die stabilisierenden Effekte der Darmflora wie Reduktion von Durchfallerkrankungen, Milderungen und Verkürzungen von Darmstörungen, Restabilisierung der Darmflora nach Antibiotika-Verabreichung und Minderung von Rückfallhäufigkeiten hervorgehoben.

Futtermittelrechtlich sind die Futterzusatzstoffe nach der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung geregelt. Nach der Verordnung (EG) Nr. 252/2006 ist die Verwendung von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 im Anhang I unter der EG-Nr. E 1705 unbegrenzt für Sauen und Ferkel zugelassen.

2.5.3. Wirkungsweise

Nach oraler Verabreichung sind Enterokokken zahlreichen Einflüssen ausgesetzt, durch die sie in ihrer Vitabilität beeinträchtigt werden können. Der niedrige pH-Wert des Magens, der u. a. eine natürliche Abwehrbarriere gegen Keime darstellt, tötet viele dieser Mikroorganismen ab. Ebenso stellen die zahlreichen Enzyme des Verdauungskanal, wie das Pepsin im Magen oder Trypsin, Chymotrypsin, Peptidasen, Lipase und Amylase im Dünndarm, sowie die aus Fett, Fettsäuren, Gallensalzen, Pigmenten und Cholesterin bestehende Galle eine Bedrohung dar. Um diesen Einflüssen standzuhalten, die Passage durch den Verdauungstrakt zu überleben und positive Wirkungen am Wirkort zu induzieren, gibt es verschiedene Möglichkeiten der Herstellung. Überwiegend erfolgt eine Stabilisierung durch Trocknung und anschließender Mikroverkapselung oder eine Einbettung in Fette oder Pellets (von HOLT, 2004; BUG, 2001).

In zahlreichen Studien wurden Wirkungsmechanismen von *E. faecium* spp. beschrieben. JIN *et al.* (2000) untersuchten das Adhäsionsverhalten eines *E. faecium* in-vitro an porzi-nem Muzin. Sie zeigten, dass ca. 9 % dieses Stammes sich an das Muzin anheften konnten. Nach Behandlung mit Trypsin reduzierte sich die Bindungsfähigkeit, was als Hinweis für die Proteinnatur des Bindungsrezeptors gewertet wurde. Ebenfalls zeigten JIN *et al.* (2000), dass nach Kolonisierung mit *E. faecium* (18C23) die Bindungsfähigkeit der enterotoxischen *E.coli*-Stämme K88ac und K88MB bei Ferkeln signifikant reduziert war. NETHERWOOD *et al.* (1999) untersuchten den Einfluss von *E. faecium* NCIMB 11508 auf die Bakterienpopulation im Gastrointestinaltrakt von Hühnern. Sie setzten einen nativen und einen genetisch veränderten *E. faecium*-Stamm ein. Der Einsatz des nativen

Stammes führte zu einer signifikanten Erhöhung der Anzahl von Keimen in der Bakterienpopulation des Darmes, der genetisch veränderte Stamm bewirkte dagegen eine Abnahme der *E. faecalis*-Anzahl. Die Autoren schlussfolgerten, dass *E. faecium* und *E. faecalis* möglicherweise ähnliche Nischen im Verdauungstrakt besitzen. OUWEHAND *et al.* (1999) zeigten, dass Enterokokken zur Bildung antimikrobieller Peptide, sogenannter Bakteriozine, fähig sind. Allerdings gibt es noch keine in-vivo Untersuchungen, die diese Hinweise belegen können. MIKES *et al.* (1995) untersuchten immunologische Effekte nach Verabreichung von *E. faecium* M-74 an 12 erwachsenen Menschen und stellten eine erhöhte IgG-Produktion fest, welches auf den immunstimulierenden Effekt des Probiotikums zurückgeführt wurde.

2.5.4. Ergebnisse innerhalb des Forschungsprojektes

SCHAREK *et al.* (2005) untersuchten innerhalb dieses Forschungsprojektes intraepitheliale Lymphozyten mit Hilfe von Oberflächenmarkern und stellten eine Beeinflussung des Immunsystems in Form einer Reduktion der intraepithelialen CD8-positiven Zellen (cytotoxische T-Zellen) fest. Diese Effekte waren am deutlichsten vor dem Absetzen ausgeprägt und könnten möglicherweise auf Grund einer geringeren mikrobiellen Belastung resultieren. SIMON *et al.* (2004) untersuchten parallel dazu die Beeinflussung von Leistungsparametern hinsichtlich der Durchfallhäufigkeit. Sie zeigten in ihren Untersuchungen eine Reduzierung der Durchfallhäufigkeit bei Aufzuchtferkeln. Allerdings war dieser Effekt nicht bei allen Tieren vorhanden. Die Autoren schlussfolgerten, dass vermutlich Faktoren wie der mikrobielle Ausgangsstatus oder der Zeitpunkt des Beginns der Probiotika-Applikation eine Rolle spielen könnte. Die Forschungsgruppe untersuchte ebenfalls, inwiefern die probiotischen Mikroorganismen überleben können und in der Lage sind, den Verdauungstrakt zu besiedeln. Sie fand heraus, dass die Saugferkel probiotisch supplementierter Mütter bereits vor Verabreichung von supplementiertem Ergänzungsfutter im Verdauungstrakt die probiotischen Keime enthielten und schlussfolgerten, dass diese möglicherweise über den Faeces der Sauen von den Ferkeln oral aufgenommen wurden. Die quantitative Erfassung der gesamten anaeroben und coliformen Keime im Verdauungstrakt der Ferkel führte zu keinen Unterschieden zwischen Kontroll- und Probiotikatieren. SCHAREK *et al.* (2005) untersuchten außerdem die Nachweishäufigkeit β -hämolytischer *E. coli* und verschiedener *E. coli*-Serovare im Verdauungstrakt der Ferkel. Sie fanden eine Halbierung der Nachweishäufigkeit β -hämolytischer *E. coli* sowie der *E. coli*-Serovare O139,

O141 und O147 bei den Probiotikastämmen und zeigten damit einen klaren positiven Effekt der Probiotika-Supplementierung. POLLMANN *et al.* (2005) wiesen nach, dass nach Applikation von *E. faecium* NCIMB 10415 an Sauen und Ferkeln die Übertragung von Chlamydien positiv getesteter Sauen auf die Ferkel von 85 % (Kontrolle) auf 60 % (Probiotika) reduziert werden konnte. Gleiche Tiere wurden innerhalb des Projektes auf ihre Beeinflussung von Struktur und Funktion der Darmschleimhaut untersucht (REITER, 2005). Es wurden die Zottenhöhe, Kryptentiefe, Oberflächenvergrößerungsfaktor, Proliferationsrate von Epithelzellen, Anteil von Becherzellen, Stimulierbarkeit des transzellulären Transports von Glucose und Glutamin sowie der parazelluläre Transport von Mannit untersucht. Aus diesen Untersuchungen ergaben sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Dagegen wurde aber ein früherer Befund von BREVES *et al.* (1997) eines stimulierten Glucosetransportes in die Jejunum-Schleimhaut von probiotisch supplementierten Tieren mit *E. faecium* NCIMB 10415 bestätigt.

