

IV. Ergebnisse

1. Ergebnisse aus Versuch 1

Untersuchungen zum Einfluss von *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 auf den Immunstatus von tragenden und laktierenden Sauen und deren Ferkeln

1.1. Sauenergebnisse

1.1.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Sauen (*E. faecium* NCIMB 10415)

Die Auswertung der Faeces-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Die am 91. Tag vor der Geburt gemessenen Werte dienten als Ausgangswerte, um die Gruppen miteinander vergleichen zu können. Obwohl die Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich höhere Messwerte als die Probiotikagruppe zeigte (siehe Abbildung 22 (A)), waren diese Unterschiede jedoch nicht signifikant. Ab dem 90. Tag *a. p.* wurden die Sauen mit *E. faecium* supplementiert. Nachdem in beiden Gruppen ein Abfall der Messwerte am 30. Tag vor der Geburt zu verzeichnen war, stiegen diese bis einschließlich des 14. Tages *p. p.* bei der Kontrollgruppe und bis zum 3. Tag *a. p.* bei der Probiotikagruppe wieder an. Anschließend fielen die Messwerte in beiden Gruppen wieder etwas ab. Zu keinem der Messzeitpunkte wurden signifikante Unterschiede ermittelt.

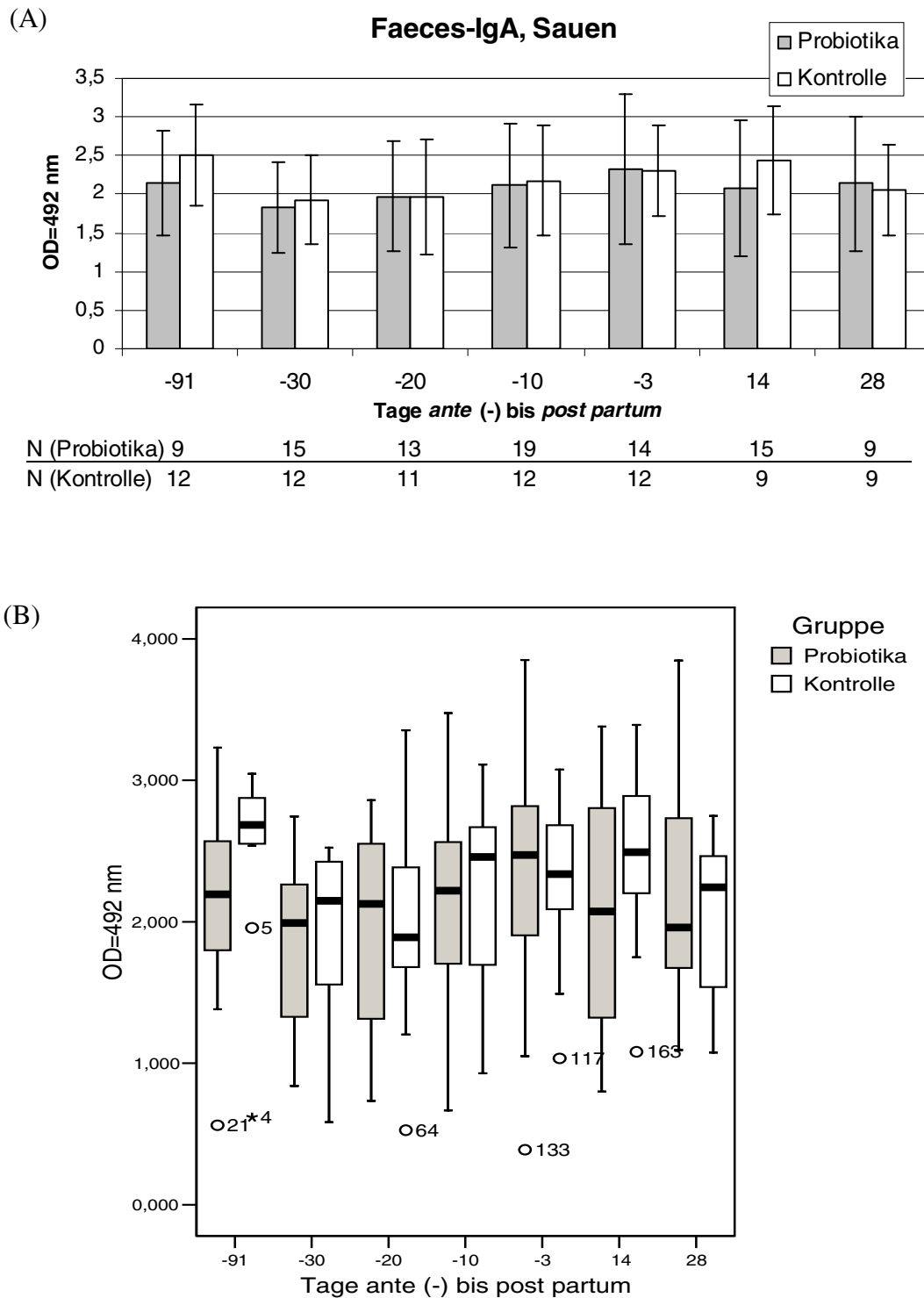


Abb. 22: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in den Sauen-Faeces, Versuch 1 (*E. faecium* NCIMB 10415)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 91. Tag vor der Geburt bis zum 28. Tag nach der Geburt (=Absetzzeitpunkt). Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

1.1.2. Gesamt-IgA in der Molke der Sauen (*E. faecium* NCIMB 10415)

Die Auswertung der Molke-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{17} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Die Messungen erfolgten viermalig, beginnend vom Tag der Geburt und endend am Tag 14 *p. p.*. Die Kolostrumproben wurden in einem Abstand von bis zu 12 Stunden nach der Geburt entnommen. Bedingt durch eine unzureichende Gemelkmenge bzw. einer ungenügenden Menge zur Molke-Extraktion (siehe Kap. III, Punkt 3.4.2.), konnten insgesamt nur 25 Proben untersucht werden. Zu keinem Messzeitpunkt wurden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gemessen.

In Abbildung 22 (A) und (B) sind die Messwerte dargestellt.

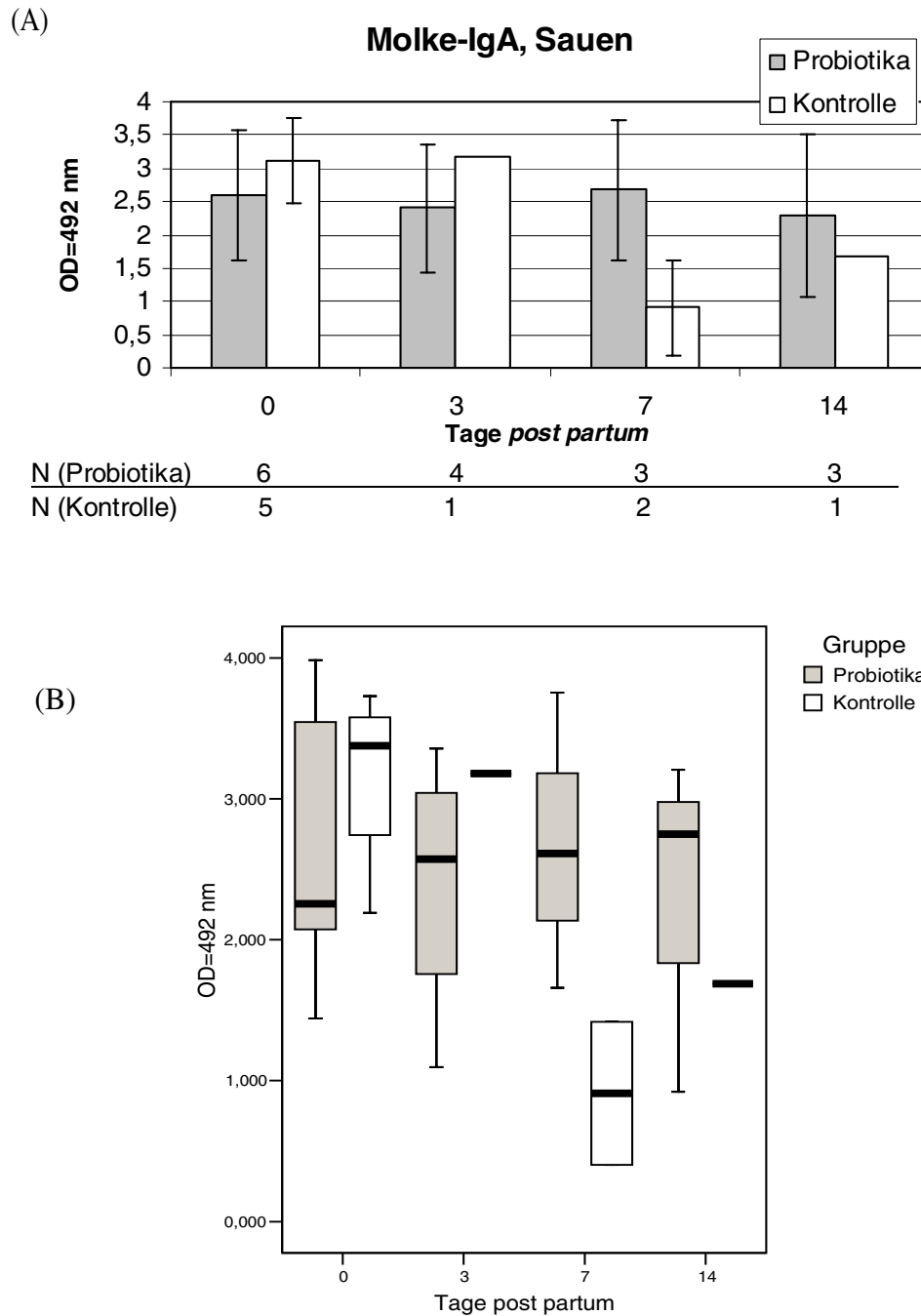


Abb. 23: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in der Sauen-Molke, Versuch 1 (*E. faecium* NCIMB 10415)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{17} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom Tag der Geburt bis zum 14. Tag nach der Geburt. Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt.

1.1.3. Gesamt-IgG im Serum der Sauen (*E. faecium* NCIMB 10415)

Die Auswertung der Serum-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Bei der Betrachtung der Mittelwerte fiel auf, dass die Basalwerte der Probiotikagruppe im Gegensatz zum IgA in den Faeces und in der Molke der Sauen (siehe Punkt 1.1.1.) bei der Probiotika-Gruppe etwas über denen der Kontrolltiere lagen. Diese Ausgangswerte waren jedoch nicht signifikant. Bis kurz vor der Geburt fielen in beiden Gruppen die Messwerte ab. Am 14. Tag *p. p.* war ein leichter Anstieg in beiden Gruppen zu verzeichnen, der jedoch am 28. Tag *p. p.* nicht mehr bestand. Die Ausgangswerte wurden etwa am 14. Tag nach der Geburt wieder erreicht. Zu den jeweiligen Messzeitpunkten konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen ermittelt werden.

