Tierärztliche Hochschule Hannover

In-vitro-Untersuchungen zum Einfluss von Erythromycin und Nahrungsreduktion auf mikrobielle Stoffwechselleistungen im Caecum des Pferdes

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer Doktorin
der Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Manuela Kuhn
aus Ludwigshafen

Hannover 2009

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Gerhard Breves
Physiologisches Institut

1. Gutachter: Prof. Dr. Gerhard Breves
2. Gutachter: Prof. Dr. Karsten Feige

Tag der mündlichen Prüfung: 13. März 2009

Meinen Eltern

und

Christian

Folgende Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

KUHN, M. u. G. BREVES (2008):
Cecal microbial metabolism in horses *in vitro* as affected by erythromycin and feed restriction.
Vortrag, 18. Tagung der DVG-Fachgruppe Physiologie und Biochemie
9. - 11.03.2008 in Leipzig
Abstract in: Leipziger Blaue Hefte, 45

KUHN, M. u. G. BREVES (2008):
Cecal microbial metabolism in horses *in vitro* as affected by erythromycin and feed restriction.
Vortrag, 62. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
1. - 3.04.2008 in Göttingen
Abstract in: Proc. Soc. Nutr. Physiol. 17 , 68

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

1 Einleitung 11

1.1 Der mikrobielle Stoffwechsel im Dickdarm des Pferdes 11

1.2 Die Typhlocolitis des Pferdes 13

1.2.1 Erythromycin 14

1.2.2 Nahrungskarenz 15

1.2.3 Kombination der Faktoren Erythromycin und Nahrungskarenz 17

1.3 Ziele der Arbeit 17

2 Material und Methoden 18

2.1 Die Colon-Simulationstechnik 18

2.1.1 Aufbau und technische Daten des Cositec-Systems 18

2.1.2 Bedienung und Funktionsweise des Systems 20

2.2 Spendertiere und Entnahme des Caecuminhaltes 22

2.2.1 Spendertiere für die Entnahme der Partikelphase (Substrat) 22

2.2.2 Spendertiere für die Entnahme des frischen Caecuminhaltes am Starttag der Versuche 23

2.3 Versuchsdurchführung 25

2.3.1 Versuchsreihe 1: Etablierung der Colon-Simulationstechnik 25

2.3.2 Versuchsreihe 2: Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz 27

2.3.2.1 Erythromycin 27

2.3.2.2 Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz 28

2.4 Messgrößen und analytische Methoden 30

2.4.1 Messung von pH-Wert und Redoxpotential 30

2.4.2 Bestimmung der Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) 30

2.4.3 Bestimmung der Ammoniak-Konzentration 32

2.4.4 Bestimmung der Verdaulichkeit der organischen Substanz 32

2.4.5 Bestimmung der Erythromycin-Konzentration im Caecuminhalt 33

2.5 Statistik 33

3 Ergebnisse 35

3.1 Versuchsreihe 1: Etablierung der Colon-Simulationstechnik 35

3.1.1 pH-Wert 35

3.1.2 Redoxpotential 36
3.1.3 SCFA-Produktionsraten 37
3.1.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 38
3.1.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 41
3.1.6 Ammoniak-Konzentration 44
3.1.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz 44

3.2 Versuchsreihe 2: Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz 46

3.2.1 Wirkung von Erythromycin auf den mikrobiellen Stoffwechsel 46
3.2.1.1 pH-Wert 46
3.2.1.2 Redoxpotential 47
3.2.1.3 SCFA-Produktionsraten 47
3.2.1.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 48
3.2.1.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 51
3.2.1.6 Ammoniak-Konzentration 54
3.2.1.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz 54
3.2.2 Wirkung von Erythromycin in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf den mikrobiellen Stoffwechsel 55
3.2.2.1 pH-Wert 56
3.2.2.2 Redoxpotential 56
3.2.2.3 SCFA-Produktionsraten 57
3.2.2.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 58
3.2.2.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 61
3.2.2.6 Ammoniak-Konzentration 64
3.2.2.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz 65
3.2.3 Wirkung von Erythromycin, Reduktion der Trockensubstanz und Kombination beider Faktoren auf den mikrobiellen Stoffwechsel 66
3.2.3.1 pH-Wert 66
3.2.3.2 Redoxpotential 67
3.2.3.3 SCFA-Produktionsraten 68
3.2.3.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 69
3.2.3.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) 72
3.2.3.6 Ammoniak-Konzentration 75
3.2.3.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz 76

4 Diskussion 77

4.1 Bewertung der Colon-Simulationstechnik 77

4.1.1 Bewertung der analytischen Methoden 79

4.2 Etablierung der Colon-Simulationstechnik zur Inkubation von Dickdarminhalt des Pferdes 79

4.2.1 Bewertung der Ergebnisse 81

4.2.2 Messgrößen des mikrobiellen Stoffwechsels unter Kontrollbedingungen (Versuche 3 bis 6) 84

4.3 Beurteilung der verwendeten Wirkstoffdosierungen und Nahrungsreduktionen 90

4.3.1 Erythromycin 90

4.3.2 Erythromycin und Nahrungsreduktion 95

4.4 Veränderungen der mikrobiellen Stoffwechselleistungen durch die Zugabe von Erythromycin und der Reduktion der Trockensubstanz 96

4.4.1 pH-Wert 96

4.4.2 Redoxpotential 97

4.4.3 SCFA-Produktionsraten 98

4.4.4 Ammoniak-Konzentration 103

4.4.5 Verdaulichkeit der organischen Substanz 104

4.4.6 Wirkung des veränderten Mikrobenstoffwechsels auf den Wirtsorganismus 105

5 Zusammenfassung 111

6 Summary 113

7 Literaturverzeichnis 115

8 Anhang 128

8.1 Chemikalien 128

8.2 Einzelwerte der Versuche 1 bis 9 128

9 Danksagung 148

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	*Aqua destillata*
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	Circa
Cl.	*Clostridium*
cm	Zentimeter
Cositec	Colon-Simulationstechnik
d	Tag
d.h.	das heißt
E	Erythromycin
et al.	*et alii*
FID	Flammenionisationsdetektor
g	Gramm
g	Zentrifugalbeschleunigung
h	Stunde
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
m	Meter
µ	Mikro-
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mosm	Milliosmol
mV	Millivolt
n	Stichprobenumfang

nm	Nanometer
NPN	*non protein nitrogen*
n.s.	nicht signifikant
OS	organische Substanz
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
p.o.	*per os*
Redoxpot.	Redoxpotential
Rusitec	*Rumen Simulation Technique*
SCFA	*short chain fatty acids*
SD	*Standard deviation*
sog.	sogenannte
SSCP	*single strand conformation polymorphism*
ssp.	Subspezies
Tab.	Tabelle
TS	Trockensubstanz
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VOS	Verdaulichkeit der organischen Substanz
vs.	*versus*
$\bar{x}$	Mittelwert
z.B.	zum Beispiel

Chemische Elemente wurden nach der internationalen Nomenklatur abgekürzt.

1 Einleitung

1.1 Der mikrobielle Stoffwechsel im Dickdarm des Pferdes

Der Dickdarm des Pferdes beinhaltet eine komplexe Gemeinschaft anaerober Mikroorganismen, die sich aus Bakterien, Protozoen und Pilzen zusammensetzt. Die dort ablaufenden umfangreichen mikrobiellen Stoffwechselprozesse dienen zum einen den Mikroorganismen zur Energiegewinnung für Erhaltung und Wachstum der mikrobiellen Population. Zum anderen dienen die Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels dem Wirtstier über Absorption und nachfolgende Metabolisierung zur energetischen Versorgung (SAVAGE 1986). Die größte Bedeutung muss hierbei den im Rahmen des mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsels gebildeten kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) zugesprochen werden. Beim Pferd können bis zu 30 % der benötigten Energie für den Erhaltungsbedarf durch die Verstoffwechslung von kurzkettigen Fettsäuren aus dem Caecum gewonnen werden (GLINSKY et al. 1976). Die Hauptquellen der mikrobiellen Kohlenhydratfermentation im Dickdarm bestehen aus pflanzlichen Polysacchariden wie Cellulose, Hemicellulosen (Pentosane, Hexosane) und Pektine, die durch körpereigene Enzyme nicht abgebaut werden können; weitere Kohlenhydratquellen stellen praecaecal unverdaute Stärke, Muzin und aus Zellabschilferungen freigesetzte Kohlenhydrate dar (RECHKEMMER et al. 1988; MEYER u. COENEN 2002). Der mikrobielle Abbau der Polysaccharide erfolgt in mehreren Schritten, wobei als zentrales Intermediärprodukt Pyruvat entsteht. Ausgehend vom Pyruvat können die kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat sowie die Gase Kohlendioxid und Methan auf verschiedenen Stoffwechselwegen gebildet werden. Die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren, die beim Abbau der Kohlenhydrate im Caecum des Pferdes entstehen, sind nicht konstant, sondern variieren je nach Art und Menge des Futters und dem Zeitpunkt der letzten Fütterung (MEYER u. COENEN 2002). Bei einer reinen Heu- und Strohfütterung liegen die SCFA-Konzentrationen in der Caecumflüssigkeit auf einem niedrigen Niveau (Ø 25,9 bzw. 21,9 mmol/l), während bei einer Kombination von Mischfutter und Raufutter ein deutlich höheres Niveau (Ø 54,9 mmol/l) erreicht wird (SCHWABENBAUER et al. 1982). Die höchsten SCFA-Konzentrationen können in

allen Abschnitten des Dickdarmes acht Stunden nach der Fütterung gemessen werden (ARGENZIO et al. 1974). Das Verhältnis der molaren Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat zueinander hängt vom Stärkeanteil in der Ration ab, wobei ein höherer Stärkeanteil den molaren Anteil an Propionat erhöht. Demnach beträgt das prozentuale Verhältnis von Acetat, Propionat und Butyrat im Caecum bei einer ausschließlichen Heufütterung 76 : 15 : 8, während bei einer Fütterung von einem Teil Heu und vier Teilen Mischfutter in der Ration ein prozentuales Verhältnis von 61 : 26 : 10 vorliegt (HINTZ et al. 1971).

Der mikrobielle Proteinstoffwechsel im Dickdarm des Pferdes ähnelt dem mikrobiellen Proteinstoffwechsel im Pansen der Wiederkäuer. Beim mikrobiellen Abbau von Proteinen und anderen Stickstoffverbindungen entsteht als Endprodukt Ammoniak, welches von den Mikroorganismen wiederum zur Synthese mikrobieller Aminosäuren und damit zur mikrobiellen Proteinsynthese verwendet wird. Für die Ammoniak-Assimilation durch die Mikroorganismen ist die Verfügbarkeit von Kohlenstoffgerüsten und Energie, die über die Kohlenhydratfermentation bereitgestellt werden, essentiell. Allerdings ist das gebildete Mikrobenprotein dem Pferd im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Wiederkäuer nicht mehr zugänglich (ARGENZIO 1990).

Weitere Produkte der mikrobiellen Synthese stellen die Vitamine des B-Komplexes und Vitamin K dar.

Aufgrund der Bedeutung der mikrobiellen Fermentations- und Syntheseleistungen im Pansen der Wiederkäuer für die Gesundheit und Leistungsfähigkeit der Tiere, wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche Untersuchungen zu diesem Thema durchgeführt. Im Gegensatz dazu wurde der mikrobielle Stoffwechsel im Dickdarm des Pferdes bislang nur in wenigen Studien untersucht. *In-vivo*-Untersuchungen zur quantitativen Erfassung der mikrobiellen Fermentationsleistungen im Dickdarm des Pferdes bedingen einen hohen tierexperimentellen und analytischen Aufwand, da hierfür die Verwendung caecumfistulierter Pferde und die Anwendung der Isotopenverdünnungstechnik zur Messung der Produktionsraten der kurzkettigen Fettsäuren nötig ist. Alternativ stellt die Colon-Simulationstechnik (Cositec), eine

Modifikation des ursprünglich von CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE (1977) zur Untersuchung des mikrobiellen Pansenstoffwechsels entwickelten Rusitec-Systems (*Rumen Simulation Technique*), ein geeignetes System dar, um die mikrobiellen Stoffwechselleistungen im Dickdarm *in vitro* zu untersuchen (BREVES et al. 1991). Der entscheidende Vorteil dieser semikontinuierlichen *In-vitro*-Inkubationsmethode gegenüber *In-vivo*-Untersuchungen besteht darin, dass das gemessene biochemische Profil direkte Rückschlüsse auf den mikrobiellen Stoffwechsel zulässt, wobei die Einflüsse des Wirtstieres weitgehend ausgeschlossen werden. Die Colon-Simulationstechnik gewährleistet die Aufrechterhaltung des mikrobiellen Ökosystems des Dickdarmes über mehrere Wochen und ermöglicht eine exakte qualitative und quantitative Erfassung der Parameter des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels unter standardisierten Versuchsbedingungen. Des Weiteren bietet die Colon-Simulationstechnik die Möglichkeit, den Einfluss verschiedener Faktoren auf den mikrobiellen Stoffwechsel zu untersuchen, die ursächlich mit der Entstehung bestimmter Krankheiten in Verbindung gebracht werden. Inwieweit ein veränderter Mikrobenstoffwechsel im Dickdarm eine mögliche Rolle bei der Entstehung der Typhlocolitis des Pferdes spielt, wurde bislang noch nicht näher untersucht. Eine Reihe von Risikofaktoren, darunter die Applikation von Antibiotika und die Nahrungskarenz, gelten als prädisponierend für die Entstehung dieser Erkrankung. Aufgrund der genannten Eigenschaften stellt das Cositec-System eine geeignete Methode dar, den Einfluss dieser Risikofaktoren auf den Mikrobenstoffwechsel *in vitro* zu untersuchen, um somit Rückschlüsse auf eine veränderte Stoffwechsellage *in vivo* ziehen zu können.

1.2 Die Typhlocolitis des Pferdes

Die Typhlocolitis des Pferdes wurde zum ersten Mal 1963 von ROONEY et al. unter der Bezeichnung „Colitis X“ als eigenständige Erkrankung beschrieben. Seit den 1980er Jahren wird die Colitis X auch in Deutschland häufiger beobachtet (HERMANN 1985; KRAFT 1985; LAUK et al. 1987) und als equine idiopathische Typhlocolitis bezeichnet. Es handelt sich dabei um eine sporadisch auftretende, akut bis perakut verlaufende Erkrankung des Caecums und des Colon ascendens, die mit

Inappetenz, Apathie, Koliksymptomen unterschiedlichen Schweregrades, profusem, wässrigem, später hämorrhagischem Durchfall, Toxämie mit fortschreitendem Schockzustand (Hypovolämie, Neutropenie, Hypoproteinämie) und hoher Mortalität einhergeht (HUSKAMP et al. 2006). Pathologisch-anatomisch liegt eine hämorrhagisch-nekrotisierende Entzündung der Mukosa des Caecums und des Colon ascendens vor (POHLENZ u. KEMPER 1994). Diese Abschnitte des Dickdarmes sind dilatiert und mit einer großen Menge an übel riechendem, wässrigem Inhalt gefüllt (POHLENZ et al. 1992). Demnach sind bei der Typhlocolitis jene Abschnitte des Darmes betroffen, in denen umfangreiche mikrobielle Fermentationsprozesse, Absorptions- und Sekretionsvorgänge stattfinden. Obwohl bereits zahlreiche Untersuchungen zur Ätiologie und Pathogenese der Typhlocolitis durchgeführt wurden, bleibt die Ätiologie bei einem hohen Anteil an Pferden, die an der Typhlocolitis erkranken, ungeklärt (BARTMANN et al. 2006). Am wahrscheinlichsten erscheint jedoch, dass hierbei ein multifaktorielles Geschehen vorliegt. Zu den prädisponierenden Faktoren für die Entstehung der Typhlocolitis zählen unter anderem Stress, medikamentöse Behandlungen mit Antibiotika (z.B. Tetracyclin, Erythromycin, Clindamycin, Lincomycin) oder nichtsteroidalen Antiphlogistika, Futterumstellung, Nahrungskarenz, Operationen und verschiedene Infektionserreger (z.B. *Clostridium (Cl.) difficile* oder *Cl. perfringens*) (BARTMANN et al. 1998; WOLLANKE u. GERHARDS 2003; GERBER u. STRAUB 2006). Das hospitalisierte Pferd ist durch die Summierung mehrerer Belastungsfaktoren, die im Verdacht stehen ursächlich an der Entstehung der Typhlocolitis beteiligt zu sein, besonders gefährdet (LAUK et al. 1987).

1.2.1 Erythromycin

Die orale Aufnahme des Makrolidantibiotikums Erythromycin kann beim adulten Pferd Störungen in der gastrointestinalen Mikroflora in Form einer Typhlocolitis induzieren (BURROWS 1980; OWEN 1980; WHITLOCK 1986; GUSTAFSSON et al. 1997; MURRAY 1997; BAVERUD et al. 1998). In den 90er Jahren wurde in Pferdekliniken und Gestüten in Schweden ein vermehrtes Auftreten von Typhlocolitisfällen beobachtet, wobei Stuten, deren Fohlen aufgrund einer *Rhodococcus equi*-Infektion mit Erythromycin und Rifampicin behandelt wurden, an

der Typhlocolitis erkrankten. Die Krankheit trat dabei drei bis vier Tage nach dem Beginn der Behandlung der Fohlen auf. In den Untersuchungen von BAVERUD et al. (1998) konnte ein Zusammenhang zwischen der Erythromycin-Konzentration in den Faeces der Fohlen und der Entwicklung der Typhlocolitis bei den Stuten festgestellt werden. In den Faeces der Fohlen, deren Mütter eine Typhlocolitis entwickelten, wurde eine hohe Erythromycin-Konzentration nachgewiesen, während Stuten, deren Fohlen nur in einem geringen Maße Erythromycin über die Faeces ausschieden, nicht an der Typhlocolitis erkrankten. Dabei führte sowohl die Behandlung der Fohlen mit Erythromycinbase als auch mit Erythromycin-Ethylsuccinat bei den Stuten zur Entwicklung einer Typhlocolitis. Aufgrund dieser Beobachtungen erachteten die Autoren die Menge an Erythromycin, die von den Stuten entweder durch Koprophagie oder durch die Aufnahme von kontaminiertem Futter aufgenommen wurde, für ausreichend, um Störungen in der Darmflora hervorzurufen und eine Typhlocolitis auszulösen. Im Rahmen experimenteller Untersuchungen gelang es GUSTAFSSON et al. (1997) durch die orale Applikation von Erythromycin-Ethylsuccinat in subtherapeutischer Dosierung (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden) bei zwei von vier Pferden eine Typhlocolitis zu induzieren, wobei die Pferde am dritten Tag der Erythromycin-Applikation erkrankten. Die Autoren konnten bei einem dieser Pferde Erythromycin-resistente toxinogene *Cl. difficile*-Stämme nachweisen, während die Ursache der Typhlocolitis bei dem zweiten Pferd nicht geklärt werden konnte. Die orale Verabreichung von Rifampicin führte hingegen nicht zur Entwicklung einer Typhlocolitis. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von GUSTAFFSON et al. (1997) konnte BAUMS (2003) durch die orale Verabreichung von Erythromycin-Ethylsuccinat (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden) bei keinem der vier Versuchspferde eine Typhlocolitis induzieren.

1.2.2 Nahrungskarenz

Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung einer Typhlocolitis stellt eine Nahrungskarenz z.B. im Vorfeld von Operationen bzw. eine reduzierte Nahrungsaufnahme im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen dar. TASKER et al. (1967) entzogen vier Pferden für die Dauer von acht Tagen Futter und Wasser, wodurch drei der vier Pferde eine Diarrhoe entwickelten. Auf Grundlage dieser

Beobachtungen führten DEEGEN et al. (1995) für die Dauer von 100 Stunden bei drei Pferden eine Nahrungskarenz durch, wobei den Pferden Wasser zur freien Verfügung stand. Drei weitere Pferde, denen die Nahrung nicht entzogen wurde, dienten als Kontrollgruppe. In der Sektion konnte bei den Pferden der Karenzgruppe in allen Dickdarmabschnitten (mit Ausnahme des Colon descendens) eine Verflüssigung des Chymus und eine Reduktion der SCFA-Konzentrationen festgestellt werden. Während der Acetat- und Propionat-Anteil in den einzelnen Darmabschnitten zwischen den Pferden der Kontroll- und der Karenzgruppe keine Veränderungen aufzeigte, war der Butyrat-Anteil im Caecum der Pferde der Karenzgruppe extrem erniedrigt. Daneben lag eine starke Alkalisierung des Dickdarmchymus vor, die im Caecum am stärksten ausgeprägt war. Aufgrund der beobachteten metabolischen Veränderungen im Chymus, welche in ähnlicher Form auch bei der Typhlocolitis vorliegen, postulierten die Autoren, dass längere Hungerphasen beim Pferd offensichtlich die Induktion einer Typhlocolitis begünstigen können. In den Untersuchungen von BAUMS (2003) wurden nach einer Nahrungskarenz von 24 Stunden in den während einer Laparotomie entnommenen Caecumpunktaten ebenfalls leicht erhöhte pH-Werte, eine deutliche Verflüssigung des Chymus und ein niedriger Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren festgestellt. Besonders hervorzuheben ist hierbei, dass die Butyrat-Konzentrationen bei allen vier Versuchspferden unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Folglich ist davon auszugehen, dass die von DEEGEN et al. (1995) beobachteten Veränderungen zum Teil bereits nach einer Nahrungskarenz von 24 Stunden auftreten (BAUMS 2003). Das im Rahmen des Fermentationsprozesses gebildete Butyrat stellt die Hauptenergiequelle der Dickdarmenterozyten dar (ROEDIGER 1982), während die vaskuläre Energieversorgung über Glukose nur von sekundärer Bedeutung ist. Daraus kann gefolgert werden, dass beim Pferd im Zuge einer Nahrungskarenz die Energieversorgung der Dickdarmenterozyten nachhaltig beeinträchtigt wird. MEYER (1994) postulierte, dass die stark erniedrigten Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren, v.a. des Butyrats im Dickdarm infolge einer Nahrungskarenz einen bedeutungsvollen Schritt in der Pathogenese der Typhlocolitis darstellen.

1.2.3 Kombination der Faktoren Erythromycin und Nahrungskarenz

Im Hinblick auf die Zuordnung der Typhlocolitis zu den Faktorenerkrankungen untersuchte BAUMS (2003) die Auswirkung einer Kombination der Faktoren Erythromycin (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden) und Nahrungskarenz (72 Stunden) und konnte bei zwei von vier Pferden eine Typhlocolitis induzieren. Im Gegensatz dazu gelang die Induktion der Typhlocolitis bei diesen Pferden weder durch eine alleinige Applikation von Erythromycin noch durch eine Nahrungskarenz ohne Erythromycin-Applikation. In Anbetracht dieser experimentellen Ergebnisse sieht BAUMS (2003) die klinische Beobachtung bestätigt, dass die Gefahr der Induktion einer Typhlocolitis vor allem bei dem gleichzeitigen Einwirken verschiedener prädisponierender Faktoren besteht.

1.3 Ziele der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Colon-Simulationstechnik zur Untersuchung des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Pferd zu etablieren. Hierbei sollten biochemische Parameter des mikrobiellen Stoffwechsels wie die Produktionsraten der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat und die Ammoniak-Konzentrationen als Messgrößen des Mikrobenstoffwechsels analysiert werden.

Ein weiteres Ziel war es, mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik den Einfluss der Faktoren Erythromycin, Nahrungskarenz und der Kombination beider Faktoren auf den mikrobiellen Stoffwechsel darzustellen. Dabei sollten Veränderungen der biochemischen Parameter als Indikatoren für Veränderungen des mikrobiellen Stoffwechsels untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Die Colon-Simulationstechnik

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik, einer semikontinuierlichen *In-vitro*-Inkubationsmethode, die in Anlehnung an das Rusitec-System (CZERKAWSKI u. BRECKENRIDGE 1977) von DREYER (1990) zur Inkubation von Dickdarminhalt entwickelt wurde, durchgeführt. Bislang wurde die Colon-Simulationstechnik ausschließlich zur Untersuchung des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Schwein verwendet (BREVES et al. 1991; STÜCK 1994; STÜCK et al. 1995; MENDELIN 1998; BREVES et al. 2000; BENDER et al. 2001). Das Prinzip dieser Methode besteht darin, dass eine definierte Menge Dickdarminhalt mit einem zu fermentierenden Substrat durchmischt und dabei kontinuierlich mit einer Pufferlösung perfundiert wird, die in ihrer ionalen Zusammensetzung der Ileumflüssigkeit des Pferdes entspricht. Als zu fermentierendes Substrat dient dabei die Partikelphase, die aus dem Caecum von Pferden gewonnen wird. Die Inkubation erfolgt in gasdicht abgeschlossenen Gefäßen und unter anaeroben Bedingungen, wobei die Inkubationsgefäße konstant auf 39 °C temperiert werden. Die löslichen mikrobiellen Stoffwechselprodukte werden im Überlauf gesammelt, während das im Rahmen des Fermentationsprozesses gebildete Gas getrennt vom Überlauf in gasdichten Beuteln aufgefangen wird.

2.1.1 Aufbau und technische Daten des Cositec-Systems

Für die Durchführung der Versuche werden zwei Cositec-Anlagen verwendet. In Abbildung 2.1 ist eine dieser Cositec-Anlagen dargestellt. Jede Anlage enthält sechs identisch aufgebaute, gasdichte Inkubationsgefäße (sog. Fermenter) (**A**). Die Fermenter bestehen aus Plexiglaszylindern mit einem Fassungsvermögen von jeweils 125 ml und sind in einem Wasserbad (**H**) platziert, welches mit Hilfe eines Einhängethermostates (**I**) (Typ D8, Haake, Karlsruhe, Deutschland) kontinuierlich auf 39 °C temperiert wird. Die Fixierung der einzelnen Fermenter erfolgt zum einen durch Aussparungen am Boden des Wasserbades und zum anderen mit Hilfe von Arretierungsschrauben im Bereich des Fermenterbodens. In jedem Fermenter

befindet sich ein kleineres Innengefäß, das zwei Nylonbeutel (Beutelmaße: ca. 3 x 8 cm, Porenweite: 40 µm) mit dem zu fermentierenden Substrat (Partikelphase) enthält. Zur Gewährleistung einer vollständigen Durchspülung der Nylonbeutel mit der im Fermenter enthaltenen Flüssigkeit, verfügt das Innengefäß zum einen über Perforationen an Deckel und Boden und zum anderen wurde die Größe des Innengefäßes so gewählt, dass die Außenseite des Innengefäßes an der Innenseite des Fermenters anliegt. Über eine Führungsstange steht der Deckel des Innengefäßes mit einer Hubstange in Verbindung. Die Hubstange wird durch den Antrieb eines Elektromotors (**J**) mit sechs Hüben pro Minute kontinuierlich auf und ab bewegt, wodurch im Inneren des Fermenters eine gleichmäßige Durchmischung der flüssigen Phase und der Partikelphase erreicht wird. Mit Hilfe von zwei 6-Kanal-Schlauchpumpen (**C**) (Typ B1, Ole Dich, Hvidovre, Dänemark) werden die Fermenter über eine Zulauföffnung im Fermenterboden kontinuierlich mit der Pufferlösung perfundiert, wobei die Durchflussrate pro Fermenter in etwa 125 ml Pufferlösung pro Tag beträgt. Die Pufferschläuche (**D**) bestehen aus Tygon (4,0 x 7,2 mm, Omnilab, Gehrden, Deutschland). Die Deckel der Fermenter werden durch eine Gummi-dichtung im Schraubverschluss gasdicht verschlossen. Im Deckel der Fermenter befinden sich zwei verschließbare Öffnungen. Eine der beiden Öffnungen steht über einen gasdichten Butylschlauch (**E**) mit dem gläsernen Überlaufgefäß (**F**) in Verbindung, wodurch der Abfluss der anfallenden Flüssigkeit, dem sog. Überlauf ermöglicht wird. Im Überlauf sind die bei der Fermentation anfallenden löslichen mikrobiellen Stoffwechselprodukte enthalten. Um weitere Stoffwechselprozesse in den Überlaufgefäßen zu unterbinden, werden diese in Styroporkisten mit Eis aufbewahrt. Das bei der Fermentation entstehende Gas wird mit Hilfe eines weiteren Butylschlauches, welcher seitlich am Überlaufgefäß befestigt ist, in gasdichten Beuteln (**G**) (Plastigas, Linde AG, München, Deutschland) aufgefangen. Die zweite Öffnung im Deckel der Fermenter ist über den gesamten Versuchsverlauf durch einen Schraubverschluss verschlossen.

Abb. 2.1: Cositec-Anlage mit sechs Fermentern. A = Fermenter, B = Puffergefäß, C = Pumpe, D = Tygonschlauch (Pufferschlauch), E = Butylschlauch (Überlaufschlauch), F = Überlaufgefäß, G = Gasbeutel, H = Wasserbad, I = Thermostat, J = Elektromotor

2.1.2 Bedienung und Funktionsweise des Systems

Vor Inbetriebnahme des Cositec-Systems werden alle Einzelteile der Inkubationsgefäße, Schläuche und Überlaufgefäße zur Desinfektion in eine 3,7 %-ige Formaldehydlösung eingelegt. Nach einer Einwirkzeit von 24 Stunden werden die Einzelteile gründlich mit Aqua dest. gespült und anschließend über 24 Stunden bei

65 °C im Trockenschrank (D 06062, Modell 600, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) getrocknet. Die getrockneten Einzelteile werden zusammengebaut und in die Anlage eingesetzt. Nach Befüllen des Wasserbades mit Aqua dest. wird dieses auf eine Temperatur von 39 °C erhitzt. Die Schlauchpumpen werden auf eine tägliche Perfusionsrate von ca. 125 ml eingestellt, was in etwa dem einfachen Flüssigkeitsturnover entspricht. Die Nylonbeutel werden für 25 Minuten bei 103 °C und 0,4 bar autoklaviert (Varioklav, Dampfsterilisator Typ 500, H + P Labortechnik GmbH, Oberschleißheim bei München, Deutschland) und danach über 24 Stunden bei 65 °C im Trockenschrank getrocknet. Anschließend werden 1,5 g bzw. 1,8 g der im Vorfeld des Versuches gefriergetrockneten Partikelphase aus dem Caecum (siehe Kap. 2.2.1) in die Nylonbeutel eingewogen und die Nylonbeutel werden mit Kabelbindern verschlossen. Bis zum Versuchsbeginn werden die abgewogenen Nylonbeutel im Exsikkator aufbewahrt.

Zum Starten des Systems werden 6 g bzw. 8 g der frisch entnommenen Partikelphase aus dem Caecum (siehe Kap. 2.2.2) in die Nylonbeutel eingewogen und in jedes Innengefäß werden zwei Nylonbeutel eingefügt. Dieser Vorgang gewährleistet die Überführung einer ausreichenden Anzahl an partikelassoziierten Mikroorganismen in die Fermenter. Nach dem Verschluss des Innengefäßes wird dieses in den Fermenter eingefügt und der Fermenter wird bis zum Rand mit der flüssigen Phase des Caecuminhaltes (Inokulum) aufgefüllt. Um die gesamte Luft aus dem Fermenter zu entfernen, wird das Innengefäß einige Male auf und ab bewegt. Anschließend wird der Fermenter verschlossen, im Wasserbad fixiert und mit dem Pufferschlauch, dem Überlaufschlauch und der Hubstange verbunden. Entsprechend dieser Vorgehensweise wird mit den weiteren Fermentern verfahren. Die Elektromotoren werden in Betrieb gesetzt und die Schlauchpumpen eingeschaltet. Dadurch erfolgt eine kontinuierliche Perfusion und Durchmischung des Fermenterinhaltes. Schließlich werden die Überlaufgefäße mit Stickstoff begast, um die verbleibende Luft aus dem System zu entfernen.

Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden werden die Fermenter nacheinander ausgebaut und in ein separates Wasserbad, welches ebenfalls auf 39 °C temperiert ist, überführt. Nach dem Eröffnen des jeweiligen Fermenters werden pH-Wert und

Redoxpotential gemessen. Das Innengefäß wird entnommen und einer der beiden Nylonbeutel wird durch einen neuen, die gefriergetrocknete Partikelphase enthaltenden Substratbeutel ersetzt. Nach dem Beutelwechsel wird das Innengefäß wieder in den Fermenter eingefügt und einige Male auf und ab bewegt, um die Luft, welche im Zuge des Beutelwechsel in den Fermenter gelangt ist, zu entfernen. Der entnommene Nylonbeutel wird in einen Polyethylenbeutel (15 x 30 cm) gegeben und in 10 ml vorgewärmter Pufferlösung per Hand über eine Zeitdauer von zwei Minuten ausgedrückt, um die Reste der löslichen Phase zu entfernen. Die Spülflüssigkeit wird in den Fermenter zurückgegeben. Dieser Vorgang wird ein weiteres Mal durchgeführt. Anschließend wird der Fermenter verschlossen und wieder in die Anlage eingesetzt. Die Flüssigkeit im Überlaufgefäß wird in einen Messzylinder überführt, um das Volumen zur späteren quantitativen Bestimmung der SCFA-Produktionsraten zu erfassen. Zur Bestimmung der SCFA-Produktionsraten und der Ammoniak-Konzentrationen werden 7 ml bzw. 3 ml der Überlaufflüssigkeit in Glasfläschchen abgefüllt und bei -20 °C aufbewahrt. Der entnommene Beutel wird zur Bestimmung der Verdaulichkeit der organischen Substanz ebenfalls bei -20 °C aufbewahrt. Die Überlaufgefäße werden mit Stickstoff begast.

2.2 Spendertiere und Entnahme des Caecuminhaltes

2.2.1 Spendertiere für die Entnahme der Partikelphase (Substrat)

Die im Vorfeld der Versuche gewonnene Partikelphase wurde aus dem Caecum von Pferden entnommen, die im Rahmen der Situs-Demonstrationen des Anatomischen Institutes der Tierärztlichen Hochschule Hannover getötet wurden (siehe Tab. 2.1). Diese Pferde waren zum Zeitpunkt der Tötung mindestens 14 Tage in der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover eingestallt und wurden während dieser Zeit nicht antibiotisch behandelt. Zur Tötung wurden die Pferde zunächst in Narkose gelegt (Xylazin 1,1 mg/kg KG, Ketamin 2,2 mg/kg KG, Diazepam 0,05 mg/kg KG) und anschließend wurde der Tod durch Eröffnen der Jugularvenen und der Carotiden herbeigeführt. Nach der Tötung der Tiere wurde die Bauchdecke geöffnet, die Caecumspitze vorgelagert und zur Entnahme des Caecuminhaltes

seitlich geöffnet. Mittels Filtration über zwei Lagen Gaze (Gazin, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Rengsdorf, Deutschland) wurde die Partikelphase von der flüssigen Phase getrennt. Erstere wurde in Polyethylenbeutel (26 x 46 cm) abgefüllt und anschließend bei -20 °C aufbewahrt, während die flüssige Phase verworfen wurde.