2.6. *Bacillus cereus*

2.6.1. Taxonomische Einordnung und Morphologie

Bacillus cereus (*B. cereus*) wird eingeordnet zur Gattung *Bacillus* und gehört zur morphologischen Gruppe 1A. Zu dieser gehören mehrere Spezies, unter anderem *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycooides*, *B. pseudomycooides*, *B. thuringensis* und *B. weihenstephanensis* (VON STETTEN *et al.*, 1998). Das Genus *Bacillus* gehört zu den grampositiven, endosporenbildenden und fakultativ anaeroben Kokken nach Bergey's Manual of Determinative Bacteriology und zur Sektion 18 (1994). *B. cereus* ist beweglich, stäbchenförmig und Katalasepositiv. Aufgrund der Morphologie und des Hämolyseverhaltens können *B. mycooides* bzw. *pseudomycooides* mit typischem rhizoiden Koloniewachstum gegenüber *B. anthracis* als ahämolytische Spezies eindeutig differenziert werden. *B. thuringensis* unterscheidet sich von *B. cereus* ausschließlich durch die Produktion parasporaler kristalliner Einschlüsse (sogenannter Proteinkörnchen). Die Spezies des Genus *Bacillus* sind sich, wie LECHNER *et al.* (1998) durch DNA-DNA-Hybridisierungsstudien gezeigt haben, genetisch sehr ähnlich. Die Bazillen können sich noch in einem Temperaturbereich von bis zu -4 °C und bis maximal 45 °C (Optimum 28-35°C) und in einem pH-Bereich von 4,9 bis 9,3 (Optimum 6,5-7,5) vermehren. Die Sporen von *B. cereus* sind zwar säureempfindlich, aber unempfindlich gegen extreme Hitze. Sie werden auch durch Pasteurisierung nicht abgetötet.

B. cereus stellt sich mikroskopisch betrachtet als Zelle mit einem Durchmesser von etwa 1,2 µm und einer Länge von 3,0 bis 5,0 µm dar. Die mit peritricher Begeißelung versehenen und dadurch beweglichen Stäbchen lagern sich oft zu Ketten zusammen.

2.6.2. Bedeutung

Primär kommen die Bazillussporen im Boden, Dünger und auch im Abwasser vor. Ihre Sporen stellen Ruhezellen dar, die nach Beendigung der exponentiellen Wachstumsphase oder aber, wenn vegetative Zellen von einem nährstoffreichen in ein nährstoffarmes Medium wechseln, gebildet werden. Sie selbst zeigen keinerlei metabolische Aktivität und ihr Ruhezustand, der als Kryptobiose bezeichnet wird, kann über Monate und Jahre aufrechterhalten werden. Aufgrund ihrer ausgeprägten proteolytischen Eigenschaften gehören einige der pathogenen aeroben Sporenbildner zu den wichtigsten Verursachern für den Verderb von Lebensmitteln. Da ihre Sporen ubiquitär verbreitet sind, können Bazillen in nahezu allen Nahrungsmitteln als Kontaminanten auftreten, wenn sie nicht sterilisiert sind (FEHLHABER und KUNZE, 1999, 2003). Bekannt und gefürchtet sind im Humanbereich vor allem die durch Toxine von *B. cereus* induzierte Gastroenteritis oder Magen-Darm-Katarrh. Bedeutsam für den Menschen sind z.B. die durch *B. cereus* hervorgerufenen Lebensmittelvergiftungen durch Reis, da die Sporen auch das Kochen überleben und sich im warm gehaltenen Reis vermehren und dort Keimzahlen von über 10 Millionen/g Lebensmittel bilden können (KRAMER und GILBERT, 1989). Neben Lebensmittelintoxikationen und -infektionen sind auch einige nicht gastrointestinale Krankheitsbilder bei Mensch und Tier beschrieben worden. Dazu zählen vor allem Endophthalmitiden, Septikämien, Infektionen des ZNS, lokale Infektionen und Atemwegserkrankungen. ROWAN *et al.* (2003) beschrieben toxinogene und invasive Eigenschaften von *B. cereus*, untersucht in Organen (Euter, Plazenta, Lunge, Leber und Cerebrospinalflüssigkeit) erkrankter Tiere.

Die als Bioregulatoren eingesetzten Stämme gehören zu der breiten Palette der apathogenen Spezies. Vor ihrer Zulassung müssen die Unbedenklichkeit, Wirksamkeit und Stabilität der Produkte hinreichend belegt werden. *B. cereus* ist als Probiotikum vor allem deshalb von Bedeutung, weil es zwei Eigenschaften in sich vereint: Die gute probiotische Wirksamkeit (siehe Punkt 2.6.3.) und die große Tenazität der Sporen gegenüber Umwelteinflüssen. In der Produktpalette der Futterzusatzstoffe spielt *B. cereus* mit wenigen anderen eine dominierende Rolle. Der in Japan aus dem Boden isolierte *B. cereus* var. Toyoi

(NCIMB 40 112) ist als Toyocerin[®]-Pulver mit einer Sporenkonzentration von 10^9 KbE/g bzw. als Toyocerin[®]-Pulver-B mit einer Sporenkonzentration von 10^{10} KbE/g erhältlich. In Japan bereits seit 1975 eingesetzt, wird Toyocerin[®] in der EU seit 1994 als Futtermittelzusatz verwendet.

Futtermittelrechtlich ist Toyocerin[®] als Futtermittelzusatz für Masthühner, Legehennen, Kälber, Mastrinder, Zuchtkaninchen und Mastkaninchen durch die EG-VO Nr. 256/2002 geregelt und nach der EG-Richtlinie 70/524/EWG für Ferkel, Mastschweine und Sauen zugelassen.