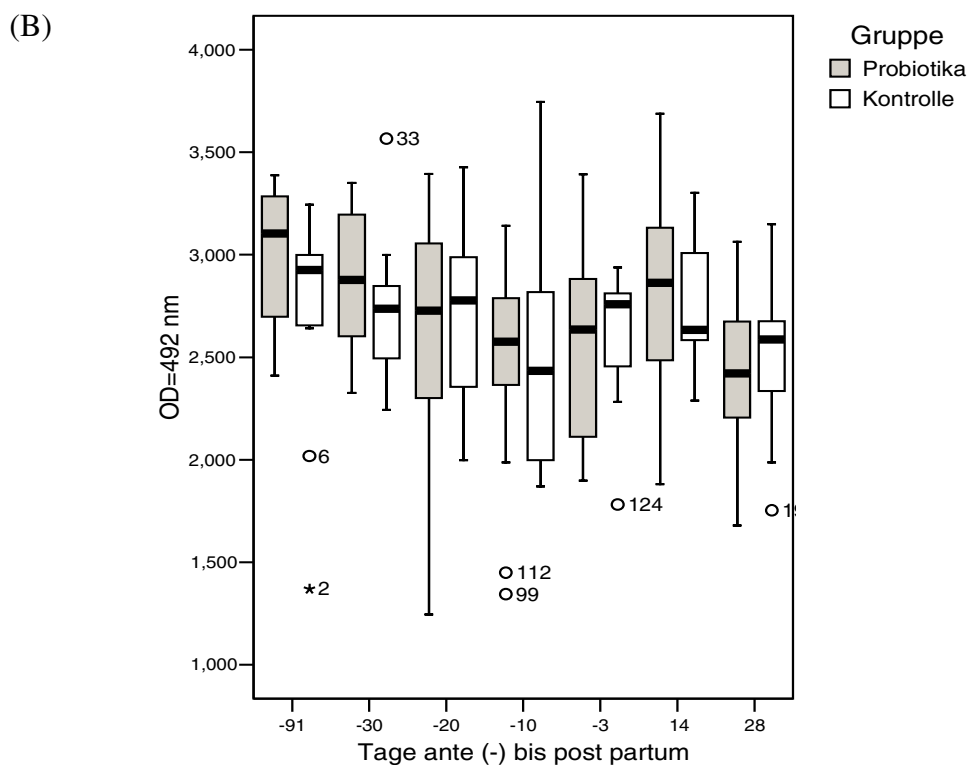
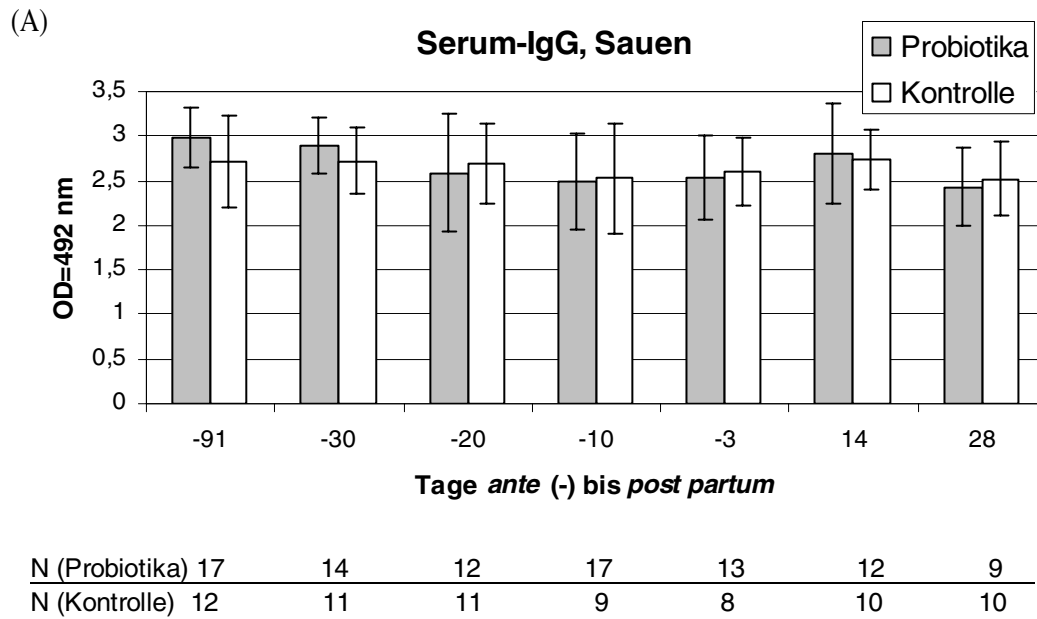


Abb. 24: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgG im Sauen-Serum, Versuch 1 (*E. faecium* NCIMB 10415)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 91. Tag vor der Geburt bis zum 28. Tag nach der Geburt (=Absetzzeitpunkt). Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

1.2. Ferkelergebnisse

1.2.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Ferkel (*E. faecium* NCIMB 10415)

Die Auswertung der Faeces-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Die höchsten Messwerte wurden in der Probiotikagruppe am 7. LT ermittelt, bei den Kontrolltieren dagegen am 14. LT. Die Probiotikagruppe wies gegenüber der Kontrolle am 7. LT signifikant höhere Messwerte auf ($p \leq 0,05$). Nachfolgend sanken die Messwerte bei den Probiotikatiern bis zum 35. LT, bei den Kontrolltieren dagegen bis zum 49. LT, d.h. eine Woche nach dem Absetzen waren bei der Probiotikagruppe Tiefstwerte, drei Wochen nach dem Absetzen bei den Kontrolltieren die niedrigsten Messwerte zu verzeichnen. Am 14. LT wurde begonnen, beiden Gruppen Beifutter *ad libitum* anzubieten. Die Fütterung der Probiotikagruppe erfolgte unter Zusatz von *E. faecium*. Ab dem 28. LT erhielt die Probiotikagruppe mit *E. faecium* supplementiertes Ferkelaufzuchtfutter, die Kontrollgruppe das gleiche Futter ohne Supplementierung. Abgesetzt wurden alle Tiere am 28. LT. Dies ist durch einen roten Pfeil in Abb. 25 (A) hervorgehoben. Am 35. LT wurden in der Probiotikagruppe signifikant niedrigere Messwerte gemessen als in der Kontrolle ($p \leq 0,05$). Anschließend erhöhten sich die mittleren Konzentrationen wieder, die Ausgangswerte vom 7. LT wurden auch am 56. LT in beiden Gruppen nicht erreicht. Im Vergleich der Messwerte innerhalb der jeweiligen Gruppe über die Zeit wies die Kontrollgruppe am 56. LT signifikant höhere Messwerte auf als am 49. LT ($p \leq 0,05$)

Alle Signifikanzen wurden unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Testes ermittelt.

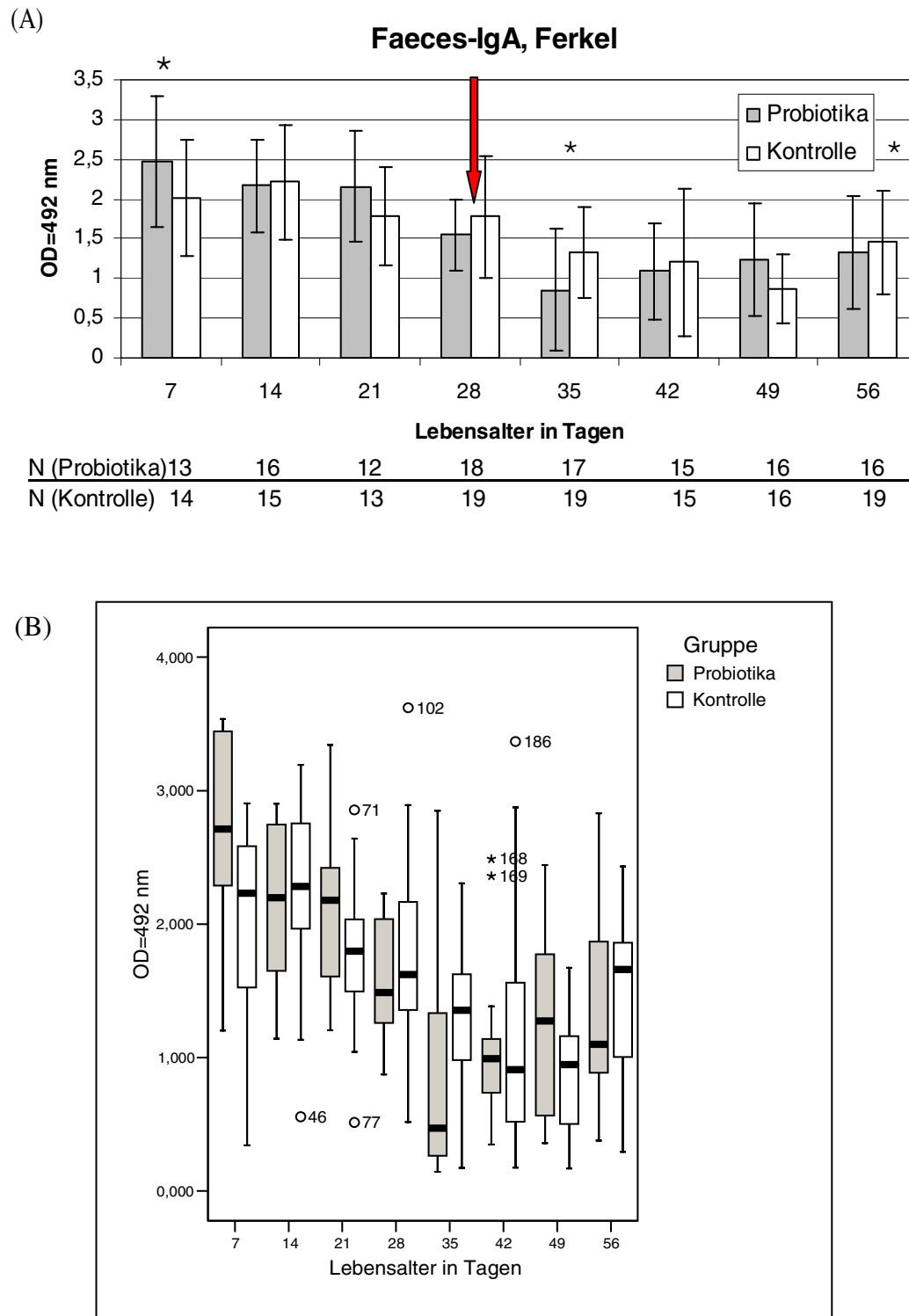


Abb. 25: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in den Ferkel-Faeces, Versuch 1 (*E. faecium* NCIMB 10415)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 7. LT bis zum 56. LT. Durch einen roten Pfeil wurde der Absetzzeitpunkt gesondert markiert. Unter der Grafik sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben. * = $p \leq 0,05$
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

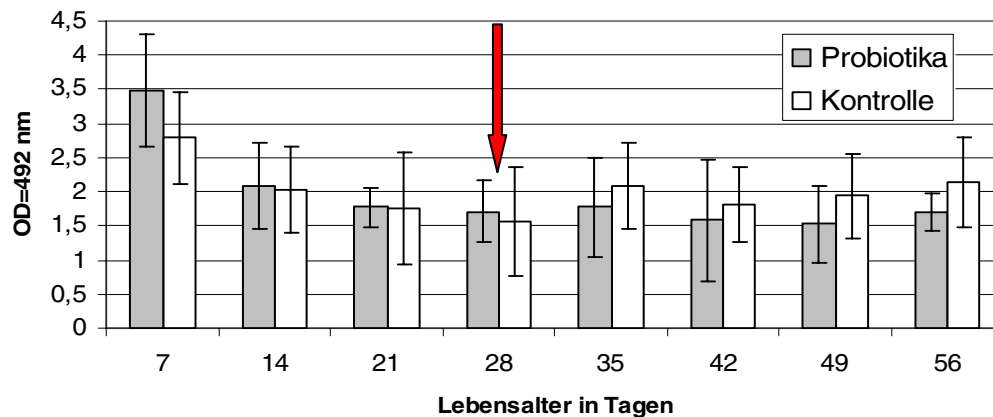
1.1.2. Gesamt-IgG im Serum der Ferkel (*E. faecium* NCIMB 10415)

Die Auswertung der Serum-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Die Probiotikatiere verfügten am 7. LT wie auch bei dem sekretorischen Gesamt-IgA in den Faeces insgesamt über höhere Antikörper-Messwerte. Dennoch wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu diesem Zeitpunkt gemessen. Durch die Grafik wird ersichtlich, dass die Immunglobulin-Titer bis etwa zum Absetzzeitpunkt in beiden Gruppen sanken. Bei der Probiotikagruppe war im folgenden Verlauf nur eine unwesentliche Steigerung des Gesamt-IgG zu erkennen, während die Kontrollgruppe nach dem Absetzen über durchschnittlich höhere Immunglobulinmengen als noch zum Absetzzeitpunkt verfügte. Das Ausgangsniveau (der passiven Immunisierung) wurde auch am 56. LT (Eigensynthese) in beiden Gruppen nicht annähernd erreicht. Zu keinem der Messzeitpunkte wurden Signifikanzen zwischen den Gruppen ermittelt, auch nicht zwischen den einzelnen Messzeitpunkten.