Vor Beginn der Versuche erfolgte die Gefriertrocknung der Partikelphase über die Dauer von 48 Stunden (Christ Loc-1m, Alpha 2-4, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland). Bis zur weiteren Verwendung wurde die gefriergetrocknete Partikelphase im Exsikkator aufbewahrt. Eine Vermischung der Partikelphasen der einzelnen Pferde wurde nicht vorgenommen.

Tab. 2.1: Spendertiere für die Entnahme der Partikelphase (Substrat)

Pferd	Rasse	Alter	Geschlecht	Fütterung	Partikelphase eingesetzt in Versuch
A	Warmblut	13 Jahre	Stute	Heu, Kraftfutter, Weide	1 - 2
B	Warmblut	26 Jahre	Stute	Heu, Kraftfutter	3 - 6
C	Haflinger	10 Jahre	Wallach	Heu	7
D	Warmblut	13 Jahre	Wallach	Heu, Stroh	8 - 9

2.2.2 Spendertiere für die Entnahme des frischen Caecuminhaltes am Starttag der Versuche

Zum Starten der Versuche 1 bis 6 wurde der frisch entnommene Caecuminhalt von Pferden aus der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover verwendet, während in den Versuchen 7 bis 9 der Caecuminhalt von Schlachtpferden (Pferdeschlachterei Jausch, Pattensen) eingesetzt wurde (siehe Tab. 2.2). Auch die Schlachtpferde wurden im Vorfeld der Schlachtung nicht antibiotisch behandelt. Die Tötung der Pferde und die Entnahme des Caecuminhaltes erfolgte bei den Pferden aus der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover auf die in Kapitel 2.2.1 beschriebene Art und Weise. Die Schlachtpferde wurden mittels Bolzenschuss betäubt und anschließend wurde der Tod durch Entbluten herbeigeführt. Nach der

Eviszeration wurde der Gastrointestinaltrakt in eine Wanne überführt und der Caecuminhalt wurde über die geöffnete Caecumspitze entnommen. Mittels Gazefiltration wurde die flüssige Phase von der Partikelphase abgetrennt. Die beiden Phasen wurden anschließend in vorgewärmte Wärmebehälter (ca. 39 °C) abgefüllt und unter Ausschluss von Sauerstoff ins Physiologische Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover transportiert. Zur Befüllung der Anlagen am Starttag der Versuche siehe Kapitel 2.1.2.

Tab. 2.2: Spendertiere für die Entnahme des Caecuminhaltes (Inokulum) am Starttag der Versuche (Herkunft der Pferde: P = Klinik für Pferde, S = Pferdeschlachterei)

Starttag	Versuch	Rasse	Alter	Geschlecht	Fütterung	Krank-heiten	Herkunft
8.06.2006	1	Deutsches Reitpony	10 Jahre	Wallach	Heu, Stroh, Kraftfutter	Head-shaker	P
22.08.2006	2	Warmblut	12 Jahre	Stute	Weide, Heu, Stroh, Kraftfutter	Ataxie	P
19.10.2006	3	Haflinger	10 Jahre	Wallach	Heu, Leinstreu, Möhren	Hufrehe	P
2.11.2006	4	Warmblut	13 Jahre	Wallach	Heu, Stroh	Head-shaker	P
23.11.2006	5	Warmblut	16 Jahre	Stute	Heu, Stroh, Kraftfutter	Melanome	P
25.01.2007	6	Warmblut	10 Jahre	Wallach	Heu, Stroh, Kraftfutter	-	P
26.03.2007	7	Warmblut	4 Jahre	Hengst	Heu, Stroh, Kraftfutter	-	S
4.06.2007	8	Warmblut	20 Jahre	Wallach	Weide	-	S
22.10.2007	9	Warmblut	19 Jahre	Stute	Weide, Heu, Stroh	-	S

2.3 Versuchsdurchführung

Die experimentellen Untersuchungen setzten sich aus zwei Versuchsreihen zusammen. Versuchsreihe 1 diente der Etablierung der Colon-Simulationstechnik zur Simulation des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Pferd. In Versuchsreihe 2 wurden die Auswirkungen von Erythromycin (Erythromycin freie Base BioChemica, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) und einer Reduktion der Trockensubstanz auf die mikrobiellen Stoffwechselleistungen im Cositec-System untersucht.

Die in allen Versuchsansätzen verwendete Pufferlösung entsprach in ihrer ionalen Zusammensetzung der Ileumflüssigkeit des Pferdes. Der pH-Wert der Pufferlösung lag bei 7,31 ± 0,02, die Osmolarität betrug 300 ± 3 mosm/l.

Tab. 2.3: Zusammensetzung der Pufferlösung; [mmol/l]

NaCl	115
$MgCl_2$ x 6 H_2O	2,5
$CaCl_2$ x 2 H_2O	2,5
NaH_2PO_4 x H_2O	1,0
KCl	10,0
Na_2SO_4	2,0
$NaHCO_3$	25,0
NH_4Cl	5,0

2.3.1 Versuchsreihe 1: Etablierung der Colon-Simulationstechnik

Zur Etablierung der Colon-Simulationstechnik wurden sechs Versuche durchgeführt. Jeder Versuch erstreckte sich über eine Dauer von zehn Tagen und war in zwei Phasen unterteilt. Die fünftägige Äquilibrierungsphase diente der Anpassung der Caecum-Mikroorganismen an die *In-vitro*-Bedingungen des Cositec-Systems. Im Anschluss an die Äquilibrierungsphase erfolgte die Erfassung der Parameter des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels unter standardisierten Kontrollbedingungen (Kontrollphase) über die Dauer von fünf Tagen. Pro Versuchsansatz wurden sechs bzw. zwölf Fermenter gleichzeitig verwendet, wobei alle Fermenter eines Versuches über die gesamte Versuchsdauer gleich behandelt wurden. In Tabelle 2.4 ist der Aufbau der Versuche 1 bis 6 dargestellt.

Tab. 2.4: Aufbau der Versuche 1 bis 6 zur Etablierung der Colon-Simulationstechnik

Versuch	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Anzahl der Fermenter	6	6	6	6	12	6
Äquilibrierungsphase [d]	5	5	5	5	5	5
Kontrollphase [d]	5	5	5	5	5	5
Perfusionsrate [ml]	375	250	125	125	125	125
Frische Partikelphase am Starttag [g]	2 x 6	2 x 6	2 x 6	2 x 6	2 x 6	2 x 6
Gefriergetrocknete Partikelphase pro Tag [g]	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8

Die Versuche 1 und 2 unterschieden sich von den restlichen Versuchen in der Perfusionsrate der Pufferlösung. Im ersten Versuch wurde eine Perfusionsrate von ca. 375 ml pro Tag gewählt, welche etwa einem dreimaligen Flüssigkeitsturnover innerhalb von 24 Stunden entsprach. Im zweiten Versuch wurde der Flüssigkeitsturnover auf zweimal pro Tag reduziert, so dass eine Perfusionsrate von ca. 250 ml Pufferlösung pro Tag vorlag. In den darauf folgenden Versuchen wurde eine Perfusionsrate von ca. 125 ml Pufferlösung pro Tag (einmaliger Flüssigkeitsturnover) festgelegt. Im Ergebnisteil wurden aufgrund der Gleichheit der Versuchsbedingungen ausschließlich die Versuche 3 bis 6 dargestellt und statistisch ausgewertet. Im Anhang sind die Einzelwerte der Versuche 1 bis 6 aufgeführt.

2.3.2 Versuchsreihe 2: Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz

Um die Veränderungen aufzuzeigen, die im Zuge einer Erythromycin-Applikation und einer Reduktion der Trockensubstanz im mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel auftreten, wurden die Äquilibrierungs- und die Kontrollphase durch eine siebentägige Versuchsphase ergänzt. Während der Versuchsphase wurden die zwölf Fermenter in vier Versuchsansätze aufgeteilt, wobei jeder Versuchsansatz drei Fermenter umfasste. Die Kennzeichnung der Fermenter wurde nach dem Alphabet vorgenommen. Erythromycin wurde ab dem 10. Versuchstag kontinuierlich über die Pufferlösung dem System zugeführt. Vom gleichen Zeitpunkt an wurden die entnommenen Beutel durch Beutel mit einer reduzierten Trockensubstanzmenge ersetzt. Tabelle 2.5 enthält den Aufbau der Versuch 7 bis 9.

Tab. 2.5: Aufbau der Versuche 7 bis 9 zur Untersuchung der Wirkung von Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz

Versuch	**7**	**8**	**9**
Anzahl der Fermenter	12	12	12
Äquilibrierungsphase [d]	5	5	5
Kontrollphase [d]	5	5	5
Versuchsphase [d]	7	7	7
Perfusionsrate [ml]	125	125	125
Frische Partikelphase am Starttag [g]	2 x 8	2 x 8	2 x 8
Gefriergetrocknete Partikelphase pro Tag während der Kontrollphase [g]	1,5	1,5	1,5

2.3.2.1 Erythromycin

Um die Wirkung von Erythromycin auf den ungestörten mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel zu untersuchen, wurden in Versuch 7 vier unterschiedliche Dosierungen (1,25, 2,5, 10 und 20 mg/d) eingesetzt (Tab. 2.6).

Tab. 2.6: Versuch 7: Versuchsaufbau und untersuchte Parameter vor und während der Erythromycin-Zugabe (E-Zugabe)

Versuchsphasen	Versuchstage	Parameter	E-Zugabe
Äquilibrierungs-phase	1-5	pH-Wert, Redoxpotential	-
Kontrollphase	6-10	pH-Wert, Redoxpot., SCFA, NH_3-N, VOS	-
Versuchsphase	11-17	pH-Wert, Redoxpotential, SCFA, NH_3-N, VOS	*Fermenter:* *A-C:* 1,25 mg/d (E1,25) *D-F:* 2,5 mg/d (E2,5) *G-J:* 10 mg/d (E10) *K-L:* 20 mg/d (E20)

2.3.2.2 Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz

In Versuch 8 wurde die Wirkung von Erythromycin alleine und in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf den ungestörten mikrobiellen Dickdarm-stoffwechsel untersucht. Während alle Fermenter (A bis L) 10 mg Erythromycin pro Tag erhielten, wurde in den Fermentern A bis C zusätzlich die Trockensubstanz des zu fermentierenden Substrates auf 10 % (E10TS10), in den Fermentern D bis F auf 30 % (E10TS30) und in den Fermentern G bis I auf 60 % (E10TS60) im Vergleich zur Kontrollphase reduziert. In den Fermentern J bis L wurde keine Reduktion der Trockensubstanz vorgenommen (E10TS100) (Tab 2.7).

Tab. 2.7: Versuch 8: Versuchsaufbau und untersuchte Parameter vor und während der Erythromycin-Zugabe (E-Zugabe) und der Reduktion der Trockensubstanz

Versuchs-phasen	Versuchs-tage	Parameter	E-Zugabe	Substratmenge
Äquilibrierungs-phase	1-5	pH-Wert, Redoxpotential	-	*Fermenter:* *A-L:* 100 %
Kontrollphase	6-10	pH-Wert, Redoxpotential, SCFA, NH_3-N, VOS	-	*Fermenter:* *A-L:* 100 %
Versuchsphase	11-17	pH-Wert, Redoxpotential, SCFA, NH_3-N, VOS	*Fermenter:* *A-L:*10 mg/d	*Fermenter:* *A-C:* 10 % (E10TS10) *D-F:* 30 % (E10TS30) *G-I:* 60 % (E10TS60) *J-L:* 100 % (E10TS100)

In Versuch 9 erfolgte die vergleichende Untersuchung der Faktoren Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz alleine sowie in Kombination hinsichtlich ihrer Wirkung auf den mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel. Die Fermenter A bis C wurden über den gesamten Versuchsverlauf nicht behandelt und dienten somit als Kontrolle (K). Die Fermenter D bis F erhielten 10 mg Erythromycin pro Tag (E10TS100), während in den Fermentern G bis I die Trockensubstanz auf 30 % im Vergleich zur Kontrollphase reduziert wurde (E0TS30). In den Fermenter J bis L wurde eine Kombination der Faktoren Erythromycin (10 mg/d) und Reduktion der Trockensubstanz (30 %) vorgenommen (E10TS30) (Tab 2.8).

Tab. 2.8: Versuch 9: Versuchsaufbau und untersuchte Parameter vor und während der Erythromycin-Zugabe (E-Zugabe) und der Reduktion der Trockensubstanz

Versuchs-phasen	Versuchs-tage	Parameter	E-Zugabe	Substratmenge
Äquilibrierungs-phase	1-5	pH-Wert, Redoxpotential	-	*Fermenter:* *A-L:* 100 %
Kontrollphase	6-10	pH-Wert, Redoxpotential, SCFA, NH_3-N, VOS	-	*Fermenter:* *A-L:* 100 %
Versuchsphase	11-17	pH-Wert, Redoxpotential, SCFA, NH_3-N, VOS	*Fermenter:* *A-C:* - *D-F:* 10mg/d *G-I:* - *J-L:* 10mg/d	*Fermenter:* *A-C:* 100 % (K) *D-F:* 100 % (E10TS100) *G-I:* 30 % (E0TS30) *J-L:* 30 % (E10TS30)

2.4 Messgrößen und analytische Methoden

Um die Einstellung eines kontinuierlichen Fließgleichgewichtes während der fünftägigen Äquilibrierungsphase zu kontrollieren, wurden täglich pH-Wert und Redoxpotential gemessen. Während der Kontroll- und Versuchsphase erfolgte die Probenentnahme zur Bestimmung der mikrobiellen Fermentationsparameter, wobei die täglichen Produktionsraten der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat, deren molare Anteile, die Ammoniak-Konzentrationen und die Verdaulichkeiten der organischen Substanz erfasst wurden.

2.4.1 Messung von pH-Wert und Redoxpotential

Die Messungen von pH-Wert und Redoxpotential wurden unmittelbar vor dem täglichen Beutelwechsel in der flüssigen Phase der Fermenter vorgenommen.

Die Messung des pH-Wertes erfolgte über die Dauer von 30 Sekunden mit einem pH-Meter (Digital-pH-Meter 646, Knick, Berlin, Deutschland) und einer Einstabmesskette (Typ 408, Mettler Toledo, Steinbach, Deutschland). Die Eichung des pH-Meters wurde täglich vor der ersten Messung mit einer Eichlösung für den Bereich pH 4 und mit einer weiteren Eichlösung für den Bereich von pH 7 (pH-Pufferlösungen, Mettler Toledo, Steinbach, Deutschland) durchgeführt.

Als Maß für die anaeroben Verhältnisse in den Fermentern, wurde im Anschluss an die Messung des pH-Wertes das Redoxpotential [mV] über die Dauer von 60 Sekunden ermittelt. Die Messung des Redoxpotentials erfolgte mit Hilfe eines pH-Meters (Digital-pH-Meter 646, Knick, Berlin, Deutschland) und einer Einstabmesskette (Typ Pt 4805-S7/120, Mettler Toledo, Steinbach, Deutschland).

2.4.2 Bestimmung der Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren (SCFA)

Zur Bestimmung der SCFA-Konzentrationen wurden während der Kontroll- und der Versuchsphase täglich ca. 7 ml aus jedem Überlauf entnommen. In den Versuchen 3 bis 6 wurden am Starttag der Versuche zur Bestimmung der SCFA-Konzentrationen in der Caecumflüssigkeit des jeweiligen Pferdes zusätzlich jeweils ca. 7 ml frische Caecumflüssigkeit gewonnen. Die Proben wurden in Glasfläschchen abgefüllt, mit

Hilfe von Schraubdeckeln luftdicht verschlossen und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C aufbewahrt.

Die SCFA-Konzentrationen wurden mittels gaschromatographischer Messung (Hewlett Packard, Gaschromatograph 5890 II, Böblingen, Deutschland) bestimmt. Das Gerät ist mit einem automatischen Injektor (HP 7673 II) und einem FID ausgestattet. Zur quantitativen Bestimmung wird ein Integrator (HP 3396 II) verwendet (ENGELHARDT u. SALLMANN 1972).

Die tiefgefrorenen Proben aus den täglichen Überläufen wurden über Nacht im Kühlschrank bei 4 °C aufgetaut. Jede Probe wurde für 20 Minuten bei 4 °C und 40.000 *g* zentrifugiert (Sorvall RC-5C/ Rotor SM 24, Du Pont Instruments, Bad Homburg, Deutschland). Anschließend wurde jeweils 1 ml abpipettiert, mit 0,1 ml 98 %-iger Ameisensäure versetzt, durchmischt und nach zehnminütiger Wartezeit erneut für 10 Minuten bei 4.000 *g* zentrifugiert (Minifuge II, Heraeus-Christ GmbH, Osterode, Deutschland). Ein Milliliter des Überstandes wurde in Rollrand-Ampullen (1 ml Nutzvolumen, Fa. Kleinfeld, Hannover, Deutschland) gefüllt und luftdicht verschlossen. Für die Analysen wurde eine selbst gepackte Glassäule (Länge 1,8 m, Innendurchmesser 2 mm) verwendet. Als Füllmaterial diente Chromosorb WAW 80/100 mesh mit 20 % Neopentyl-Glycol-Succinat (NPGS) und 2 % ortho-Phosphorsäure (Anylat, Mühlheim, Deutschland). Zur Detektion der kurzkettigen Fettsäuren wurde ein FID verwendet. Die Flussraten der Brenngase Wasserstoff und synthetische Luft betrugen 30 bzw. 420 ml/min. Als Trägerstoff wurde Stickstoff (Reinheit 5,0) mit einem Gesamtfluss von etwa 25 ml/min verwendet. Um eine schnellere Verdampfung der Probe zu erzielen, erfolgte die Trennung isotherm bei einer Ofentemperatur von 130 °C, einer Injektortemperatur von 220 °C und einer Detektortemperatur von 250 °C.

Die Berechnung der SCFA-Konzentrationen erfolgte über externe Standards (Fa. Sigma, Deisenhofen, Deutschland), die kontinuierlich nach jeder zehnten Probe gemessen wurden. Die täglichen Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) [mmol/d] wurden aus den Konzentrationen der jeweiligen kurzkettigen Fettsäure [mmol/l] und den täglichen Überläufen [ml/d]

berechnet. Die molaren Anteile an Acetat, Propionat und Butyrat wurden aus dem jeweiligen Anteil an den gemessenen SCFA-Konzentrationen ermittelt.

2.4.3 Bestimmung der Ammoniak-Konzentration

Zur Bestimmung der Ammoniak-Konzentration wurden von jedem Überlauf ca. 3 ml in Glasfläschchen abgefüllt, luftdicht verschlossen und bei -20 °C aufbewahrt. Die Probenanalyse erfolgte photometrisch mit der Harnstoff-Test-Kombination (Roche, Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Bei dieser Reaktion bilden die Ammoniumionen mit Phenol und Hypochlorit einen Farbstoffkomplex, dessen Absorption bei einer Wellenlänge von 546 nm im Photometer (Spectrophotometer DU® 640, Beckmann Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland) gemessen wurde.

2.4.4 Bestimmung der Verdaulichkeit der organischen Substanz

Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden, wurden die Nylonbeutel aus den Fermentern herausgenommen und zweimal mit jeweils 10 ml vorgewärmter Pufferlösung gewaschen. Während die flüssige Phase wieder in den jeweiligen Fermenter zurückgegeben wurde, erfolgte die Aufbewahrung der Beutel bis zur weiteren Analyse bei -20 °C. Zur Ermittlung der Verdaulichkeit der organischen Substanz wurden die Beutel für 48 Stunden bei 65 °C im Trockenschrank (D 06062, Modell 600, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach der Abkühlung auf Raumtemperatur erfolgte die Rückwaage der Beutel. Anschließend wurde der Beutelinhalt in einen Tiegel gegeben und bei 600 °C über 24 Stunden in einem Muffelofen (Typ M110, Heraeus, Hanau, Deutschland) verascht. Zur Abkühlung wurde der Tiegel in einem Exsikkator aufbewahrt und anschließend wurde das Gewicht der Rohasche ermittelt. Die Verdaulichkeit der organischen Substanz wurde nach KELLNER et al. (1984) aus der Differenz der Trockenmasse und des Rohaschegehaltes des Beutelinhaltes vor und nach der Inkubation über 48 Stunden berechnet. Die Berechnung der Verdaulichkeit der organischen Substanz erfolgte nach folgender Formel:

Verdaulichkeit (%) = $\frac{(I - F)}{I}$ x 100

I: Eingewogene Substratmenge in g organischer Substanz

F: Rückgewogene Substratmenge in g organischer Substanz

2.4.5 Bestimmung der Erythromycin-Konzentration im Caecuminhalt

Um die Erythromycin-Konzentration im Caecuminhalt eines Pferdes zu bestimmen, wurde einer vierjährigen Warmblutstute in der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover über die Dauer von 5 Tagen Erythromycin-Ethylsuccinat (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden) oral verabreicht. Diese Dosierung richtete sich nach der von GUSTAFSSON et al. (1997) verwendeten Dosierung, mit der die Typhlocolitis experimentell induziert werden konnte. Direkt nach der Tötung des Pferdes wurde der Caecuminhalt entnommen und mittels Gazefiltration erfolgte die Trennung der flüssigen Phase von der Partikelphase. Anschließend wurden ca. 500 g der Partikelphase in ein 500 ml Weithalsfläschchen abgefüllt und bei -20 °C eingefroren. Die Bestimmung der Erythromycin-Konzentration erfolgte am Institut für Umweltanalytik der Universität Duisburg-Essen. Der Versand wurde auf Trockeneis vorgenommen. Die Analyse mittels Festphasenextraktion, chromatographischer Trennung und Massenspektrometer kam zu dem Ergebnis, dass pro Kilogramm Caecuminhalt 20 ± 3 mg Erythromycin enthalten waren. Des Weiteren wurde ein Metabolit des Erythromycins (Anhydroerythromycin) nachgewiesen. Die Konzentration dieser Substanz lag in derselben Größenordnung wie die des Erythromycins, Anhydroerythromycin ist jedoch antibiotisch nicht aktiv.

2.5 Statistik

Die statistische Auswertung der Messergebnisse, die mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik gewonnen wurden, erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS® (Version 9.1) für Windows® und der Prozedur GLM.

In Versuchsreihe 1 wurden die mittleren Kurvenhöhen (Mittelwert der Messergebnisse aus allen Fermentern eines Versuches von Tag 6 bis Tag 10) der einzelnen

Versuche mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse für unabhängige Stichproben im Faktor Versuch und verbundene Stichproben im Faktor Zeit miteinander verglichen. Um herauszufinden, welche Einzelversuche sich paarweise unterscheiden, wurden t-verteilte Prüfgrößen (SAS-Option PDIFF im SAS-GLM-Befehl LSMEANS) verwendet. Zusätzlich wurde der Einfluss der Zeit als Faktor mit verbundenen Stichproben mittels eines globalen F-Tests untersucht.

In Versuchsreihe 2 wurden entsprechend der Versuchsreihe 1 die mittleren Kurvenhöhen (Mittelwert der Messergebisse aus den 3 Fermentern eines Versuchsansatzes von Tag 10 bis Tag 17) der einzelnen Versuchsansätze miteinander verglichen. Die verschiedenen Behandlungen entsprachen in Versuch 7 Erythromycin, in Versuch 8 Reduktion der Trockensubstanz und in Versuch 9 Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz.

Die zu fordernde Voraussetzung der Normalverteilung der Residuen wurde geprüft und bestätigt. Ab einer Überschreitungswahrscheinlichkeit der Prüfgrößen (p-Werte) von kleiner 5 % ($p < 0{,}05$) wurde ein Unterschied als signifikant bezeichnet. Die Ergebnisse sind im Text als Mittelwerte mit der dazugehörigen Standardabweichung ($\bar{x}$ ± SD) aufgeführt.

3 Ergebnisse

Als Messgrößen zur Beurteilung der mikrobiellen Fermentation wurden die pH-Werte, Redoxpotentiale, Produktionsraten der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat, deren molare Anteile, Ammoniak-Konzentrationen und die Verdaulichkeiten der organischen Substanz bestimmt. Die Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse und zum paarweisen Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen sind unterhalb der jeweiligen Graphik aufgeführt. Die Einzelwerte aller Versuche sind den Tabellen im Anhang zu entnehmen.

3.1 Versuchsreihe 1: Etablierung der Colon-Simulationstechnik

In Versuchsreihe 1 erfolgte die Etablierung der Colon-Simulationstechnik zur Untersuchung des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Pferd. Hierfür wurden vier identisch aufgebaute Versuche (3 bis 6) durchgeführt, wobei in den Versuchen 3, 4 und 6 sechs Fermenter und in Versuch 5 zwölf Fermenter gleichzeitig inkubiert wurden. Die Messergebnisse wurden für jeden Versuch als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x}$ ± SD) angegeben. Zur Darstellung der Variabilität innerhalb der einzelnen Versuche erfolgte die Berechnung der Variationskoeffizienten.

3.1.1 pH-Wert

Die pH-Werte der Versuche 3 bis 6 lagen im Mittel bei 6,62 ± 0,11 (Versuch 3), 6,63 ± 0,06 (Versuch 4), 6,63 ± 0,05 (Versuch 5) und 6,59 ± 0,07 (Versuch 6). Zwischen den Versuchen konnte kein signifikanter Unterschied im pH-Wert festgestellt werden. Auch der Faktor Zeit hatte keinen Einfluss auf den pH-Wert (Abb. 3.1). Die Variationskoeffizienten lagen zwischen 0,8 % (Versuch 5) und 1,7 % (Versuch 3).

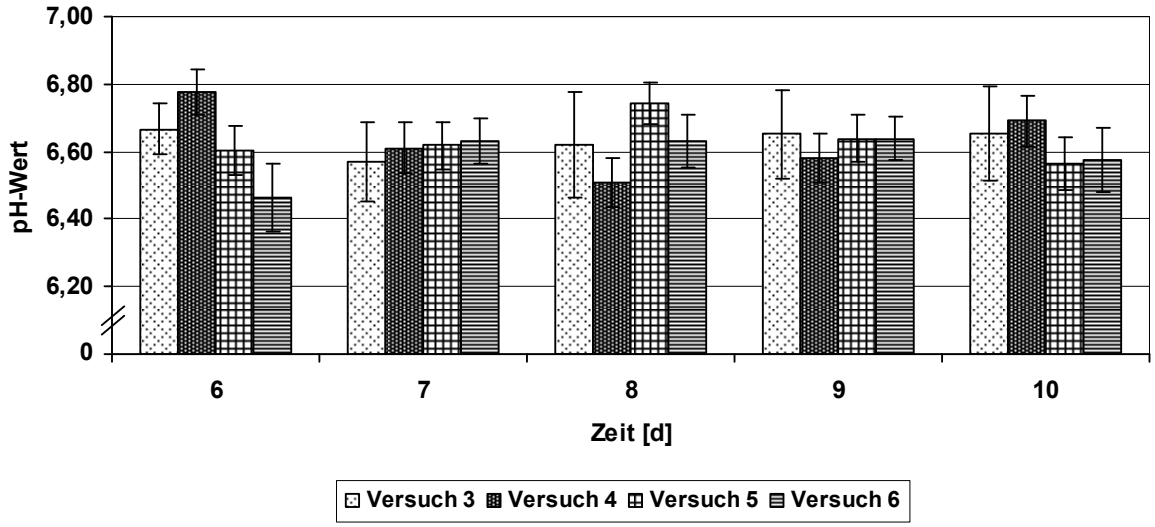

Abb. 3.1: pH-Werte in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch n.s., Faktor Zeit n.s.

3.1.2 Redoxpotential

Die Redoxpotentiale lagen in Versuch 3 im Mittel bei -202 ± 20 mV, in Versuch 4 bei -209 ± 19 mV, in Versuch 5 bei -216 ± 18 mV und in Versuch 6 bei -197 ± 14 mV. In Versuch 5 waren die Redoxpotentiale im Mittel signifikant höher als in Versuch 6. Auch in Bezug auf das Redoxpotential konnte kein Einfluss der Zeit festgestellt werden (Abb. 3.2). Für das Redoxpotential wurden Variationskoeffizienten zwischen 7,1 % (Versuch 6) und 9,9 % (Versuch 3) ermittelt.

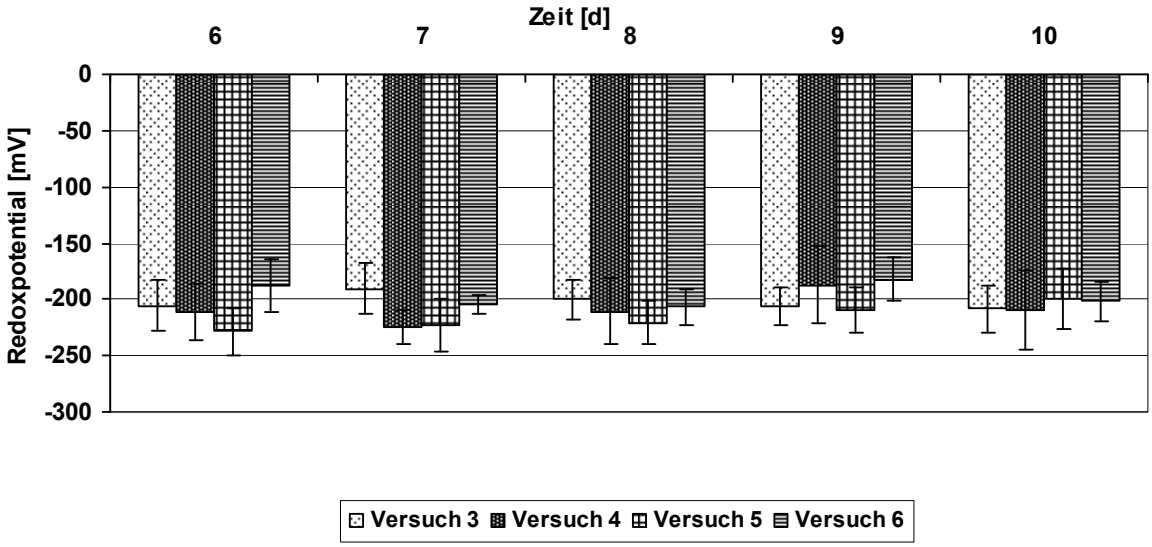

Abb. 3.2: Redoxpotentiale [mV] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 5 vs. Versuch 6

3.1.3 SCFA-Produktionsraten

Die SCFA-Produktionsraten betrugen im Mittel 1,49 ± 0,14 mmol/d (Versuch 3), 1,36 ± 0,17 mmol/d (Versuch 4), 1,52 ± 0,06 mmol/d (Versuch 5) und 1,61 ± 0,08 mmol/d (Versuch 6). Die varianzanalytische Auswertung ergab in Versuch 4 im Vergleich zu den Versuchen 5 und 6 signifikant niedrigere SCFA-Produktionsraten. Es konnte jedoch kein Einfluss der Zeit nachgewiesen werden (Abb. 3.3). Die Variationskoeffizienten für die SCFA-Produktionsraten lagen zwischen 3,9 % (Versuch 5) und 12,5 % (Versuch 4).

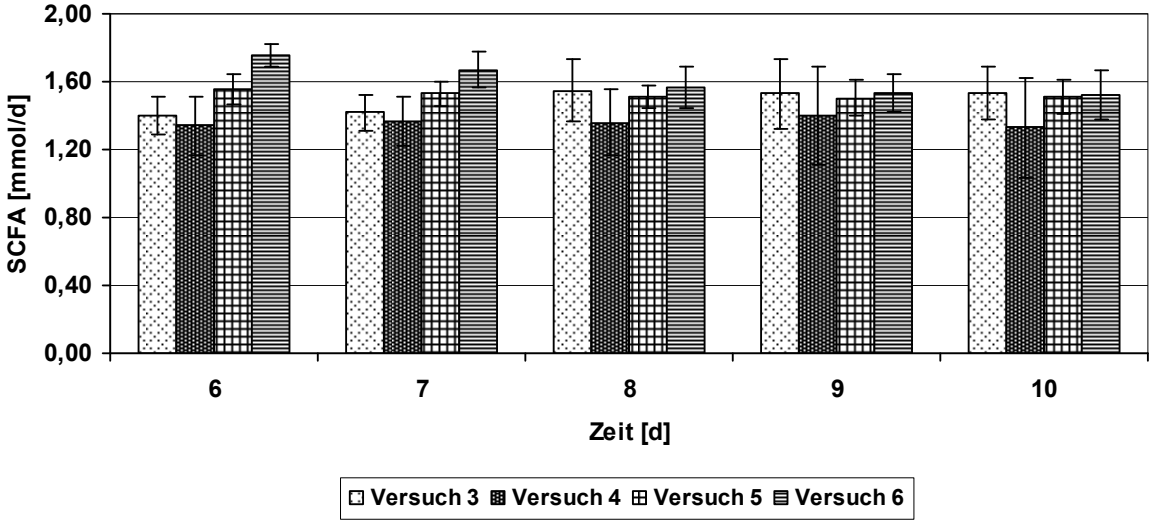

Abb. 3.3: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 6

3.1.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

Die Acetat-Produktionsraten lagen in den Versuchen 3 (0,92 ± 0,08 mmol/d) und 4 (0,88 ± 0,12 mmol/d) signifikant unter den Acetat-Produktionsraten in den Versuchen 5 (1,04 ± 0,05 mmol/d) und 6 (1,10 ± 0,06 mmol/d). Auch hier konnte kein Einfluss der Zeit nachgewiesen werden (Abb. 3.4). Die Variationskoeffizienten befanden sich in einem Bereich zwischen 4,8 % (Versuch 5) und 13,6 % (Versuch 4).