2.6.3. Wirkungsweise

Zur transienten Darmflora gehörend, bewirken die grampositiven Bakterien der Gattung *Bazillus* eine Auskeimung und Heranwachsen der vegetativen Zellen, ohne sich dauerhaft anzusiedeln oder sich wesentlich zu vermehren (GRITZER und LEITGEB, 1998). *B. cereus* keimt in Wachstumsmedien unter optimalen Bedingungen nach 10 Minuten und nach oraler Aufnahme im Darmtrakt schnell aus und führt beim Ferkel zu einer Verringerung der Wachstumskapazitäten von *Enterobacteriaceae* vor dem Absetzen (JADAMUS *et al.*, 2001). Mit dem Begriff „competitive exclusion“ wird die Keimkonkurrenz an der intestinalen Schleimhaut bezeichnet (SISSONS, 1989). Wird die Darmflora von den probiotisch wirksamen Mikroorganismen besiedelt, haben z. B. enteropathogene *E.coli*-Stämme keine oder geringere Möglichkeiten, sich mit den Fimbrien am Darmepithel anzuheften, wenn der gleiche Rezeptor benutzt wird. GEDEK *et al.* (1993) wiesen eine Verringerung der *E.coli*-Keimzahlen in den vorderen Verdauungsabschnitten bei Ferkeln nach Gabe von *B. cereus* var. *Toyoi* auch nach dem Absetzen nach. Bei guten hygienischen Haltungsbedingungen konnten nach FULLER (1992, 1994) allerdings keine oder nur geringfügige Verbesserungen der Gesundheit oder der Kondition festgestellt werden. Als exogener Keim besitzt *B. cereus* var. *Toyoi* nach BUSCH *et al.* (1999) außerdem ein starkes Potential zur Stimulierung der lokalen Immunität. HOFMANN, KLEIN und BEHRENS (1997) verzeichneten nach Supplementierung mit *B. cereus* (Paciflor[®]) bei Ferkeln einen kurzfristigen Anstieg von IgM und sIgA in den Darmsekreten. SIgA erwies sich dabei z. T. antigenspezifisch. Im ELISA reagierte sIgA sowohl gegen *B. cereus* var. *Toyoi* selbst, als auch gegen *E. coli* und gegen *Serpulina hyodysenteriae*. Die Autoren schlussfolgerten, dass

diese immunstimulierende Wirkung möglicherweise die Erklärungsgrundlage für eine reduzierte *Diarrhoe*-Inzidenz sein könnte.

Die genauen Wirkungsmechanismen sind teilweise noch unklar. Insbesondere werden *B. cereus* in der Literatur Effekte im Darmtrakt durch die Senkung des pH-Wertes wie die Produktion von H₂O₂, die Stimulierung des immunologischen Systems und die Reduktion der Bildung toxischer Metabolite des bakteriellen Proteinabbaus wie Ammoniak, Amine, Indole und Skatole zugeschrieben (GESSLER *et al.*, 1995).

2.6.4. Ergebnisse innerhalb des Forschungsprojektes

Im Fütterungsversuch mit *B. cereus* var. Toyoi (Toyocerin[®]) wurde wie in dem Versuch mit *E. faecium* von der Arbeitsgruppe SIMON *et al.* eine reduzierte Durchfallhäufigkeit bei den Ferkeln nachgewiesen. Auch hier wurde dieser Effekt nicht bei allen Tieren mit Diarrhoe induziert und Faktoren wie der individuelle mikrobielle Ausgangsstatus als Ursache für das Ergebnis in Betracht gezogen. Durchschnittlich wurden bei den Saug- und Aufzuchtferkeln um bis zu 5 % erhöhte Lebendmassezunahmen im Vergleich zu den Kontrolltieren und ein bis zu -9 % ($p \leq 0,01$) herabgesetzter Futteraufwand beschrieben. Die Reduktion der Durchfallinzidenz im Vergleich zu den Kontrolltieren wurde insbesondere mit der frühen Fütterung der probiotischen Kulturen an die Sauen während der Gravidität und Laktation und an die Ferkel in Zusammenhang gebracht (SIMON *et al.*, 2004). Diese deutlichen Effekte sind mit großer Wahrscheinlichkeit unter schlechten Praxisbedingungen bzw. in Problembetrieben noch ausgeprägter. In einem unveröffentlichten Bericht von MÄNNER und SIMON konnte die Durchfallhäufigkeit von Kälbern (50 bis 85 kg Lebendmasse) auf 35 bzw. 65 % gesenkt werden, wenn ein *E. faecium*- bzw. ein *B. cereus*-Präparat mit dem Milchaustauscher verabreicht wurde.

Bei der Betrachtung der *E. coli*-Bakterien durch Erfassung der Nachweishäufigkeit β -hämolytischer *E. coli* und verschiedener *E. coli*-Serovare im Verdauungstrakt der Ferkel wurden durch SCHAREK *et al.* (2005) ein klarer Effekt der Probiotika beschrieben. Bei Verabreichung des *B. cereus* var. Toyoi waren im Verdauungstrakt der Ferkel die *E. coli*-Serovare O139, O141 und O147 nicht nachweisbar, obwohl bei den Kontrolltieren die Nachweishäufigkeit bei bis zu 26 % lag. SCHAREK *et al.* (2005) untersuchten ebenfalls immunologische Parameter und fanden eine tendenzielle nichtsignifikante Erhöhung der intraepithelialen CD45-positiven Zellen (Leukozyten), CD3CD8-doppelt positive Zellen

(zytotoxische T-Zellen) und TcR1-positive Zellen ($\gamma\delta$ T-Zellen) im Dünndarm-Epithel von Probiotika-Tieren. LORENZ (2005) untersuchte verschiedene Parameter im Zusammenhang mit der Struktur und der Funktion der Darmschleimhaut. Die hier gefundenen Unterschiede waren nicht gerichtet und signifikant und konnten daher die beschriebenen Effekten anderer Autoren wie z. B. einer Zottenverlängerung (GÖRKE, 2000) nicht bestätigen.

3. Die spezifische und unspezifische Abwehr

Im Verlauf der Phylogenese entwickelten sich beim Säuger vier Abwehrsysteme, die stufenweise nacheinander, aber auch gleichzeitig wirksam sein können und teilweise eng miteinander kooperieren. Diese sind

1. die Resistenz,
2. die anatomischen und physikalisch-chemischen Barrieren,
3. die individuelle wirtseigene Keimflora der Haut und der Schleimhäute, und
4. das komplexe, aus antigenunspezifischen und antigenspezifischen Aktivitäten bestehende Immunsystem (ROLLE und MAYR, 1993).

Unspezifische und spezifische Anteile von Immunreaktionen veranschaulicht Tabelle 4.

	unspezifisch	spezifisch
humorale Abwehr	Komplement-System Interferone Interleukine u.a.	Immunglobuline (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM)
zelluläre Abwehr	neutrophile Granulozyten, Makrophagen, NK-Zellen	T-Lymphozyten (Helfer-, zytotoxische und Suppressor-T-Lymphozyten) B-Lymphozyten

Tabelle 4: unspezifische und spezifische Anteile der Immunreaktion

Koordinierende Funktionen zwischen den zellulären und humoralen Abwehrmechanismen erfüllen beispielsweise monozytäre Phagozyten und andere Antigen-präsentierende Zellen, die indirekt auch unspezifische Abwehrvorgänge in Gang setzen.

Vor der Invasion durch Mikroorganismen und pathogenen Krankheitserregern schützt sich der Organismus durch eine gestaffelte Abwehr aus spezifischen und unspezifischen Barrieren und Mechanismen. Der MDT stellt dabei eine „Kommunikations-Plattform“ zwischen dem Wirt und seinen Besiedlern dar (KRÜGER, 2005). Um ein Fließgleichgewicht bzw. den Zustand der Homöostase (siehe Punkt 1.1.) zu gewährleisten, stehen dem Wirt im MDT zahlreiche Abwehrbarrieren zur Verfügung.