(A)

Serum-IgG, Ferkel



(B)

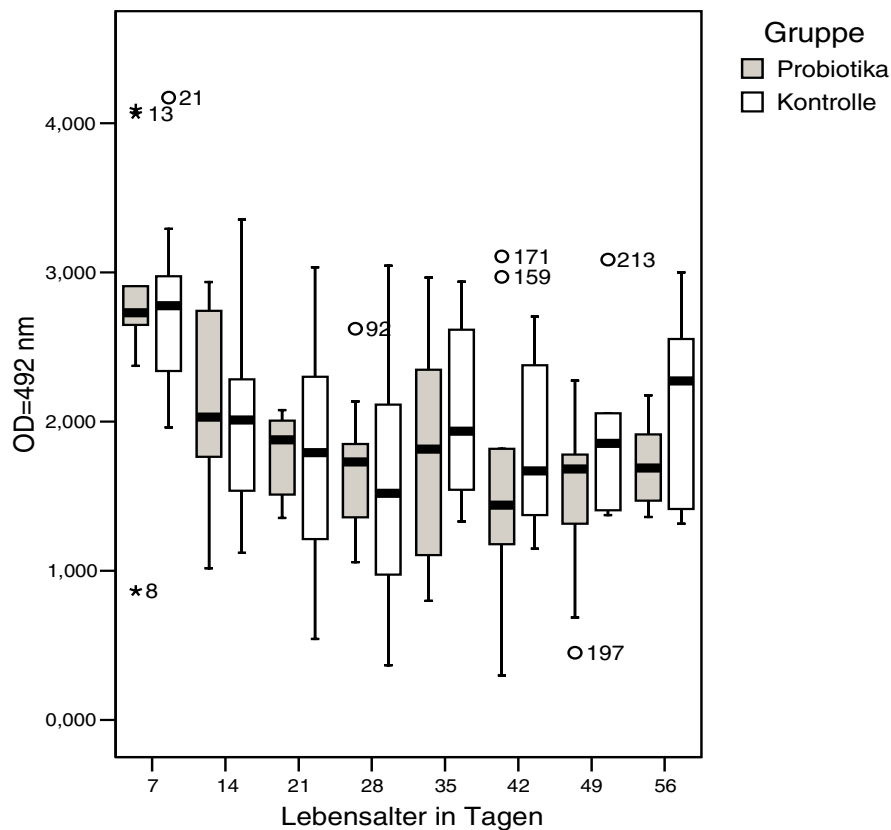


Abb. 26: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgG im Ferkel-Serum, Versuch 1 (*E. faecium* NCIMB 10415)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 7. LT bis zum 56. LT. Durch einen roten Pfeil wurde der Absetzzeitpunkt gesondert markiert. Unter der Grafik sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

2. Ergebnisse aus Versuch 2

Untersuchungen zum Einfluss von *B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112 auf den Immunstatus von tragenden und laktierenden Sauen und deren Ferkeln

2.1. Sauenergebnisse

2.1.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Sauen (*B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112)

Die Auswertung der Faeces-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Am 91. Tag *a. p.* wurden erstmals Faeces-Proben untersucht. Die Messwerte dienten wie in Versuch 1 als Ausgangswerte. Ab dem 90. Tag *a. p.* wurde die probiotische Gruppe mit *B. cereus* var. Toyoi bei ansonsten gleichem Futter wie die Kontrolle supplementiert. Bei der Betrachtung der Abbildung 27 (A) fällt eine Zunahme der Immunglobulin-Titer in der Probiotikagruppe bis zum 14. Tag *p. p.* auf, die am 28. Tag *p. p.* etwa die gleichen durchschnittlichen Messwerte wie vom 14. Tag *p. p.* zeigt. Im Gegensatz dazu sind die arithmetischen Mittelwerte der Kontrollgruppe über den gesamten Messzeitraum auf einem ähnlich hohen Messniveau.

Abbildung (B) zeigt ebenso bei der Probiotikagruppe durch die Darstellung der Medianwerte eine stetige Zunahme bis zum 28. Tag *p. p.*. Die Kontrollgruppe zeigt hier ein inhomogenes Bild ohne wesentliche Veränderungen der Messwerte. Bei der statistischen Auswertung mittels des Mann-Whitney-U-Testes wies die Probiotikagruppe am 14. Tag *p. p.* signifikant höhere Gesamt-IgA-Titer im Vergleich zur Kontrollgruppe auf ($p \leq 0,05$).

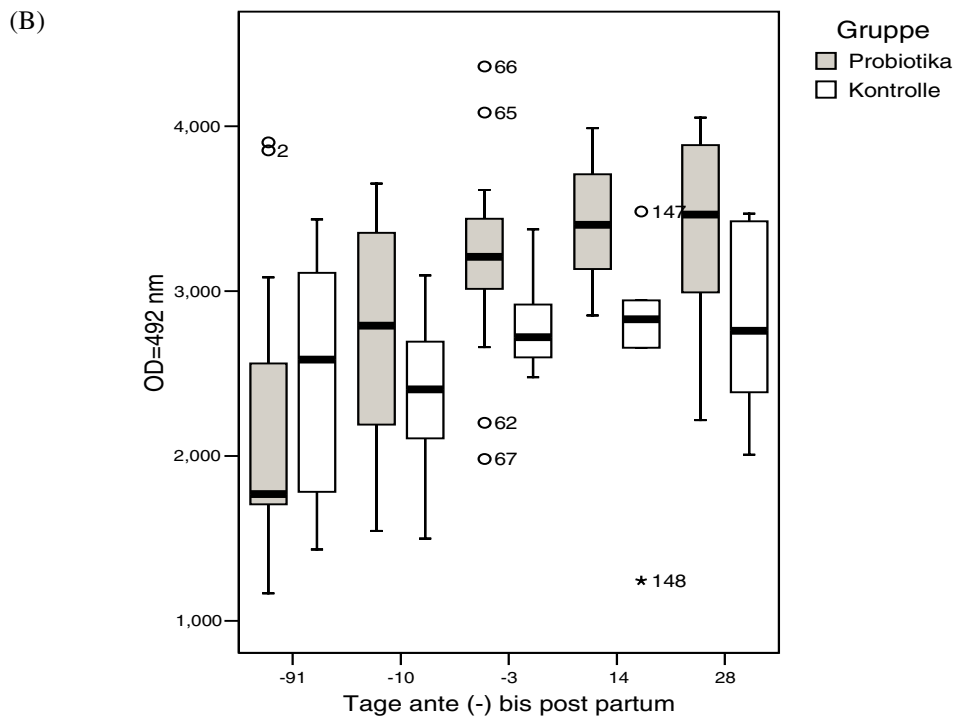
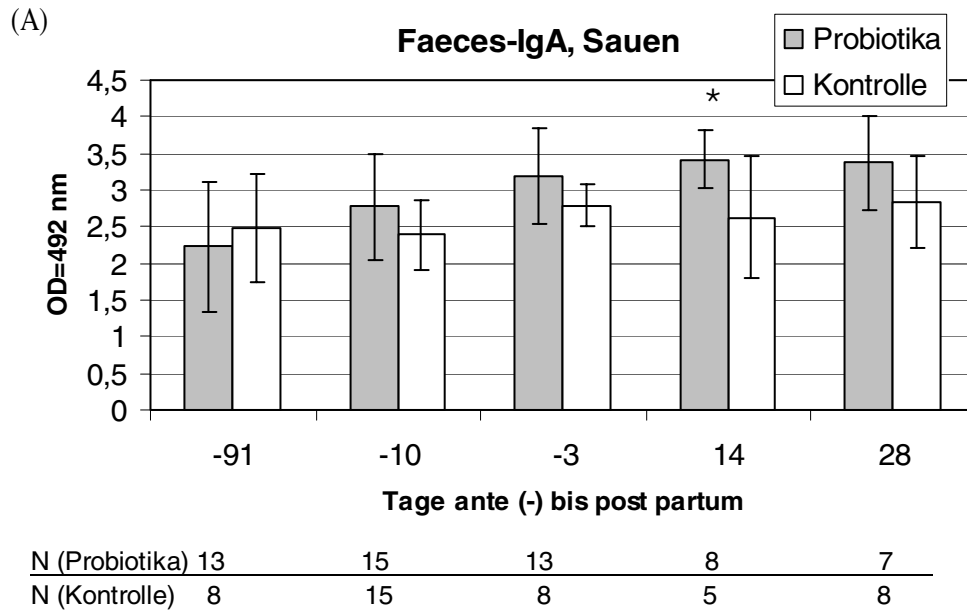


Abb. 27: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in den Sauen-Faeces, Versuch 2 (*B. cereus* var. *Toyoi*)

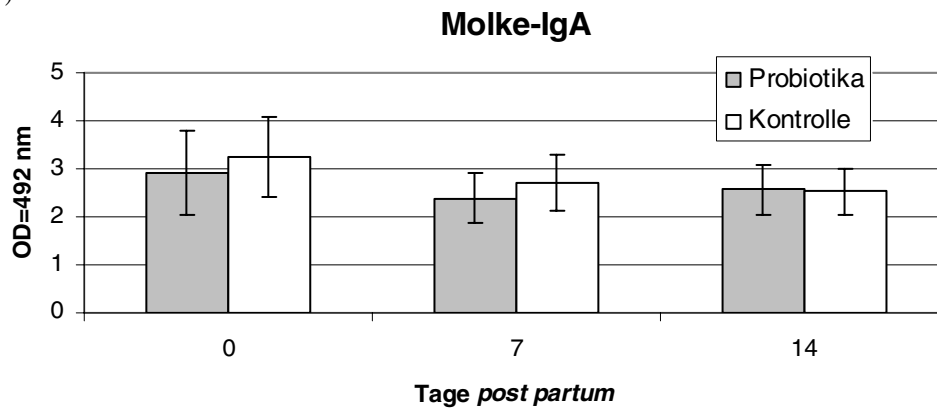
- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 91. Tag vor bis zum 28. Tag nach der Geburt. Unter der Grafik sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben. * = $p \leq 0,05$
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

2.1.2. Gesamt-IgA in der Molke der Sauen (*B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112)

Die Auswertung der Molke-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{17} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Durch die Verabreichung von 2 ml Oxytocin 10 Minuten vor der Probenentnahme (siehe Kap. III, Punkt 4.4.1.) konnten im Versuch 2 insgesamt 64 Proben aufbereitet und ausgewertet werden von 3 verschiedenen Entnahmezeitpunkten. Das Kolostrum wurde innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Geburt gewonnen. Abbildung 28 zeigt die höchsten Titer beider Gruppen am Tag 0 *p. p.*. Die Kontrollgruppe wies zu allen Messzeitpunkten unwesentlich höhere Messwerte auf als die Probiotikagruppe. Es wurden keine statistischen Signifikanzen zwischen den Gruppen und zwischen den Messzeitpunkten ermittelt.