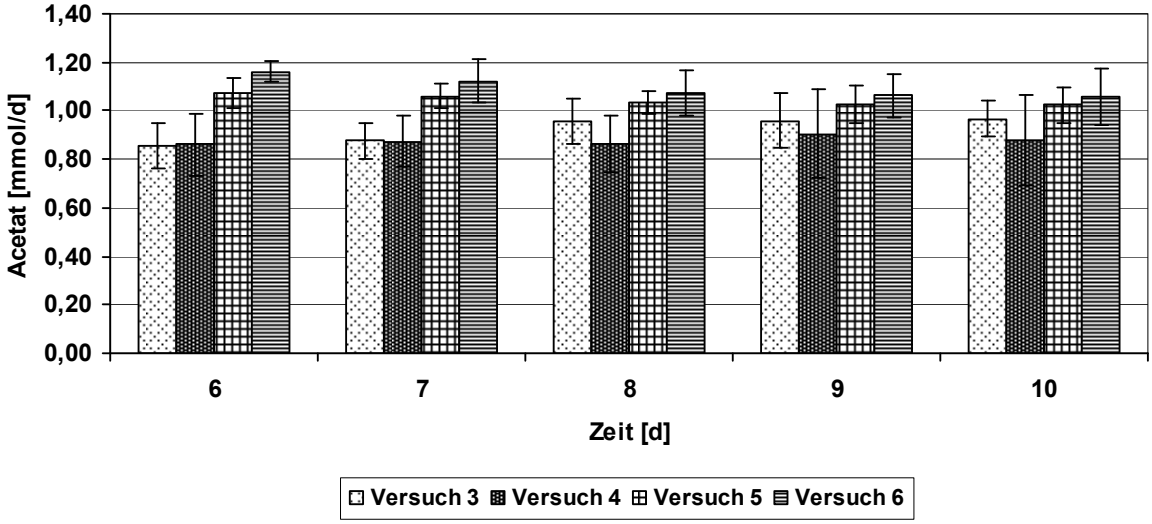

Abb. 3.4: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 3 vs. Versuch 5; Versuch 3 vs. Versuch 6; Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 6

In Versuch 3 (0,42 ± 0,05 mmol/d) wurden signifikant höhere Propionat-Produktionsraten verglichen mit den Versuchen 4 (0,37 ± 0,04 mmol/d), 5 (0,31 ± 0,01 mmol/d) und 6 (0,36 ± 0,01 mmol/d) nachgewiesen. Des Weiteren wurden in den Versuchen 4 und 6 signifikant höhere Propionat-Produktionsraten gegenüber Versuch 5 festgestellt. Der Faktor Zeit hatte keinen Einfluss auf die Propionat-Produktionsraten (Abb. 3.5). Die Variationskoeffizienten lagen zwischen 2,8 % (Versuch 6) und 11,9 % (Versuch 3).

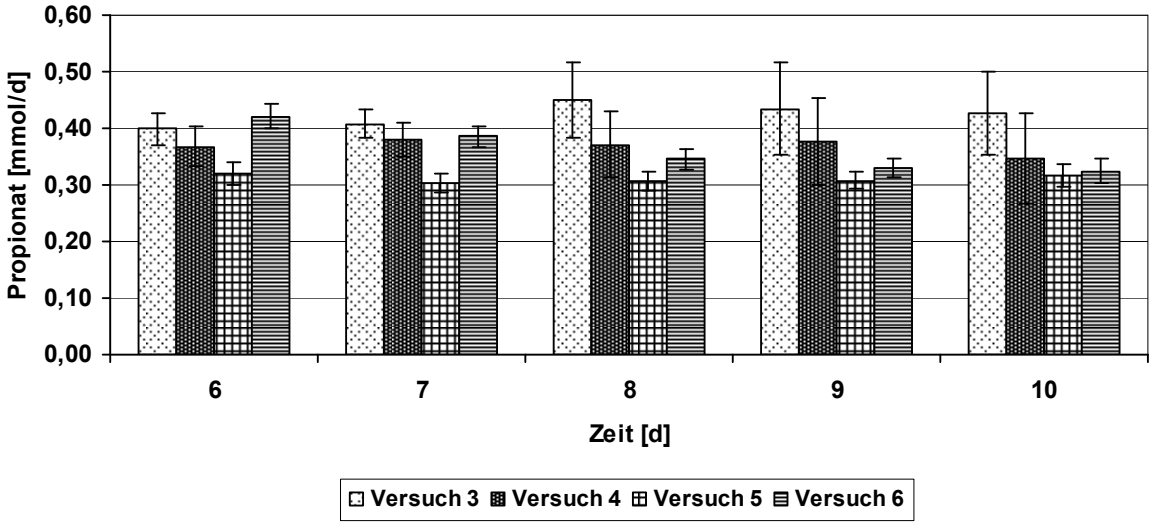

Abb. 3.5: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 3 vs. Versuch 4; Versuch 3 vs. Versuch 5; Versuch 3 vs. Versuch 6; Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 5 vs. Versuch 6

Die Butyrat-Produktionsraten lagen in Versuch 5 (0,17 ± 0,02 mmol/d) signifikant über den Butyrat-Produktionsraten in den Versuchen 3 (0,14 ± 0,02 mmol/d), 4 (0,11 ± 0,02 mmol/d) und 6 (0,15 ± 0,01 mmol/d). Im Vergleich zu Versuch 4 wurden in den Versuchen 3 und 6 signifikant höhere Butyrat-Produktionsraten nachgewiesen. Der Faktor Zeit hatte keinen Einfluss auf die Produktionsraten des Butyrats (Abb. 3.6). Für die Butyrat-Produktionsraten wurden Variationskoeffizienten zwischen 6,7 % (Versuch 6) und 18,2 % (Versuch 4) ermittelt.

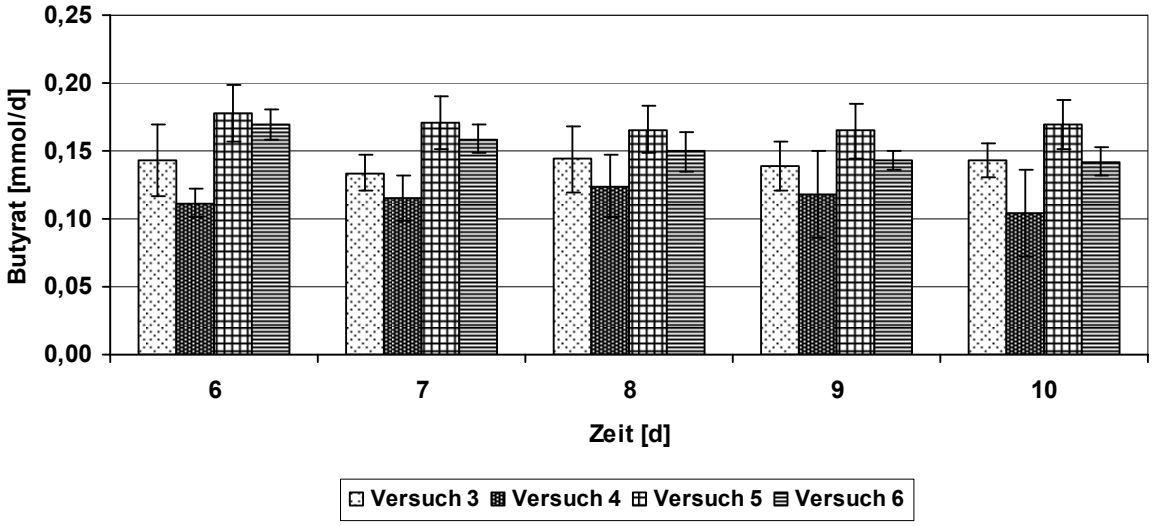

Abb. 3.6: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 3 vs. Versuch 4; Versuch 3 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 6; Versuch 5 vs. Versuch 6

3.1.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

In den Abbildungen 3.7 bis 3.10 sind die molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat für jeden Versuch einzeln dargestellt. Am Beispiel von Versuch 3 (Abb. 3.7) wird ersichtlich, dass sich das Verhältnis der kurzkettigen Fettsäuren während der Inkubation im Cositec-System gegenüber dem Starttag bzw. der *In-vivo*-Situation im Caecum des Pferdes veränderte, die molaren Anteile an Acetat, Propionat und Butyrat jedoch über die Dauer der Kontrollphase konstant blieben. Am Starttag dieses Versuches lag das prozentuale Verhältnis von Acetat, Propionat und Butyrat bei 71 : 21 : 8. Während der Inkubation im Cositec-System konnte eine Verminderung des molaren Anteils an Acetat auf 61 % am ersten Tag der Kontrollphase beobachtet werden. Die Abnahme des Acetat-Anteils erfolgte zugunsten des molaren Anteils an Propionat, welcher am ersten Tag der Kontrollphase 29 % betrug. Im Gegensatz dazu blieb der molare Anteil an Butyrat nahezu unverändert. Die Variationskoeffizienten lagen in diesem Versuch zwischen 1,35 %

für den molaren Acetat-Anteil und 4,75 % für den molaren Butyrat-Anteil.

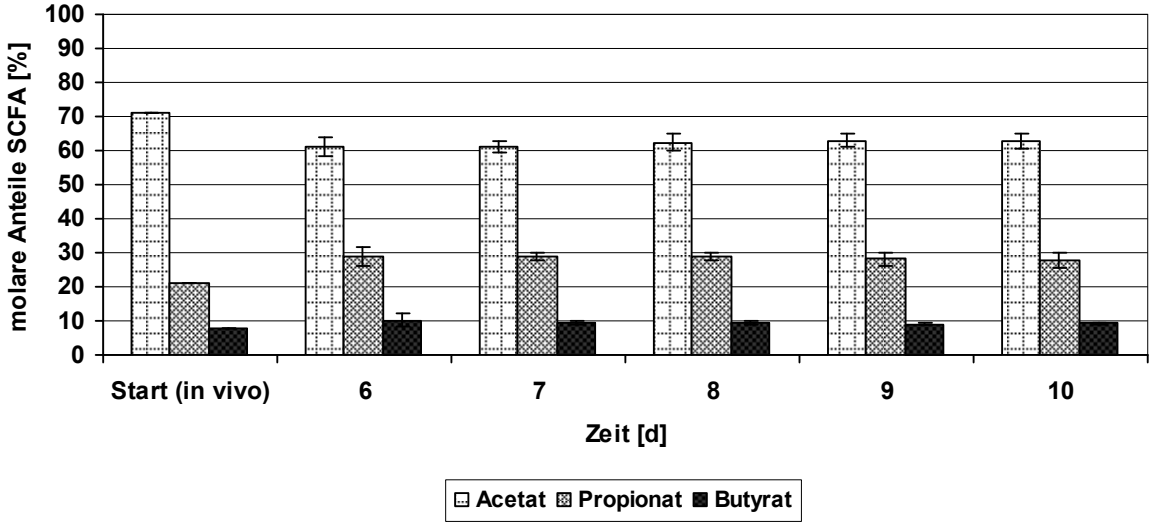

Abb. 3.7: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat am Starttag des Versuches (*in vivo*) und während der Kontrollphase von Versuch 3 ($\bar{x}$ ± SD, n = 6)

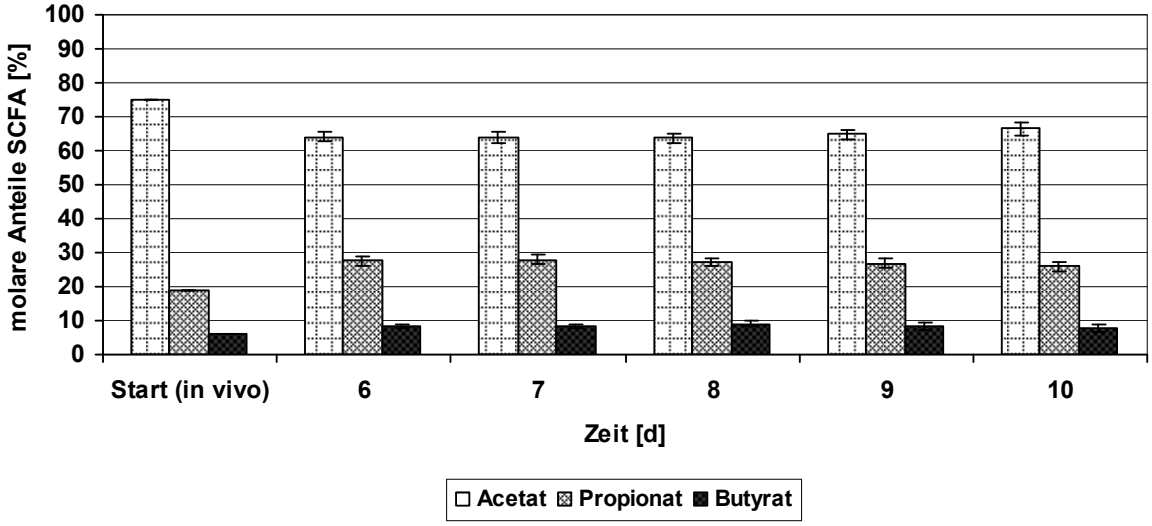

Abb. 3.8: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat am Starttag des Versuches (*in vivo*) und während der Kontrollphase von Versuch 4 ($\bar{x}$ ± SD; n = 6)

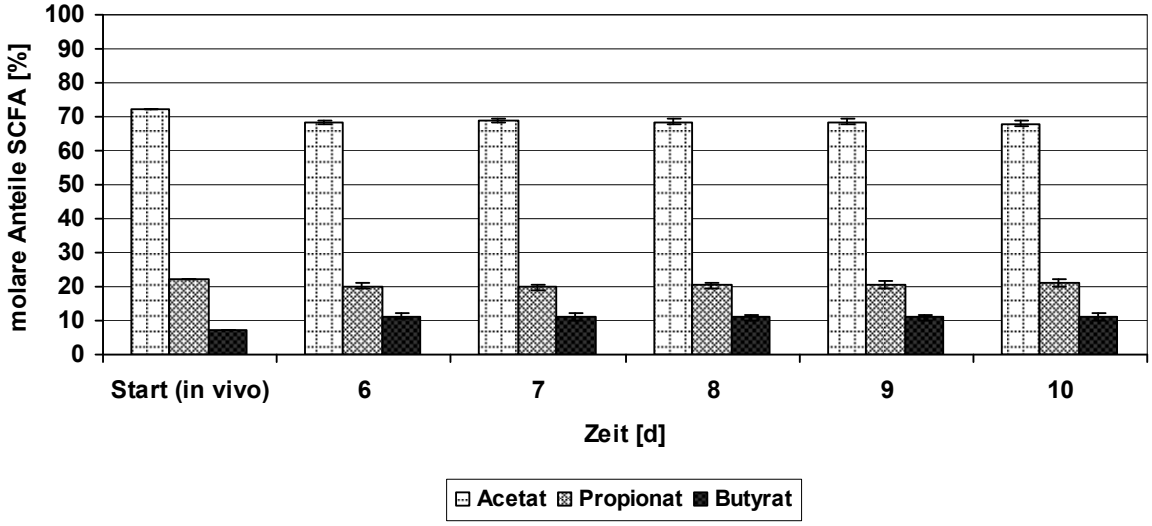

Abb. 3.9: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat am Starttag des Versuches (*in vivo*) und während der Kontrollphase von Versuch 5 ($\bar{x}$ ± SD; n = 12)

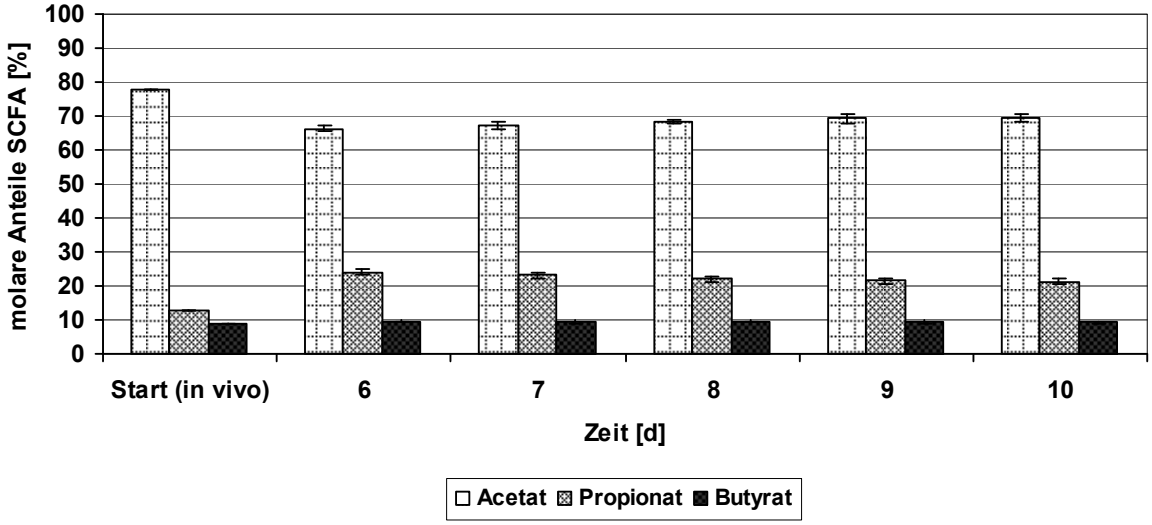

Abb. 3.10: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat am Starttag des Versuches (*in vivo*) und während der Kontrollphase von Versuch 6 ($\bar{x}$ ± SD; n = 6)

3.1.6 Ammoniak-Konzentration

In Versuch 4 (8,3 ± 0,9 mmol/l) wurden signifikant niedrigere Ammoniak-Konzentrationen im Vergleich zu den Versuchen 3 (9,1 ± 0,3 mmol/l), 5 (9,4 ± 0,4 mmol/l) und 6 (9,3 ± 0,4 mmol/l) nachgewiesen. Es konnte jedoch kein Einfluss der Zeit beobachtet werden (Abb. 3.11). Die Variationskoeffizienten befanden sich in einem Bereich zwischen 3,5 % (Versuch 3) und 10,5 % (Versuch 4).

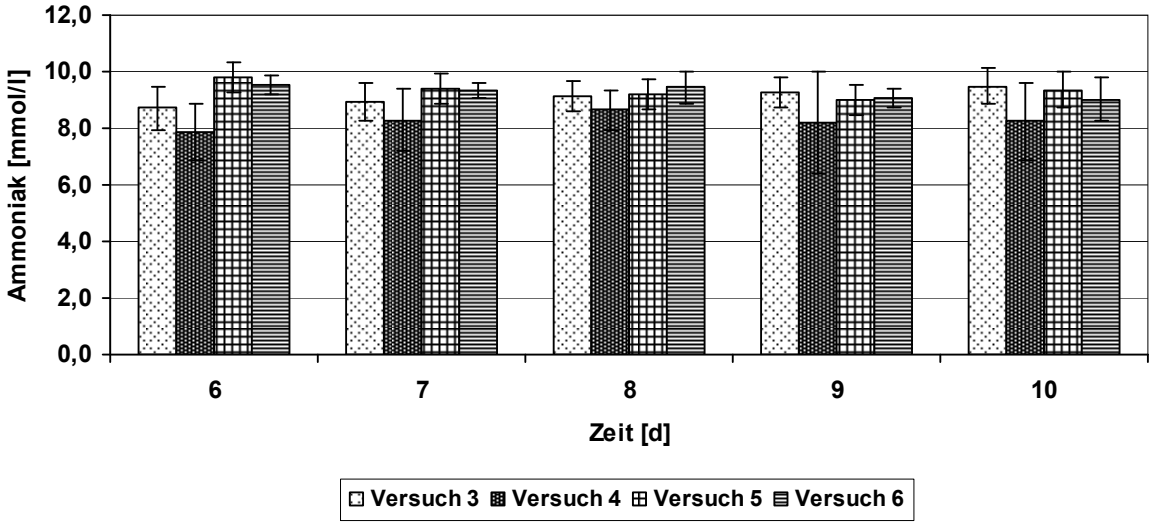

Abb. 3.11: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 3 vs. Versuch 4; Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 6

3.1.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz

Im Vergleich zu den Versuchen 5 (14,6 ± 0,6 %) und 6 (14,2 ± 0,6 %) konnten in den Versuchen 3 (16,6 ± 1,5 %) und 4 (16,9 ± 1,1 %) signifikant höhere Verdaulichkeiten der organischen Substanz ermittelt werden. Der Faktor Zeit übte keinen Einfluss auf die Verdaulichkeiten der organischen Substanz aus (Abb. 3.12). Die Variationskoeffizienten lagen zwischen 4,1 % (Versuch 5) und 9,0 % (Versuch 3).

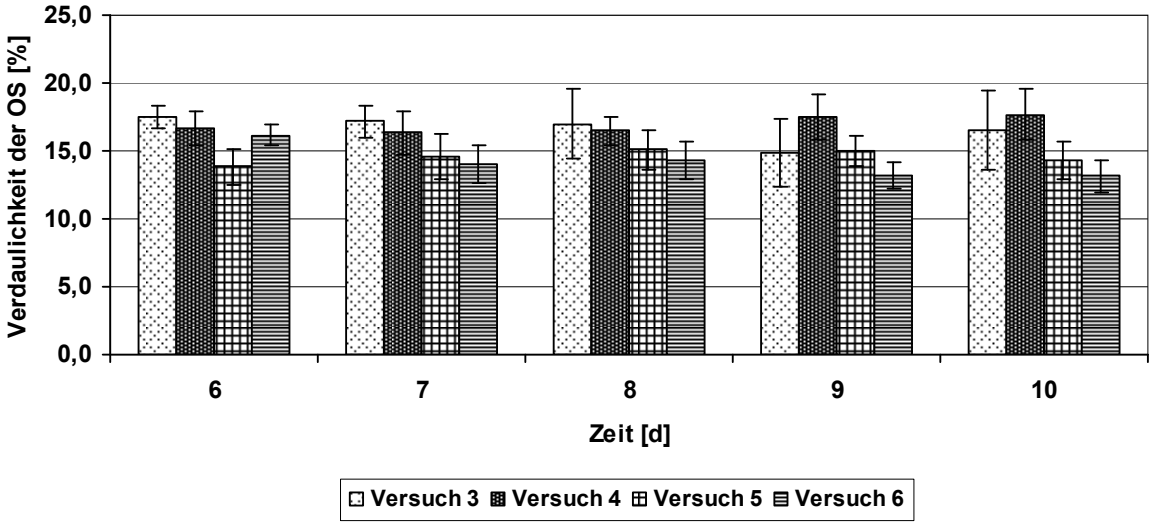

Abb. 3.12: Verdaulichkeiten der organischen Substanz [%] in den Versuchen 3, 4, 5 und 6 ($\bar{x}$ ± SD; Versuch 3, 4, 6: n = 6; Versuch 5: n = 12); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Versuch $p < 0,05$, Faktor Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): Versuch 3 vs. Versuch 5, Versuch 3 vs. Versuch 6; Versuch 4 vs. Versuch 5; Versuch 4 vs. Versuch 6

3.2 Versuchsreihe 2: Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz

3.2.1 Wirkung von Erythromycin auf den mikrobiellen Stoffwechsel

Zur Charakterisierung des Einflusses von Erythromycin auf den ungestörten mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel im Cositec-System wurden in Versuch 7 vier unterschiedliche Dosierungen (1,25, 2,5, 10 und 20 mg/d) des Antibiotikums gewählt, wobei jeweils drei Fermenter die gleiche Dosierung erhielten ($\bar{x}$ ± SD).

3.2.1.1 pH-Wert

Während der Kontrollphase betrugen die pH-Werte im Mittel 6,35 ± 0,08 und wiesen keine gerichteten Veränderungen während der fünf Versuchstage auf. Mit Beginn der unterschiedlichen Erythromycin-Zugaben wurden keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollphase ermittelt (Abb. 3.13).

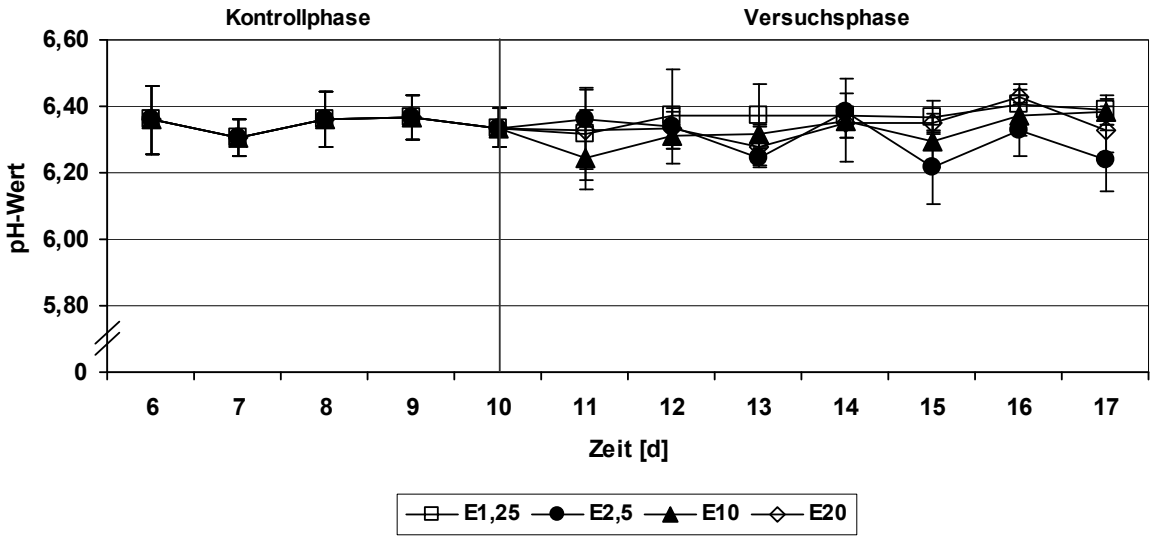

Abb. 3.13: pH-Werte vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit n.s., Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.1.2 Redoxpotential

Die Erythromycin-Zugabe bewirkte in allen Versuchsansätzen einen zeitabhängigen Abfall des Redoxpotentials von im Mittel -124 ± 29 mV während der Kontrollphase auf -29 ± 28 mV am 15. Versuchstag ($p < 0,05$). Ein Einfluss der unterschiedlichen Dosierungen auf das Redoxpotential konnte nicht nachgewiesen werden (Abb. 3.14).

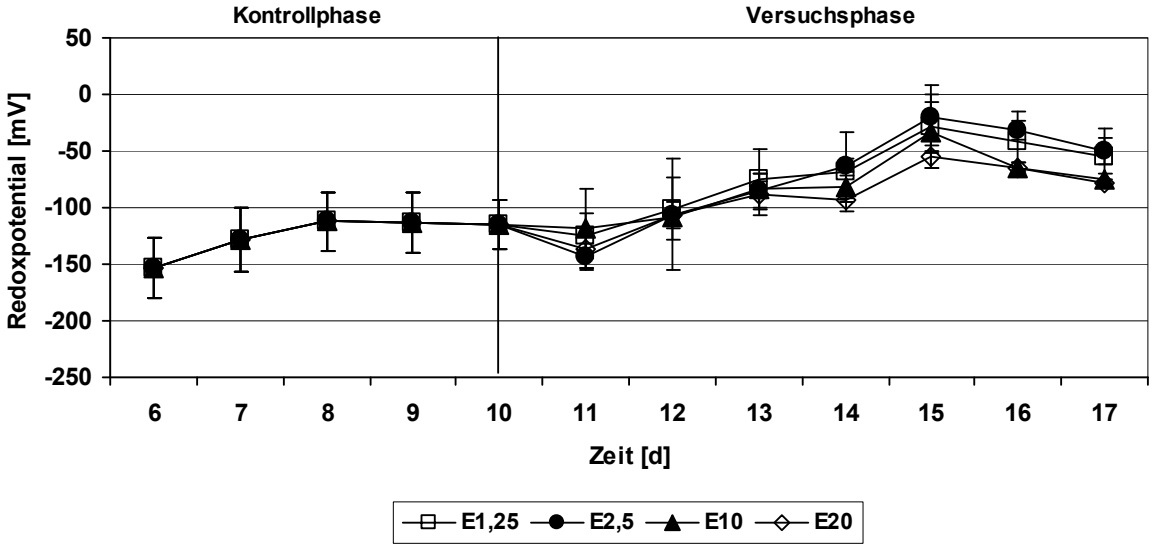

Abb. 3.14: Redoxpotentiale [mV] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.1.3 SCFA-Produktionsraten

Die SCFA-Produktionsraten lagen während der Kontrollphase im Mittel bei 1,73 ± 0,12 mmol/d und waren im Vergleich zwischen den einzelnen Versuchstagen durch eine hohe Konstanz gekennzeichnet. Trotz Erythromycin-Zugabe konnten während der Versuchsphase keine gerichteten Veränderungen in den Produktionsraten der kurzkettigen Fettsäuren im Vergleich zur Kontrollphase festgestellt werden (Abb. 3.15).

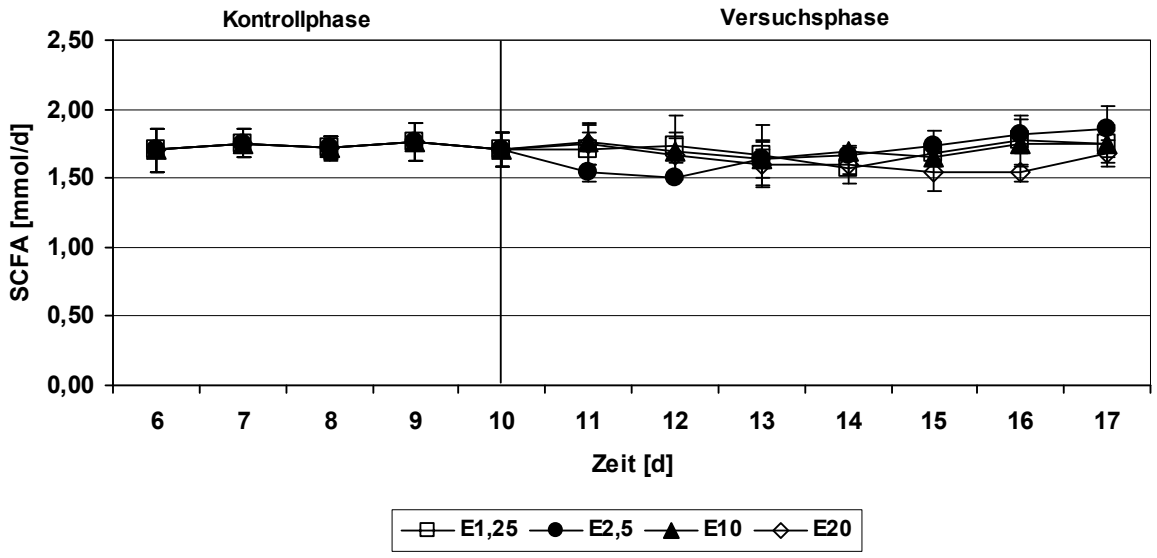

Abb. 3.15: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit n.s., Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.1.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

Die Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat veränderten sich durch die Zugabe von Erythromycin unterschiedlich.

Für Acetat wurden während der Kontrollphase mittlere Produktionsraten von 1,18 ± 0,09 mmol/d gemessen. Auch hier konnte zwischen den einzelnen Versuchstagen eine hohe Konstanz festgestellt werden. Durch die Zugabe von Erythromycin traten ebenfalls keine gerichteten Veränderungen gegenüber der Kontrollphase auf (Abb. 3.16).

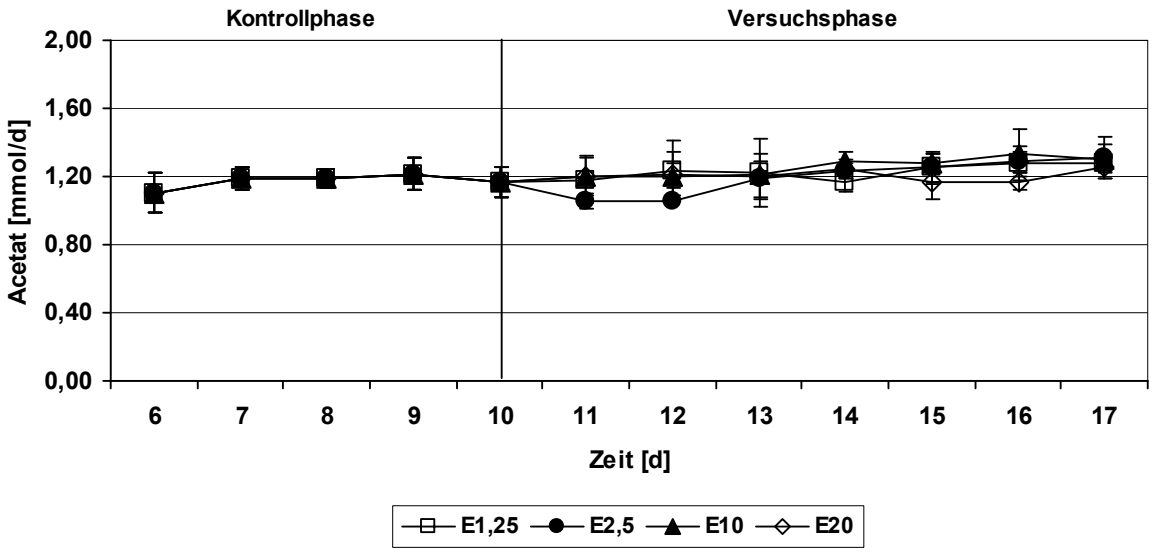

Abb. 3.16: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit n.s., Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E 2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

Im Gegensatz dazu bewirkte die Erythromycin-Zugabe einen Abfall der Propionat-Produktionsraten. Diese sanken durch die Zugabe der beiden niedrigen Dosierungen (E1,25; E2,5) von im Mittel 0,42 ± 0,04 mmol/d während der Kontrollphase auf 0,24 ± 0,03 mmol/d am 14. Versuchstag ab. In beiden Versuchsansätzen konnte ab dem 15. Versuchstag wieder ein leichter Anstieg der Propionat-Produktionsraten verzeichnet werden (Tag 17: 0,35 ± 0,03 mmol/d). Im Vergleich dazu bewirkte die Zugabe der beiden hohen Dosierungen (E10; E20) einen stärkeren Abfall der Propionat-Produktionsraten (Tag 15: 0,14 ± 0,01 mmol/d) ($p < 0,05$). Des Weiteren waren der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit signifikant (Abb. 3.17).