Unspezifische Abwehrbarrieren

Der MDT wird durch eine **Epithelzellschicht** ausgekleidet, die insbesondere in den ersten Lebensstagen kontinuierlich erneuert wird (LIEBICH, 2003). Diese Schicht ist gekennzeichnet durch einen hohen Zellturnover und einer konstanten Produktion einer schützenden **Mukus-Schicht**. Eine Schädigung führt zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Jungtiergesundheit. Auch außerhalb dieses Zeitraumes stellen die Epithelzellen und Mukus zwei physiologische Abwehrmechanismen mit einem ausgeprägten unspezifischen Schutz gegen die Schädigung durch den Lumeninhalt dar. Dieser Schutz ist sowohl gegen Kommensale wie auch gegen enteropathogene Viren und Bakterien gerichtet. Im Gegensatz zu den Kommensalen können pathogene MO jedoch die unspezifischen Barrieren z.B. durch Toxinbildung niederbrechen und überwinden. Neben dem Mukus befinden sich auf der Epithelzelloberfläche auch Chemokine zum Anlocken von Phagozyten sowie antimikrobielle Peptide wie die **Defensine**, **Lactoferrin** oder **Lysozym**. Die Epithelzellen werden daher auch als Bindeglied zwischen dem angeborenen und adaptiven (erworbenen) Immunsystem angesehen und von DEDIERLAURENTT *et al.* (2004) zu Recht als „Wachhunde des mukosalen Immunsystems“ bezeichnet. Sie regulieren die Homöostase des MDT, die unspezifische Immunität und die adaptive Immunität. Oberflächenrezeptoren auf Monozyten, Makrophagen, Dendritischen Zellen einschließlich der intestinalen Epithelzellen dienen als Erkennungsstrukturen auf intestinale Epithelzellen zur Identifizierung der MO. Diese Pattern Recognition Receptors (PRRs) werden frei sezerniert (LRR – Lectintyp) oder kommen zellgebunden als Toll-like-Receptors (TLR) vor (KRÜGER, 2005). Die PRRs können relevante Moleküle auf den MO erkennen und werden daher auch als Microbe Associated Molecular Pattern (MAMPs) bezeichnet.

Adaptive (Erworbene) Abwehrbarrieren

Das spezifische immunologische Abwehrsystem des MDTes repräsentiert ca. 80 % des Gesamtimmunsystems und besteht aus lymphatischem Gewebe und Lymphzellen, die in der gesamten Länge des Darmes anzutreffen sind. Zur spezifischen Barriere gehört das darmassoziierte Immunsystem („gut associated lymphoid tissue“ oder **GALT**) mit seinen drei Hauptkomponenten Peyersche Plaques (PP), das Epithel mit seinen intraepithelialen Lymphozyten und die *Lamina propria mucosae*, siehe Abbildung 5.

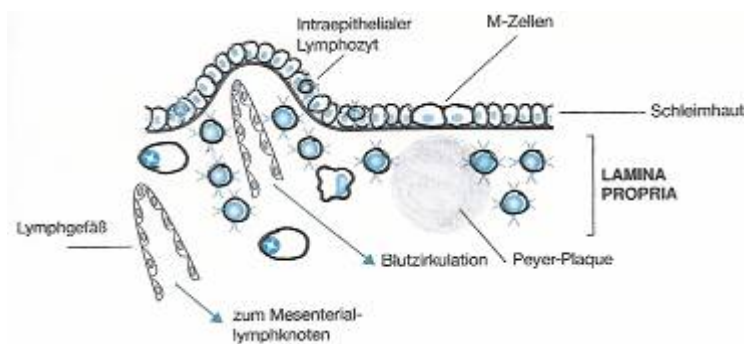


Abbildung 5: Zelluläre Komponenten des GALT (in: Immunologie, ABBAS *et al.*, 1996)

Die PP sind anatomisch klassische sekundäre Lymphorgane mit definierten B- und T-Zell-Arealen (MOWAT, 1994). Die B-Zell-Follikel mit angrenzenden T-Zell-Arealen liegen in der Submucosa des Dünndarmes und werden von mesenterialen Lymphknoten drainiert. Hierdurch wird eine Verbindung des Darmimmunsystems über den Blutkreislauf mit dem lymphatischen Mucosagewebe geschaffen. Die *jejunalen* und *ilealen* PP werden von Epithelzellen und **M-Zellen** bedeckt. Diese M-Zellen sind spezialisiert auf den Partikeltransport von luminal nach basal, wo sich Makrophagen, Dendritische Zellen und B-Zellen befinden. Sie präsentieren die Antigene an lokale CD4+-T-Zellen, die ihrerseits B-Zellen (meist IgA+ und IgM+ - B-Zellen) zur Proliferation anregen. Das sIgA der Muttermilch und die eigene sIgA-Produktion der Jungtiere schützen die intestinale Flora vor den oral aufgenommenen Antigenen. Die humoralen Interaktionen zwischen der Darmflora und dem intestinalen Immunsystem zeigt Abbildung 6.

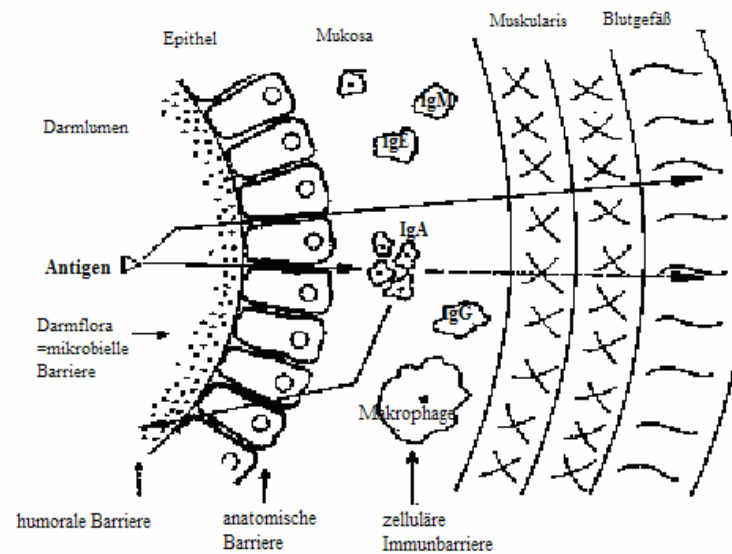


Abbildung 6: Interaktionen zwischen Darmflora und intestinale Immunsystem bei der Abwehr von Antigenen (aus Nutztierernährung, 1995)

3.1. Struktur der Immunglobuline

Immunglobuline sind per Definition: „eine Gruppe strukturell verwandter Glykoproteine, die von B-Lymphozyten und Plasmazellen produziert werden, bei der elektrophoretischen Serumauftrennung in der γ -Globulinfraktion erscheinen und für die Realisierung der humoralen Immunantwort verantwortlich sind“ (DRÖBLER und GEMSA, 2000).