(A)



N (Probiotika)	13	10	9
N (Kontrolle)	12	10	10

(B)

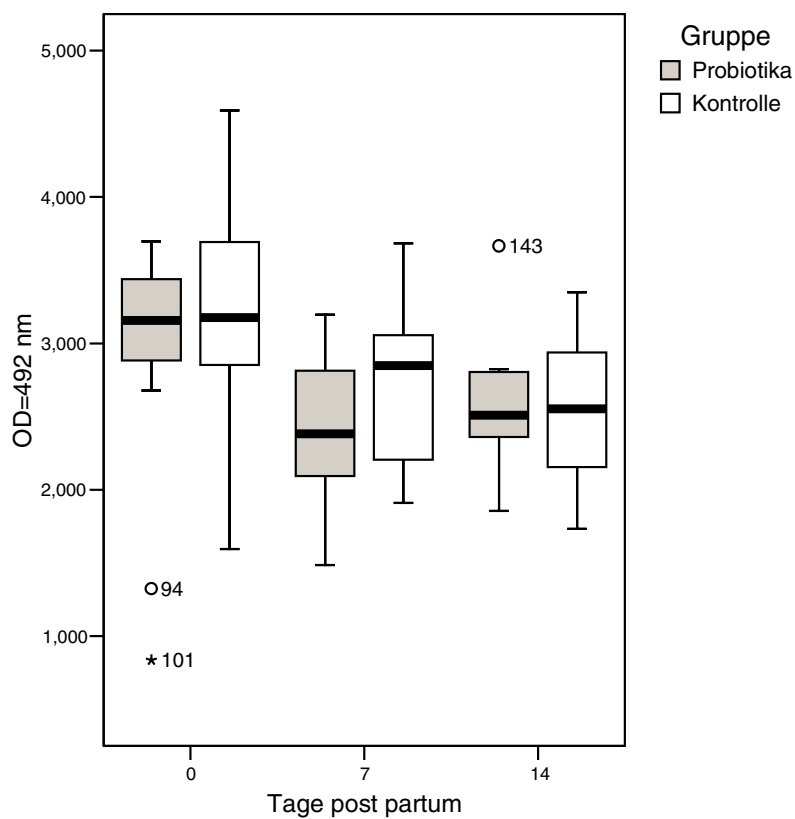


Abb. 28: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in der Sauen-Molke, Versuch 2 (*B. cereus* var. *Toyoi*)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{17} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom Tag der Geburt bis zum 14. Tag nach der Geburt. Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

2.1.3. Gesamt-IgG im Serum der Sauen (*B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112)

Die Auswertung der Serum-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Die Gruppen zeigten über den gesamten Messzeitraum ähnliche Messwerte. Das Ausgangsniveau der quantitativen Gesamt-IgG-Mengen im Serum unterschied sich zwischen den Gruppen nur unwesentlich (siehe Abbildung 29). Auch gab es keine wesentlichen Unterschiede zu den nachfolgenden Messzeitpunkten. Lediglich am 3. Tag vor der Geburt wies die Probiotikagruppe erniedrigte Immunglobulin-Titer auf. Zu keinem der unten abgebildeten Messzeitpunkte unterschieden sich die Gruppen signifikant voneinander.

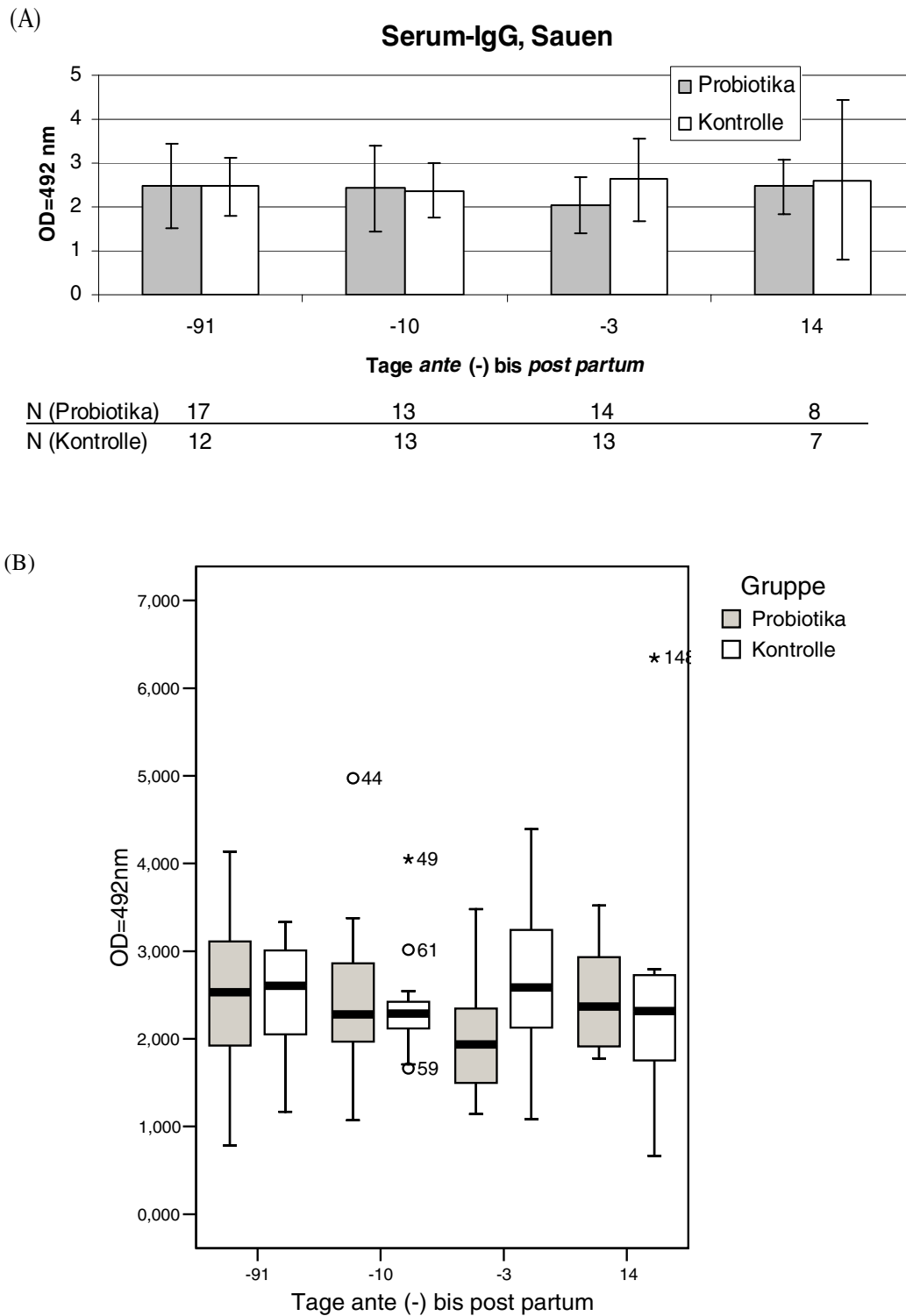


Abb. 29: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgG im Sauen-Serum, Versuch 2 (*B. cereus* var. *Toyoi*)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 91. Tag vor der Geburt bis zum 14. Tag nach der Geburt. Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben.
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

2.2. Ferkelergebnisse

2.2.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Ferkel (*B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112)

Die Auswertung der Faeces-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Bei der Betrachtung der arithmetischen Mittelwerte (Abbildung 30 A) fiel im Gegensatz zu Versuch 1 (*E. faecium*) auf, dass die Ferkel beider Gruppen vergleichbare Messwerte am 7. LT aufwiesen. Bei der Kontrollgruppe sanken die Immunglobulin-Titer bis zum 28. LT (Absetzzeitpunkt = roter Pfeil). Nachfolgend erhöhten sich die durchschnittlichen Messwerte beider Gruppen langsam, aber unwesentlich. Die Probiotikagruppe, bei der ab dem 14. LT das ansonsten gleiche Futter (wie die Kontrolle) mit *B. cereus* var. Toyoi supplementiert wurde, wies bis zum 28. LT wenig ansteigende Antikörper-Titer auf, bevor diese dann abrupt sanken und ab dem 35. LT knapp unter den Messwerten der Kontrollgruppe lagen. Am 28. LT wurden mittels Mann-Whitney-U-Test bei der Probiotikagruppe hoch signifikant höhere Messwerte ermittelt im Vergleich zur Kontrolle ($p \leq 0,01$). Innerhalb der Probiotikagruppe waren die Messwerte ebenfalls am 28. LT signifikant höher als am 35. LT ($p \leq 0,05$). Zu den anderen Messzeitpunkten wurden zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen keine signifikanten Unterschiede ermittelt.

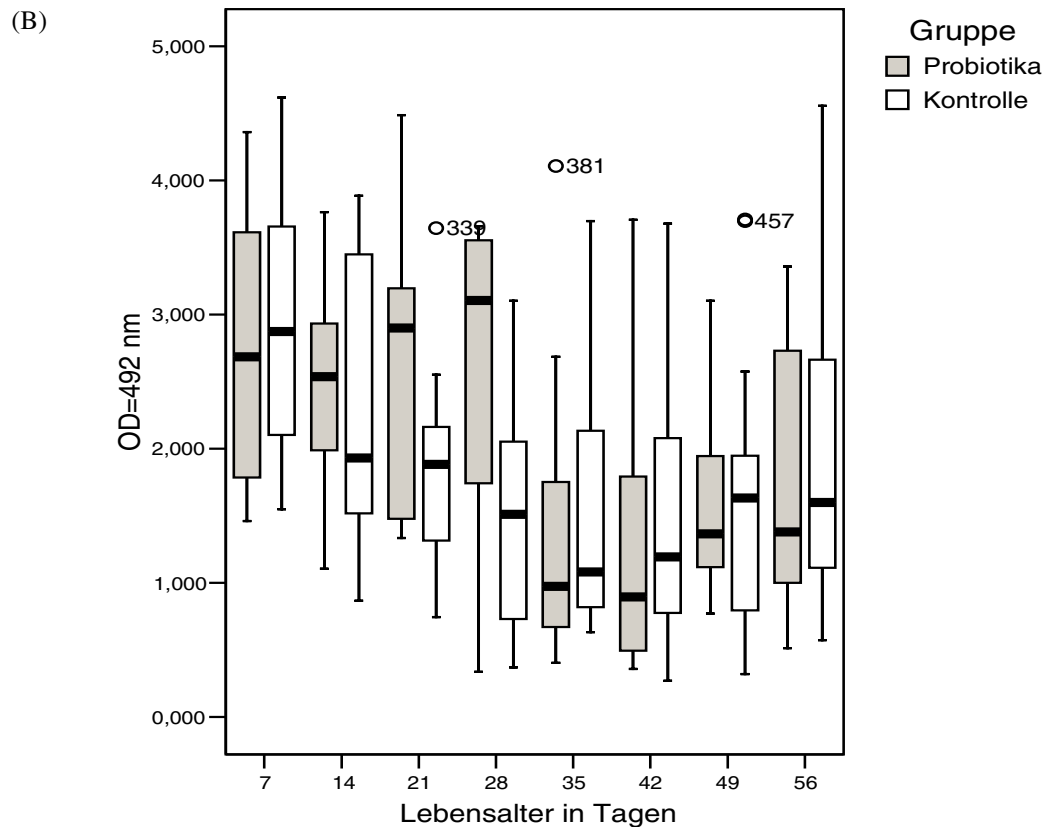
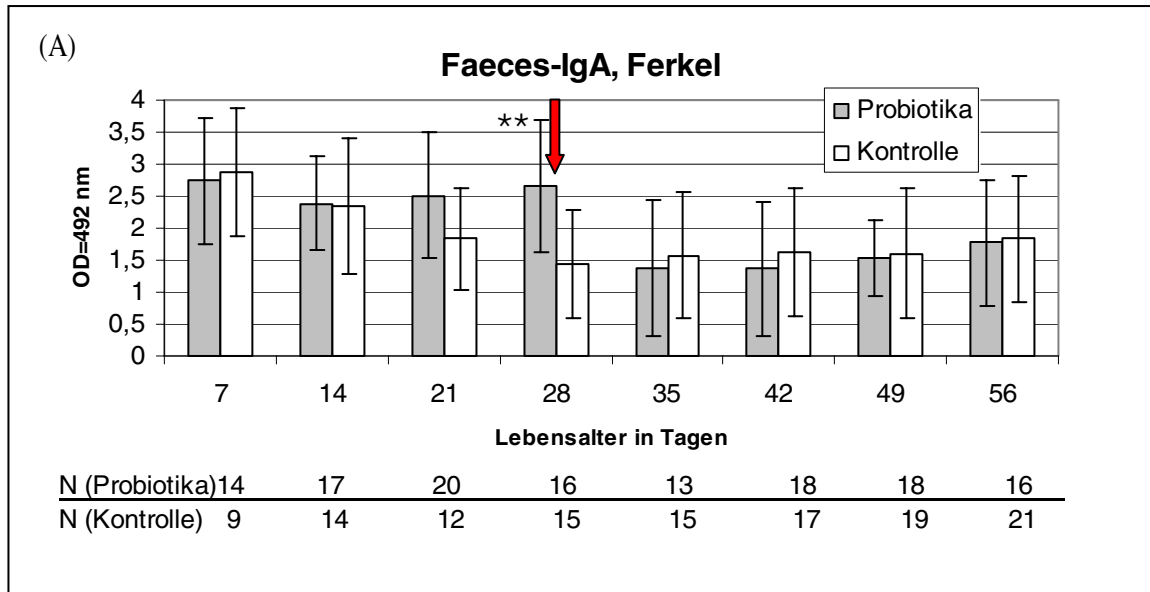