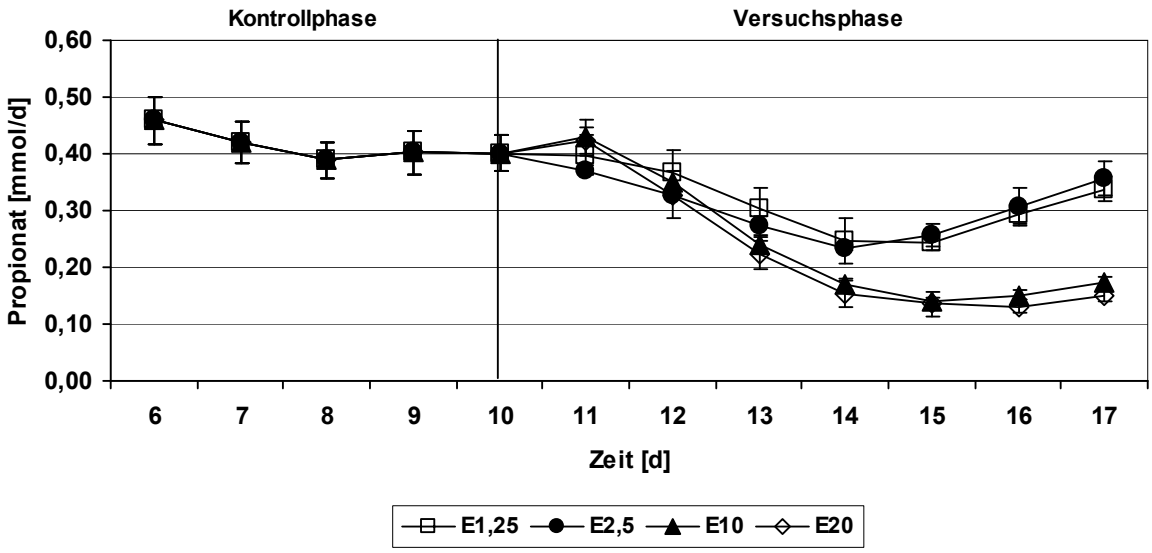

Abb. 3.17: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E1,25 vs. E10; E1,25 vs. E20; E2,5 vs. E10; E2,5 vs. E20; (E1,25= 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

Ein anderes Bild zeigte sich bei der Betrachtung der Butyrat-Produktionsraten. Diese lagen während der Kontrollphase im Mittel bei 0,14 ± 0,01 mmol/d und zeichneten sich ebenfalls durch eine hohe Konstanz zwischen den einzelnen Versuchstagen aus. Die Zugabe von Erythromycin bewirkte ab dem 13. Versuchstag einen Anstieg der Butyrat-Produktionsraten auf 0,23 ± 0,01 mmol/d (E2,5) (Tag 15) bzw. 0,27 ± 0,02 mmol/d (E10; E20) (Tag 17). Ab dem 15. Versuchstag führte die Zugabe von 1,25 mg E/d ebenfalls zu einem kontinuierlichen Anstieg der Butyrat-Produktionsraten (Tag 17: 0,19 ± 0,01 mmol/d). Durch die Zugabe der beiden hohen Dosierungen (E10; E20) wurden die Butyrat-Produktionsraten signifikant gegenüber der niedrigsten Dosierung (E1,25) erhöht. Des Weiteren konnten bei einer Zugabe von 10 mg E/d signifikant höhere Butyrat-Produktionsraten verglichen mit einer Zugabe von 2,5 mg E/d nachgewiesen werden. Neben der Behandlung lagen ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren vor (Abb. 3.18).

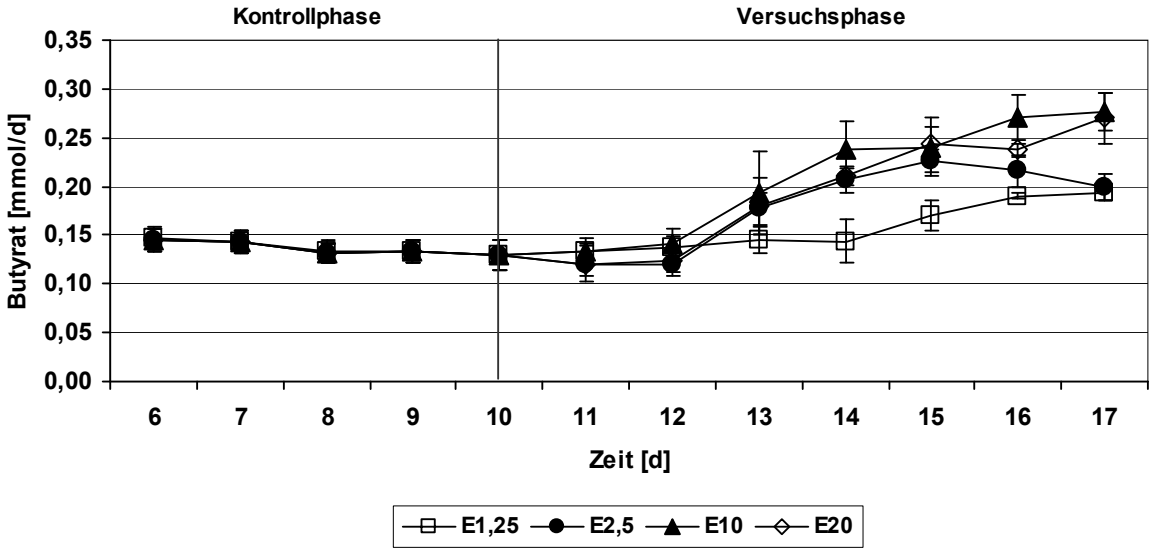

Abb. 3.18: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E1,25 vs. E10; E1,25 vs. E20; E2,5 vs. E10; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.1.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

In den Abbildungen 3.19 bis 3.22 sind die Veränderungen der molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren, die im Zuge der unterschiedlichen Erythromycin-Zugaben zu beobachten waren, für jede Dosierung einzeln dargestellt. Während der Kontrollphase betrug das prozentuale Verhältnis von Acetat, Propionat und Butyrat im Mittel 68 : 24 : 8. Durch die Zugabe der beiden hohen Dosierungen (E10; E20) wurde eine Zunahme des molaren Anteils an Acetat gegenüber der Zugabe von 2,5 mg E/d hervorgerufen ($p < 0,05$). Der Einfluss der Zeit war ebenfalls signifikant, es konnte jedoch keine Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren festgestellt werden. Während der molare Anteil an Propionat durch die Zugabe der hohen Dosierungen (E10; E20) verglichen mit den niedrigen Dosierungen (E1,25; E2,5) reduziert wurde ($p < 0,05$), stieg der molare Anteil an Butyrat durch die Zugabe der hohen Dosierungen im Vergleich zu den niedrigen Dosierungen an ($p < 0,05$). Daneben hatte der Faktor Zeit sowohl einen signifikanten Einfluss auf den molaren Anteil an

Propionat als auch auf den molaren Anteil an Butyrat. Die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit war ebenfalls signifikant.

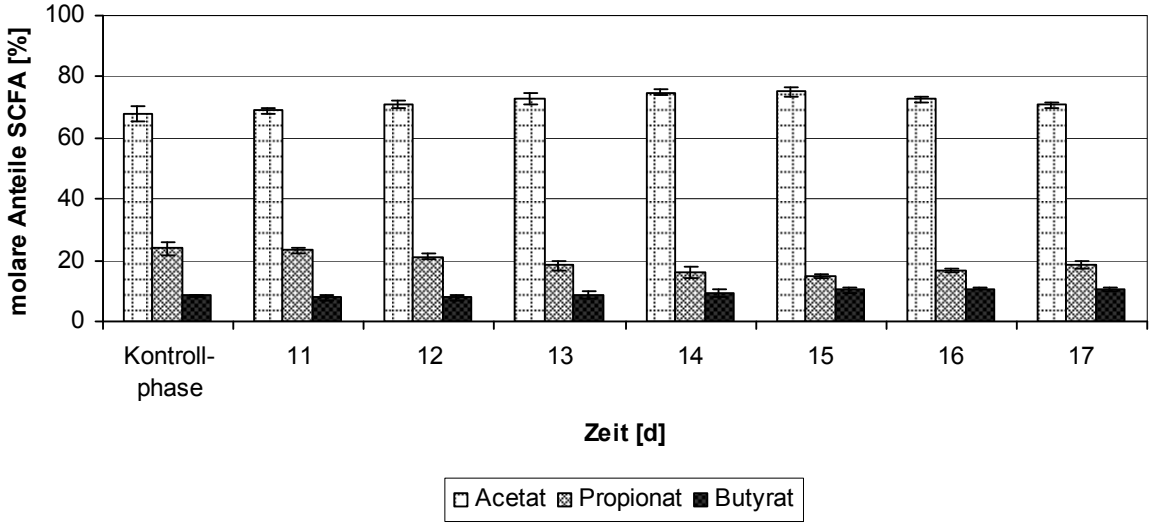

Abb. 3.19: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis Tag 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Zugabe von 1,25 mg Erythromycin pro Tag (E1,25) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

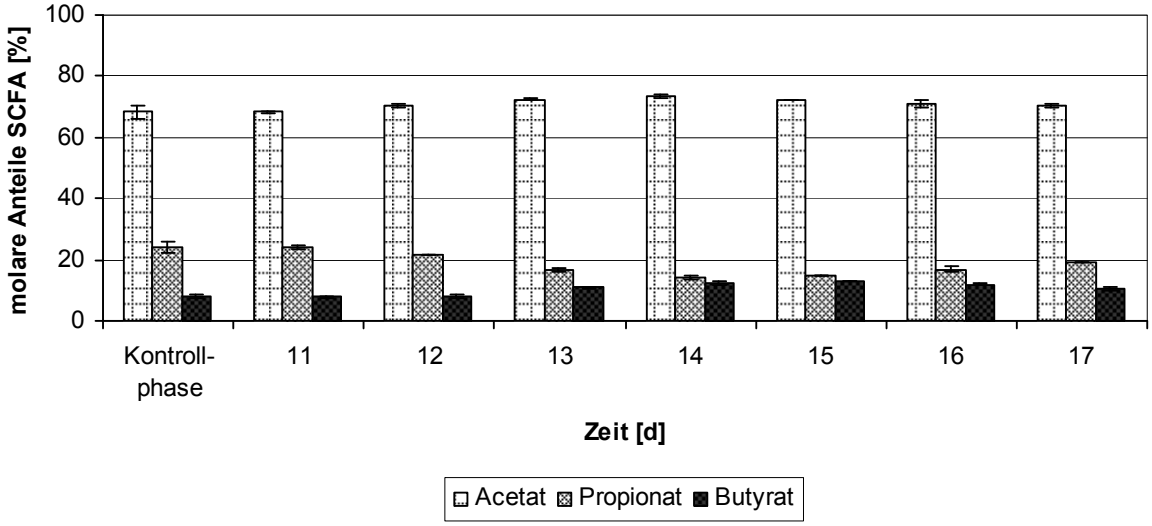

Abb. 3.20: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Zugabe von 2,5 mg Erythromycin pro Tag (E2,5) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

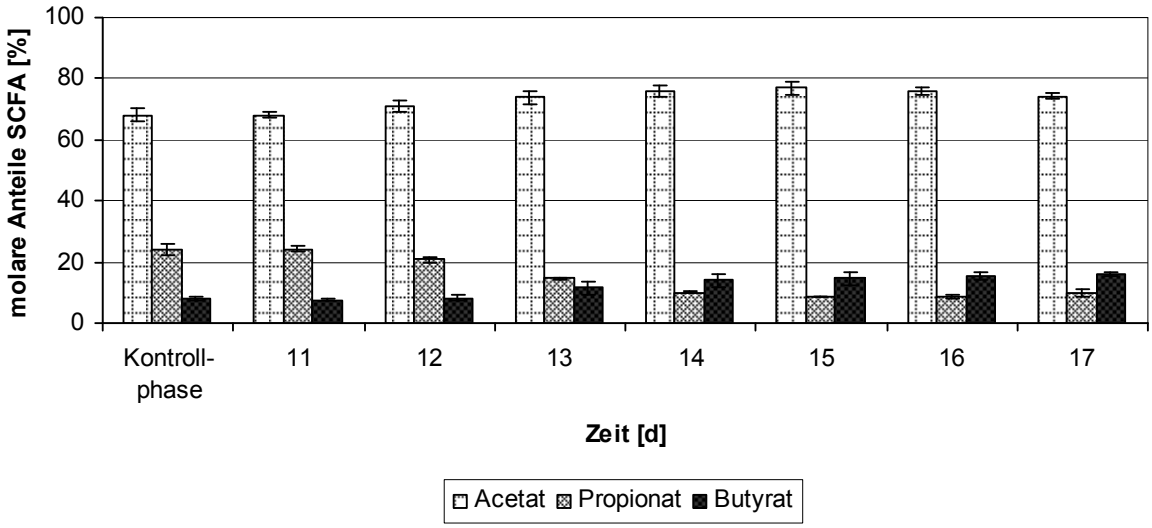

Abb. 3.21: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Zugabe von 10 mg Erythromycin pro Tag (E10) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

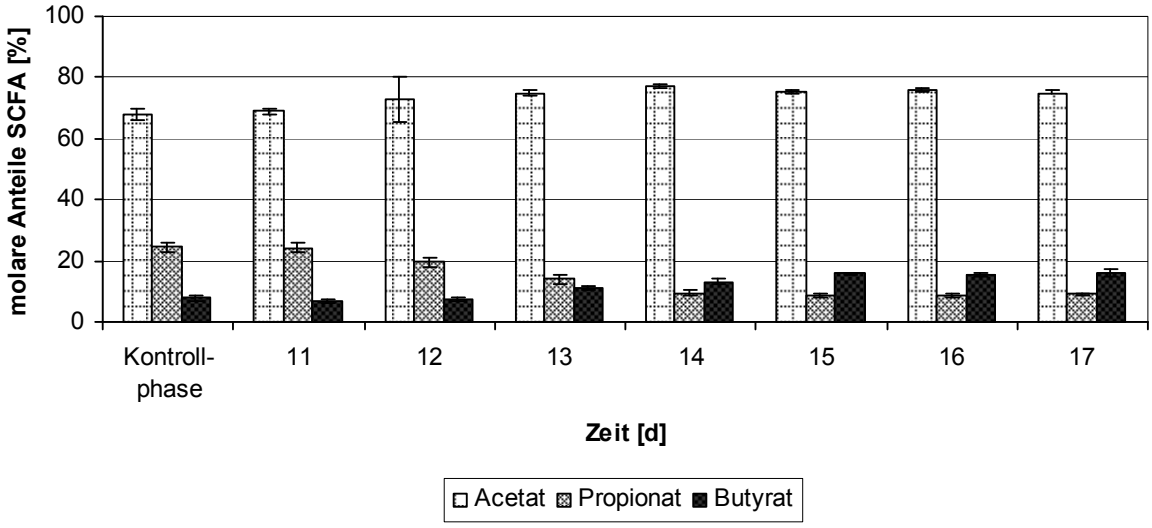

Abb. 3.22: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) einer Zugabe von 20 mg Erythromycin pro Tag (E20) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

3.2.1.6 Ammoniak-Konzentration

Während der Kontrollphase ergaben die Messungen der Ammoniak-Konzentrationen für alle Versuchsansätze einen mittleren Wert von 7,9 ± 0,7 mmol/l. Durch die Zugabe von Erythromycin sanken die Ammoniak-Konzentrationen in allen Versuchsansätzen bis zum 14. Versuchstag auf 6,2 ± 0,4 mmol/l ab, wobei ab dem 15. Versuchstag wieder ein kontinuierlicher Anstieg bis zum Ausgangsniveau verzeichnet werden konnte. Die varianzanalytische Auswertung ergab einen signifikanten Einfluss der Zeit, jedoch weder einen Einfluss der Behandlung noch eine Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren (Abb. 3.23).

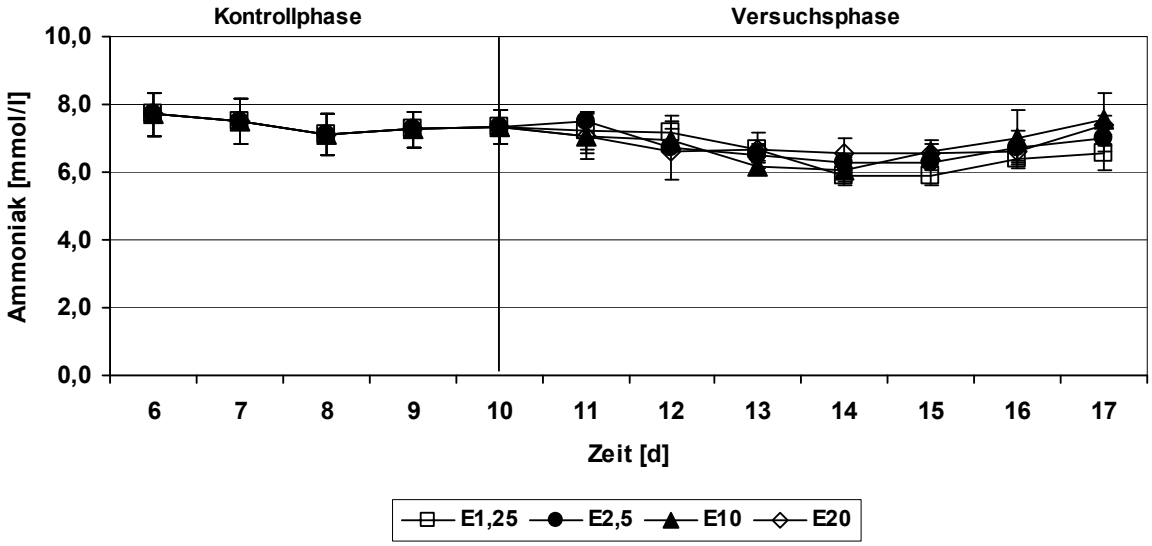

Abb. 3.23: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.1.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz

Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz betrugen während der Kontrollphase im Mittel 13,1 ± 3,2 %. Die Erythromycin-Zugabe führte in allen Versuchsansätzen zu einem zeitabhängigen Anstieg der Verdaulichkeiten der organischen Substanz auf im Mittel 18,6 ± 1,2 % am 17. Versuchstag ($p < 0,05$). Es konnte jedoch weder ein Einfluss der Behandlung noch eine Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren

nachgewiesen werden (Abb. 3.24).

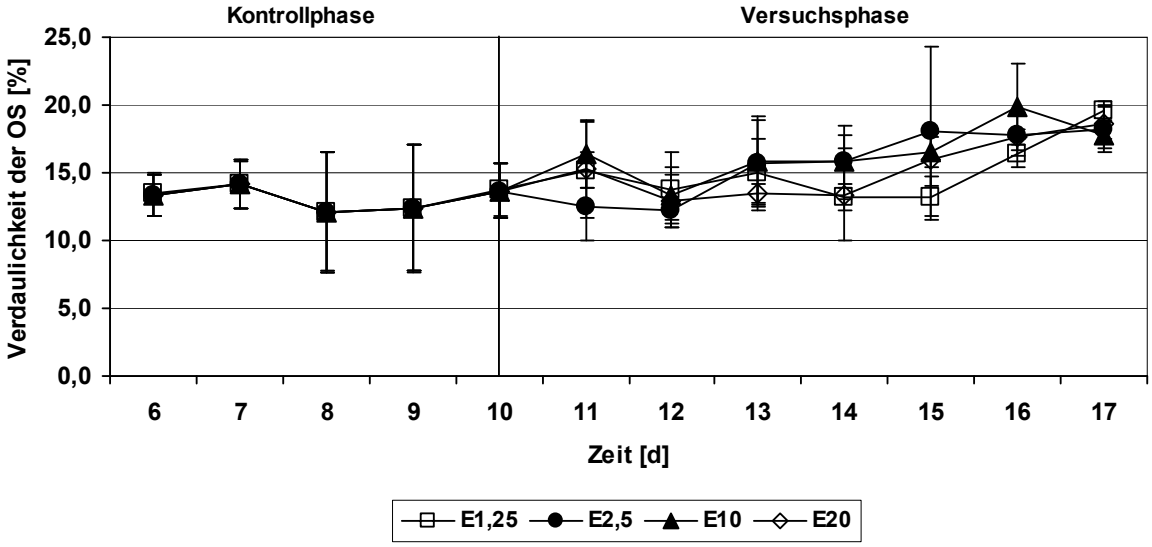

Abb. 3.24: Verdaulichkeiten der organischen Substanz [%] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E1,25 = 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

3.2.2 Wirkung von Erythromycin in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf den mikrobiellen Stoffwechsel

Um die Veränderungen aufzuzeigen, die im Zuge einer Erythromycin-Zugabe in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz im mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel auftreten, wurden alle Fermenter im Anschluss an die Kontrollphase über die Dauer von sieben Tagen mit 10 mg Erythromycin pro Tag behandelt. Zusätzlich wurde die Trockensubstanz in Fermenter A bis C auf 10 % (E10TS10), in Fermenter D bis F auf 30 % (E10TS30) und in Fermenter G bis I auf 60 % (E10TS60) im Vergleich zur Kontrollphase reduziert. Die Fermenter J bis L wurden ausschließlich mit Erythromycin behandelt, eine Reduktion der Trockensubstanz wurde nicht vorgenommen (E10TS100).

3.2.2.1 pH-Wert

Während der Kontrollphase lagen die pH-Werte im Mittel bei 6,48 ± 0,11. Der stärkste Anstieg des pH-Wertes wurde durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) hervorgerufen (17. Versuchstag: 7,45 ± 0,12) ($p < 0,05$). Auch in den Fermentern der Versuchsansätze E10TS30, E10TS60 und E10TS100 konnte ein Anstieg des pH-Wertes beobachtet werden (Tag 17: 6,86 ± 0,11), wobei zwischen diesen Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied vorlag. Des Weiteren waren der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit signifikant (Abb. 3.25).

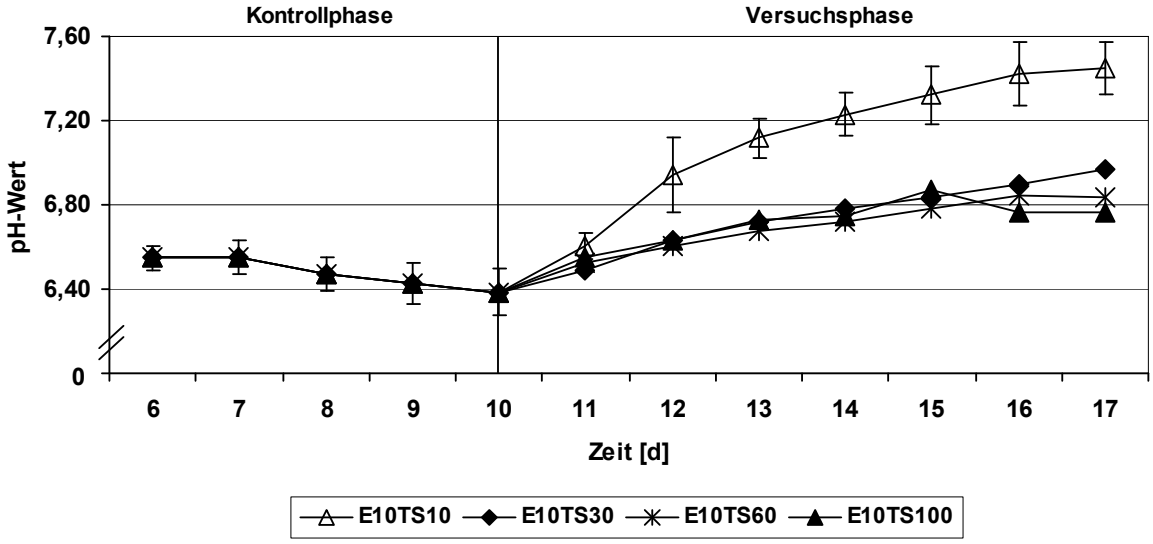

Abb. 3.25: pH-Werte vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS30; E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.2.2 Redoxpotential

Die Messwerte für das Redoxpotential lagen während der Kontrollphase im Mittel bei -265 ± 18 mV. Im weiteren Versuchsverlauf nahm das Redoxpotential in allen Versuchsansätzen signifikant positivere Werte im Vergleich zur Kontrollphase an (Tag 17: - 82 ± 48 mV). Zwischen den einzelnen Versuchsansätzen konnte jedoch

kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (Abb. 3.26).

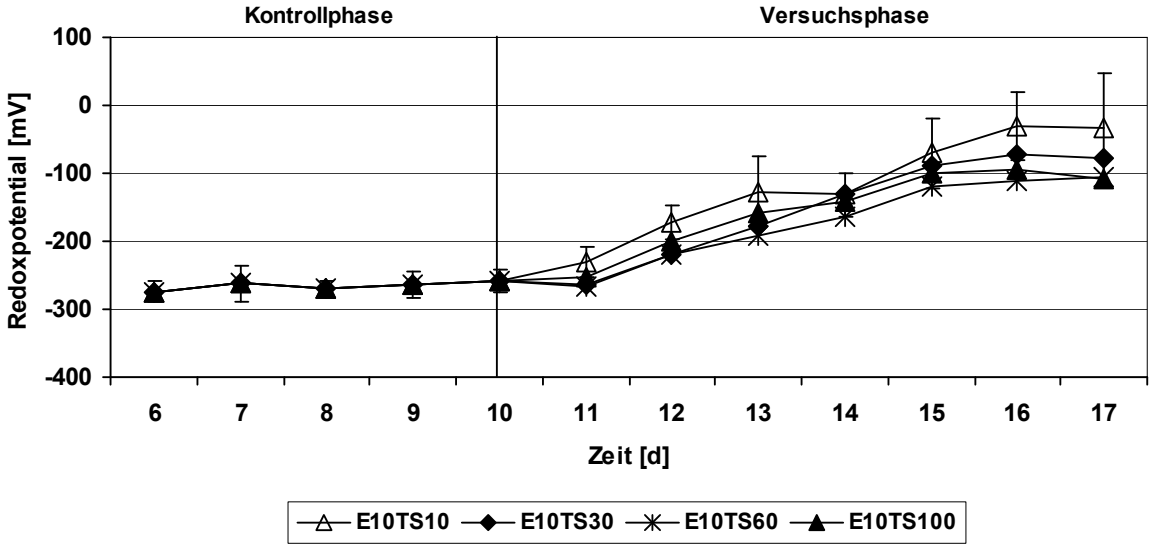

Abb. 3.26: Redoxpotentiale [mV] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung n.s., Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.2.3 SCFA-Produktionsraten

Die SCFA-Produktionsraten betrugen während der Kontrollphase im Mittel 1,64 ± 0,13 mmol/d und wiesen zwischen den einzelnen Versuchstagen eine hohe Konstanz auf. Im Zuge der unterschiedlichen Behandlungen konnte in allen Versuchsansätzen eine Verminderung der SCFA-Produktionsraten beobachtet werden. Die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) führte zu einer stetigen Abnahme der SCFA-Produktionsraten auf 0,18 ± 0,06 mmol/d am 17. Versuchstag. Im Vergleich dazu war die Abnahme der SCFA-Produktionsraten durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % (E10TS30) geringer ausgeprägt (Tag 17: 0,43 ± 0,08 mmol/d) ($p < 0,05$). Die geringste Verminderung der SCFA-Produktionsraten wurde durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % (E10TS60) und die alleinige Erythromycin-Zugabe (E10TS100) hervorgerufen (Tag 17: 0,83 ± 0,22 mmol/d) ($p < 0,05$), wobei zwischen diesen beiden Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Neben der Behandlung

waren der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren signifikant (Abb. 3.27).

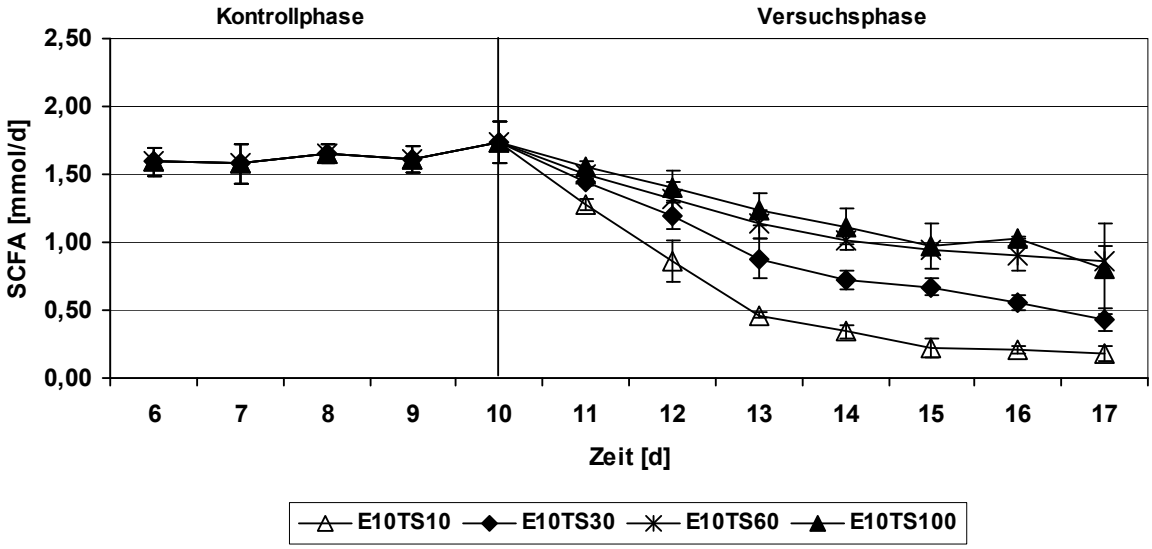

Abb. 3.27: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS30; E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; E10TS30 vs. E10TS60; E10TS30 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.2.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei der Betrachtung der Produktionsraten des Acetats. Während der Kontrollphase lagen diese im Mittel bei 1,03 ± 0,09 mmol/d und zeichneten sich ebenfalls durch eine hohe Konstanz zwischen den Versuchstagen aus. Im Zuge der unterschiedlichen Behandlungen konnte ein Abfall der Acetat-Produktionsraten auf 0,18 ± 0,06 mmol/d (E10TS10), 0,43 ± 0,08 mmol/d (E10TS30) und 0,67 ± 0,18 mmol/d (E10TS60, E10TS100) am 17. Versuchstag beobachtet werden ($p < 0,05$). Dabei wurden die Acetat-Produktionsraten durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % signifikant gegenüber den anderen Versuchsansätzen erniedrigt. Des Weiteren führte die Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % zu einer signifikanten Abnahme der Acetat-Produktionsraten

gegenüber der Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % und der alleinigen Erythromycin-Zugabe, während zwischen diesen beiden Versuchansätzen kein Unterschied nachgewiesen werden konnte. Der Einfluss der Zeit und die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit waren signifikant (Abb. 3.28).

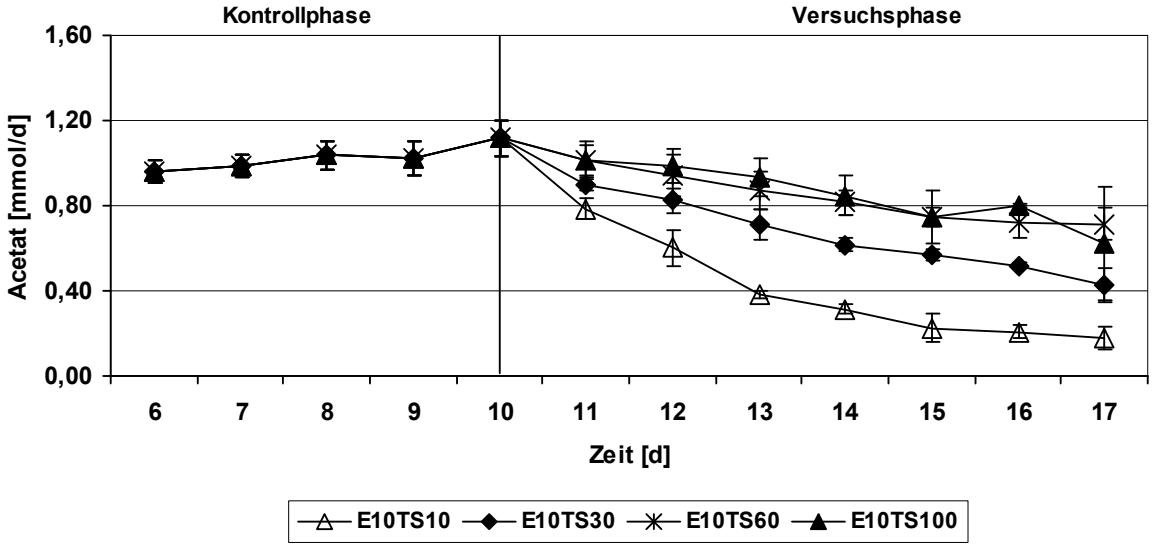

Abb. 3.28: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS30; E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; E10TS30 vs. E10TS60; E10TS30 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

Ausgehend von einer mittleren Propionat-Produktionsrate von 0,44 ± 0,09 mmol/d (Kontrollphase) führte die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) und 30 % (E10TS30) zu einer starken Verminderung der Propionat-Produktionsraten ($p < 0,05$), so dass diese ab dem 15. (E10TS10) bzw. 17. Versuchstag (E10TS30) unterhalb der Nachweisgrenze lagen. In den übrigen Versuchsansätzen (E10TS60; E10TS100) sanken die Propionat-Produktionsraten kontinuierlich auf im Mittel 0,10 ± 0,03 mmol/d (Tag 17) ab ($p < 0,05$). Die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % bewirkte eine signifikante Verminderung der Propionat-Produktionsraten gegenüber der alleinigen Erythromycin-Zugabe. Außerdem konnte ein signifikanter Einfluss der

Zeit nachgewiesen werden, während die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit nicht signifikant war (Abb. 3.29).