Immunglobuline (= Antikörper) kommen im Blut, in verschiedenen Körpersekreten (Speichel, Tränenflüssigkeit, Bronchialsekret usw.) und zellgebunden vor. Die Grundeinheit der Immunglobulin-Moleküle aller Klassen setzt sich aus zwei Paaren identischer Polypeptidketten, den schweren H-Ketten (50 – 70 kDa), und den leichten L-Ketten (ca. 25 kDa), zusammen. Die Polypeptidketten werden durch Disulfidbrücken und nichtkovalente Bindungen, vor allem Wasserstoffbrücken zusammengehalten. Auch innerhalb der Ketten gibt es Disulfidbrücken zur Stabilisierung des Moleküls. Die L-Ketten sind entweder vom Kappa (κ)- oder vom Lambda (λ)-Typ und bestimmen die Zugehörigkeit zu den Immunglobulin-Klassen und Subklassen. Gekennzeichnet werden sie durch die griechischen Buchstaben α , δ , ϵ , γ und μ . Entsprechend ihren fünf Grundtypen werden die Immunglobuline mit

IgA, IgG, IgE, IgD und IgM benannt. Jedes Immunglobulin-Molekül enthält unabhängig von seiner Klassenzugehörigkeit entweder zwei κ - oder λ -Ketten als leichte Ketten.

Alle Immunglobuline bestehen aus einer variablen Region, die für die Antigen-Bindung verantwortlich ist; aus einer Gelenkregion, die dem Molekül Flexibilität verleiht; und aus einer konstanten Region (Fc-Region), die die biologischen Eigenschaften des Moleküls beherbergt. Durch die bewegliche Hinge-(Gelenk)-Region können die Antikörper auch weiter entfernte Determinanten binden oder Oberflächen-Antigene auf Zellen vernetzen. Der vom C-terminalen Bereich der schweren Ketten gebildete Fc-Teil (crystallisierbares Fragment) ist nicht antigenspezifisch, jedoch Träger wichtiger weiterer Antikörper-Funktionen wie z. B. Aktivierung der Komplementbindung oder Bindung an spezifische Fc-Rezeptoren. Die dem Fc-Teil gegenüberliegenden Bereiche des Antikörper-Moleküls werden als Fab-Teile (antigenbindendes Fragment) bezeichnet und sind für die Antigen-Spezifität verantwortlich. Sie sind bei allen B-Lymphozytenklonen verschieden, d.h. nur wenn der „Schlüssel“ (Antigen) genau in das „Schloss“ (Antikörper) passt, erfolgt die Antigen-Antikörper-Bindung (OETHINGER, 2004).

3.1.1. Struktur des IgG

IgG gehört mit über 80 % der Serumglobuline zur größten Immunglobulinfraktion und ist das bedeutsamste Immunglobulin in der systemischen Abwehr. Es besitzt eine relative Molekülmasse von 146 kDa und einem Kohlenhydratanteil von 3 % (DRÖBLER und GEMSA, 2000). IgG liegt immer als Monomer vor und besitzt eine starke Affinität zu Makrophagen und Lymphozyten. IgG wird als der wichtigste Antikörper der sekundären Immunantwort angesehen und spielt bei der Neutralisierung von Toxinen und Viren eine dominierende Rolle (ROITT *et al.*, 1991). Seine Halbwertszeit (HWZ) wird in der Literatur unterschiedlich angegeben. Nach CURTIS und BOURNE (1973) beträgt diese etwa 7-14 Tage, DRÖBLER und GEMSA (2000) geben eine biologische HWZ von 23 Tagen an. Die typische Y-förmige veranschaulicht Abbildung 7.

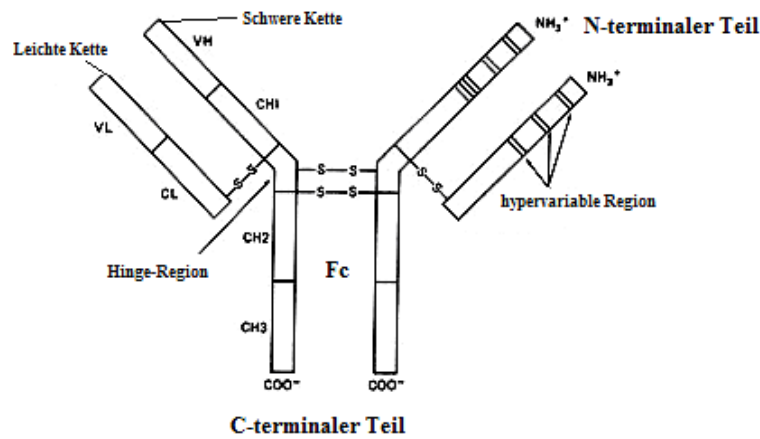


Abbildung 7: Struktur des IgG

3.1.2. Struktur des IgA

IgA liegt im Gegensatz zum IgG in monomerer oder dimerer Form vor. Während nur 10-15 % der Serum-Antikörper zum IgA gehören, herrscht diese Klasse vorwiegend in Sekreten sowie auf Schleimhautoberflächen vor. Dadurch besitzen der Darm und andere Organe wie die Milchdrüse oder die Speicheldrüsen eine „lokale“ Immunität. Das lokal von den Plasmazellen produzierte IgA wird in der *Lamina propria* gebildet und unterscheidet sich strukturell und funktionell vom Serum-IgA. Bei der Polymerisierung des IgA spielt die ebenfalls von den Plasmazellen synthetisierte J-Kette (joining) eine entscheidende Rolle. Durch dieses Polypeptid werden zwei Monomere zu einem Dimer verbunden. Der entstandene Komplex wird durch Endozytose aktiv durch die Epithelzelle transportiert. Anschließend wird durch proteolytische Spaltung das gebundene IgA aus dem Komplex als sekretorisches IgA (sIgA) in das Darmlumen freigesetzt, siehe Abbildung 8:

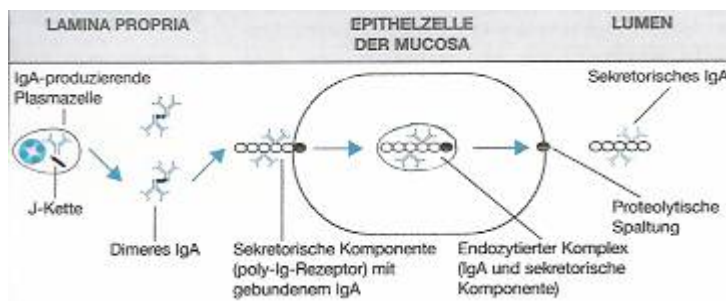


Abb. 8: Mechanismen der sIgA-Bildung, des Transportes und der Sekretion (Immunologie, ABBAS *et al.*, 1996)

Die Molekülmassen betragen 160 kDa für IgA und 390 kDa für sIgA, die Halbwertszeit (HWZ) beträgt etwa 6 Tage (DRÖBLER und GEMSA, 2000).