Abb. 30: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgA in den Ferkel-Faeces, Versuch 2 (*B. cereus* var. *Toyoi*)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^8 und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 7. LT bis zum 56. LT. Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben. Durch einen roten Pfeil wurde der Absetzzeitpunkt gesondert markiert. $** = p \leq 0,01$
- (B): Dargestellt sind Boxplots der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

2.2.2. Gesamt-IgG im Serum der Ferkel (*B. cereus* var. Toyoi NCIMB 40112)

Die Auswertung der Serum-Proben erfolgte nach photometrischer Messung im ELISA-Reader bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm.

Am 7. LT wiesen beide Gruppen die höchsten Messwerte auf, wobei die der Probiotikagruppe unwesentlich höher waren. Nachfolgend sanken die Antikörper-Titer und erreichten das niedrigste Niveau am 35. LT in beiden Gruppen. Zum Absetzzeitpunkt (roter Pfeil) waren die Immunglobulin-Titer der Probiotikagruppe gemessen im Vergleich zur Kontrollgruppe höher, jedoch ohne statistische Relevanz. Nach dem Absetzen stiegen die Gesamt-IgG-Titer in beiden Gruppen an, die Probiotikagruppe zeigte jedoch zu allen weiteren Messzeitpunkten durchschnittliche Messwerte unter denen der Kontrollgruppe. Am 56. LT wies die Kontrollgruppe signifikant höhere Messwerte auf als die Probiotikagruppe ($p \leq 0,05$). Die hohen Ausgangswerte vom 7. LT, die einhergehen mit der passiven Immunisierung über das Kolostrum, wurden im gesamten Messzeitraum von beiden Gruppen auch am Ende der Messperiode (56. LT) nicht erreicht.

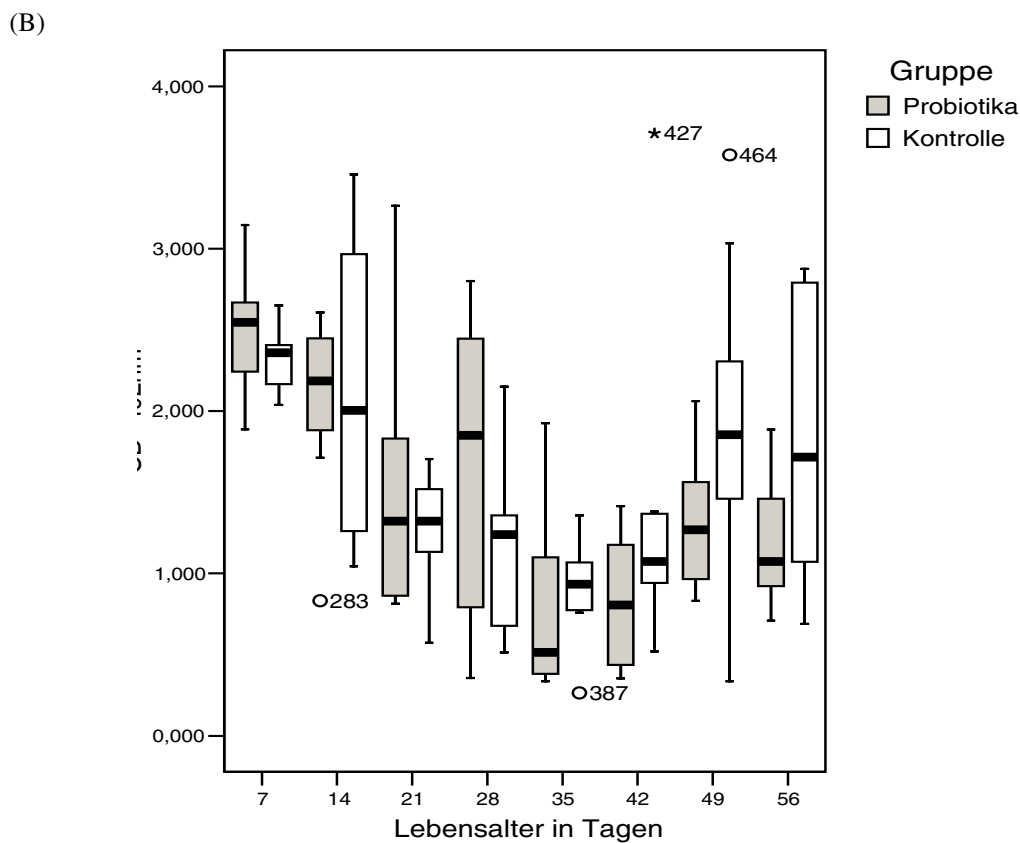
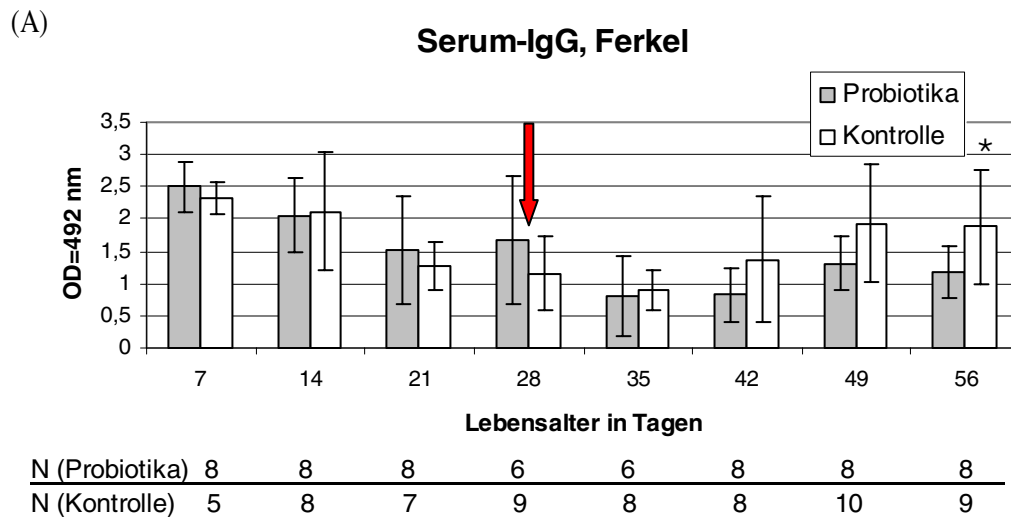


Abb. 31: Zeitliche Entwicklung des Gesamt-IgG im Ferkel-Serum, Versuch 2 (*B. cereus* var. *Toyoi*)

- (A): Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen, gemessen bei einer Verdünnung von 2^{19} und einer Optischen Dichte von 492 nm; und vom 7. LT bis zum 56. LT. Darunter sind die Probenanzahl je Gruppe und Messzeitpunkt angegeben. Durch einen roten Pfeil wurde der Absetzzeitpunkt gesondert markiert. * = $p \leq 0,05$
- (B): Dargestellt sind Boxplots mit Medianwerten, Spannweiten und Quartilsabständen der Messwerte aus Abb. (A). Ein Boxplot umfasst die Gesamtheit aller Probiotika- oder Kontrolltiere pro Messzeitpunkt. Unter oder über den Boxplots sind Ausreißertiere mit ihren laufenden Nummern angegeben.

3. Ergebnisse aus Versuch 3

Untersuchungen zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen die Shiga-Toxin-Variante 2e (Stx2e) bei *E. coli* (STEC) der Serogruppen O138:K81 und O141:K85ac im Serum ausgewählter Tiere

Ausgewählte Serumproben aus Versuch 1 (Supplementierung mit *E. faecium*) wurden für diesen Versuch getestet. Nur Proben von solchen Tieren wurden verwendet, bei denen in parallelen Versuchen die für die Ödemkrankheit der Schweine verursachende Shigatoxin-Toxin-Variante 2e (Stx2e) von *E. coli* (STEC) der Serogruppen O138:K81 und O141:K85ac gefunden wurde. 14 Ferkel und 1 Sau wurden zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht.

Der durchgeführte spezifische ELISA wurde in der Justus-Liebig-Universität Gießen entwickelt und dort auch durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden in ELISA-Einheiten (Absorption bei 405 nm x 1000) angegeben. Die Werte ergaben sich aus dem arithmetischen Mittel des Dreifachansatzes abzüglich der unspezifischen Bindung. Die Bewertungsgrenzen für die Einteilung in „negativ“, „fraglich“, „1+“ und „2+“ wurden als der doppelte Mittelwert der Negativkontrollen zuzüglich der 3-, 6-, 12- und 24-fachen Standardabweichung festgelegt.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 32 (A) und (B) für die Ferkel und (C) für die Sau dargestellt. Die Kontrolltiere wurden in der Grafik mit „Kontr.“, die Probiotikatiere mit „Prob.“ und ihren laufenden Nummern angegeben. Bis auf ein Tier waren alle getesteten Ferkel nach dem Absetzen am 28. LT seronegativ. Ein Ferkel aus der Kontrollgruppe erwies sich als seropositiv (Kontrolle 3), siehe Abbildung 32 (B). Das Tier wurde am 42. LT mit „1+“ und am 49. und 56. LT mit „2+“ eingestuft. Zu keinem Zeitpunkt der Messungen zeigte dieses Tier eine typische Klinik für die Ödemkrankheit. Von den 10 Kontrolltieren und 4 probiotisch supplementierten Ferkeln zeigten 5 Kontrolltiere und 1 Probiotikatiere insbesondere an den LT 7, 14 und 21 fragliche Titer, die mit einer passiven Übertragung spezifischer Antikörper über das Kolostrum in Zusammenhang gebracht werden könnten, da diese Tiere nachfolgend (beginnend mit der Eigensynthese von Antikörpern) niedrigere oder gar keine Titer zeigten. Auch bei der getesteten Sau wurden im Serum spezifische Antikörper gefunden. Der Titerverlauf bei diesem Tier zeigte zu allen Messzeitpunkten Antikörpergehalte, die mit „fraglich“ oder „1+“ bewertet wurden. In Abbildung 32 (C) ist der Verlauf des getesteten Sauen-Serum in Titer - % dargestellt.