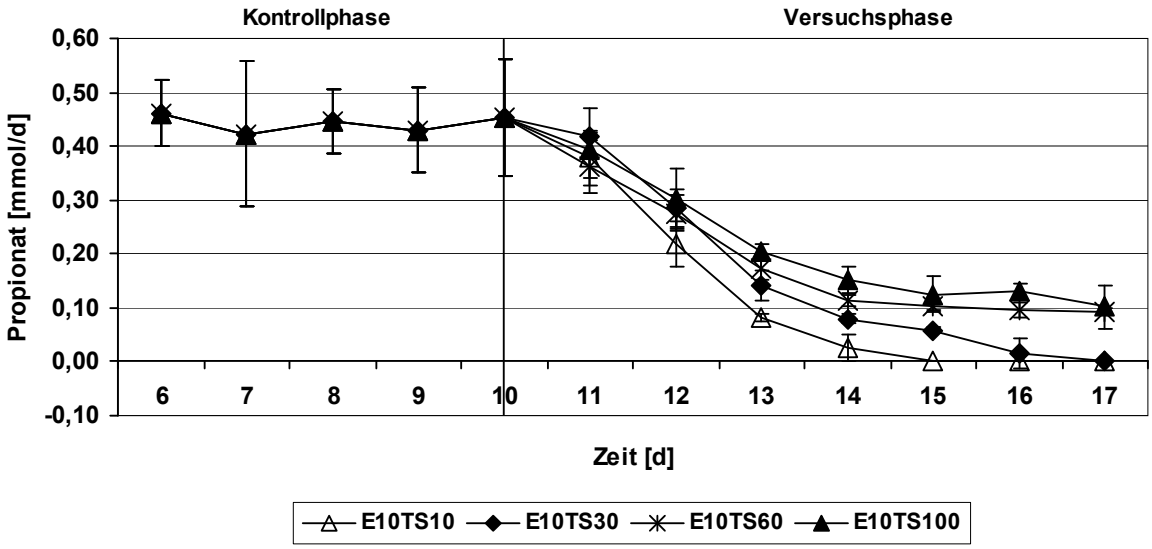

Abb. 3.29: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

Während der Kontrollphase lagen die Butyrat-Produktionsraten im Mittel bei 0,17 ± 0,01 mmol/d. Durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) bzw. 30 % (E10TS30) konnte ein signifikanter Abfall der Butyrat-Produktionsraten im Vergleich zu den beiden anderen Versuchsansätzen (E10TS60, E10TS100) beobachtet werden. Hierbei wurde die Nachweisgrenze des Butyrats am 13. Versuchstag (E10TS10) bzw. am 17. Versuchstag (E10TS30) unterschritten. Im Zuge der Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % und der alleinigen Zugabe von Erythromycin reduzierten sich die Butyrat-Produktionsraten bis zum 17. Versuchstag auf 0,05 ± 0,05 mmol/d (E10TS60) bzw. 0,08 ± 0,03 mmol/d (E10TS100), wobei zwischen diesen beiden Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Darüber hinaus lagen ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit vor (Abb. 3.30).

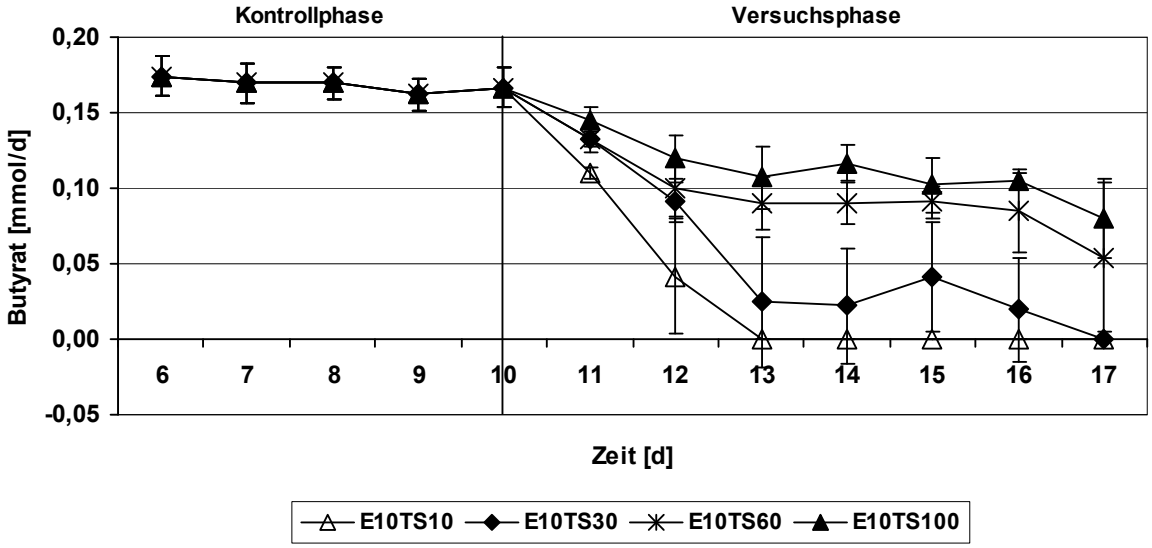

Abb. 3.30: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; E10TS30 vs. E10TS60; E10TS30 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.2.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

In den Abbildungen 3.31 bis 3.34 sind die Veränderungen der molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren, die im Zuge der unterschiedlichen Behandlungen zu beobachten waren, für jede Behandlung einzeln dargestellt. Während der Kontrollphase lagen die molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren im Mittel bei 63 : 27 : 10 % für Acetat, Propionat und Butyrat. Die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) und 30 % (E10TS30) bewirkte eine Zunahme des molaren Anteils an Acetat sowie eine Abnahme des molaren Anteils an Butyrat gegenüber der Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % (E10TS60) und der Erythromycin-Zugabe (E10TS100) ($p < 0,05$). Der molare Propionat-Anteil wurde durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 und 30 % verglichen mit der Erythromycin-Zugabe signifikant erniedrigt. Des Weiteren waren der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit signifikant.

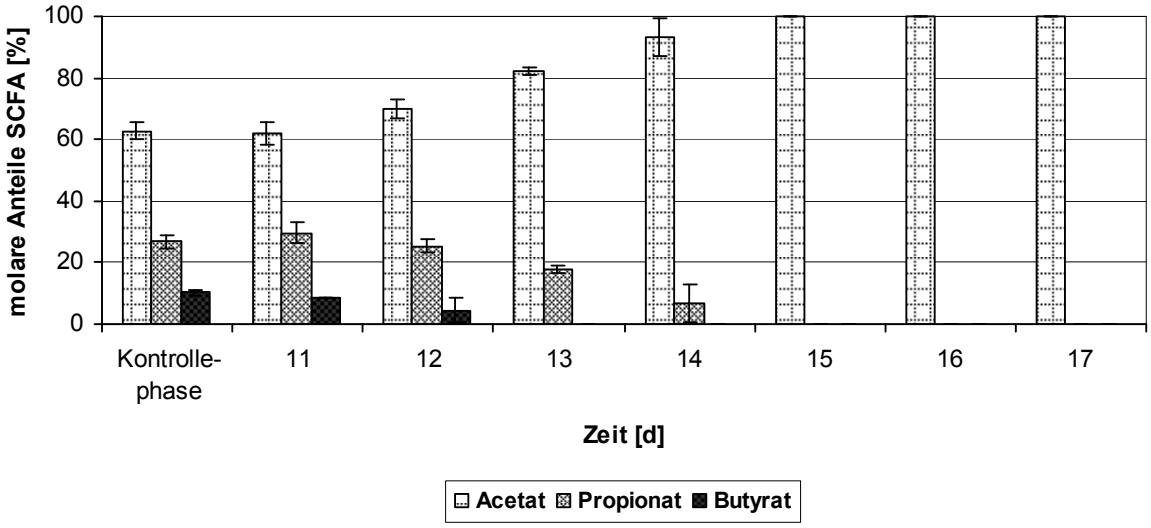

Abb. 3.31: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Erythromycin-Zugabe in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

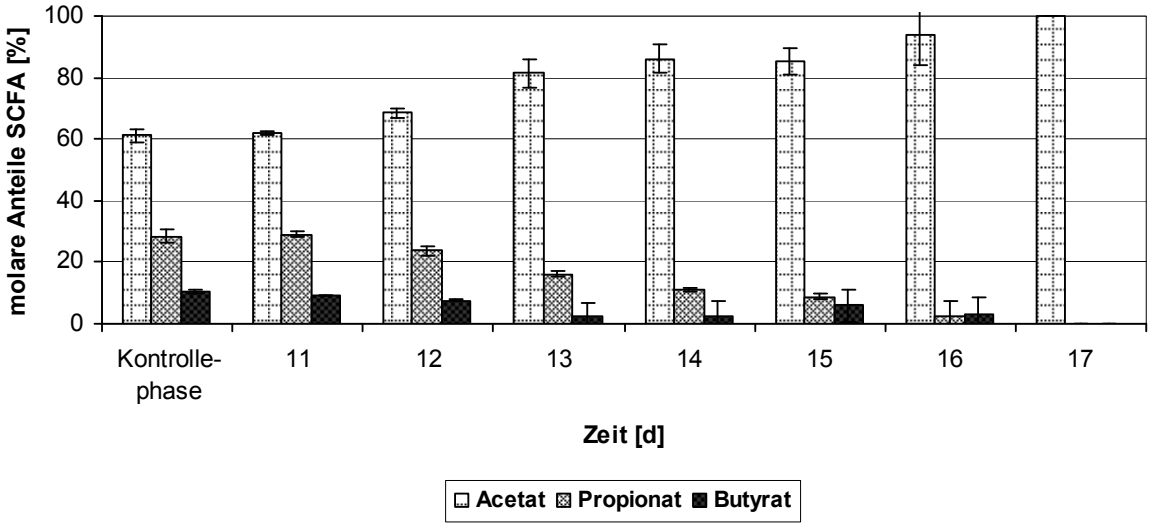

Abb. 3.32: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Erythromycin-Zugabe in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % (E10TS30) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

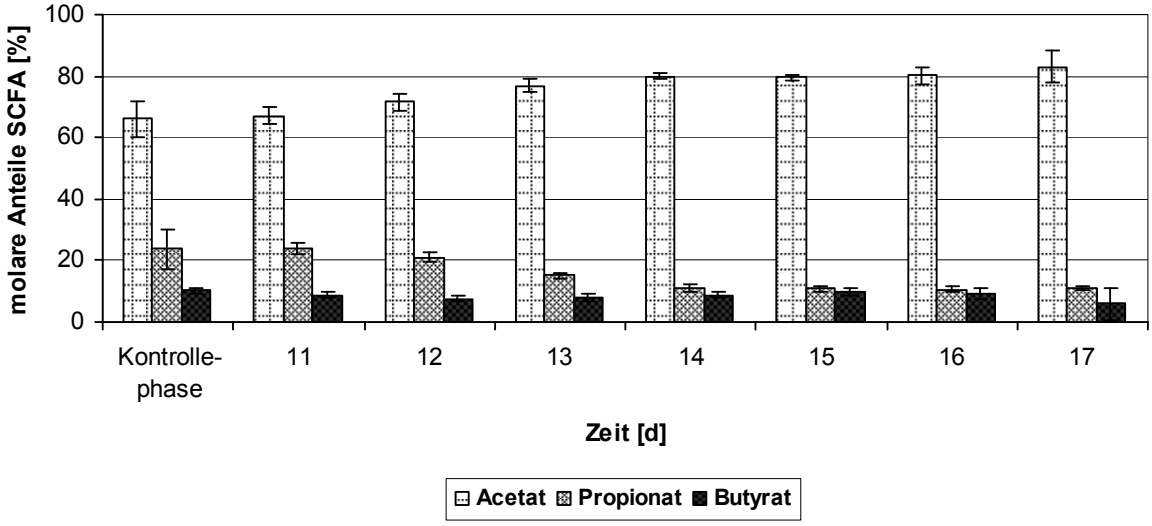

Abb. 3.33: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Erythromycin-Zugabe in Kombination mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % (E10TS60) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

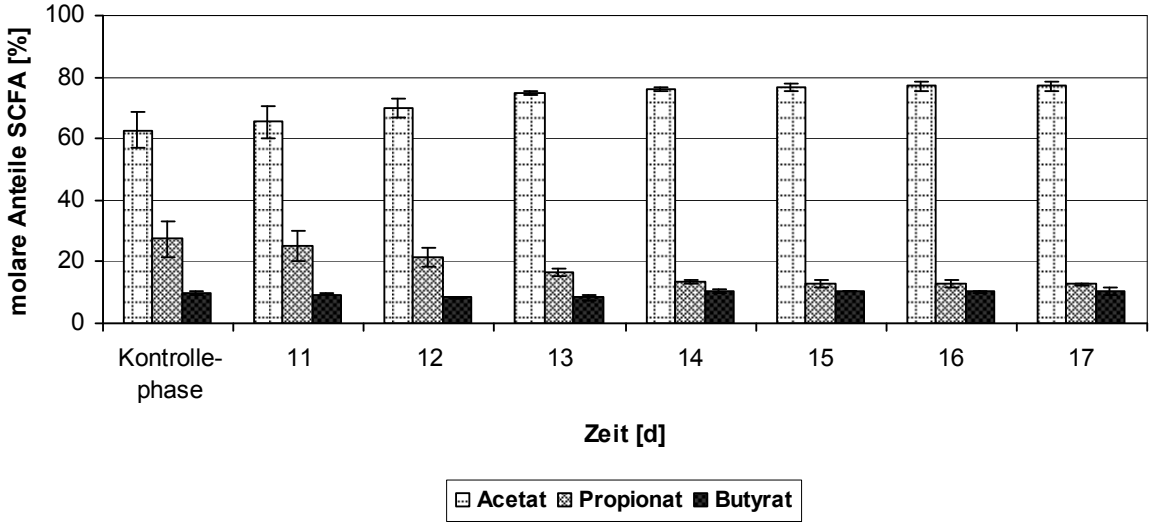

Abb. 3.34: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Erythromycin-Zugabe (E10TS100) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

3.2.2.6 Ammoniak-Konzentration

Während der Kontrollphase wurden Ammoniak-Konzentrationen von im Mittel 7,8 ± 0,7 mmol/l gemessen. Durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) und 30 % (E10TS30) sanken die Ammoniak-Konzentrationen auf 4,5 ± 0,2 mmol/l am 17. Versuchstag ab. Im Gegensatz dazu wurde durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % (E10TS60) und die alleinige Erythromycin-Zugabe (E10TS100) eine geringere Verminderung der Ammoniak-Konzentrationen hervorgerufen (Tag 17: 5,8 ± 0,2 mmol/l) ($p < 0,05$). Neben der Behandlung lagen ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren vor (Abb. 3.35).

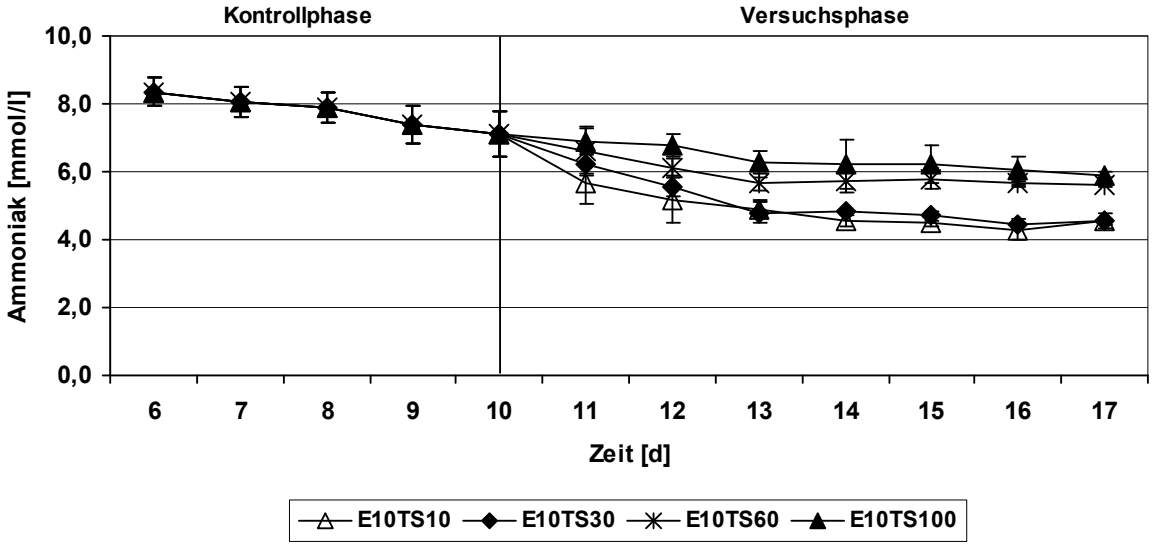

Abb. 3.35: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; E10TS30 vs. E10TS60; E10TS30 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.2.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz

Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz betrugen während der Kontrollphase im Mittel 14,1 ± 2,1 %. Die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % (E10TS10) bewirkte ab dem 12. Versuchstag eine starke Verminderung der Verdaulichkeiten der organischen Substanz gegenüber den übrigen Versuchsansätzen (E10TS30, E10TS60, E10TS100) ($p < 0,05$), so dass ab dem 14. Versuchstag ausschließlich negative Werte gemessen wurden. Auch in den Versuchsansätzen E10TS30, E10TS60 und E10TS100 nahmen die Verdaulichkeiten der organischen Substanz ab (Tag 17: 6,7 ± 2,4 %) ($p < 0,05$), wobei zwischen diesen Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte. Weiterhin lagen ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit vor (Abb. 3.36).

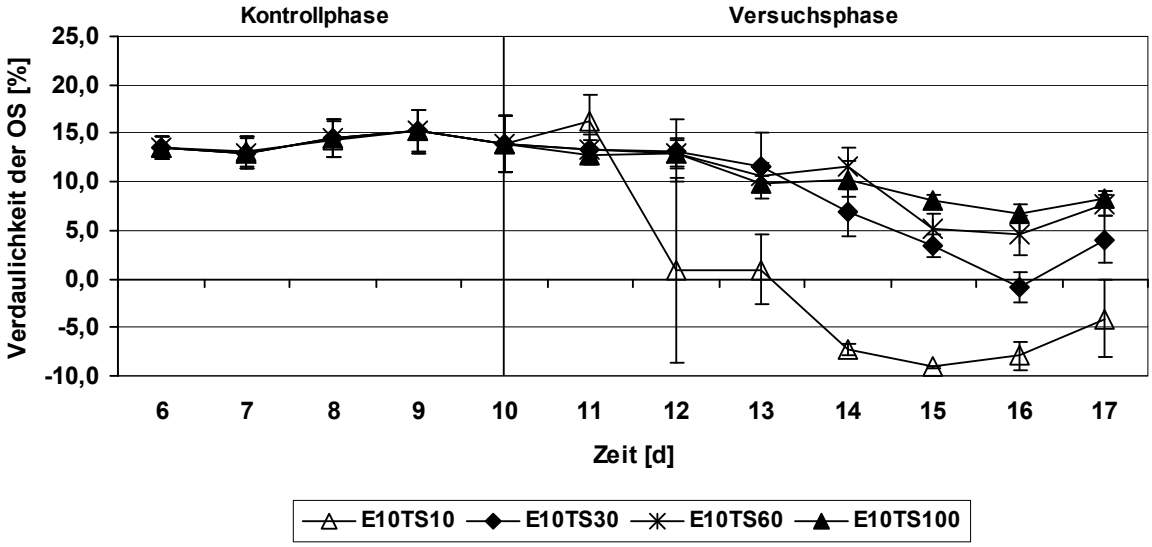

Abb. 3.36: Verdaulichkeiten der organischen Substanz [%] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3) Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E10TS10 vs. E10TS30; E10TS10 vs. E10TS60; E10TS10 vs. E10TS100; (E10TS10 = 10 mg E/d 10 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS; E10TS60 = 10 mg E/d 60 % TS; E10TS100 = 10 mg E/d 100 % TS)

3.2.3 Wirkung von Erythromycin, Reduktion der Trockensubstanz und Kombination beider Faktoren auf den mikrobiellen Stoffwechsel

In diesem Versuch wurden die Faktoren Erythromycin und Reduktion der Trockensubstanz einzeln sowie in Kombination hinsichtlich ihrer Wirkung auf den mikrobiellen Stoffwechsel untersucht. Hierfür wurden 12 Fermenter gleichzeitig inkubiert. Die Fermenter A bis C wurden während der Versuchsphase nicht behandelt und dienten über den gesamten Versuchsverlauf als Kontrollansatz (K). Die Fermenter D bis F erhielten eine Zugabe von 10 mg Erythromycin pro Tag (E10TS100) und in den Fermentern G bis I wurde die Trockensubstanz auf 30 % im Vergleich zur Kontrollphase reduziert (E0TS30). Eine Kombination der Faktoren Erythromycin (10 mg/d) und Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % wurde in den Fermentern J bis L vorgenommen (E10TS30).

3.2.3.1 pH-Wert

Die pH-Werte betrugen während der Kontrollphase im Mittel 6,47 ± 0,10 und blieben in den Fermentern des Kontrollansatzes über den gesamten Versuchsverlauf konstant. Die Reduktion der Trockensubstanz sowie die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz bewirkten einen Anstieg des pH-Wertes auf 6,93 ± 0,14 (E0TS30) bzw. 7,29 ± 0,11 (E10TS30) am 17. Versuchstag ($p < 0,05$). Zwischen diesen beiden Versuchsansätzen konnte ein signifikanter Unterschied im pH-Wert nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu führte die Erythromycin-Zugabe nur zu einem geringfügigen Anstieg des pH-Wertes, der jedoch verglichen mit dem Kontrollansatz nicht signifikant war. Neben der Behandlung konnten ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren nachgewiesen werden (Abb. 3.37).

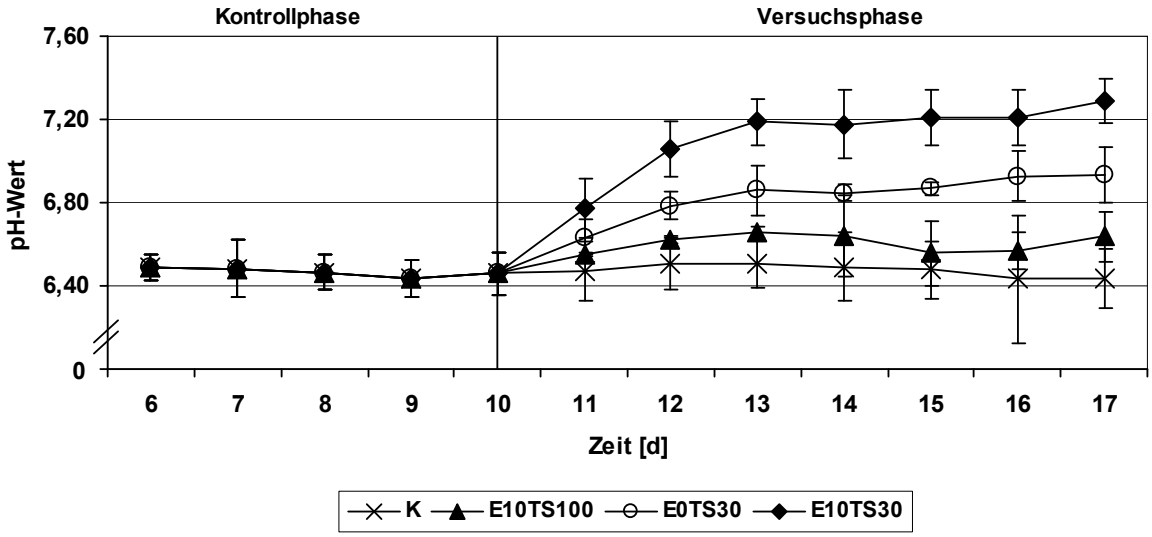

Abb. 3.37: pH-Werte vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; E0TS30 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

3.2.3.2 Redoxpotential

Während der Kontrollphase lagen die Messwerte für das Redoxpotential im Mittel bei -247 ± 25 mV und blieben in den Fermentern des Kontrollansatzes während der Versuchsphase konstant. Die Zugabe von Erythromycin führte ab dem 13. Versuchstag zu einem Abfall der Redoxpotentiale (Tag 15: -127 ± 32 mV), wodurch im Vergleich zum Kontrollansatz und zu den anderen Versuchsansätzen signifikant positivere Werte gemessen wurden. Im Gegensatz dazu nahmen die Redoxpotentiale im Zuge der Reduktion der Trockensubstanz signifikant negativere Werte (Tag 17: -270 ± 18 mV) im Vergleich zum Kontrollansatz und zu den anderen Versuchsansätzen an. Zwischen dem Kontrollansatz und der Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Des Weiteren waren der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren signifikant (Abb. 3.38).

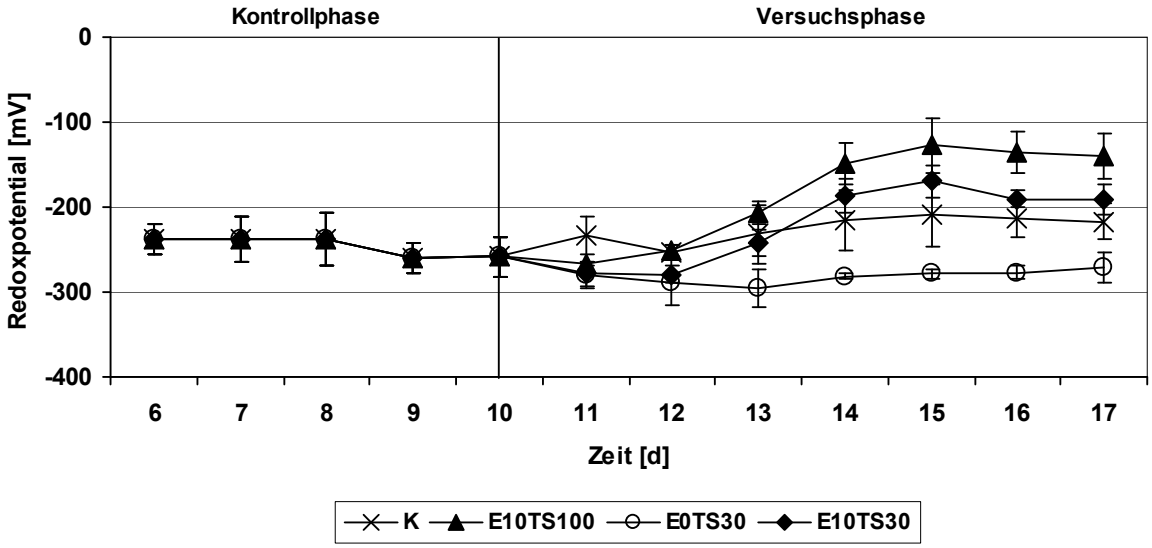

Abb. 3.38: Redoxpotentiale [mV] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E10TS100; K vs. E0TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; E0TS30 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

3.2.3.3 SCFA-Produktionsraten

Die Messwerte der SCFA-Produktionsraten lagen während der Kontrollphase im Mittel bei 1,58 ± 0,13 mmol/d und wiesen in den Fermentern des Kontrollansatzes über den gesamten Versuchsverlauf keine gerichteten Veränderungen auf. Im Vergleich zum Kontrollansatz sanken die SCFA-Produktionsraten im Zuge der Erythromycin-Zugabe ab dem 12. Versuchstag auf 1,21 ± 0,02 mmol/d (Tag 13) ab ($p < 0,05$) und blieben im weiteren Versuchsverlauf auf diesem Niveau. Die Reduktion der Trockensubstanz sowie die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz führten bereits ab dem 11. Versuchstag zu einem Abfall der SCFA-Produktionsraten gegenüber dem Kontrollansatz und der alleinigen Erythromycin-Zugabe auf 0,51 ± 0,01 mmol/d (E0TS30) bzw. 0,31 ± 0,12 mmol/d (E10TS30) (Tag 17) ($p < 0,05$), wobei zwischen diesen beiden Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte. Darüber hinaus waren Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit signifikant

(Abb.3.39).

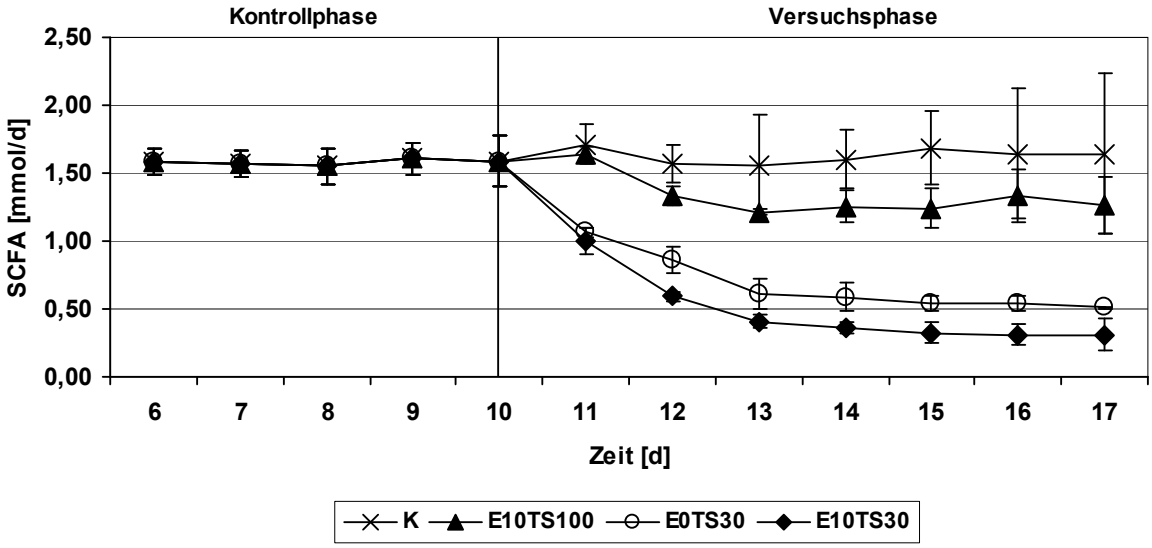

Abb. 3.39: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E10TS100; K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

3.2.3.4 Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

Während der Kontrollphase wurden mittlere Acetat-Produktionsraten von 1,04 ± 0,09 mmol/d gemessen. Im Gegensatz zu den SCFA-Produktionsraten wurden die Acetat-Produktionsraten durch die Zugabe von Erythromycin im Vergleich zum Kontrollansatz nur geringfügig vermindert. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Die Reduktion der Trockensubstanz und die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz bewirkten jedoch ebenfalls einen deutlichen Abfall der Acetat-Produktionsraten, so dass diese am 17. Versuchstag bei 0,40 ± 0,01 mmol/d (E0TS30) bzw. 0,27 ± 0,08 mmol/d (E10TS30) lagen. Zwischen den beiden Versuchsansätzen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Der Einfluss der Zeit und die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren waren signifikant (Abb. 3.40).

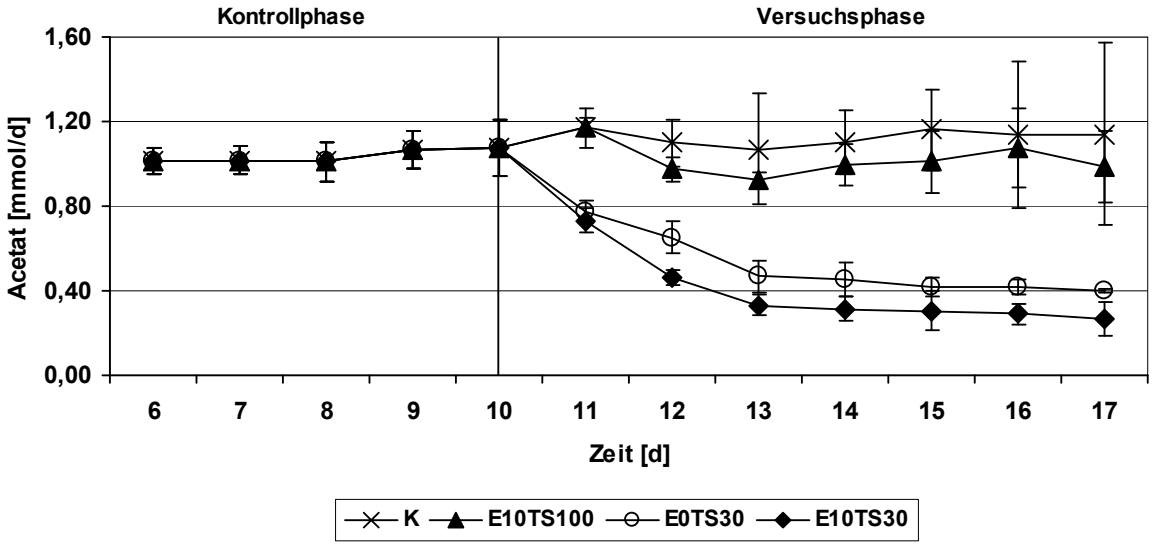

Abb. 3.40: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

Die Propionat-Produktionsraten lagen während der Kontrollphase im Mittel bei 0,42 ± 0,04 mmol/d. Auch hier traten in den Fermentern des Kontrollansatzes im weiteren Versuchsverlauf keine gerichteten Veränderungen auf. Im Gegensatz dazu führten die unterschiedlichen Behandlungen zu einem starken Abfall der Propionat-Produktionsraten ($p < 0,05$). Im Zuge der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz sanken diese auf 0,17 ± 0,03 mmol/d (E10TS100) bzw. 0,11 ± 0,00 mmol/d (E0TS30) am 17. Versuchstag ab, wobei zwischen beiden Versuchsansätzen kein signifikanter Unterschied vorlag. Im Vergleich dazu bewirkte die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz eine signifikante Reduktion der Propionat-Produktionsraten (Tag 17: 0,04 ± 0,04 mmol/d). Auch der Einfluss der Zeit sowie die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit waren signifikant (Abb. 3.41).

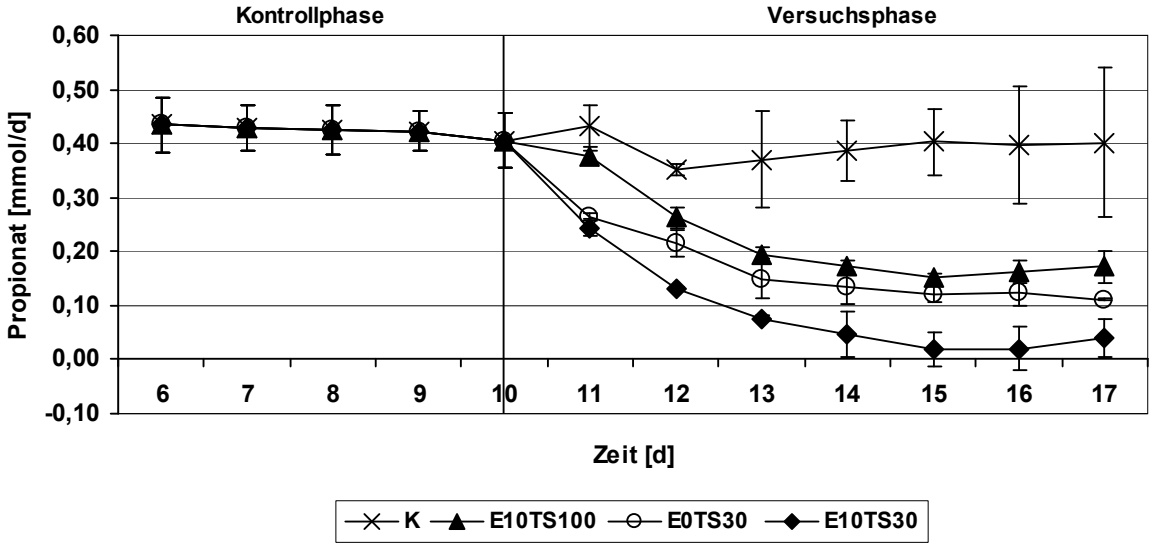

Abb. 3.41: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E10TS100; K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E10TS30; E0TS30 vs. E10TS30 mg; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

Die Produktionsraten für Butyrat betrugen während der Kontrollphase 0,12 ± 0,02 mmol/d und blieben in den Fermentern des Kontrollansatzes über den gesamten Versuchsverlauf konstant. Durch die Zugabe von Erythromycin konnte eine geringfügige Abnahme der Butyrat-Produktionsraten beobachtet werden, die jedoch verglichen mit dem Kontrollansatz nicht signifikant war. Im Gegensatz dazu führten die Reduktion der Trockensubstanz und die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz zu einem rapiden Abfall der Butyrat-Produktionsraten, so dass in beiden Versuchsansätzen bereits am 12. Versuchstag die Nachweisgrenze für Butyrat unterschritten wurde. Außerdem konnten ein signifikanter Einfluss der Zeit sowie eine signifikante Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren nachgewiesen werden (Abb. 3.42).