3.2. Immunglobuline beim Schwein

Porcines **IgA** wurde beim Schwein erstmals durch VAERMANN und HEREMANS (1970) im Serum und in der Milch nachgewiesen, das mit dem humanen IgA vergleichbar war. IgA spielt die Schlüsselrolle für die Immunität der Mukosa, da es als einziger Isotyp selektiv durch die Mukusbarriere in das Lumen der mit der Schleimhaut ausgekleideten Organe ausgeschüttet werden kann (ABBAS, 1996). Der Beweis für das Vorhandensein einer sekretorischen Komponente und damit des sIgA wurde durch HURLIMAN und DARLING (1971) mit Hilfe der Polyacrylamid-Gelelektrophorese geliefert. Das sIgA kommt beim Schwein im Gegensatz zum Menschen auch im Urin vor und ist vergleichbar mit dem in der Milch, im Speichel und im Darm. Weil die Synthese hauptsächlich im Lymphgewebe der Mukosa stattfindet und der Transport in das Lumen sehr effizient ist, macht IgA nur knapp ein Viertel der Antikörperkonzentration im Plasma aus, obwohl mehr IgA synthetisiert wird als die anderen Isotypen (70 % der Gesamtantikörperproduktion, ABBAS *et al.*, 1996). Über die Mesenteriallymphpe erreicht IgA das Blut (VAERMANN *et al.*, 1997).

Beim **IgG** wurden durch DNA-Analysen fünf Subklassen beim Schwein bestimmt (KACSKOVICS *et al.*, 1994). Diese wiederum werden in zwei Gruppen eingeteilt: eine Gruppe beinhaltet IgG1 und IgG3, die andere IgG2a, IgG2b und IgG4. IgG1 und IgG3 unterscheiden sich durch den Abstand ihrer Hinge-Region (siehe 3.1.), IgG2a und IgG2b dagegen in 3 Aminosäuresequenzen.

IgD wurde von ZIKAN *et al.* (1983) durch den Nachweis im Schweineserum und Milzzell-Lysat beschrieben.

Das Vorkommen von **IgE** wurde lange vermutet, bevor VERNESSON *et al.* (1997) die mRNA des IgE des Schweines isolieren und damit IgE nachweisen konnten.

Etwa 18 % der Serumglobuline gehören beim Schwein zur **IgM**-Klasse, im Kolostrum sind dies etwa 5% (CURTIS und BOURNE, 1973). IgM liegt immer als Pentamer vor, wodurch seine antigenbindenden und komplementaktivierenden Eigenschaften besonders effizient sind. Die HWZ von IgM beträgt nach vorgenannten Autoren 2,5 bis 4,5 Tage.

3.2.1. Der Immunstatus tragender und laktierender Sauen

MILLER *et al.* (1961) bestimmten die Serum-IgG-Konzentrationen vom Geburtszeitpunkt der Schweine bis zum Alter von 2 Jahren, dargestellt in Tabelle 5.

Alter der Tiere	Anzahl der Tiere	Serum-IgG (mg/ml)
0 Stunden	47	1,4 ± 0,5
2 Tage	30	21,6 ± 1,1
3 Wochen	94	4,6 ± 0,1
6 Wochen	60	4,8 ± 0,4
9 Wochen	84	7,7 ± 0,5
12 Wochen	36	11,3 ± 0,8
15 Wochen	73	15,6 ± 0,6
20 Wochen	67	15,6 ± 0,6
24 Wochen	76	13,1 ± 0,6
2 Jahre (Sauen)	13	15,2 ± 1,0

Tabelle 5: Serum-IgG-Konzentrationen bei Schweinen. Die Serum-Werte in der dritten Spalte sind angegeben als MW ± SEM (MILLER *et al.*, 1961)

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Tiere ab einem Alter von etwa 15 Wochen über ähnlich hohe IgG-Konzentration verfügen wie erwachsene Tiere. MILLER *et al.* (1961) bestimmten ebenfalls in einem ähnlichen Modell die Serum-IgA-Konzentrationen, dargestellt in Tabelle 6.

CURTIS und BOURNE (1971) verfolgten die Immunglobulin-Entwicklung über die Läuferperiode hinaus. Ihre Ergebnisse widersprechen den zuvor genannten Ergebnissen. Sie zeigten trotz eines kontinuierlichen Anstiegs weder bei den 16 Wochen alten Mastferkeln noch bei den Schlachttieren im Alter von sechs bis sieben Monaten Serumkonzentrationen, die bei adulten Tieren (hier im Alter von ca. 2 Jahren) gemessen wurden. Sie schlossen daher auf eine noch nicht abgeschlossene Entwicklung des Immunsystems.

Alter der Tiere	Anzahl der Tiere	Serum-IgA (mg/ml)
2 Tage	29	4,3 ± 1,6
3 Wochen	29	0,2 ± 0,1
6 Wochen	29	0,4 ± 0,1
9 Wochen	29	0,7 ± 0,2
12 Wochen	29	1,3 ± 0,4
15 Wochen	29	1,3 ± 0,6
18 Wochen	29	2,2 ± 0,8
21 Wochen	29	2,2 ± 0,8
24 Wochen	29	2,1 ± 0,9
2 Jahre (Sauen)	13	2,1 ± 0,4

Tabelle 6: Serum-IgA-Konzentrationen bei Schweinen. Die Serum-Werte in der dritten Spalte sind angegeben als MW ± SEM. Die Mittelwerte wurden bis auf die in der letzten Zeile dargestellten Werte immer von denselben Tieren ermittelt (MILLER *et al.*, 1961)

Sauen besitzen eine *Semiplacenta diffusa incompleta* und werden histologisch zu den Tieren mit einer *Placenta epitheliochorialis* gerechnet (MICHEL, 1988). Durch ihren Placentatyp können die Schweine im Gegensatz zum Menschen keine Immunglobuline diaplazentar übertragen (TIZARD, 1992, 2000). Die verschiedenen Gewebeschichten zwischen der maternalen und der fetalen Blutzirkulation verhindert den Transfer der Antikörper. Die Ferkel werden demzufolge ohne Antikörper-Schutz geboren und sind auf die passive Immunglobulin-Versorgung über das Kolostrum angewiesen. Von einigen Autoren wurden im Serum neugeborener, noch nicht kolostral versorgter Ferkel Antikörper nachgewiesen (PORTER und HILL, 1970; FRENYO *et al.*, 1981). Die Autoren gehen davon aus, dass die bei der Geburt nachweisbaren Immunglobuline wahrscheinlich auf eine sich ab dem 70. Trächtigkeitstag entwickelnde Immunkompetenz zurückzuführen sei. Nach Ansicht von anderen Autoren ist dies auf einen Defekt der plazentaren Barriere zurückzuführen (SETCAVAGE und KIM, 1976; REDMAN, 1979). YANO *et al.* (1988) gehen wiederum davon aus, dass auch bei einer intakten Plazenta maternales IgG und IgM in das Uteruslumen sezerniert und anschließend vom fetalen Chorionepithel absorbiert werden kann.