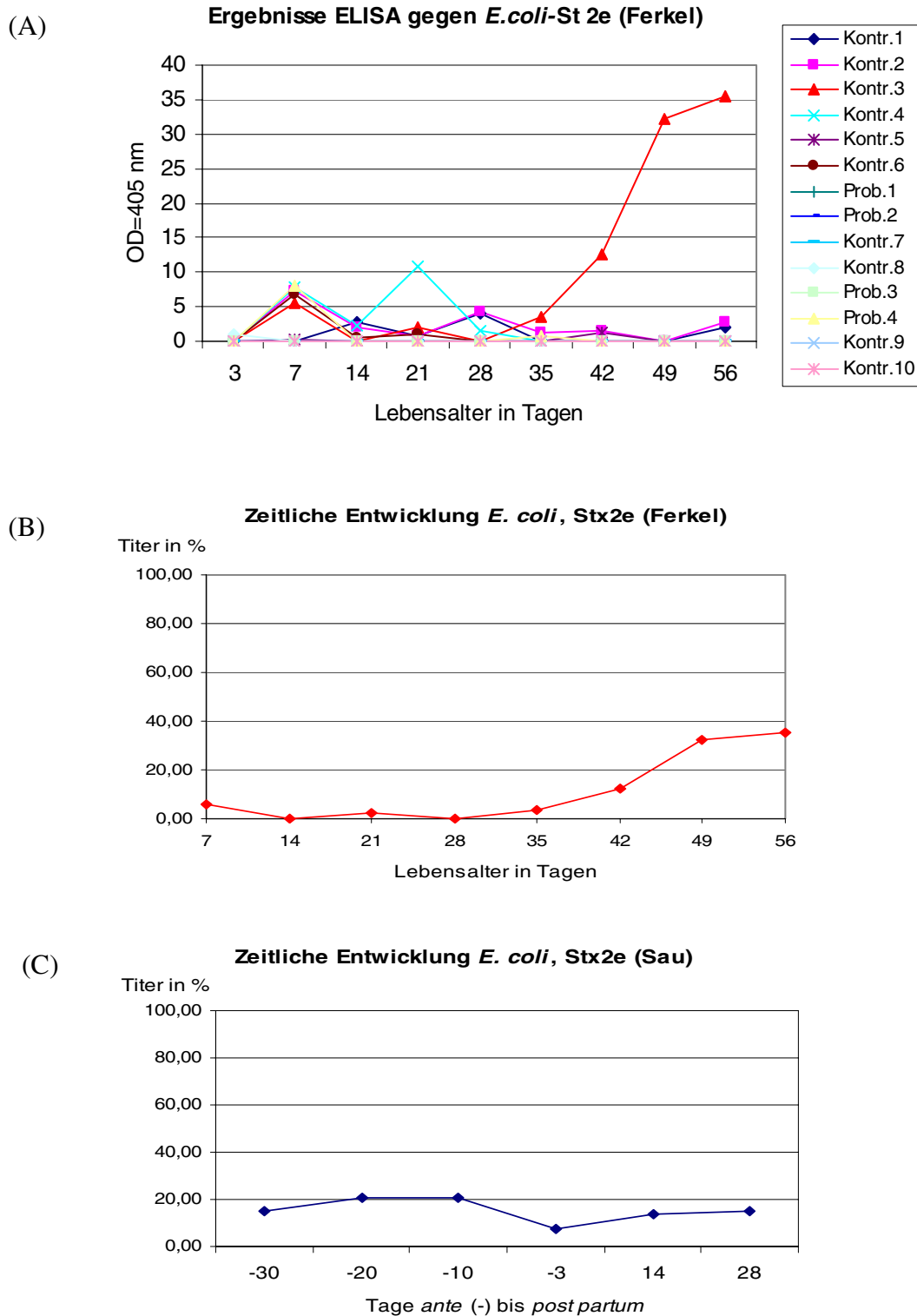


Abb. 32: Zeitliche Entwicklung des Titerverlaufes spezifischer Antikörper im Serum ausgewählter Tiere gegen die Shiga-Toxin-Variante 2e (Stx2e) bei *E. coli* (STEC) der Serogruppen O138:K81 und O141:K85ac

- (A) Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte der Ferkelergebnisse. Die Tiere der Probiotikagruppe sind mit Prob., die der Kontrolle mit Kontr.; und die laufenden Tiernummern vermerkt.
- (B) Spezifischer Antitoxingehalt gegen Shigatoxin 2e im Serum des Ferkels Kontr. 3 aus Abb. (A)
- (C) Spezifischer Antitoxingehalt gegen Shigatoxin 2e im Serum der Sau.

4. Weitergehende statistische Auswertung der Versuche 1 und 2

4.1. Übersicht der bisherigen Ergebnisse

(A) Sauen <i>E. faecium</i>	Tage ante partum (-) bis post partum									
	-91	-30	-20	-10	-3	0	3	7	14	28
Gesamt-IgA Faeces	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	–	–	–	n.s.	n.s.
Gesamt-IgA Molke	–	–	–	–	–	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	–
Gesamt-IgG Serum	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	–	–	–	n.s.	n.s.

(B) Ferkel <i>E. faecium</i>	Lebenstag							
	7	14	21	28	35	42	49	56
Gesamt-IgA Faeces	0,04* P > K	n.s.	n.s.	n.s.	0,03* P < K	n.s.	n.s.	n.s.
Gesamt-IgG Serum	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

(C) Sauen <i>B. cereus</i>	Tage ante partum (-) bis post partum							
	-91	-20	-10	-3	0	7	14	28
Gesamt-IgA Faeces	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	–	–	0,04* P > K	n.s.
Gesamt-IgA Molke	–	–	–	–	n.s.	n.s.	n.s.	–
Gesamt-IgG Serum	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	–	–	n.s.	n.s.

(D) Ferkel <i>B. cereus</i>	Lebenstag							
	7	14	21	28	35	42	49	56
Gesamt-IgA Faeces	n.s.	n.s.	n.s.	0,004** P > K	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Gesamt-IgG Serum	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,03* P < K

Tab. 16: Übersicht der Ergebnisse aus den Versuchen 1 und 2 nach dem Mann-Whitney-Test (U-Test) im Vergleich: Probiotikagruppe (P) - Kontrollgruppe (K)

(A) und (B) Irrtumswahrscheinlichkeit p aus Versuch 1 (*E. faecium*) im Vergleich Probiotikagruppe - Kontrollgruppe zum angegebenen Messzeitpunkt; (A) – Sauenergebnisse; (B) - Ferkelergebnisse

(C) und (D) Irrtumswahrscheinlichkeit p aus Versuch 2 (*B. cereus* var. Toyoi) im Vergleich Probiotikagruppe - Kontrollgruppe zum angegebenen Messzeitpunkt; (C) – Sauenergebnisse; (D) - Ferkelergebnisse

* = $p \leq 0,05$ (signifikant); ** = $p \leq 0,01$ (sehr signifikant)

4.2. Varianzanalyse der Versuche 1 und 2 (ANOVA, F-Test)

Alle Ergebnisse aus den Versuchen 1 und 2 wurden nachfolgend einer ANOVA (*analysis of variance*) unterzogen. Mittels dieser (es sind mehrere Variablen gleichzeitig untersucht worden: Zeit und Fütterung) univariaten Varianzanalyse wurde untersucht, ob die Messwerte einer abhängigen Variable durch eine oder mehrere unabhängige Faktoren (i. d. R. Zeit und Fütterung) erklärbar sind. Die Voraussetzungen für die Anwendung dieses Verfahrens, die Varianzhomogenität und die Normalverteilung der Residuen, wurde bei allen erstellten Modellen geprüft.

Da der innerhalb der ANOVA angewandte F-Test nur eine Aussage macht, welcher Faktor einen signifikanten Beitrag zur Erklärung der abhängigen Variable leistet, aber nicht testet, welche der einzelnen Faktorstufen sich am deutlichsten von den anderen unterscheidet, wurden so genannte Post-hoc-Tests durchgeführt, anhand derer man diese Aussage treffen kann.

Nachfolgend wurde vor allem auf statistisch signifikante Ergebnisse eingegangen.

4.2.1. Sauenergebnisse

4.2.1.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Sauen

Abbildung 33 zeigt die Darstellung der Gesamtmittelwerte und der 2 * Standardabweichungen des Gesamt-IgA in den Sauen-Faeces aus beiden Versuchen. Es wurden zunächst alle 281 Tierproben Gesamt-IgA in den Faeces der Sauen aus beiden Versuchen einander gegenübergestellt. Als Einflussfaktoren wurden gewählt: „Probio“ (Probiotika und Kontrolle), „Durchgang“ (Versuchsdurchgang 1 oder 2) sowie „Zeit“ (-91 Tage *a. p.*, -30 Tage *a. p.*, ... usw.). Es wurde ein signifikanter Einfluss der Faktoren „Probio“ ($p \leq 0,05$), ein höchst signifikanter Einfluss „Durchgang“ ($p \leq 0,001$) sowie ein sehr signifikanter Einfluss des Interaktionsterms „Durchgang“ x „Probiotika“ ($p \leq 0,01$) ermittelt. Dies bedeutet, dass bei Betrachtung über alle Zeitpunkte mindestens eine Faktorkombination (z. B. Durchgang=2 und Probio=Probiotika) signifikant die beobachteten Gesamt-IgA Messwerte beeinflusst hat.