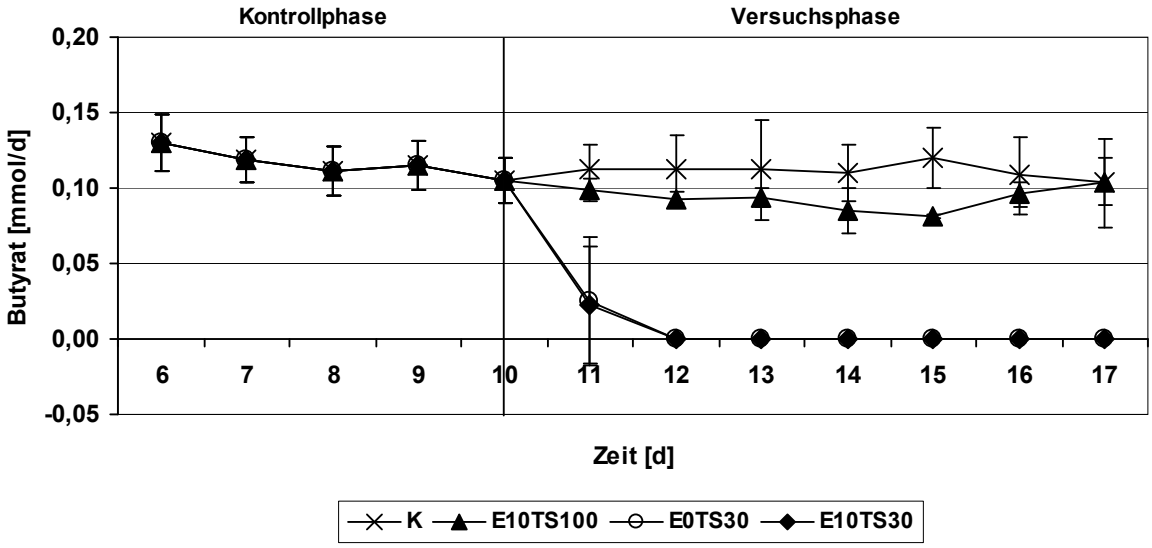

Abb. 3.42: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

3.2.3.5 Molare Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat)

In den Abbildungen 3.43 bis 3.46 sind die Veränderungen der molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren, die im Zuge der unterschiedlichen Behandlungen zu beobachten waren, für jede Behandlung einzeln dargestellt. Während der Kontrollphase lagen die molaren Anteile der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat im Mittel bei 66 : 27 : 7 %. In den Versuchsansätzen E10TS100, E0TS30 und E10TS30 konnte eine signifikante Zunahme des molaren Acetat-Anteils gegenüber dem Kontrollansatz beobachtet werden. Darüber hinaus bewirkte die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz einen Anstieg des molaren Acetat-Anteils gegenüber der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($p < 0,05$). Währenddessen wurde der molare Anteil an Propionat durch die Erythromycin-Zugabe und die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz im Vergleich zum Kontrollansatz und der Reduktion

der Trockensubstanz erniedrigt ($p < 0,05$). Der molare Butyrat-Anteil wurde durch die Reduktion der Trockensubstanz und die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz verglichen mit dem Kontrollansatz und der Erythromycin-Zugabe signifikant erniedrigt. Während die Zeit einen signifikanten Einfluss auf die molaren Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren hatte, konnte eine signifikante Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit ausschließlich in Bezug auf den molaren Butyrat-Anteil nachgewiesen werden.

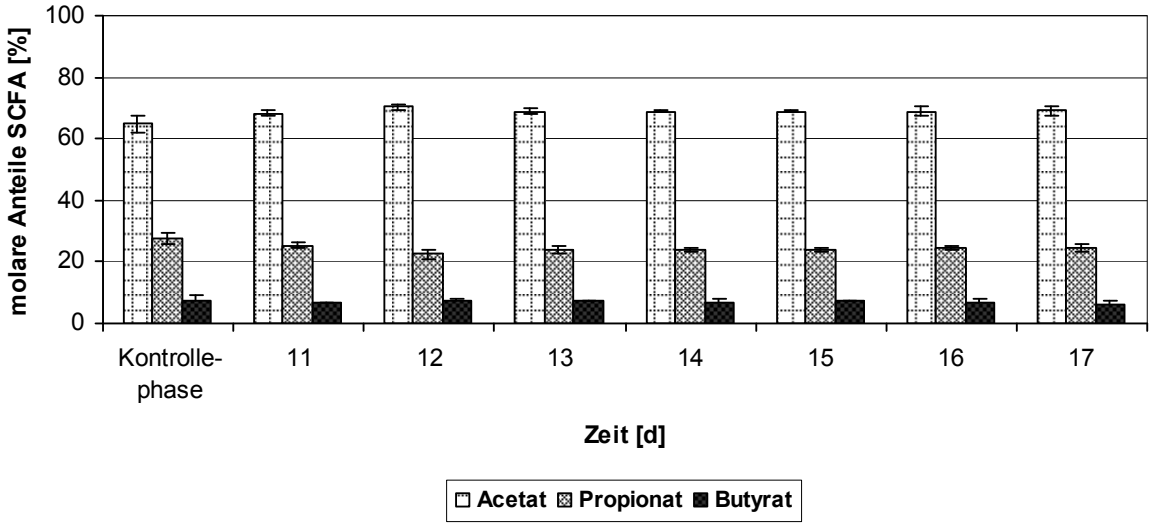

Abb. 3.43: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) im Kontrollansatz (K) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

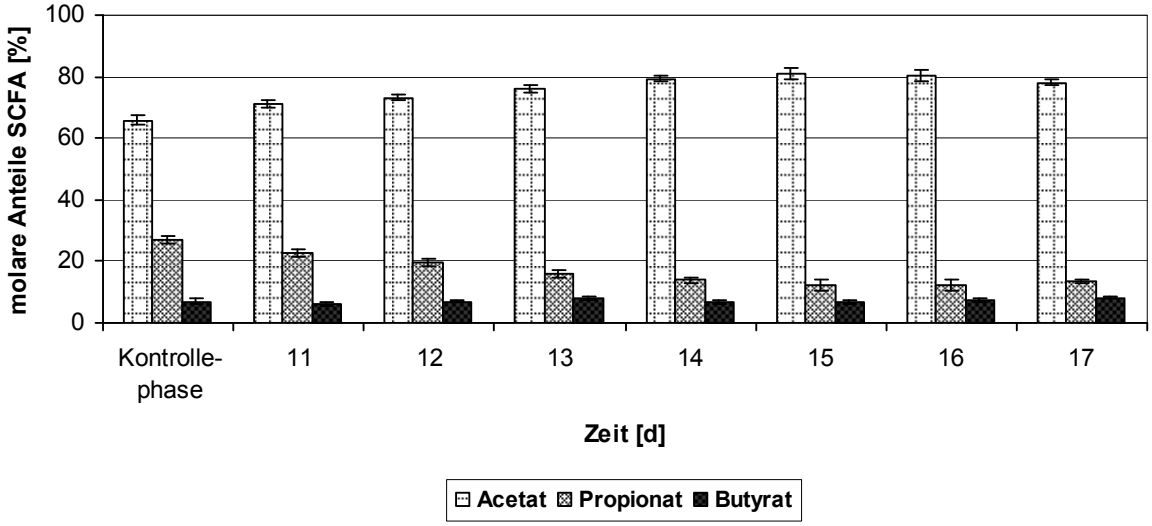

Abb. 3.44: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Erythromycin-Zugabe (E10TS100) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

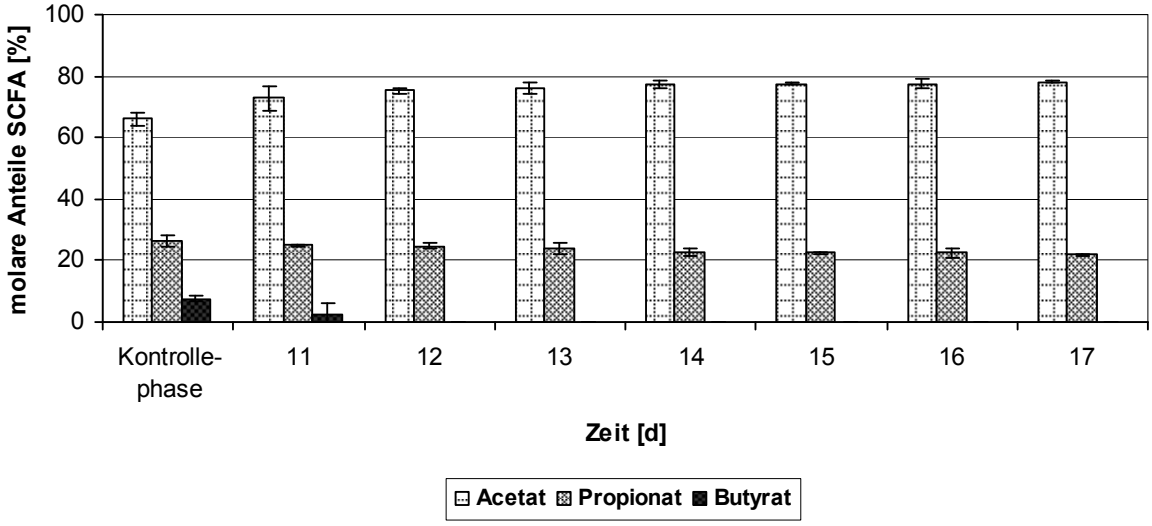

Abb. 3.45: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % (E0TS30) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

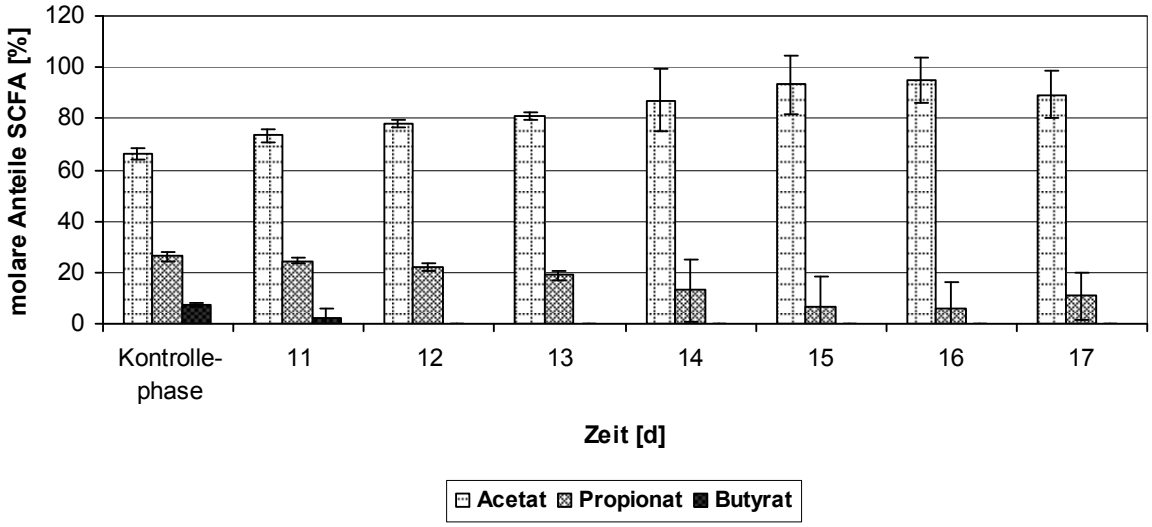

Abb. 3.46: Molare Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (Acetat, Propionat, Butyrat) vor (Kontrollphase: Tag 6 bis 10) und während (Tag 11 bis Tag 17) der Kombination von Erythromycin-Zugabe der Reduktion der Trockensubstanz (E10TS30) ($\bar{x}$ ± SD; n = 3)

3.2.3.6 Ammoniak-Konzentration

Im Rahmen der fünftägigen Kontrollphase wurden mittlere Ammoniak-Konzentrationen von 6,2 ± 0,6 mmol/l gemessen. Die Reduktion der Trockensubstanz und die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz bewirkten eine signifikante Verminderung der Ammoniak-Konzentrationen gegenüber dem Kontrollansatz und der alleinigen Erythromycin-Zugabe. Außerdem lag ein signifikanter Einfluss der Zeit vor. Die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit war jedoch nicht signifikant (Abb. 3.47).

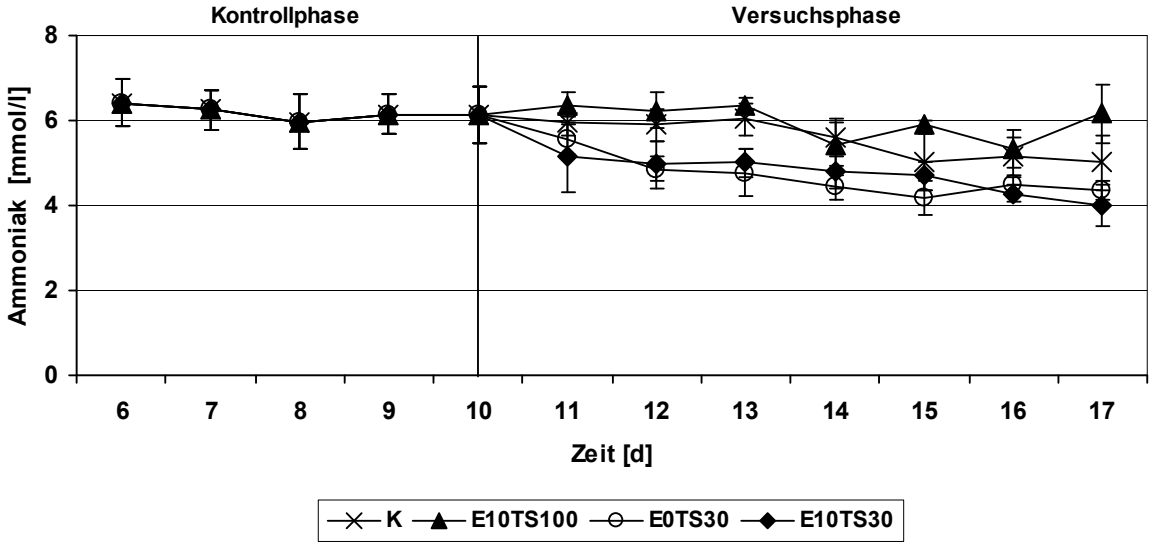

Abb. 3.47: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit n.s.; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E0TS30; E10TS100 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

3.2.3.7 Verdaulichkeit der organischen Substanz

Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz betrugen während der Kontrollphase im Mittel 15,7 ± 1,7 %. In den Versuchsansätzen E10TS100, E0TS30 und E10TS30 konnte ein Abfall der Verdaulichkeiten der organischen Substanz im Vergleich zum Kontrollansatz beobachtet werden. Zudem führte die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz zu einer Abnahme der Verdaulichkeiten der organischen Substanz gegenüber der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($p < 0,05$). Der Einfluss der Zeit und die Wechselwirkung zwischen der Behandlung und der Zeit waren ebenfalls signifikant (Abb. 3.48).

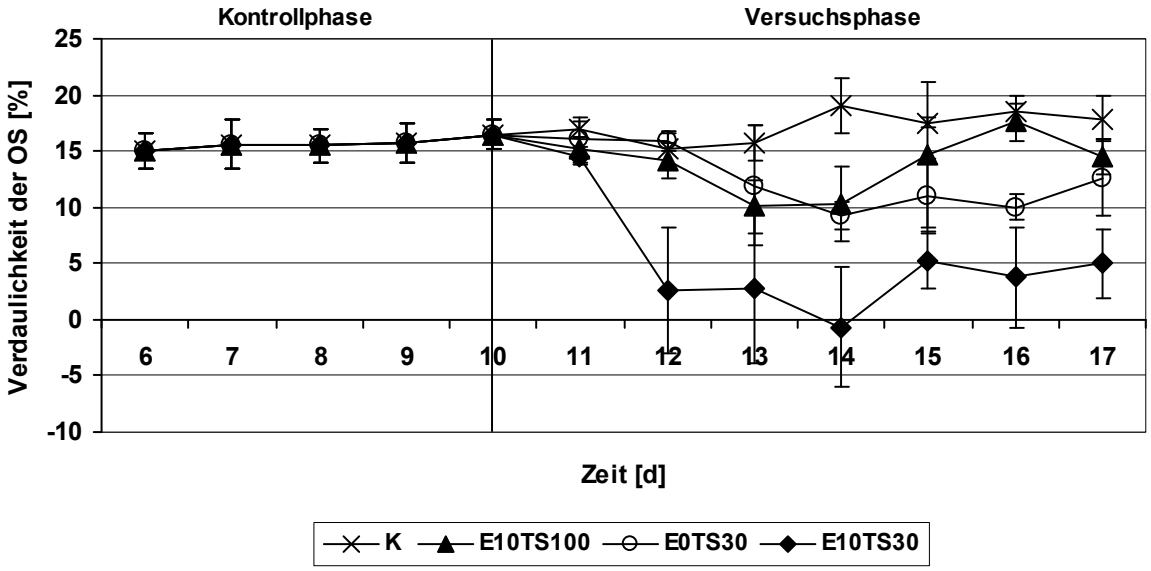

Abb. 3.48: Verdaulichkeiten der organischen Substanz [%] vor und während der Erythromycin-Zugabe und der Reduktion der Trockensubstanz ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der zweifaktoriellen Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): K vs. E10TS100; K vs. E0TS30; K vs. E10TS30; E10TS100 vs. E10TS30; E0TS30 vs. E10TS30; (K = Kontrollansatz; E10TS100 = 10 mg E/d; E0TS30 = 30 % TS; E10TS30 = 10 mg E/d 30 % TS)

4 Diskussion

4.1 Bewertung der Colon-Simulationstechnik

Zur Untersuchung des Einflusses der Faktoren Erythromycin und Nahrungsreduktion auf die mikrobiellen Stoffwechselleistungen im Dickdarm des Pferdes sollte in der vorliegenden Arbeit ein System etabliert werden, welches die Charakterisierung des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Pferd *in vitro* ermöglicht. Die Colon-Simulationstechnik, eine semikontinuierliche Inkubationsmethode, die in Anlehnung an das Rusitec-System (CZERKAWSKI u. BRECKENRIDGE 1977) von DREYER (1990) für die Inkubation von Dickdarminhalt des Schweines modifiziert wurde, stellt eine geeignete Methode zur Untersuchung des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels *in vitro* dar (BREVES et al. 1991). Mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik kann das komplexe mikrobielle Ökosystem des Dickdarmes über die Dauer von mehreren Wochen unter standardisierten Versuchsbedingungen kultiviert und aufrechterhalten werden. Darüber hinaus ermöglicht diese Methode die exakte qualitative und quantitative Erfassung der Parameter des mikrobiellen Stoffwechsels. DREYER (1990) und STÜCK (1994) konnten in vergleichenden Untersuchungen die Übertragbarkeit der mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik erzielten Ergebnisse auf die Verhältnisse *in vivo* bestätigen. Ein entscheidender Vorteil der Colon-Simulationstechnik gegenüber anderen *In-vitro*-Methoden besteht in der Verwendung von Caecuminhalt. Dieser wird frisch als Inokulum zum Starten der Versuche sowie gefriergetrocknet als Substrat für die mikrobielle Fermentation während der *In-vitro*-Untersuchungen eingesetzt. Durch die Inkubation von Dickdarminhalt wird eine weitestgehende Übereinstimmung der Zusammensetzung der Dickdarmflora und des zu fermentierenden Substrates mit den physiologischen Verhältnissen im Dickdarm gewährleistet. Im Gegensatz dazu stellt sich bei der Verwendung von Faeces als Inokulum die Frage nach der Übertragbarkeit der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Mikroflora und deren Stoffwechselaktivität auf die oberen Dickdarmabschnitte, da sich das Verhältnis zwischen lebenden und toten Keimen in den Faeces von den Verhältnissen im oberen Dickdarm unterscheidet. In vergleichenden Untersuchungen zur Aktivität der Mikroflora im Colon und in den

Faeces von Pferden konnte gezeigt werden, dass in den Faeces geringere Acetat- und Propionat-Konzentrationen sowie ein positiveres Redoxpotential vorliegen (DA VEIGA et al. 2005). Ein weiterer Vorteil der Colon-Simulationstechnik besteht darin, dass das System kontinuierlich mit einer Pufferlösung perfundiert wird, die in ihrer ionalen Zusammensetzung der Ileumflüssigkeit entspricht. Des Weiteren wird die Anreicherung mikrobieller Stoffwechselprodukte durch eine kontinuierliche Ableitung vermieden. Unter der Voraussetzung, dass eine tägliche Erneuerung des zu fermentierenden Substrates erfolgt, stellt sich nach einer Äquilibrierungsphase von ca. fünf bis acht Tagen in den Fermentern des Cositec-Systems ein kontinuierliches Fließgleichgewicht ein, dessen Stabilität über mehrere Wochen aufrechterhalten wird (DREYER 1990; STÜCK 1994). Die Einstellung des Fließgleichgewichtes kann durch die tägliche Messung von pH-Wert und Redoxpotential in den Fermentern kontrolliert werden. Die beschriebenen Merkmale der Colon-Simulationstechnik verdeutlichen, dass mit Hilfe dieser Methode die mikrobielle Fermentation lediglich aus dem Dickdarm verlagert wird, ohne jedoch die Fermentationsbedingungen grundlegend zu verändern. Die zeitgleiche Inkubation des Dickdarminhaltes in mehreren Fermentern ermöglicht zudem eine vergleichende Untersuchung verschiedener Behandlungen. Die Zugabe der zu untersuchenden Substanzen kann zum einen über die Pufferlösung und zum anderen über den Substratbeutel erfolgen. Daneben können durch die Einwaage unterschiedlicher Substratmengen in die Beutel unterschiedliche Substratkonzentrationen im Chymus simuliert werden. Ein weiterer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass der benötigte Caecuminhalt von fistulierten Tieren oder, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, von Tieren, die im Rahmen des Schlachtprozesses oder anderer Untersuchungen getötet wurden, verwendet werden kann. Somit kann mit einem geringen tierexperimentellen Aufwand eine große Menge an Daten zum mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel erhoben werden. Der Einfluss von Absorptions- bzw. Sekretionsvorgängen über die Dickdarmwand kann im Cositec-System allerdings nicht berücksichtigt werden. Überdies bleiben Einflüsse, die mit der Vergesellschaftung schleimhautassoziierter Mikroorganismen in Zusammenhang stehen, unbeachtet.

4.1.1 Bewertung der analytischen Methoden

Die elektrometrische Messung von pH-Wert und Redoxpotential, die gaschromatographische Bestimmung der SCFA, die photometrische Bestimmung der Ammoniak-Konzentration und die Berechnung der Verdaulichkeit der organischen Substanz nach KELLNER et al. (1984) sind seit langem etabliert und bei korrekter Durchführung nur durch geringe methodische Fehler gekennzeichnet.

4.2 Etablierung der Colon-Simulationstechnik zur Inkubation von Dickdarminhalt des Pferdes

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde die Colon-Simulationstechnik erstmals in dieser Form zur Untersuchung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen im Dickdarm des Pferdes eingesetzt. Zum Starten eines Versuches erfolgte die Entnahme des Caecuminhaltes (Inokulum) unmittelbar nach der Tötung eines Pferdes. Da im Caecum des Pferdes ein Großteil der Mikroorganismen partikel-assoziiert ist (BONHOMME 1986), gewährleistete die Verwendung der frisch entnommenen Partikelphase zum Starten eines Versuches die Überführung einer hohen Keimdichte in das System. Während der Inkubation im Cositec-System erfolgte die Versorgung der Mikroorganismen mit der gefriergetrockneten Partikelphase aus dem Caecum. Dadurch stand den Mikroorganismen im Cositec-System entsprechend der *In-vivo*-Situation ein Substrat zur Verfügung, an dem alle körpereigenen Verdauungsprozesse bereits stattgefunden hatten. Das zu fermentierende Substrat wurde bereits in der Vorbereitungsphase der Versuche entnommen, gefriergetrocknet und anschließend homogenisiert, so dass für jeden Versuch eine einheitliche Charge zur Verfügung stand. Aufgrund der erforderlichen Aufbereitung des zu fermentierenden Substrates im Vorfeld der Versuche, konnten Inokulum und zu fermentierendes Substrat nicht aus dem Caecum eines Pferdes gewonnen werden. Außerdem musste das Inokulum am Starttag eines Versuches frisch aus dem Caecum entnommen werden, so dass dieses für jeden Versuch von einem anderen Pferd stammte. Hieraus ergaben sich Variationen in der Zusammensetzung der Mikroflora zwischen den einzelnen Versuchen.

Während der Inkubation im Cositec-System befand sich das zu fermentierende Substrat in Nylonbeuteln, deren Porenweite zur Gewährleistung einer optimalen Fermentation den Austausch zwischen der flüssigen Phase und der Partikelphase ermöglichte, aber dennoch zu starke Auswaschverluste unabgebauter Futterpartikel verhinderte. In Anlehnung an die Untersuchungen beim Schwein wurden Nylonbeutel mit einer Porenweite von 40 µm verwendet (BREVES et al. 1991). Neben der Porenweite hat auch der Grad der Füllung der Nylonbeutel einen Einfluss auf den Fermentationsprozess, da eine zu starke Füllung die optimale Umspülung des Substrates verhindert und damit den Fermentationsprozess beeinträchtigt. Demnach wurde eine Einwaage von 1,8 g bzw. 1,5 g gefriergetrocknetem Caecuminhalt gewählt und zusätzlich wurde das Innengefäß mit den Nylonbeuteln zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Umspülung des Beutelinhaltes mit der im Fermenter enthaltenen Flüssigkeit kontinuierlich auf und ab bewegt.

Der Einstrom aus dem Ileum wurde durch die kontinuierliche Perfusion der Fermenter mit einer Pufferflüssigkeit simuliert, deren pH-Wert im Mittel bei 7,31 lag und somit dem pH-Wert im Ileum des Pferdes entsprach (ARGENZIO et al. 1974).

Um eine optimale Stickstoffversorgung der Mikroorganismen sicherzustellen, wurde die Pufferflüssigkeit auf 5 mmol/l NH_4Cl eingestellt. Diese Konzentration resultiert aus Untersuchungen zum mikrobiellen Pansenstoffwechsel, in denen gezeigt werden konnte, dass eine Ammoniak-Konzentration von 3 bis 5 mmol/l für ein optimales Wachstum der Mikroorganismen erforderlich ist (SATTER u. SLYTER 1974; OKORIE et al. 1977). Da der Hauptteil der Mikroorganismen im Pansen Ammoniak als Stickstoffquelle verwendet (BRYANT u. ROBINSON 1962), stellt die Verfügbarkeit von Ammoniak eine bedeutende Determinante der mikrobiellen Proteinsynthese dar (SATTER u. SLYTER 1974).

Die Charakterisierung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen *in vitro* und die Darstellung der Veränderungen, die im Zuge verschiedener Behandlungen auftreten, erfordern einen zuverlässigen Nachweis der Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels und somit der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat. Demnach musste in den vorliegenden Untersuchungen ein Flüssigkeitsturnover

festgelegt werden, der einerseits den Nachweis der Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels ermöglichte und andererseits die Anreicherung dieser Endprodukte im System verhinderte. Während die Flüssigkeit im Caecum des Pferdes viermal pro Tag umgeschlagen wird (GOODSON et al. 1988), wurde im ersten Versuch ein Flüssigkeitsturnover von dreimal pro Tag gewählt. Aufgrund der daraus resultierenden hohen Verdünnungsrate in den Fermentern konnte jedoch bei der gaschromatographischen Auswertung der Proben kein Butyrat mehr nachgewiesen werden. Aus diesem Grund wurde der Flüssigkeitsturnover in den folgenden Versuchen zunächst auf zweimal und schließlich auf einmal pro Tag reduziert, wodurch ein zuverlässiger Nachweis der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat gewährleistet werden konnte. Um eine zu starke Anreicherung der Stoffwechselprodukte im System zu verhindern, wurde von einer weiteren Reduktion des Flüssigkeitsturnovers abgesehen. STOTT et al. (1983) verwendeten bei der Inkubation von Caecuminhalt des Pferdes *in vitro* einen ähnlichen Flüssigkeitsturnover (0,91 mal pro Tag).

4.2.1 Bewertung der Ergebnisse

Eine weitere wichtige Voraussetzung zur Untersuchung des Einflusses verschiedener Behandlungen auf die mikrobiellen Stoffwechselleistungen im Cositec-System besteht in der Einstellung eines reproduzierbaren Fließgleichgewichtes unter Kontrollbedingungen. Wie bereits erwähnt stellt sich im Cositec-System nach einer Äquilibrierungsphase von ca. fünf bis acht Tagen ein Fließgleichgewicht ein, welches durch die Abwesenheit signifikanter Schwankungen der Fermentationsparameter zwischen den einzelnen Versuchstagen gekennzeichnet ist. Demzufolge wurde auch in den vorliegenden Untersuchungen nach dem Starten eines Versuches eine Äquilibrierungsphase von fünf Tagen gewählt. Die Einstellung des Fließgleichgewichtes wurde durch die tägliche Messung von pH-Wert und Redoxpotential kontrolliert. Im Anschluss an die Äquilibrierungsphase konnte mittels varianzanalytischer Auswertung bei keiner der im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen bestimmten Messgrößen ein gerichteter Einfluss des Faktors Zeit nachgewiesen werden. Folglich stellte sich auch bei der Inkubation von Dickdarminhalt des Pferdes im Cositec-System nach wenigen Tagen ein

kontinuierliches Fließgleichgewicht ein, welches die Grundlage für ein gleichmäßiges mikrobielles Wachstum bildete. Die Einstellung eines reproduzierbaren Fließgleichgewichtes kann außerdem über die Variabilität der erhobenen Messwerte kontrolliert werden. Dabei wird die Stabilität des Systems über eine längere Versuchsdauer durch die Variabilität der Messwerte innerhalb eines Fermenters charakterisiert. Die Reproduzierbarkeit der Messwerte innerhalb eines Versuches kann durch die Variabilität zwischen den Fermentern veranschaulicht werden. Am Beispiel von Versuch 5 (Tab. 4.1) wird ersichtlich, dass in den vorliegenden Untersuchungen sowohl innerhalb eines Fermenters als auch innerhalb eines Versuches nur eine geringe Variabilität der Messwerte vorlag. Demnach wiesen die während der Kontrollphase über die Dauer von fünf Versuchstagen erhobenen Messwerte innerhalb eines Fermenters (Fermenter C) eine gleichbleibend geringe Variabilität mit Variationskoeffizienten von 0,6 % für den molaren Acetat-Anteil und 7,6 % für die Verdaulichkeit der organischen Substanz auf. Die Variationskoeffizienten der anderen Messwerte lagen dazwischen. Die Butyrat-Produktion stellte mit einem Variationskoeffizienten von 10,5 % eine Ausnahme dar. Demnach blieb das erreichte Gleichgewicht innerhalb eines Fermenters über die Dauer der Kontrollphase stabil. Die Variabilität innerhalb dieses Versuches lag in einer ähnlichen Größenordnung. Hierbei wurden der niedrigste Variationskoeffizient für den molaren Acetat-Anteil (1,2 %) und der höchste für die Butyrat-Produktion (11,8 %) errechnet. Betrachtet man die Variabilität innerhalb der einzelnen Versuche (3 bis 6), so lagen die Variationskoeffizienten zwischen 0,8 % für den pH-Wert (Versuch 5) und 13,6 % für die Acetat-Produktion (Versuch 4). Auch hier bildete die Butyrat-Produktion mit einem Variationskoeffizienten von 18,2 % (Versuch 4) eine Ausnahme. Die geringe Variabilität zwischen den Fermentern bestätigt die hohe Reproduzierbarkeit der Messwerte innerhalb eines Versuches. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Messwerte unter Kontrollbedingungen wurde die Variabilität zwischen den Versuchen bestimmt, wobei eine stärkere Variabilität der Messwerte festgestellt wurde. Hierbei lagen die Variationskoeffizienten zwischen 1,7 % für den pH-Wert und 20 % für die Butyrat-Produktion. Auch mit Hilfe der varianzanalytischen Auswertung wurden signifikante Unterschiede in den Parametern des mikrobiellen Stoffwechsels

zwischen den einzelnen Versuchen festgestellt. Die stärkere Variabilität zwischen den Versuchen könnte durch eine unterschiedliche Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Caecum der Spendertiere für die Entnahme des Inokulums verursacht worden sein. Diese Annahme wurde durch die Untersuchung des Caecuminhaltes von vier Pferden mit Hilfe der SSCP-Technik bestätigt. Hierbei lag die Übereinstimmung der Bakterienpopulationen lediglich bei 15 bis 51 % (Persönliche Mitteilung, BECKER 2008). Aufgrund der Tatsache, dass die Pferde aus unterschiedlichen Haltungsbedingungen stammten, war zu erwarten, dass Differenzen in der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Caecum der einzelnen Tiere vorlagen. Grundsätzlich wird die Zusammensetzung der Darmflora durch verschiedene Faktoren beeinflusst, welche zum einen vom Wirt, seiner Umgebung und Fütterung (allogene Faktoren) und zum anderen von den Mikroorganismen selbst ausgehen (autogene Faktoren) (SAVAGE 1981). Aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Caecum der Spendertiere für die Entnahme des Inokulums und der daraus resultierenden unterschiedlichen Fermentationsleistungen lassen sich Versuche, in denen das Inokulum aus dem Caecum verschiedener Pferde entnommen wurde, nur bedingt miteinander vergleichen. Alternativ ist die Verwendung fistulierter Tiere, die zudem unter einheitlichen Bedingungen gehalten werden, in Betracht zu ziehen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich bei der Inkubation von Dickdarminhalt des Pferdes im Cositec-System unter Kontrollbedingungen ein kontinuierliches Fließgleichgewicht einstellte, welches innerhalb eines Versuches eine vergleichende Untersuchung verschiedener Behandlungen ermöglichte. Wie bereits erwähnt, war ein Vergleich zwischen mehreren Versuchen aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Mikroflora im Caecum der Spendertiere und der daraus resultierenden unterschiedlichen Fermentationsleistungen jedoch nur eingeschränkt möglich.