KLOBASA *et al.* (1985) untersuchten die Immunglobulin-Konzentrationen im Serum von Sauen während der Trächtigkeit und der Laktation und teilten dazu den Gesamtzeitraum in vier Phasen ein. In der ersten Phase stellten sie eine Erhöhung des IgG und eine Erniedri-

gung des IgA- und IgM-Spiegels fest. Phase 2 zeigte eine Erhöhung für alle drei Ig-Klassen von der 5. bis 13. Trächtigkeitswoche. In der dritten Phase stiegen die IgA-Mengen, während niedrigere IgG- und IgM-Titer angegeben wurden. Die spätere Laktationsphase oder 4. Phase wies ständige Erhöhungen von IgA und IgG und eine schnelle Erniedrigung von IgM auf.

In einer Studie von BOURNE (1973) wurden Antikörper-Konzentrationen im Serum nicht laktierender Schweine, im Serum laktierender Sauen und in der Milch gemessen:

	IgG	IgA	IgM
Serum (Schwein)	18,31	1,44	3,15
Serum (laktierende Sau)	24,33	2,37	2,92
Kolostrum	61,80	9,66	3,19
Milch (24 h)	11,83	3,76	1,79
Milch (2 Tage)	8,16	2,72	1,81
Milch (3 - 7 Tage)	1,91	3,41	1,17
Milch (8 - 35 Tage)	1,37	3,04	0,89

Tabelle 7: Immunglobulinkonzentrationen (mg/ml) im Serum, Kolostrum und in der Milch von Schweinen (BOURNE, 1973)

Die Tabelle veranschaulicht die veränderten Immunglobulin-Konzentrationen, bedingt durch die Laktation. Die hohe Anreicherung der Antikörper im Kolostrum soll den Ferkeln ermöglichen, schnell einen passiven Immunschutz zu erhalten. Die kolostralen Antikörper gelangen dabei zum größten Teil aus dem Blut in die Milchdrüse. STOKES und BOURNE (1989) untersuchten die Herkunft der Immunglobuline im Kolostrum und in der Milch, siehe Tabelle 8:

	aus dem Plasma (in %)	lokale Synthese (in %)
Kolostrum IgM	85	15
IgG	100	0
IgA	40	60
Milch IgM	10	90
IgG	30	70
IgA	10	90

Tab. 8: Herkunft der Kolostrum- und Milchimmunglobuline beim Schwein (STOKES und BOURNE, 1989)

Die IgG-Titer sinken nach KLOBASA und BUTLER (1987) in den ersten 24 Stunden *post partum* (*p. p.*) um 85 %, die IgM- und IgA-Konzentration um ca. 70 % unter dem Ausgangswert. Bis zum 2. Tag *p. p.* zeigten STOKES und BOURNE (1989) einen Abfall von IgA, und ab dem 3. Tag wieder einen Anstieg, der sich bis zum 42. Tag *p. p.* um bis zu 50 % erhöhte. Bis zum Ende der Laktation war IgA nunmehr die vorherrschende Immunglobulin-Klasse in der Sauenmilch. Die unterschiedlichen Ergebnisse zeigen, dass u. a. für vergleichbare Messungen die Einhaltung des genauen Proben-Zeitpunktes ein wichtiges Kriterium ist.

3.2.2. Der Immunstatus neugeborener Ferkel

Neugeborene Ferkel sind, wie in Kapitel 3.2.1. beschrieben, auf die Aufnahme von maternalen Antikörpern über die Kolostralmilch angewiesen. Da die Eigensynthese während der intrauterinen Entwicklung durch das Ausbleiben von Antigen-Kontakten und ungenügender Reife des Immunsystems begrenzt wird, müssen die Ferkel in kurzer Zeit Kolostrum aufnehmen, um einen passiven Immunschutz zu erhalten. Die Resorption der Immunglobuline aus dem Kolostrum in den Darm ist jedoch nur begrenzt möglich und wird von WICHERIN (1993) mit abnehmender Tendenz und maximal für 36 Stunden beschrieben. KLOBASA *et al.* (1990) untersuchten die Resorption der Immunglobuline in Abhängigkeit von der ersten Nahrungsaufnahme. Sie stellten fest, dass bei Ferkeln, die in den ersten 12-24 Lebensstunden nicht oder nur mit Wasser versorgt waren und erst dann Kolostrum erhielten, die Immunglobulin-Versorgung ebenso gut war wie bei den Ferkeln, die unmittelbar nach der Geburt mit Muttermilch versorgt wurden. Die Autoren schlussfolgerten, dass das Absorptionsvermögen des intestinalen Epithels für Immunglobuline nicht von Geburt an, sondern mit der Nahrungsaufnahme verloren geht. Untermuert wurde diese Aussage durch die Verfütterung einer 13 %igen Glucoselösung an eine Versuchsgruppe, wonach die Absorption der zu einem späteren Zeitpunkt zugeführten Immunglobuline fast ganz zum Erliegen kam.

Die maternalen Antikörper werden nach Aufnahme abgebaut oder verbraucht, und die vom Jungtier eigenständig produzierten Immunglobuline nehmen nur langsam zu. Die Bedeutung einer ausreichenden Versorgung über das Kolostrum werden durch die Untersuchungen von HENDRIX *et al.* (1978) untermuert. Sie untersuchten Blutproben 12 Stunden nach der Geburt auf ihren Gesamt-Antikörper-Gehalt und zeigten, dass Tiere, die bis zum 21. Tag *post natem* (*p. n.*) noch am Leben waren, höhere Konzentrationen aufwiesen als

die bis dato verstorbenen Tiere. Bei Ferkeln mit höheren Antikörper-Konzentrationen waren nicht nur niedrigere Sterblichkeitsraten, sondern auch schnellere Wachstumsraten zu verzeichnen. Im Unterschied hierzu fanden VARLEY *et al.* (1987) eine signifikant positive Korrelation zwischen der aufgenommenen Immunglobulin-Menge und -Konzentration im Plasma, jedoch keinen Zusammenhang zwischen dem Plasma-Gehalt und den Wachstumsraten bzw. der Mortalität. Das Minimum der Immunglobulin-Konzentration ist nach JENSEN und PEDERSEN (1979) etwa am 22. Tag *p. n.* erreicht. Es entsteht eine sogenannte „**immunologische Lücke**“ (ERHARD *et al.*, 1999), siehe Abbildung 9:

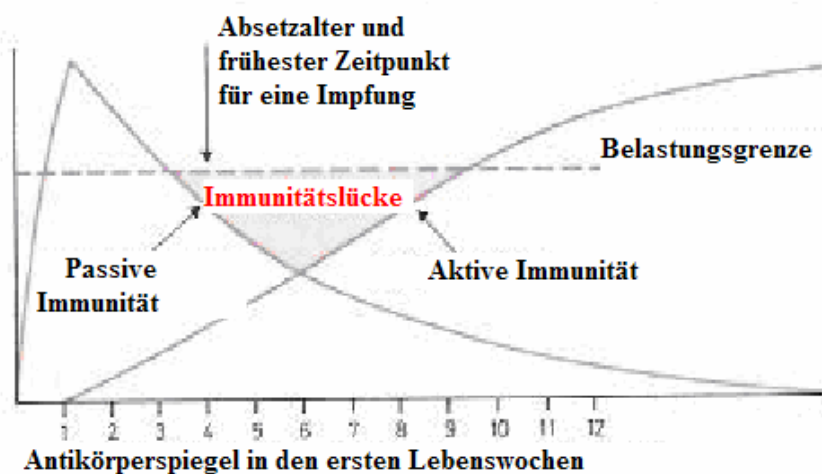


Abb. 9: Die von der Mutter übertragene (passive) Immunität nimmt nach der ersten Lebenswoche ab, die eigene (aktive) Immunität steigt langsam an. Es entsteht eine Immunitätslücke (EICH und SCHMIDT, 2000)

Der zelluläre Mechanismus der Immunglobulin-Aufnahme in das Darmepithel basiert auf Pinozytose (STALEY *et al.*, 1968, GÜNTHER, 1973). Dieser Vorgang findet im gesamten Dünndarm statt, die Orte mit der höchsten Absorptionsrate stellen jedoch das *Jejunum* und die proximalen zwei Drittel des *Ileums* dar (SZEKY *et al.*, 1976). Das *Duodenum* spielt bei der Absorption eine untergeordnete Rolle. Bei der Pinozytose gelangen die aufgenommenen Makromoleküle zwischen die Mikrovilli der Epithelzellen und akkumulieren in Einstülpungen der Plasmamembran, die sich dann als Vesikel abschnüren. Aus diesen bilden sich dann größere Vakuolen, die sich an der basolateralen Zellmembran in den Interzellularraum entleeren (LUSTERMAN und GÜNTHER, 1977). Durch immunhistochemische Untersuchungen am porcinen *Ileum* stellten BUTLER *et al.*, (1981) fest, dass IgG ausschließlich vom Villusepithel absorbiert wird, während IgA und IgM zusätzlich vom Kryptenepithel absorbiert wird.

Die Eigensynthese der Immunglobuline beim Ferkel wird durch vielfältige Antigen-Expositionen nach der Geburt stimuliert und variiert in Abhängigkeit von den Haltungs- und Fütterungsbedingungen (BANKS, 1982, TIZARD, 2000). Die primär synthetisierten Antikörper gehören der IgM-Klasse an. Ihre Konzentration nimmt jedoch sehr schnell ab, und es findet ein Klassenwechsel (engl.: class switch) nach IgG statt (OETHINGER, 2004). HABE (1974) wies bereits am 3. bis 4. Lebenstag (LT) durch Eigensynthese entstandene Immunglobuline nach, KLOBASA *et al.*, (1990) konnten bei heterolog passiv immunisierten Ferkeln ab dem 6. LT Antikörper nachweisen. Ebenfalls ab dem 6. LT konnten KLOBASA und WERHAHN (1991) IgM und ab dem 12. LT die Eigensynthese von IgA belegen.

Durch unterschiedliche Haltungsbedingungen kann die humorale Immunantwort des Ferkels beeinflusst werden. So fanden HESSING *et al.* (1994) heraus, dass sich bei nicht aggressiven Ferkeln eine schnellere und gesteigerte Antikörper-Produktion ausbildet gegenüber aggressiven Tieren. BLECHA und KELLEY (1981) untersuchten Zusammenhänge bezüglich Eigensynthese der Immunantwort und den Einfluss verschiedener Stressfaktoren. Sie entdeckten durch Absenken der Stalltemperatur auf 0 °C eine Steigerung der Antikörper-Produktion und eine Absenkung des Antikörper-Bildungsvermögens durch das Absetzen am 21. LT. Auswirkungen durch „Kältestress“ induzierten ebenfalls BATE und HACKER (1985). Nachdem die Sauen gegen Ende der Trächtigkeit bei niedrigeren Umgebungstemperaturen als die Kontrolltiere gehalten wurden, wurde die Eigensynthese von Antikörpern bei den Ferkeln gemessen. Die Autoren zeigten eine höhere Syntheserate bei den Ferkeln der Versuchstiere gegenüber den Ferkeln der thermoneutral gehaltenen Sauen und führten dies auf eine bereits in der fetalen Entwicklung stimulierten Differenzierung der B-Lymphozyten zurück. BLECHA *et al.* (1983, 1985) untersuchten ebenfalls Immunitätsparameter bei mit zwei bzw. mit fünf Wochen abgesetzten Ferkeln. Der Immunstatus der mit zwei Wochen abgesetzten Ferkel war unterentwickelt im Vergleich zu den mit fünf Wochen abgesetzten Tieren zum selben Zeitpunkt. Dieser Effekt wurde auf die stressinduzierte Freisetzung von Kortikosteroiden zurückgeführt, die eine Immunantwort unterdrücken. In einem später durchgeführten Versuch kamen die Autoren zu einem gegenteiligen Ergebnis. Die Wurfgeschwister einer Ferkelgruppe wurden zusammen mit einer Gruppe Nicht-Geschwister abgesetzt. Trotz höherer Plasma-Kortisol-Werte in der letztgenannten

Gruppe konnte hier kein Zusammenhang mit einer veränderten Antikörper-Produktion gezeigt werden.

Genetische Einflüsse hinsichtlich der Immunität untersuchte HERRMANN (1984). Er fand bei Schweinen signifikante Rassenunterschiede - die IgG-Serumkonzentrationen und ein unterschiedliches Antikörper-Bildungsvermögen gegen Tetanustoxoide betreffend. Dabei entwickelten die Kreuzungstiere gegenüber den reinrassigen Tieren deutlich höhere Titer.

INOUE *et al.* (1980, 1981) untersuchten Immunglobulin-Konzentrationen bezogen auf verschiedene Standorte und Haltungsformen. Für IgG erwies sich der Einfluss der Hal- tungsform als ausschlaggebend. In Ställen mit reiner Ferkelaufzucht wurden niedrigere IgM- und IgG-Werte gemessen als in Aufzuchtställen mit gleichzeitiger Besetzung von Ferkeln und Masttieren. Die gemessenen IgA-Konzentrationen widerspiegelten dagegen umgekehrte Verhältnisse. Die Autoren betrachteten gleichzeitig den Zusammenhang mit der Anzahl aufgestallter Tiere und stellten wider Erwarten fest, dass Bestände mit geringe- rer Tierzahl höhere Konzentrationen von IgG aufwiesen.