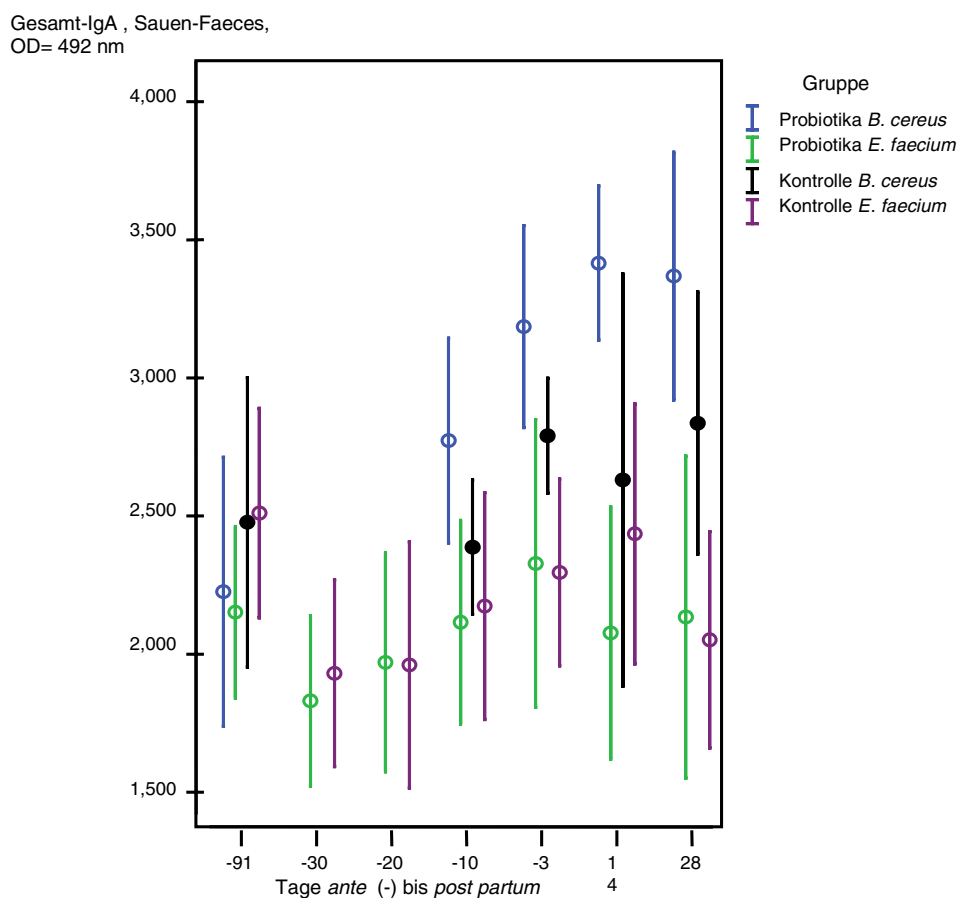


Abb. 33: Gesamt-IgA in den Sauen-Faeces, Versuche 1 und 2, dargestellt als Mittelwerte \pm 2 Standardabweichungen

Da sich die Tiere zum Zeitpunkt -91 Tage *a. p.* im Faktor „Probio“ nicht unterschieden (die Futtersupplementation in den Probio-Gruppen setzte jeweils erst am Tag -90 *a. p.* ein) und im Durchgang 2 zu den Zeiten -30 *a. p.* und -20 *a. p.* keine Messwerte erhoben wurden, wurde eine neue Analyse basierend auf den Messwerten ab dem 10. Tag *a. p.* durchgeführt. Zum einen konnten damit Tierproben aus beiden Versuchen analysiert werden; und zum anderen wurden die Probiotikagruppen zu diesem Zeitpunkt bereits 10 Wochen supplementiert. Die Frage, ob sich darunter ein Einfluss auf die lokale Antikörperproduktion im Zuge der Hochträchtigkeit bzw. der Laktation ergab, konnte damit und aufgrund der bisherigen Ergebnisse besser aufgeklärt werden.

110 Probiotikaproben und 77 Kontrollproben wurden analysiert.

Die ANOVA-Modelle wurden ausgehend von einem gesättigten Modell schrittweise vereinfacht, bis alle nicht-signifikanten Interaktionseffekte aus dem Modell eliminiert waren. Das finale Modell bestehend aus den Faktoren „Zeit“ und „Probio“, „Durchgang“ sowie

dem Interaktionsterm „Durchgang“ x „Probio“ ist in der Lage, 25,6 % der beobachteten Varianz in den Antikörper-Titern zu erklären. Auch in diesem Modell trugen die Faktoren „Probio“ ($p = 0,05$), „Durchgang“ ($p < 0,001$) sowie der Interaktionsterm „Durchgang“ x „Probio“ ($p = 0,1$) signifikant zur Erklärung bei.

Zur weiteren Analyse wurde ein Post-hoc-Test durchgeführt, welcher die Frage klären sollte, welche der 4 Gruppen sich voneinander signifikant unterscheiden. Die vier untersuchten Messgruppen wurden jeweils paarweise miteinander verglichen, z. B. die Probiotikagruppe *E. faecium* gegen die Kontrolle *E. faecium*, Probiotika *B. cereus* var. Toyoi und Kontrolle *B. cereus* var. Toyoi usw. (Mehrfachvergleiche).

Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 zusammengestellt: (Tamahane-T2-Test: ohne Annahme der Varianzgleichheit, konservativ)

Gruppe (a)	Gruppe (b)	mittlere Differenz (a - b)	Standardfehler s	Signifikanz p	Bedeutung von p
Probio. - <i>B. cereus</i>	Probio. - <i>E. faecium</i>	0,9597	0,1525	0,000	***
	Kontr. <i>B. cereus</i>	0,5162	0,1372	0,002	**
	Kontr. <i>E. faecium</i>	0,8816	0,1414	0,000	***
Probio. - <i>E. faecium</i>	Probio. - <i>B. cereus</i>	-0,9597	0,1525	0,000	***
	Kontr. <i>B. cereus</i>	-0,4434	0,1470	0,020	**
	Kontr. <i>E. faecium</i>	-0,0781	0,1509	0,996	n.s.
Kontr. <i>B. cereus</i>	Probio. - <i>B. cereus</i>	-0,5162	0,1372	0,002	**
	Probio. - <i>E. faecium</i>	0,4434	0,1470	0,020	**
	Kontr. <i>E. faecium</i>	0,3654	0,1355	0,051	n.s.
Kontr. <i>E. faecium</i>	Probio. - <i>B. cereus</i>	-0,8816	0,1414	0,000	***
	Probio. - <i>E. faecium</i>	0,0781	0,1509	0,996	n.s.
	Kontr. <i>B. cereus</i>	-0,3654	0,1355	0,051	n.s.

Zeit > -20

Tabelle 17: Post-Hoc-Test, abhängige Variable: Gesamt-IgA in den Faeces

Dargestellt sind die einzelnen Gruppen aus den Versuchen 1 und 2. Zugrunde gelegt wurde die Gesamtheit der Messwerte, gemessen ab dem 10. Tag *ante partum*. Die Signifikanz $p < 0,05$ (signifikant) wurde mit dem Symbol *, $p < 0,01$ (hoch signifikant) mit **, $p < 0,001$ (höchst signifikant) mit *** und nicht signifikant mit n.s. angegeben.

Probiotikagruppe *E. faecium* = Probio. *E. faecium*

Kontrollgruppe *E. faecium* = Kontr. *E. faecium*

Probiotikagruppe *B. cereus* var. Toyoi = Probio. *B. cereus*

Kontrollgruppe *B. cereus* var. Toyoi = Kontr. *B. cereus*

Höchst signifikant (***) unterschieden sich jeweils die Probiotikagruppen beider Versuche und die Kontrolle aus Versuch 1 (Kontr. *E. faecium*) gegen die probiotische *B. cereus*-

Gruppe und umgekehrt. Hoch signifikant (**) unterschieden sich die jeweiligen Probiotikagruppen zu ihren Kontrollen sowie die Kontrolle *B. cereus* var. Toyoi gegen beide Probiotikagruppen.

4.2.1.2. Gesamt-IgA in der Molke der Sauen

48 Probiotikaproben und 41 Kontrollproben Gesamt-IgA Molke wurden analysiert.

Die univariate Varianzanalyse ergab bei Berechnung der abhängigen Variable Molke-IgA einen signifikanten Einfluss der Interaktion zwischen „Probiotika“ x „Zeit“ ($p \leq 0,05$). Nicht signifikant war dieser Unterschied jedoch bei den Kontrolltieren. Weitere signifikante Unterschiede wurden durch die ANOVA nicht ermittelt. Die Bedingungen für den Post-hoc-Test waren daher nicht erfüllt. Die Mittelwerte und die Standardabweichungen sind in Abbildung 33 dargestellt.

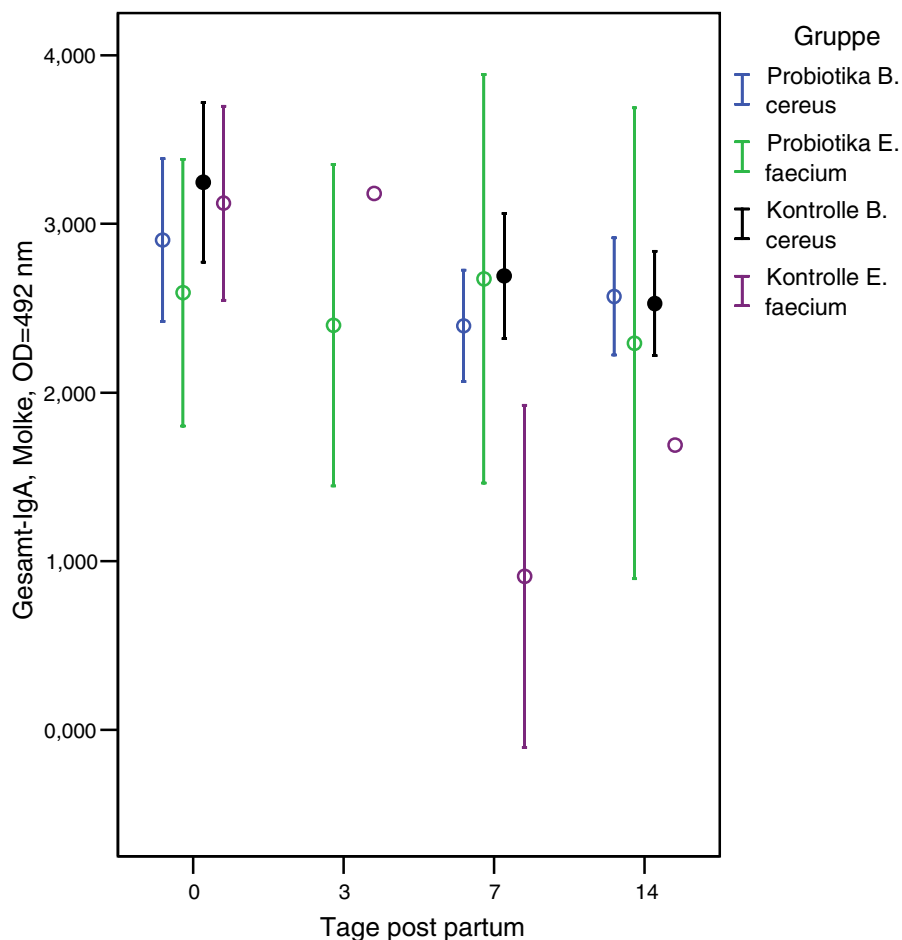


Abb. 34: Gesamt-IgA in der Sauen-Molke, Versuche 1 und 2 dargestellt als Mittelwerte \pm 2 Standardabweichungen

4.2.1.3. Gesamt-IgG im Serum

Abbildung 34 zeigt die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen des Gesamt-IgG im Serum der Sauen aus beiden Versuchen. Aus den Versuchen 1 und 2 wurden 114 Probiotikaproben und 150 Kontrollproben analysiert.