Tab. 4.1: Variabilität der Messwerte während der fünftägigen Kontrollphase in Versuch 5 innerhalb eines Fermenters (1.) bzw. innerhalb eines Versuches (2.) und zwischen den Versuchen 3, 4, 5 und 6 (3.) ($\bar{x}$ ± SD), n = Anzahl der Fermenter

Messgröße	1. Innerhalb eines Fermenter (n=1)	2. Innerhalb eines Versuches (n=12)	3. Zwischen den Versuchen 3, 4, 5, 6 (n=30)
pH-Wert	6,66 ± 0,08	6,63 ± 0,05	6,62 ± 0,11
Redoxpot. [mV]	-218 ± 13	-216 ± 18	-208 ± 25
SCFA [mmol/d]	1,52 ± 0,06	1,52 ± 0,06	1,50 ± 0,16
Acetat [mmol/d]	1,04 ± 0,03	1,04 ± 0,05	1,00 ± 0,13
Propionat [mmol/d]	0,29 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,35 ± 0,06
Butyrat [mmol/d]	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,03
Acetat [mol %]	68,5 ± 0,4	68,5 ± 0,8	66,4 ± 3,0
Propionat [mol %]	19,3 ± 0,7	20,4 ± 1,1	23,8 ± 3,7
Butyrat [mol %]	12,2 ± 0,7	11,1 ± 0,9	9,9 ± 1,4
NH_3-N [mmol/l]	9,7 ± 0,4	9,4 ± 0,4	9,0 ± 1,0
VOS [%]	14,4 ± 1,1	14,6 ± 0,6	15,4 ± 2,0

4.2.2 Messgrößen des mikrobiellen Stoffwechsels unter Kontrollbedingungen (Versuche 3 bis 6)

Die Messung von pH-Wert und Redoxpotential diente in erster Linie der täglichen Kontrolle der vorliegenden *In-vitro*-Bedingungen. Die während der Kontrollphase der Versuche 3 bis 6 gemessenen pH-Werte betrugen im Mittel 6,62 ± 0,11 und lagen somit in einem für das Caecum des Pferdes als physiologisch anzusehenden Bereich (ARGENZIO et al. 1974; KERN et al. 1974; MACKIE u. WILKINS 1988; MEYER u. COENEN 2002). Das Redoxpotential nahm in allen vier Versuchen über die Dauer der Kontrollphase konstant negative Werte an, wodurch die anaeroben Verhältnisse im System reflektiert wurden. Zur Gewährleistung einer ungestörten mikrobiellen Fermentation ist die Erhaltung eines negativen Redoxpotentials besonders wichtig (MAROUNEK et al. 1991).

Eigene Untersuchungen zur Übertragbarkeit der mit Hilfe des Cositec-Systems ermittelten Ergebnisse auf die Verhältnisse *in vivo* wurden lediglich in Bezug auf die SCFA-Konzentrationen und die molaren Anteile der einzelnen kurzkettigen Fett-

säuren Acetat, Propionat und Butyrat durchgeführt. Hierfür erfolgte die Bestimmung der SCFA-Konzentrationen in der Caecumflüssigkeit der Spendertiere für die Entnahme des Inokulums. Die SCFA- Konzentrationen lagen im Mittel bei 64,5 ± 11,9 mmol/l und entsprachen somit den von ALEXANDER und DAVIES (1963) gemessenen SCFA-Konzentrationen im Caecum des Pferdes (64 ± 12,8 mmol/l). Im Gegensatz dazu wurden im Cositec-System während der Kontrollphase der Versuche 3 bis 6 SCFA-Konzentrationen von im Mittel 12,13 ± 1,17 mmol/l gemessen. Die geringeren SCFA-Konzentrationen *in vitro* resultierten wahrscheinlich aus der wesentlich geringeren Partikeldichte im Cositec-System im Vergleich zum Dickdarm und der somit deutlich verminderten Dichte an partikelassoziierten Mikroorganismen. STÜCK (1994) ermittelte *in vivo* ca. zehnfach höhere SCFA-Konzentrationen und um ein bis zwei Zehnerpotenzen höhere Gesamtkeimzahlen im Vergleich zu den *In-vitro*-Proben. Beim Vergleich der SCFA-Konzentrationen im Caecum des Pferdes *in vivo* mit den im Cositec-System gemessenen SCFA-Konzentrationen ist außerdem zu beachten, dass die Mikroorganismen im Cositec-System nur einmal innerhalb von 24 Stunden mit frischem Substrat versorgt werden, wodurch die Kontinuität der Inkubationsbedingungen in diesem Zeitraum nicht gewährleistet ist. Zur Charakterisierung der semikontinuierlichen Inkubations-bedingungen im Cositec-System erstellte STÜCK (1994) über die Dauer von 24 Stunden nach dem Austausch der Substratbeutel ein zeitliches Profil einiger Messgrößen des mikrobiellen Stoffwechsels. Die Probenentnahme erfolgte hierbei alle vier Stunden aus den Überlaufgefäßen, um das System durch das häufige Öffnen der Inkubationsgefäße nicht aus dem Gleichgewicht zu bringen. Während die Schwankungen des pH-Wertes aufgrund des hohen Bikarbonatanteils in der Pufferlösung und der damit hohen Pufferkapazität nur geringfügig waren, wurden in Bezug auf die SCFA-Konzentrationen stärkere Schwankungen festgestellt. Die höchsten SCFA-Konzentrationen (ca. 14,7 mmol/l) wurden dabei vier Stunden nach dem Beutelwechsel gemessen. Im weiteren Zeitverlauf nahmen die SCFA-Konzentrationen kontinuierlich auf ca. 6,5 mmol/l (24 Stunden nach dem Beutelwechsel) ab. Als Ursache für die erhöhten SCFA-Konzentrationen nach dem Beutelwechsel ist die Zusammensetzung des Substrates in Betracht zu ziehen. Das

Substrat besteht aus unterschiedlichen Futterkomponenten, wodurch Kohlenhydrate unterschiedlicher Fermentierbarkeit in die Fermenter gelangen. Es ist daher davon auszugehen, dass zunächst eine Verstoffwechslung leicht fermentierbarer Kohlenhydrate unter Bildung größerer SCFA-Mengen erfolgt. Demnach resultiert die kontinuierliche Abnahme der SCFA-Konzentrationen über die Dauer von 24 Stunden aus dem allmählich größer werdenden Anteil an schwer oder nicht fermentierbaren Kohlenhydraten. Außerdem ist die Menge an Partikeln und damit auch an partikelassoziierten Mikroorganismen nach dem Auswaschen der Substratbeutel und der Rückgabe der Spülflüssigkeit in die Fermenter kurzzeitig erhöht, wodurch der Anstieg der SCFA-Konzentrationen nach dem Beutelwechsel ebenfalls unterstützt wird. Da die Probenentnahme zur Bestimmung der SCFA-Konzentrationen in den vorliegenden Untersuchungen vor jedem Beutelwechsel (d.h. in einem Intervall von 24 Stunden) aus der Überlaufflüssigkeit erfolgte, handelte es sich hierbei um eine Mischprobe, die das zeitliche Profil der unterschiedlichen SCFA-Konzentrationen über die Dauer von 24 Stunden beinhaltete. Unter *In-vivo*-Bedingungen haben Haltungs- und Fütterungsform einen wesentlichen Einfluss auf die Versorgung der Mikroorganismen mit frischem Substrat und damit auf deren Fermentationsleistungen. Ist die Futteraufnahme wie z.B. bei der Weidehaltung über 24 Stunden verteilt, findet ein nahezu kontinuierlicher Eintrag an organischer Substanz in das Caecum statt (MEYER 1980), während bei Stallhaltung ein diskontinuierlicher Chymusfluss vorliegt (DROCHNER u. MEYER 1991). Demnach variieren die SCFA-Konzentrationen im Caecum des Pferdes in Abhängigkeit von der Futterart, dem Zeitpunkt der letzten Fütterung (SCHWABENBAUER et al. 1982) und der Futtermenge (MEYER et al. 1982) (Tab. 4.2 und 4.3). Das Verhältnis der kurzkettigen Fettsäuren zueinander wird dabei durch die Relation von Raufutter zu Kraftfutter (HINTZ et al. 1971; KERN et al. 1973; WILLARD et al. 1977) sowie die Höhe der Futtermenge beeinflusst (MEYER et al. 1982).

Tab. 4.2: SCFA-Konzentrationen [mmol/l] in der Caecumflüssigkeit in Abhängigkeit von der Futterart und dem Zeitpunkt nach der Fütterung (SCHWABENBAUER 1979)

Futterart	Futtermenge kg/100kg LM Tag	SCFA-Konzentrationen [mmol/l] 2 bis 10 h nach der Fütterung				
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
Heu	1,0	26	25	26	25	26
Stroh	1,0	23	22	24	22	21
Mischfutter	1,2	34	43	70	73	65

Tab. 4.3: SCFA-Konzentrationen [mmol/l] und molare Anteile der SCFA [%] in der Caecumflüssigkeit bei Mischfuttergabe (zweimalige Fütterung pro Tag) in Abhängigkeit von der Futtermenge und dem Zeitpunkt nach der Fütterung (MEYER et al. 1982)

Futtermenge pro Mahlzeit [kg]	SCFA-Konzentration [mmol/l]	Molare Anteile der SCFA [%]		
		Acetat	Propionat	Butyrat
Insgesamt, Ø 5 Tagesproben				
2	44,6 ± 14,6	66,9	24,8	6,0
4	69,8 ± 15,3	68,7	20,7	9,2
2 Stunden postprandial				
2	31,6 ± 12,2	69,1	21,3	6,4
4	54,4 ± 13,3	68,1	20,9	9,3
6 Stunden postprandial				
2	51,3 ± 14,8	67,6	25,9	4,5
4	78,7 ± 15,8	70,5	20,5	7,9

Während die SCFA-Konzentrationen in der vorliegenden Arbeit deutlich gegenüber den Verhältnissen *in vivo* reduziert waren, konnte anhand des Verhältnisses von Acetat, Propionat und Butyrat die Ähnlichkeit der mikrobiellen Fermentation *in vitro* mit den Verhältnissen im Caecum unter *In-vivo*-Bedingungen (HINTZ et al. 1971; ARGENZIO et al. 1974; SCHWABENBAUER 1979) verdeutlicht werden. Beim Vergleich der Verhältnisse von Acetat, Propionat und Butyrat in der Caecumflüssigkeit des Pferdes am Starttag (Versuch 3) mit dem ersten Tag der

Kontrollphase wird ersichtlich, dass während der Inkubation im Cositec-System eine Verminderung des molaren Acetat-Anteils von 71 % in der Caecumflüssigkeit auf 61 % am ersten Tag der Kontrollphase zugunsten des molaren Anteils an Propionat auftrat. Dieser stieg von 21 % in der Caecumflüssigkeit auf 29 % am ersten Tag der Kontrollphase an. Im Gegensatz dazu blieb der molare Butyrat-Anteil nahezu unverändert. Über die Dauer der Kontrollphase von fünf Tagen blieben die molaren Anteile der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat konstant, wodurch konstante *In-vitro*-Fermentationsbedingungen reflektiert wurden. Wie zuvor erwähnt, ist das Verhältnis von Acetat zu Propionat von der Fütterung abhängig, wobei der Propionat-Anteil bei einem höheren Stärkeanteil in der Ration zunimmt. Demnach könnte die Zunahme des molaren Anteils an Propionat durch einen höheren Stärkeanteil in der gefriergetrockneten Partikelphase begründet sein. In den *In-vitro*-Untersuchungen von DILL et al. (2007) wurden gegenüber den vorliegenden Untersuchungen ein um ca. 30 % geringerer molarer Anteil an Acetat ermittelt. Beim Vergleich dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen ist jedoch zu beachten, dass DILL et al. (2007) nicht vorverdautes Futter (Heu und Mais) als zu fermentierendes Substrat einsetzten, wodurch den Mikroorganismen *in vitro* ein anderes Substrat zur Verfügung stand als unter *In-vivo*-Bedingungen.

Die Ammoniak-Konzentrationen lagen im Cositec-System im Mittel bei 9,0 ± 1,0 mmol/l, wobei zur Sicherstellung eines optimalen mikrobiellen Wachstums die NH_4Cl-Konzentration in der Pufferlösung auf 5 mmol/l eingestellt wurde. Ammoniak entsteht als zentrales Abbauprodukt im mikrobiellen Stoffwechsel beim Abbau des im Dünndarm nicht verdauten Proteins und NPN-Verbindungen. Je nach Art des Futters und dem Zeitpunkt nach der Fütterung variieren die Ammoniak-Konzentrationen im Caecuminhalt des Pferdes zwischen 1,2 und 5,9 mmol/l (MEYER 1980). Die höchsten Ammoniak-Konzentrationen liegen dabei in den ersten beiden Stunden postprandial vor (SCHWABENBAUER et al. 1982). Da Ammoniak eine bevorzugte Stickstoffquelle für die mikrobielle Proteinsynthese darstellt, verbraucht die Mikroflora den entstandenen Ammoniak unter der Voraussetzung der Verfügbarkeit von Kohlenstoffgerüsten und Energie ihrerseits wiederum in größerem Umfang (ARGENZIO 1990). Die Syntheserate des Mikrobenproteins liegt im Dickdarm des

Pferdes schätzungsweise bei 20 g pro 100 g fermentierter organischer Substanz (DROCHNER u. MEYER 1991). Demnach resultiert die Ammoniak-Konzentration *in vitro* einerseits aus der Bildung des Ammoniaks durch die Mikroorganismen und andererseits aus dem gleichzeitigen Verbrauch durch Selbige. *In vivo* kommt im Gegensatz dazu noch die Resorption durch die Dickdarmschleimhaut hinzu, welche wiederum vom pH-Wert abhängt.

Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz lagen im Cositec-System im Mittel bei 15,4 ± 2,0 % und können als Maß für die Substratverwertung angesehen werden. *In vivo* ist die scheinbare Verdaulichkeit der in den Dickdarm eintretenden Substanz von ihrer Zusammensetzung, der Adaptation der Mikroflora, der Aufenthaltsdauer des Chymus im Dickdarm sowie der mikrobiellen Aktivität abhängig, die wiederum u.a. von einem ausreichenden Angebot an Energie und essentiellen Nährstoffen (z.B. Stickstoff, Phosphor) bestimmt wird. Beim Pferd beträgt die scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz im Dickdarm ca. 37,8 %, wobei große Schwankungen aufgrund der Zusammensetzung des Chymus vorliegen können (DROCHNER u. MEYER 1991). Untersuchungen zur scheinbaren Verdaulichkeit der organischen Substanz in den einzelnen Segmenten des Dickdarmes konnten zeigen, dass diese im Caecum des Pferdes bei einer Fütterung von Heu bzw. Silage im Mittel 14,2 ± 2,9 % beträgt (MIYAJI et al. 2008).

Die Gegenüberstellung der mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik ermittelten quantitativen Ergebnisse mit den Verhältnissen *in vivo* verdeutlicht, dass eine Übertragbarkeit eher begrenzt möglich ist, während Vergleiche innerhalb eines Versuchsansatzes gut möglich sind.

4.3 Beurteilung der verwendeten Wirkstoffdosierungen und Nahrungsreduktionen

4.3.1 Erythromycin

Erythromycin ist ein bakteriostatisch wirkendes Makrolidantibiotikum, welches in höheren Dosierungen und gegen besonders empfindliche Bakterien auch eine bakterizide Wirkung aufweist (HAIGHT u. FINLAND 1952b). Der Wirkmechanismus besteht in der Hemmung der Proteinsynthese der Bakterien in der Phase der Translokation. Durch die Bindung an die 50S-Untereinheit des Bakterienribosoms wird die Translokation der Peptidyl-t-RNA von der Akzeptor- zur Donorstelle blockiert. Somit werden zwar noch kleinere Peptide synthetisiert, die Synthese höher polymerisierter Peptide wird jedoch unterbunden (BURROWS 1980). Die Wirkung ist demnach auf proliferierende Keime beschränkt (HAIGHT u. FINLAND 1952b; KROKER et al. 1996).

Ausschließlich die freie Base des Erythromycins ist antibiotisch wirksam. Diese ist jedoch bei saurem pH-Wert (pH < 6,0) sehr instabil. Um die Stabilität im Magensaft zu erhöhen und damit eine verbesserte Bioverfügbarkeit zu erzielen, werden in der Humanmedizin geeignete Salz- (Erythromycin-Stearat und -Phosphat) und/oder Esterverbindungen (Erythromycin-Ethylsuccinat) eingesetzt (STAHLMANN u. LODE 2005). Während Erythromycin-Estolat (Kombination aus Salz und Ester) und Erythromycin-Ethylsuccinat als inaktive Formen im Duodenum absorbiert und anschließend zur aktiven freien Base hydrolysiert werden, dissoziieren Erythromycin-Stearat und Erythromycin-Phosphat bereits im Duodenum und werden so als freie Base absorbiert (CHOW 1984). Erythromycin ist gut lipidlöslich und erreicht eine weite Verteilung im peripheren Gewebe, wobei hier eine höhere Konzentration als im Serum erreicht wird (BURROWS 1980). Die Metabolisierung des Erythromycins erfolgt vorwiegend in der Leber, wobei N-Methyl-Erythromycin mit ca. 1/20 der ursprünglichen Aktivität entsteht. Nach intestinaler Absorption wird ein großer Anteil (ca. 65 %) der Dosis mit der Galle, davon 10 % nicht metabolisiert, ausgeschieden. Geringe Anteile (ca. 5-15 %) werden renal, teilweise als inaktive Metabolite, eliminiert (KROKER et al. 1996). Die Elimination der Makrolide über den Darm kann zu einer

Beeinträchtigung der Mikroflora und einer Überwucherung mit resistenten Keimen (z.B. *Cl. difficile*) führen (PERITI et al. 1993).

Das Wirkspektrum von Erythromycin umfasst in erster Linie gram-positive Bakterien (HAIGHT u. FINLAND 1952a; BURROWS 1980). In diesem Zusammenhang gilt jedoch zu beachten, dass die Wirksamkeit von Erythromycin vom pH-Wert abhängig ist. Infolge einer Erhöhung des pH-Wertes wurde zunächst von einer verbesserten Wirksamkeit gegen *Streptococcus pyogenes* und *Sarcina lutea* (HAIGHT u. FINLAND 1952b) und später gegen Staphylokokken (GARROD u. WATERWORTH 1956) berichtet. Des Weiteren steigt die Wirksamkeit von Erythromycin gegen gram-negative Bakterien im Bereich von pH 6 bis 8 deutlich an (SABATH et al. 1968; LORIAN u. SABATH 1970). Die steigende antimikrobielle Aktivität des Erythromycins bei einem alkalischen pH-Wert lässt sich eventuell dadurch erklären, dass die nichtionisierte Form des Wirkstoffes besser durch die Zellwand der Bakterien diffundiert (SABATH et al. 1968).

Die orale Applikation von Erythromycin führt beim Menschen aufgrund der hohen Konzentration des Antibiotikums in den Faeces zu einer Reduktion der aeroben gram-negativen Bakterien v.a. aus der Familie der *Enterobacteriaceae* (HARTLEY et al. 1978; ANDREMONT u. TANCREDE 1981; ANDREMONT et al. 1983; NORD et al. 1984a). Neben der Reduktion der aeroben Flora bewirkt die Applikation von Erythromycin auch eine Reduktion der anaeroben Flora in den Faeces (HEIMDAHL u. NORD 1982a; NORD et al. 1984b). HEIMDAHL u. NORD (1982a) beobachteten bei den Patienten, die über die Dauer von sieben Tagen mit Erythromycin (500 mg alle zwölf Stunden, p.o.) behandelt wurden, zum Teil eine totale Elimination von *Enterococcus spp.* und *Streptococcus spp.*, sowie von *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.* und *Veillonella spp.*. Bei allen Patienten trat eine Kolonisation mit Erythromycin-resistenten Enterobakterien, Staphylokokken oder Hefen auf. Zudem stellten die Autoren bei einem Teil der Patienten eine Kolonisation mit Erythromycin-resistenten Clostridien fest. In den *In-vitro*-Untersuchungen von KWOK et al. (1979) wurden bei einer Erythromycin-Konzentration von 2 µg/ml 52 % der untersuchten gram-negativen und 81 % der gram-positiven anaeroben Bakterien inhibiert. Auch SUTTER et al. (1976) untersuchten die Wirkung von Erythromycin

gegen anaerobe Bakterien und stellten fest, dass *Eubacterium spp., Bifidobacterium spp., Cl. perfringens* und *Propionibacterium spp.* gut empfindlich waren, wohingegen ein Großteil der untersuchten Stämme von *Bacteroides, Selenomonas* sowie *Fusobacterium* eine Resistenz gegenüber Erythromycin aufwies.

Die Kombination von Erythromycin und Rifampicin galt lange Zeit als Mittel der Wahl zur Behandlung der *Rhodococcus equi*-Infektion beim Fohlen (LAKRITZ u. WILSON 2002; LÄMMER et al. 2008). Die empfohlene Dosis beträgt bei der oralen Applikation 25 mg/kg KG Erythromycin-Estolat alle sechs Stunden (PRESCOTT u. SWEENEY 1985) bzw. alle acht Stunden (HILLIDGE 1987). EWING et al. (1994) zeigten im Rahmen einer pharmakologischen Studie an adulten Pferden, dass Erythromycin-Estolat durch die Salze Erythromycin-Phosphat oder -Stearat ersetzt werden kann, wobei die Autoren eine zweimalige Verabreichung von 37,5 mg/kg KG pro Tag für ausreichend erachteten. Gastrointestinale Störungen konnten weder in dieser Studie noch in den Untersuchungen von PRESCOTT et al. (1983) beobachtet werden. Fohlen, die mit Erythromycin behandelt werden, haben jedoch ein erhöhtes Risiko eine Diarrhoe zu entwickeln. Hierbei kann neben der antibiotischen auch die prokinetische Wirkung des Erythromycins als Ursache in Betracht gezogen werden (STRATTON-PHELPS et al. 2000). Die prokinetische Wirkung des Erythromycins lässt sich auf dessen Motilin-ähnliche Wirkung auf die glatte Muskulatur des Darmtraktes zurückführen, wodurch die Passage der Ingesta beschleunigt wird (PEETERS et al. 1989; OTTERSON u. SARNA 1990; HASLER et al. 1992). Neben der Diarrhoe zählen Hyperthermie sowie Atemnot zu den Nebenwirkungen der Erythromycin-Applikation beim Fohlen (STRATTON-PHELPS et al. 2000). Während Erythromycin beim Fohlen in den meisten Fällen nur eine leichte Diarrhoe hervorruft (SWEENEY et al. 1987; GIGUERE u. PRESCOTT 1997; AINSWORTH 1999), gilt die Applikation von Erythromycin beim adulten Pferd aufgrund der Assoziation mit der Typhlocolitis als kontraindiziert (BURROWS 1980; OWEN 1980). Bereits die orale Applikation von Erythromycin-Ethylsuccinat in subtherapeutischer Dosierung (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden) kann beim adulten Pferd zur Entwicklung einer Typhlocolitis führen, wobei in den Faeces der erkrankten Pferde hohe Erythromycin-Konzentrationen (4,1 - 8,8 µg/g) vorlagen (GUSTAFSSON et al. 1997). Bei einem

dieser Pferde konnten Erythromycin-resistente toxinogene *Cl. difficile*-Stämme nachgewiesen werden, während bei dem zweiten Pferd, mit Ausnahme der Vermehrung der coliformen Bakterien und einem erhöhten pH-Wert, keine Veränderungen in der Faecalflora festzustellen waren. In den Untersuchungen von BAVERUD et al. (1998) reichten bereits die Erythromycin-Konzentrationen in den Faeces der Fohlen (88,8 - 1651 µg/g) aus, um bei den Stuten eine Typhlocolitis zu induzieren. Im Gegensatz dazu stellte BAUMS (2003) während einer fünftägigen oralen Applikation von Erythromycin-Ethylsuccinat in der gleichen Dosierung wie GUSTAFSSON et al. (1997) bei keinem der vier Versuchspferden klinische oder hämatologische Anzeichen einer Typhlocolitis fest. Erst in Kombination mit einer dreitägigen Nahrungskarenz konnte BAUMS (2003) bei zwei Versuchspferden eine Typhlocolitis induzieren. Der Grund für die unterschiedliche Auswirkung von Erythromycin auf die gastrointestinale Mikroflora könnte in einer unterschiedlichen Zusammensetzung der Dickdarmflora liegen, wobei vornehmlich das Vorhandensein potentiell pathogener Bakterien und deren Erythromycin-Resistenz eine Rolle spielt (GUSTAFSSON et al. 1997). Aufgrund der beschriebenen Nebenwirkungen des Erythromycins bei Stute und Fohlen werden alternativ zum Erythromycin andere Makrolidantibiotika (Azithromycin, Clarithromycin oder Tulathromycin) in Kombination mit Rifampicin zur Therapie der *Rhodococcus equi*-Infektion beim Fohlen eingesetzt (LÄMMER et al. 2008).

In den vorliegenden Untersuchungen sollten die Veränderungen im mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel des Pferdes aufgezeigt werden, die nach einer oralen Applikation von Erythromycin auftreten. Hierfür war es zunächst notwendig, die Erythromycin-Konzentration im Caecumchymus eines mit Erythromycin behandelten Pferdes zu bestimmen. Aus diesem Grund wurde in Anlehnung an die Untersuchungen von GUSTAFSSON et al. (1997) einem adulten Pferd über die Dauer von fünf Tagen Erythromycin-Ethylsuccinat in subtherapeutischer Dosierung (1,25 mg/kg KG alle acht Stunden p.o.) verabreicht. Pro Kilogramm Caecuminhalt wurde bei diesem Pferd eine Konzentration von 20 ± 3 mg Erythromycin nachgewiesen. Auf der Grundlage dieser Untersuchung wurden in Versuch 7 vier verschiedene Erythromycin-Dosierungen (1,25, 2,5, 10 und 20 mg/d) kontinuierlich

über die Pufferlösung den Fermentern zugeführt. Anhand der andauernden Reduktion der Propionat-Produktionsraten bei der Verabreichung von 10 mg Erythromycin pro Tag konnte gezeigt werden, dass diese Dosis ausreichte, um eine andauernde Reduktion der mikrobiellen Fermentationsrate im Cositec-System hervorzurufen (Abb. 4.1). Der transiente Abfall der Propionat-Produktionsraten durch die Verabreichung der beiden niedrigen Erythromycin-Dosierungen (1,25 und 2,5 mg/d) könnte zum einen durch eine zunehmende Resistenzentwicklung ursprünglich Erythromycin-empfindlicher Bakterien oder zum anderen durch ein vermehrtes Wachstum Propionat-produzierender Bakterien mit einer natürlichen Erythromycin-Resistenz begründet sein, die sich in Folge der selektiven Reduktion Erythromycin-empfindlicher Bakterien verstärkt vermehren konnten. Im Gegensatz dazu konnte bei der Verabreichung der beiden hohen Erythromycin-Dosierungen (10 und 20 mg/d) keine Erholung der Propionat-Produktionsraten beobachtet werden. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde in den nachfolgenden Versuchen eine Erythromycin-Dosierung von 10 mg/d beibehalten.

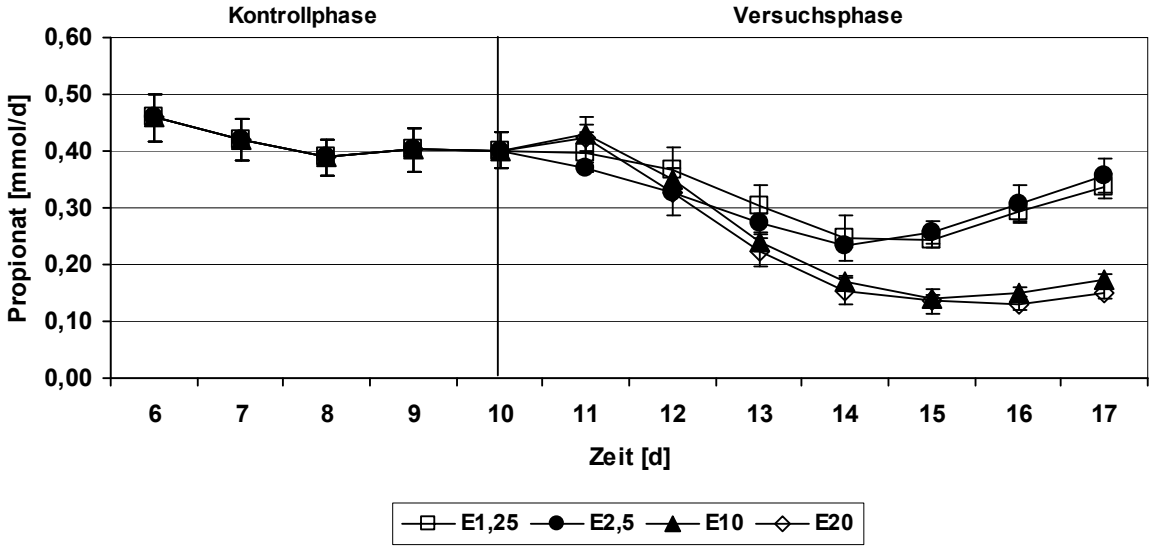

Abb. 4.1: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe ($\bar{x}$ ± SD; Kontrollphase: n = 12, Versuchsphase: n = 3); Ergebnisse zur Signifikanz der globalen F-Tests aus der Varianzanalyse: Faktor Behandlung $p < 0,05$, Faktor Zeit $p < 0,05$, Wechselwirkung Behandlung x Zeit $p < 0,05$; paarweiser Vergleich der Mittelwerte mit t-verteilten Prüfgrößen ($p < 0,05$): E1,25 vs. E10; E1,25 vs. E20; E2,5 vs. E10; E2,5 vs. E20; (E1,25= 1,25 mg E/d; E2,5 = 2,5 mg E/d; E10 = 10 mg E/d; E20 = 20 mg E/d)

4.3.2 Erythromycin und Nahrungsreduktion

Im Hinblick auf die Zuordnung der Typhlocolitis zu den Faktorenkrankheiten wurde der Einfluss der Kombination der Faktoren Erythromycin und Nahrungsreduktion auf den mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel des Pferdes untersucht. Experimentelle Untersuchungen an gesunden Pferden belegen, dass nach einer Nahrungskarenz von 100 Stunden die Trockensubstanzmenge im Caecum auf 30 % verglichen mit den Pferden der Kontrollgruppe reduziert ist (DEEGEN et al. 1995). Auf Grundlage dieser Untersuchungen wurde in Versuch 8 zusätzlich zur Verabreichung von Erythromycin (10 mg/d) eine Reduktion der Substratmenge auf 60, 30 und 10 % gegenüber der Kontrollphase vorgenommen und mit einer alleinigen Erythromycin-Zugabe (10 mg/d) verglichen. Neben der Reduktion der Substratmenge auf 30 % wurde diese auf 60 und 10 % reduziert, um zu ermitteln, ab welcher Reduktionsstufe zusätzlich zur Erythromycin-Applikation eine Beeinträchtigung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen hervorgerufen wird. Während die Reduktion der Substratmenge auf 60 % gegenüber der alleinigen Erythromycin-Applikation keinen weiteren Effekt auf den mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel hatte, konnte ab einer Reduktion der Substratmenge auf 30 % eine Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen gegenüber der alleinigen Erythromycin-Applikation nachgewiesen werden. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde in Versuch 9 eine vergleichende Untersuchung der Wirkung von Erythromycin, einer Reduktion der Substratmenge auf 30 % und der Kombination beider Faktoren auf die mikrobiellen Stoffwechselleistungen vorgenommen.

4.4 Veränderungen der mikrobiellen Stoffwechselleistungen durch die Zugabe von Erythromycin und der Reduktion der Trockensubstanz

4.4.1 pH-Wert

Der pH-Wert im Dickdarm resultiert aus den Einflüssen verschiedener Faktoren, bestehend aus der Produktion organischer Säuren und Ammoniak durch die Dickdarmflora, der Resorption dieser Stoffwechselprodukte und der Bikarbonat-sekretion durch die Dickdarmschleimhaut. Dabei sind die SCFA-Konzentrationen negativ, die Ammoniak-Konzentrationen hingegen positiv mit dem pH-Wert korreliert. Im Cositec-System weist die eingesetzte Pufferlösung aufgrund des hohen Bikarbonatgehaltes (HCO_3^-: 25 mmol/l) eine hohe Pufferkapazität auf, wodurch signifikante Änderungen im pH-Wert erst bei drastischen Veränderungen im mikrobiellen Stoffwechsel zu erwarten sind. Durch die Applikation von Erythromycin wurden in den einzelnen Versuchen unterschiedliche Veränderungen des pH-Wertes hervorgerufen. Während in den Versuchen 7 und 9 keine Veränderungen des pH-Wertes beobachtet werden konnten (Abb. 3.13 und 3.37), stieg der pH-Wert in Versuch 8 an (Abb. 3.25). Dieser Anstieg wurde durch die zusätzliche Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % verstärkt. In Versuch 9 führte sowohl die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % als auch die alleinige Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % zu einem behandlungs- und zeitabhängigen Anstieg des pH-Wertes. Parallel zum Anstieg des pH-Wertes konnte in den Versuchen 8 und 9 eine Reduktion der SCFA-Produktionsraten verzeichnet werden (Abb. 3.27 und 3.39). Demnach lässt sich der Anstieg des pH-Wertes im Cositec-System auf die abnehmenden SCFA-Produktionsraten der Bakterien zurückführen, wie sie in Versuch 8 und 9 beobachtet werden konnten. Währenddessen bewirkte die Zugabe von Erythromycin in Versuch 7 weder Veränderungen im pH-Wert noch in den SCFA-Produktionsraten (Abb. 3.15). Auch DEEGEN et al. (1995) beobachteten im Caecum der Pferde aus der Karenzgruppe einen Anstieg des pH-Wertes auf einen Höchstwert von nahezu 8, welcher von einer Reduktion der SCFA-Konzentrationen um 94 % verglichen mit den Pferden aus der

Kontrollgruppe begleitet war. Ein Einfluss der Ammoniak-Konzentration auf den pH-Wert konnte in den vorliegenden Untersuchungen nicht festgestellt werden.