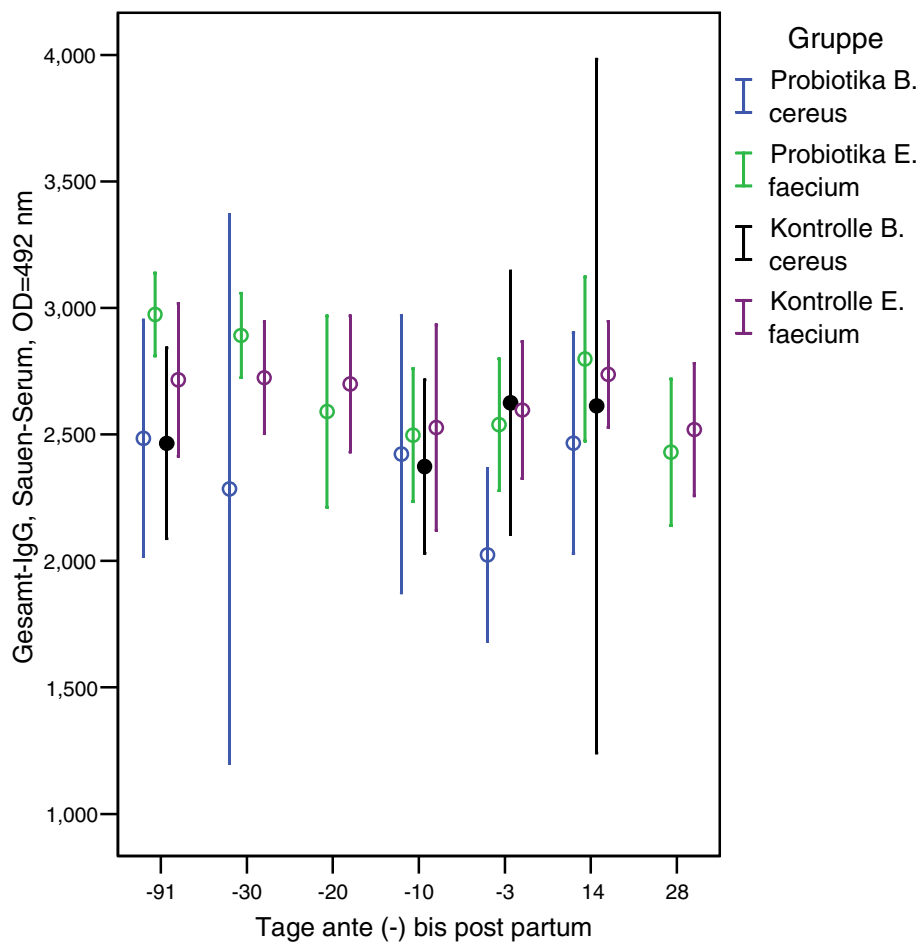


Abb. 35: Gesamt-IgG im Sauen-Serum, Versuche 1 und 2
dargestellt als Mittelwerte \pm 2 Standardabweichungen

Die Analyse ergab einen signifikanten Unterschied des Faktors „Durchgang“ ($p < 0,05$), d.h. die durchschnittlichen Messwerte bezüglich der Gesamt-IgG-Antikörper bei den Sauen waren im 1. Versuchsdurchgang (*E. faecium*) signifikant höher als im 2. Versuchsdurchgang (*B. cereus* var. Toyoi). Weitere Unterschiede wurden nicht ermittelt.

4.2.2. Ferkelergebnisse

4.2.2.1. Gesamt-IgA in den Faeces der Ferkel

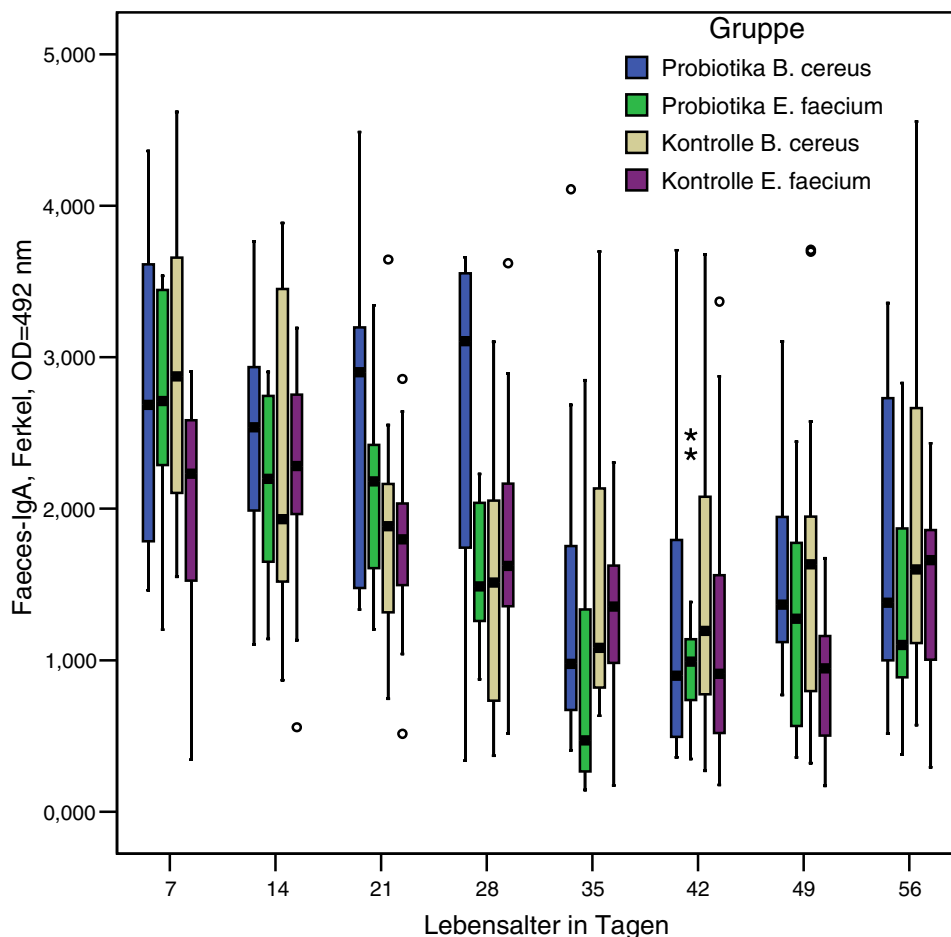


Abb. 36: Gesamt-IgA in den Ferkel-Faeces, Versuche 1 und 2, dargestellt als Boxplots

* und ° = Ausreißertiere, siehe III, 6.0 (Statistische Darstellung und Auswertung, Seite 66)

In die Analyse gelangten aus den Versuchen 1 und 2 insgesamt 155 Probiotikaprobe und 152 Kontrollproben von 7 Messzeitpunkten (7. bis 56. LT). Abbildung 36 zeigt Boxplots mit den Gruppenwerten aus beiden Versuchen.

Durch die univariate Varianzanalyse wurden ein höchst signifikanter Unterschied des Faktors „Gruppe“ ($p \leq 0,001$) und ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) des Interaktionsterms „Zeit“ x „Gruppe“ ermittelt. Daraus resultierend wurden die Gruppen getrennt analysiert.

Aus Versuch 1 (*E. faecium*) wurden die 123 Probiotikaproben den 130 Kontrollproben gegenübergestellt und die abhängige Variable „Gesamt-IgA“ untersucht. Es wurde ein signifikanter Unterschied Zeit x Gruppe ermittelt ($p \leq 0,05$). Um die Gruppenunterschiede eingehender zu analysieren, wurden die Interaktionen der Gruppen und Zeit analysiert und ein signifikanter Unterschied am 7. LT wie schon durch den U-Test ermittelt, d.h. die Ferkel der Probiotikagruppe hatten am 7. LT signifikant höhere Messwerte als die Kontrollgruppe ($p \leq 0,05$).

In die Analyse des Versuches 2 (*B. cereus* var. Toyoi) gelangten 132 Probiotikaproben und 122 Kontrollproben. Hier wurde ebenso ein signifikanter Unterschied „Zeit“ x „Gruppe“ ermittelt. Am 28. LT zeigten die Probiotikatiere sehr signifikant höhere Messwerte als die Kontrolltiere ($p \leq 0,01$).

4.2.2.2. Gesamt-IgG im Serum

Abbildung 37 zeigt die Gesamtheit aller Ferkel-Serumproben aus beiden Versuchen.

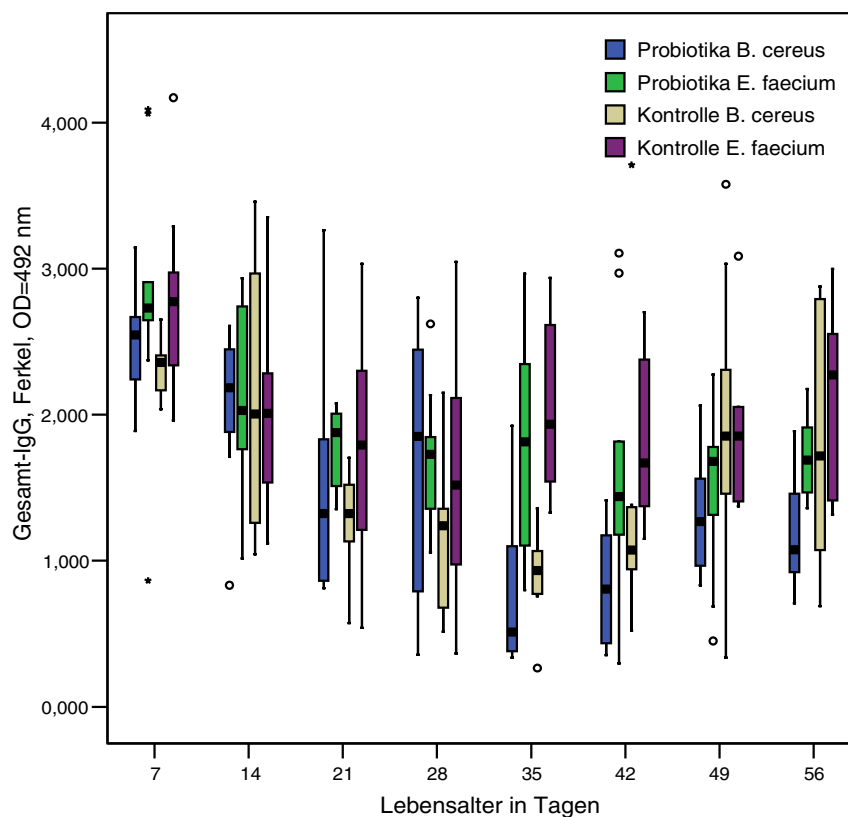


Abb. 37: Gesamt-IgG im Ferkel-Serum, Versuche 1 und 2 dargestellt als Boxplots

* und ° = Ausreißertiere, siehe III, 6.0 (Statistische Darstellung und Auswertung, Seite 66)

Zunächst wurden alle 134 Probiotikaproben und 138 Kontrollproben aus den Versuchen 1 und 2 durch die ANOVA analysiert. Es ergaben sich signifikante Unterschiede des Faktors „Durchgang“ und des Interaktionsterms „Zeit“ x „Durchgang“. Um den Zeitraum der körpereigenen Immunglobulin-Synthese zu analysieren, wurden die Zeiträume 42. bis 56. LT und 35. bis 56. LT untersucht.

Analyse 42. bis 56. LT

54 Probiotikaproben wurden 49 Kontrollproben (42., 49. und 56. LT) einander gegenübergestellt. Die Probiotikatiere wiesen höchst signifikant niedrigere Antikörper-Titer auf als die Kontrolltiere ($p \leq 0,001$). Desweiteren wurden sehr signifikant höhere Titer gemessen im Durchgang 1 gegenüber Durchgang 2. Bei der Analyse der einzelnen Messzeitpunkte wurde bei den Probiotikatieren signifikant niedrigere Titer am 42. LT gemessen als in der Kontrollgruppe ($p \leq 0,05$).

Analyse 35. bis 56. LT

In diese Analyse gelangten 70 Probiotikaproben und 66 Kontrollproben (35., 42., 49. und 56. LT).

Höchst signifikante ($p \leq 0,001$) Unterschiede wurden bei den Faktoren „Durchgang“ und „Probiotika“ gemessen, d.h. in diesem Zeitraum unterschieden sich die mittleren Messwerte des Versuches 1 (*E. faecium*) höchst signifikant gegenüber den Tieren aus Versuch 2 (*B. cereus* var. Toyoi). Dies galt ebenso für die Probiotikagruppe aus Versuch 1 gegenüber Versuch 2. Ein signifikantes Ergebnis wurde bei „Zeit“ x „Durchgang“ ermittelt ($p \leq 0,05$). Am 35. LT zeigten die Tiere ein signifikant höheres Ergebnis aus Versuch 1 gegenüber den Tieren aus Versuch 2.