Im Zusammenhang mit dem Anstieg des pH-Wertes ist zu beachten, dass die Wirksamkeit von Erythromycin gegenüber gram-negativen Bakterien im Bereich von pH 6 und 8 zunimmt (SABATH et al. 1968; LORIAN u. SABATH 1970). Da im Caecum des Pferdes der Anteil an gram-negativen Bakterien mehr als 80 % (ca. 60 % gram-negative Stäbchen, 20 % gram-negative Kokken) beträgt (KERN et al. 1973; KERN et al. 1974), besteht die Gefahr, dass bei deren Lyse in vermehrtem Maße Endotoxine freigesetzt werden, welche wiederum eine Endotoxämie hervorrufen können.

4.4.2 Redoxpotential

Das Redoxpotential charakterisiert die Gesamttendenz der Oxidations-Reduktions-Prozesse (GRÜTTE 1963) und beeinflusst in entscheidendem Maße die topographische Verteilung der Keimgruppen des Gastrointestinaltraktes. Strikte Anaerobier sind erst bei einem Redoxpotential zwischen -100 und -300 [mV] in der Lage sich zu vermehren (SCHULZE u. JACOB 1981). Veränderungen im Redoxpotential können grundsätzlich durch Stoffwechselprodukte mit Redox-charakter, durch die Aktivität von verschiedenen Enzymen in der Zelle (Oxidasen, Dehydrogenasen) sowie durch Veränderungen des O_2-Druckes hervorgerufen werden (JACOB 1970). In den vorliegenden Untersuchungen bewirkte sowohl die Zugabe von Erythromycin (Versuch 7, 8, 9) als auch die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz (Versuch 8), einen zeitabhängigen Abfall des Redoxpotentials. Ein Unterschied zwischen den verschiedenen Behandlungen konnte weder in Versuch 7 noch in Versuch 8 nachgewiesen werden (Abb. 3.14 und 3.26). Der Abfall des Redoxpotentials deutet auf eine Abnahme der anaeroben Verhältnisse im System hin, wobei durch Erythromycin in erster Linie reduzierende Bakterien abgetötet wurden. Durch den Abfall des Redoxpotentials wurden die Lebensbedingungen der strikt anaeroben Bakterien im System verschlechtert. Im Gegensatz dazu bewirkte die alleinige Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % (Versuch 9) einen Anstieg des

Redoxpotentials (Abb. 3.38). Folglich hatte die Reduktion der Trockensubstanz keine Auswirkungen auf die reduzierenden Bakterien. Vielmehr stabilisierten sich unter diesen Umständen die anaeroben Verhältnisse im System. Dieser Effekt konnte auch bei der Kombination beider Faktoren festgestellt werden. Demnach wurde durch die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz kein signifikanter Abfall des Redoxpotentials hervorgerufen, während die alleinige Zugabe von Erythromycin zu einem signifikanten Abfall des Redoxpotentials gegenüber dem Kontrollansatz führte (Abb. 3.38). In diesem Versuch wurden wahrscheinlich durch die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz im Vergleich zur alleinigen Erythromycin-Zugabe weniger reduzierende Bakterien gehemmt, wodurch ein negativeres Redoxpotential aufrechterhalten werden konnte. Dieser Effekt konnte allerdings in Versuch 8 nicht beobachtet werden (Abb. 3.26). Die unterschiedliche Auswirkung der Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % gegenüber der alleinigen Erythromycin-Zugabe in den Versuchen 8 und 9 spiegelt erneut die unterschiedliche Zusammensetzung der Mikroflora in den einzelnen Versuchen wieder.

4.4.3 SCFA-Produktionsraten

Die Applikation von Erythromycin wirkte sich unterschiedlich auf die SCFA-Produktionsraten in den einzelnen Versuchen aus. Während in Versuch 7 keine gerichteten Veränderungen in den SCFA-Produktionsraten infolge der Applikation von Erythromycin auftraten (Abb. 3.15), bewirkte diese einen Abfall der SCFA-Produktionsraten in den Versuchen 8 und 9 (Abb. 3.27 und 3.39). Auch in der Literatur liegen unterschiedliche Angaben über die Veränderungen der SCFA-Konzentrationen in Folge einer oralen Verabreichung von Erythromycin vor. In diesen Studien wurden allerdings die SCFA-Konzentrationen in den Faeces des Menschen bestimmt. Da die kurzkettigen Fettsäuren die Endprodukte des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels darstellen, lassen sich Veränderungen in den faecal ausgeschiedenen SCFA-Konzentrationen auf die Wirkung der Antibiotika auf die Mikroflora im Dickdarm zurückführen (HOVERSTAD et al. 1986). CLAUSEN et al. (1991) verzeichneten nach der oralen Verabreichung von Erythromycin (500 mg, 2 x täglich) eine Reduktion der SCFA-Konzentrationen in den Faeces um 36 %, die mit

einer Erhöhung des pH-Wertes von 7,1 auf 7,5 einherging. Des Weiteren stellten die Autoren *in vitro* bereits durch die Zugabe von Erythromycin in niedriger Dosierung (0,04 g/l) eine Reduktion der SCFA-Produktionsraten fest. Dieser Effekt wurde durch die Zugabe von Erythromycin in einer höheren Dosierung (4,00 g/l) noch verstärkt. Auch MELLON et al. (2000) konnten *in vitro* durch die Zugabe von Erythromycin (4,00 g/l) eine Reduktion der SCFA-Produktionsraten (um 65 %) hervorrufen. Im Gegensatz dazu beobachteten HEIMDAHL u. NORD (1982b) und HOVERSTAD et al. (1986) bei der oralen Verabreichung von Erythromycin (500 mg 2 x täglich bzw. 250 mg 4 x täglich) über sechs bzw. sieben Tage eine geringfügige Reduktion der SCFA-Konzentrationen in den Faeces, die jedoch nicht signifikant war. In den *In-vitro*-Untersuchungen von CARMAN et al. (2005) konnten infolge der Applikation von Erythromycin keine Veränderungen der SCFA-Produktionsraten festgestellt werden. Den Grund hierfür sehen die Autoren in der vergleichsweise niedrigen Dosierung des Erythromycins (1,5, 15 und 150 µg/ml).

Die beobachteten unterschiedlichen Veränderungen der SCFA-Produktionsraten in den einzelnen Versuchen lassen sich auf den unterschiedlichen Effekt der Erythromycin-Applikation auf die Produktionsraten der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat in den jeweiligen Versuchen zurückführen. Die Ursache hierfür könnte in der bereits beschriebenen unterschiedlichen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Caecum der einzelnen Pferde, sowie in einer divergierenden Erythromycin-Resistenz der Mikroorganismen liegen. Während die Verabreichung von Erythromycin in den Versuchen 7 und 9 keinen Effekt auf die Acetat-Produktionsraten hatte (Abb. 3.16 und 3.40), konnte in Versuch 8 eine Reduktion der Acetat-Produktionsraten nachgewiesen werden (Abb. 3.28). HEIMDAHL u. NORD (1982a) und HOVERSTAD et al. (1986) beobachteten bei der oralen Verabreichung von Erythromycin ebenfalls eine geringfügige Abnahme der Acetat-Konzentrationen, die jedoch nicht signifikant war. Acetat wird als Stoffwechselprodukt einer Vielzahl von Bakterien im Caecum des Pferdes gebildet (z.B. *Bacteroides spp., Selenomonads spp., Eubacterium spp., Butyrivibrios spp., Streptococcus spp., Propionibacterium spp.*) (MACZULAK et al. 1985). Die geringe Verminderung der Acetat-Produktionsraten im Zuge der Erythromycin-Zugabe deutet

darauf hin, dass durch die Verabreichung von Erythromycin nur ein kleiner Teil der Acetat-produzierenden Bakterien gehemmt wurde.

Im Gegensatz dazu bewirkte die Verabreichung von Erythromycin in allen Versuchen eine Reduktion der Propionat-Produktionsraten um 60 bis 67 % (Abb. 3.17, 3.29 und 3.41). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Erythromycin trotz der unterschiedlichen Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft in den einzelnen Versuchen, einen einheitlichen Effekt auf die Propionat-produzierenden Bakterien hatte. Propionat wird im Caecum des Pferdes in erster Linie von *Propionibacterium spp.* und *Selenomonads spp.* produziert, wobei *Butyrivibrios spp., Bacteroides spp.* und *Lactobacillus spp.* ebenfalls geringe Mengen Propionat produzieren (MACZULAK et al. 1985). Auch in der Humanmedizin liegen Berichte über eine starke Reduktion der Propionat-Konzentrationen in den Faeces infolge der Verabreichung von Erythromycin vor. HEIMDAHL u. NORD (1982a) stellten nach einer vier- bis fünftägigen oralen Verabreichung von Erythromycin eine Verminderung der Propionat-Konzentrationen in den Faeces um 70 bis 80 % fest. Auch in den Untersuchungen von HOVERSTAD et al. (1986) konnte am 6. Tag der Applikation ein Abfall der Propionat-Konzentrationen um ca. 80 % beobachtet werden. MELLON et al. (2000) zeigten, dass die Propionat-Produktion bei der *In-vitro*-Inkubation von Faeces der Patienten, die über die Dauer von einer Woche oral mit Erythromycin behandelt wurden, vollständig unterbunden wurde.

Ein komplett anderes Bild stellte sich bei der Betrachtung der Veränderungen der Butyrat-Produktionsraten in den einzelnen Versuchen infolge der Erythromycin-Applikation dar. Während die Applikation von Erythromycin in Versuch 7 zu einem Anstieg der Butyrat-Produktionsraten führte (Abb. 3.18), konnte in Versuch 8 ein Abfall der Butyrat-Produktionsraten beobachtet werden (Abb. 3.30). Im Gegensatz dazu ließ sich in Versuch 9 nur eine geringfügige Reduktion der Butyrat-Produktionsraten verzeichnen, die jedoch nicht signifikant war (Abb. 3.42). In der Humanmedizin wurden bei der oralen Verabreichung von Erythromycin ebenfalls nur geringfügige, nicht signifikante Verminderungen der Butyrat-Konzentrationen in den Faeces nachgewiesen (HEIMDAHL u. NORD 1982a; HOVERSTAD et al. 1986). Butyrat wird im Caecum des Pferdes in erster Linie von *Butyrivibrios spp.* produziert.

Daneben entsteht Butyrat in geringeren Mengen u.a. im Stoffwechsel von *Eubacterium spp.* (MACZULAK et al. 1985). Die unterschiedliche Auswirkung der Erythromycin-Zugabe auf die Butyrat-Produktionsraten lässt auf eine unterschiedliche Erythromycin-Resistenz der Bakterien im Caecum der einzelnen Pferde schließen. Es ist davon auszugehen, dass in Versuch 7 ein Großteil der Butyrat-produzierenden Bakterien resistent gegenüber Erythromycin war und sich in Folge der selektiven Reduktion der Propionat-produzierenden Bakterien verstärkt vermehren konnte. Im Gegensatz dazu deutet die Reduktion der Butyrat- und Propionat-Produktionsraten in Versuch 8 darauf hin, dass in diesem Versuch sowohl ein Großteil der Butyrat- als auch der Propionat-produzierenden Bakterien empfindlich gegenüber Erythromycin war.

Anhand der beobachteten unterschiedlichen Veränderungen der Produktionsraten von Acetat, Propionat und Butyrat durch die Applikation von Erythromycin in den einzelnen Versuchen wird ersichtlich, dass Erythromycin je nach Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Dickdarm einen unterschiedlichen Einfluss auf die mikrobiellen Stoffwechselleistungen hatte. Ausschließlich in Bezug auf die Reduktion der Propionat-Produktionsraten lag ein einheitlicher Effekt der Erythromycin-Applikation vor.

Durch die zusätzliche Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % konnte in Versuch 8 verglichen mit der alleinigen Erythromycin-Zugabe keine weitere Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen in Form einer Reduktion der Produktionsraten von Acetat, Propionat und Butyrat beobachtet werden (Abb. 3.28, 3.29 und 3.30). Demnach reichte eine Reduktion der Trockensubstanz auf 60 % nicht aus, um den mikrobiellen Stoffwechsel zusätzlich zur Erythromycin-Zugabe zu beeinträchtigen. Im Gegensatz dazu bewirkte die Reduktion der Trockensubstanz auf 30 und 10 % einen stärkeren Abfall der SCFA-Produktionsraten, welcher aus dem Abfall der Produktionsraten von Acetat, Propionat und Butyrat resultierte. Die stärkste Verminderung der mikrobiellen Fermentationsleistung wurde dabei durch die Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % hervorgerufen. Die Ergebnisse dieses Versuches bestätigen, dass der Effekt des Erythromycins durch die Reduktion der Trockensubstanz (30 und 10 %) verstärkt wird. Es ist davon auszugehen, dass die

Erythromycin-Applikation ausschließlich eine Hemmung Erythromycin-empfindlicher Bakterien bewirkte, während durch die Reduktion der Trockensubstanz zusätzlich Erythromycin-resistente Bakterien geschädigt wurden. In der Literatur konnten keine Angaben zu Untersuchungen gefunden werden, die sich mit den Veränderungen auf der Ebene des mikrobiellen Stoffwechsels bei der Verabreichung von Erythromycin in Kombination mit einer reduzierten Nahrungsaufnahme befassen.

Die vergleichende Untersuchung des Einflusses von Erythromycin, einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % und der Kombination beider Faktoren in Versuch 9 verdeutlichte, dass die starke Abnahme der Produktionsraten von Acetat und Butyrat in erster Linie durch die Reduktion der Trockensubstanz verursacht wurde (Abb. 3.40 und 3.42). Besonders hervorzuheben ist hierbei, dass die Nachweisgrenze für Butyrat bereits am zweiten Tag der Versuchsphase unterschritten wurde. Darüber hinaus bewirkten sowohl die Reduktion der Trockensubstanz als auch die Erythromycin-Zugabe einen starken Abfall der Propionat-Produktionsraten, der durch die Kombination beider Faktoren noch verstärkt wurde (Abb. 3.41). Auch in Bezug auf die Reduktion der SCFA- und Acetat-Produktionsraten zeichnete sich durch die Kombination beider Faktoren eine Intensivierung der Einzeleffekte ab. Dies konnte jedoch statistisch nicht abgesichert werden. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse lässt sich ableiten, dass *in vivo* vor allem eine reduzierte Nahrungsaufnahme zu einer erheblichen Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen führt, welche bei einer zusätzlichen Verabreichung von Erythromycin noch verstärkt wird.

Beim Vergleich der Veränderungen der mikrobiellen Stoffwechselleistungen in den einzelnen Versuchen bei identischer Behandlung wird ersichtlich, dass je nach Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft die Wirkung der jeweiligen Behandlung unterschiedlich sein kann. Eine vergleichende Untersuchung mehrerer Behandlungen sollte demnach innerhalb eines Versuchsansatzes durchgeführt werden.

4.4.4 Ammoniak-Konzentration

Die größte Menge des intestinalen Ammoniaks wird durch gram-negative Anaerobier, *Clostridium spp., Enterobacteriaceae spp.* und *Bacillus spp.* produziert, wohingegen *Streptococcus spp.* und *Micrococcus spp.* sowie gram-positive, nicht sporenbildende Anaerobier moderate Mengen Ammoniak bilden. *Lactobacillus spp.* und Hefen bilden dagegen nur geringe Mengen Ammoniak (VINCE u. BURRIDGE 1980). Wie bereits beschrieben verwenden die Mikroorganismen Ammoniak zur mikrobiellen Proteinsynthese, wodurch die Ammoniak-Konzentration *in vitro* aus der Bildung und dem Verbrauch durch die Mikroorganismen resultiert. Limitierende Faktoren für die mikrobielle Proteinsynthese sind die Verfügbarkeit von Kohlengerüststoffen und die energetische Versorgung der Mikroorganismen. Eine Abnahme der Ammoniak-Konzentrationen im Cositec-System kann auf der einen Seite durch eine verminderte Proteolyse und auf der anderen Seite durch eine Zunahme der mikrobiellen N-Assimilation erklärt werden. In Versuch 7 wurde infolge der Zugabe von Erythromycin eine transiente Abnahme der Ammoniak-Konzentrationen beobachtet (Abb. 3.23). Parallel dazu traten ein Abfall der Propionat-Produktionsraten (Abb. 3.17) sowie ein Anstieg der Butyrat-Produktionsraten (Abb. 3.18) auf. Die Verminderung der Ammoniak-Konzentrationen könnte folglich zum einem aus einer verminderten Proteolyse der durch Erythromycin geschädigten Propionat-produzierenden Bakterien und zum anderen aus einer verstärkten N-Assimilation Butyrat-produzierender Bakterien resultieren. Im Gegensatz dazu ließen sich weder in Versuch 8 noch in Versuch 9 infolge der alleinigen Erythromycin-Applikation Veränderungen der Ammoniak-Konzentrationen verzeichnen (Abb. 3.35 und 3.47). Demgegenüber konnte in Versuch 8 durch die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % bzw. 10 % ein Abfall der Ammoniak-Konzentrationen festgestellt werden (Abb. 3.35). Der gleiche Effekt zeigte sich in Versuch 9 im Zuge der Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % und der Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % (Abb. 3.47). Der beobachtete Abfall der Ammoniak-Konzentrationen in den Versuchen 8 und 9 resultierte vermutlich aus einer verminderten Ammoniak-Bildung infolge eines reduzierten mikrobiellen Proteinabbaues, da den Mikroorganismen

aufgrund der reduzierten Substratmenge weniger Protein zur Verfügung stand und zudem die Stoffwechselleistungen der Mikroorgansimen, wie anhand der Abnahme der SCFA-Produktionsraten (Abb. 3.27 und 3.39) und der Verdaulichkeiten der organischen Substanz (Abb. 3.36 und 3.48) ersichtlich wurde, stark eingeschränkt waren. Eine Zunahme der N-Assimilation ist aufgrund der mangelhaften energetischen Versorgung der Mikroorganismen durch die Reduktion der Trockensubstanz als unwahrscheinlich anzusehen.

4.4.5 Verdaulichkeit der organischen Substanz

Im Cositec-System besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Substratverwertung durch die Mikroorganismen und deren Stoffwechselleistungen. Rückschlüsse auf den Grad der Substratverwertung können hierbei anhand der Verdaulichkeit der organischen Substanz gezogen werden. In Versuch 7 stieg die Verdaulichkeit der organischen Substanz durch die Zugabe von Erythromycin in allen Versuchansätzen zeitabhängig an (Abb. 3.24). Parallel dazu konnte ein zeitabhängiger Anstieg der Butyrat-Produktionsraten beobachtet werden (Abb. 3.18). Demnach lässt sich der Anstieg der Verdaulichkeit der organischen Substanz mit großer Wahrscheinlichkeit auf die gesteigerten Stoffwechselleistungen der Butyratproduzierenden Bakterien zurückführen. Im Gegensatz hierzu ließ sich in allen Versuchsansätzen der Versuche 8 und 9 eine Abnahme der Verdaulichkeit der organischen Substanz feststellen (Abb. 3.36 und 3.48). Als Ursache hierfür kann eine verringerte Substratverwertung der durch die Zugabe von Erythromycin und die Nahrungsreduktion geschädigten Bakterien angesehen werden, woraus auch die bereits beschriebene Reduktion der SCFA-Produktionsraten resultierte (Abb. 3.27 und 3.39). In Versuch 8 wurde die stärkste Verminderung der Verdaulichkeit der organischen Substanz durch die Kombination von Erythromycin mit einer Reduktion der Trockensubstanz auf 10 % hervorgerufen, wobei die Verdaulichkeit der organischen Substanz ab dem 14. Versuchstag im negativen Bereich lag. Die Annahme negativer Werte resultierte daraus, dass die rückgewogene Substratmenge nach der Verweilzeit des Beutels von 48 Stunden im Cositec-System über der eingewogenen Substratmenge lag. Dies lässt sich eventuell darauf zurückführen, dass sich während der Inkubation des Substrates Mikroorganismen aus der flüssigen

Phase an die Partikelphase im Beutel anhefteten und folglich nach der Entnahme des Beutels zusätzlich zur Substratmenge zurückgewogen wurden. Anhand der stark reduzierten Fermentationsleistungen der Mikroorganismen in diesem Versuchsansatz, welche sich in Form einer Abnahme der SCFA-Produktionsraten (Abb. 3.27), vor allem der Produktionsraten von Propionat (Abb. 3.29) und Butyrat (Abb. 3.30) äußerten, ist davon auszugehen, dass die Verdaulichkeit der organischen Substanz eigentlich im Bereich von Null liegen müsste. Aus diesem Grund wurde der Einfluss der Mikroorganismen auf die rückgewogene Substratmenge und somit auf die Verdaulichkeit der organischen Substanz ersichtlich. Dies würde allerdings bedeuten, dass auch in den anderen Versuchsansätzen zusätzlich zur eingewogenen organischen Substanz im Beutel Mikroorganismen aus der Flüssigkeit im Fermenter zurückgewogen wurden und somit einen Einfluss auf die Verdaulichkeit der organischen Substanz ausübten, welcher in den vorliegenden Untersuchungen jedoch unberücksichtigt blieb. Die vergleichende Untersuchung der Wirkung der Faktoren Erythromycin, Reduktion der Trockensubstanz und deren Kombination in Versuch 9 zeigte, dass durch die Kombination beider Faktoren der stärkste Abfall der Verdaulichkeit der organischen Substanz und somit auch die stärkste Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen hervorgerufen wurden (Abb. 3.48).

4.4.6 Wirkung des veränderten Mikrobenstoffwechsels auf den Wirtsorganismus

In den vorliegenden Untersuchungen konnte anhand der starken Abnahme der SCFA-Produktionsraten gezeigt werden, dass eine Reduktion der Trockensubstanz auf 30 % des Ausgangswertes zu einer extremen Verminderung der mikrobiellen Fermentationsrate führte, welche bei gleichzeitiger Verabreichung von Erythromycin in Bezug auf die Propionat-Produktionsraten und die Verdaulichkeiten der organischen Substanz noch potenziert wurde (Versuch 9). Besonders auffällig ist hierbei der rapide Abfall der Butyrat-Produktionsraten, so dass in beiden Versuchsansätzen bereits am zweiten Tag der Versuchsphase kein Butyrat mehr nachgewiesen werden konnte (Abb. 3.42). Auch im Caecum des Pferdes wurde nach einer Nahrungskarenz von 24 Stunden ein deutlicher Abfall der SCFA-

Konzentrationen festgestellt, wobei die Butyrat-Konzentrationen bereits zu diesem Zeitpunkt unterhalb der Nachweisgrenze lagen (BAUMS 2003). DEEGEN et al. (1995) berichteten nach einer Nahrungskarenz von 100 Stunden ebenfalls von einer starken Reduktion der SCFA-Konzentrationen im Caecum. Während diese im Caecum der Pferde aus der Kontrollgruppe bei 80,9 ± 31,6 mmol/l lagen, wurden im Caecum der Pferde aus der Karenzgruppe SCFA-Konzentrationen von 4,7 ± 3,0 mmol/l gemessen. Die Reduktion der SCFA-Konzentrationen ging mit einem Anstieg des pH-Wertes auf nahezu 8 einher. In dieser Untersuchung wurde ebenfalls die enorme Auswirkung der Nahrungskarenz auf die Butyrat-Konzentrationen deutlich. Der Anteil des Butyrats an der Gesamtmenge der SCFA betrug in der Karenzgruppe nur noch 1,9 ± 3,3 %, während in der Kontrollgruppe ein Anteil von 16,7 ± 1,9 % ermittelt wurde. Des Weiteren beobachteten die Autoren eine Zunahme des Valerat-Anteils auf 3,8 ± 6,6 % im Caecum der Karenztiere, während im Caecum der Kontrolltiere ein Valerat-Anteil von 0,1 ± 0,2 % vorlag. In diesem Zusammenhang diskutierten die Autoren die Etablierung einer Mikroflora, welche aufgrund des Substratmangels vor allem Mukus, Zelldetritus oder andere endogene N-haltige Substrate abbaute, und zogen in Betracht, dass zu diesem Zeitpunkt bereits eine Schädigung der Darmschleimhaut einsetzte, die in Zusammenhang mit anderen Störfaktoren schließlich die Entstehung einer Typhlopathie begünstigen könnte. Als weitere Ursache für die Erhöhung des Valerat-Anteils zogen die Autoren ein vermehrtes Vorhandensein von Clostridien in Betracht, da Valerat in erster Linie von Clostridien gebildet wird (CATO et al. 1986). Im Gegensatz dazu wurde in den vorliegenden Untersuchungen weder während der Kontrollphase noch während der Versuchsphase Valerat nachgewiesen. Dies könnte einerseits dadurch begründet sein, dass den Mikroorganismen im Cositec-System ausschließlich das zugegebene Substrat zur Verfügung stand. Folglich konnte zum Ausgleich des Substratmangels kein zusätzlicher Abbau endogener N-haltiger Substrate wie Mukus und Zelldetritus erfolgen. Andererseits besteht die Möglichkeit, dass im Caecuminhalt der Spendertiere keine oder nur wenige Clostridien vorhanden waren. Untersuchungen zur qualitativen Zusammensetzung der Mikroflora im Caecum der Spendertiere wurden nicht durchgeführt.

Aufgrund der vielfältigen physiologischen Effekte der SCFA können aus dem beschriebenen Rückgang der mikrobiellen SCFA-Produktionsraten Auswirkungen auf den Wirtsorganismus abgeleitet werden. Während beim Wiederkäuer ca. 60 % des Energiebedarfes durch SCFA gedeckt werden, die im Rahmen der mikrobiellen Fermentation von Kohlenhydraten und Proteinen im Pansen produziert werden (SICILIANO-JONES u. MURPHY 1989), liefern die aus dem Caecum absorbierten SCFA nach Berechnungen von GLINSKY et al. (1976) annährend 30 % der für den Erhaltungsbedarf benötigten Energie eines Pferdes. Annähernd sieben Prozent der in der Gluconeogenese gebildeten Glucose stammen vom Propionat, welches im Caecum des Pferdes produziert wird (FORD u. SIMMONS 1985). Folglich verschlechtert die Reduktion der SCFA-Produktionsraten im Caecum des Pferdes im Zuge einer Nahrungskarenz die Energieversorgung des Gesamtorganismus. Neben der Auswirkung auf den Gesamtorganismus beeinträchtigt die Reduktion der SCFA-Produktionsraten und damit der SCFA-Konzentrationen im Dickdarmlumen die Funktion und Morphologie der Colonozyten (SCHEPPACH 1994). Ein besonderes Augenmerk ist in diesem Zusammenhang auf den vollständigen Rückgang der Butyrat-Produktion unter Nahrungsreduktion zu legen, da dem Butyrat in Bezug auf die Integrität der Dickdarmmukosa die stärkste Auswirkung zugeschrieben wird. ROEDIGER (1982) zeigte für die Colonozyten der Ratte, dass Butyrat das bevorzugte Substrat im Energiestoffwechsel der Colonozyten darstellt. Nahezu 70 % des Energiebedarfes der Colonozyten werden durch die Metabolisierung von Butyrat gedeckt (ROEDIGER 1986; SCHEPPACH 1994). Im Vergleich zum Butyrat spielen Propionat und Acetat im Energiestoffwechsel der Colonozyten eine untergeordnete Rolle. CLAUSEN u. MORTENSEN (1994) stellten im Rahmen kinetischer Studien zur Metabolisierung der SCFA in den Colonozyten der Ratte fest, dass diese in folgender Reihenfolge erfolgt: Butyrat > Propionat > Acetat. Bei einem Mangel an Butyrat könnte die Energieversorgung der Colonozyten somit über die Oxidation von Propionat und Acetat erfolgen (CLAUSEN u. MORTENSEN 1994). Die Ergebnisse dieser Studien zeigen Übereinstimmungen mit Untersuchungen zum Stoffwechsel von Pansenepithelzellen, die belegen, dass 90, 50, bzw. 30 % des im Pansen produzierten Butyrats, Propionats und Acetats nicht ins Portalblut übertreten und

somit im Pansenepithel verstoffwechselt werden (BERGMAN u. WOLFF 1971).

Neben der Bedeutung der SCFA, insbesondere des Butyrats für die Energieversorgung der Colonozyten, üben diese einen trophischen Effekt auf die Proliferation der Kryptenzellen im Dickdarm aus (SAKATA 1984; SAKATA u. YAJIMA 1984; KRIPKE et al. 1989; VELAZQUEZ et al. 1996). *In-vitro*-Untersuchungen an Caecumbioptaten des Menschen belegen eine Stimulation der Proliferation der basalen Kryptenepithelzone während einer Inkubation mit SCFA. Hierbei spielen in erster Linie das Butyrat und das Propionat eine Rolle, während der Effekt des Acetats geringer ausgeprägt ist (SCHEPPACH et al. 1992a). Darüber hinaus erhöhen die SCFA den mukosalen Blutfluss im Colon (MORTENSEN et al. 1990), wobei dem Acetat eine übergeordnete Rolle zugerechnet wird (KVIETYS u. GRANGER 1981). Die Erhöhung des mukosalen Blutflusses im Colon zählt ebenfalls zu den trophischen Effekten der SCFA auf die Colonmukosa (MORTENSEN et al. 1990; SCHEPPACH 1994). Ein weiterer Effekt des Butyrats besteht in der Stimulation der Muzinsynthese (FINNIE et al. 1995). Muzin stellt eine wichtige Komponente der mukosalen Barriere im Dickdarm dar (SMITH u. BUTLER 1974), wodurch das Eindringen von Bakterien verhindert und das Epithel vor Schäden geschützt wird, die von bakteriellen Toxinen und Enzymen ausgehen. Auf funktioneller Ebene stimulieren die SCFA sowohl die Natrium- und Chloridabsorption (BINDER u. MEHTA 1989) als auch die Bikarbonatsekretion (ENGELHARDT 1995). Infolge eines Mangels an SCFA im Dickdarm wird demnach die Elektrolyt- und Flüssigkeitsabsorption vermindert, wodurch eine zusätzliche Konzentrationsabnahme der SCFA im Dickdarmlumen hervorgerufen wird.

Ein weiterer wichtiger Aspekt besteht darin, dass ein luminaler Mangel an Butyrat die Apoptoserate der Colonozyten erhöht (LUCIANO et al. 1996; HASS et al. 1997). LUCIANO et al. (1996) stellten im Rahmen morphologischer Untersuchungen der Mukosa aus dem proximalen Colon von Meerschweinchen fest, dass die Apoptoserate der Epithelzellen während der *In-vitro*-Inkubation in Ussing-Kammern ohne Butyrat bereits nach 45 Minuten stark anstieg. Die Induktion der Apoptose trat dabei in der G_0/G_1-Phase des Zellzyklus auf. Folglich bestand in Abwesenheit von Butyrat ein Ungleichgewicht zwischen der Zellerneuerung und dem Zellverlust, wodurch die

Turnoverrate der Mukosazellen herabgesetzt wurde. Dies resultierte in einer Hypoplasie der Mukosa, wobei innerhalb von 150 Minuten die Höhe der Mukosa auf 50 % reduziert wurde. In Anbetracht dieser Ergebnisse postulierten die Autoren, dass ein länger andauernder Butyratmangel zu einer herabgesetzten Integrität des Epithels führt, wodurch die Inzidenz epithelialer Schäden ansteigt. Des Weiteren scheint auch ein Mangel an Propionat eine Rolle zu spielen, da in Abwesenheit von Propionat ebenfalls eine erhöhte Apoptoserate der Colonozyten beobachtet wurde, während das Vorhandensein von Acetat die Apoptose nicht verhinderte. Auch HASS et al. (1997) beobachteten bei der *In-vitro*-Inkubation von Colonozyten (ebenfalls Mukosa aus dem proximalen Colon des Meerschweinchens) in Abwesenheit von Butyrat über die Dauer von 150 Minuten einem signifikanten Anstieg der apoptotischen Zellen gegenüber der Inkubation in Anwesenheit von Butyrat.

In der Humanmedizin sind eine Reihe inflammatorischer Dickdarmerkrankungen bekannt, die mit einem Mangel bzw. einer gestörten Verwertung der SCFA in Verbindung gebracht werden. So konnte im Falle der Diversionscolitis gezeigt werden, dass durch die Instillation von SCFA innerhalb von vier bis sechs Wochen ein makroskopischer und histologischer Rückgang der Entzündungserscheinungen im Dickdarm eintritt (HARIG et al. 1989). Aus dieser Beobachtung lässt sich folgern, dass die Mukosa im Colon auf eine drastische Erniedrigung in der Verfügbarkeit der für den Stoffwechsel benötigten Substrate (v.a. Butyrat und in geringerem Ausmaß auch Propionat und Acetat) mit einer akuten bzw. chronischen Entzündung reagiert (SOERGEL 1994). Auch in der Pathogenese der ulcerativen Colitis scheint ein luminaler Butyratmangel von Bedeutung zu sein, wobei durch die Substitution von Butyrat über einen Zeitraum von zwei Wochen ein Rückgang der akuten Entzündungserscheinungen (makroskopisch und histologisch) beobachtet werden konnte (SCHEPPACH et al. 1992b).

Aufgrund der beschriebenen vielfältigen Auswirkungen der SCFA, insbesondere des Butyrats auf die Dickdarmmukosa, ist davon auszugehen, dass ein luminaler Mangel an SCFA erhebliche Auswirkungen auf die Integrität der Dickdarmmukosa und deren Funktion hat. Hierbei muss eine besondere Bedeutung der erhöhten Apoptoserate bei gleichzeitig reduzierter Proliferation im Bereich der Kryptenzellen zugerechnet

werden. Die daraus resultierende Atrophie der Dickdarmmukosa führt zu einer erheblichen Reduktion der Dickdarmbarriere und kann somit als Wegbereiter für weitere Pathogene im Dickdarm angesehen werden. Zudem besteht im Zusammenhang mit dem Rückgang der Kolonisationsresistenz durch die Faktoren Nahrungskarenz und Erythromycin eine erhöhte Gefahr der Entwicklung einer Dysbiose und somit einer verstärkten Ansiedlung und Vermehrung enteropathogener Bakterien (z.B. *Cl. difficile* und *Cl. perfringens*) im Dickdarm. Zur physiologischen Darmflora des Pferdes zählt außerdem ein hoher Gehalt an gram-negativen Bakterien, bei deren Lyse in vermehrtem Maße Endotoxine freigesetzt werden. Die Beeinträchtigung der Barrierefunktion der Dickdarmmukosa infolge des Butyratmangels könnte sich zusätzlich begünstigend auf die Resorption von Clostridientoxinen und Endotoxinen auswirken.

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigten Veränderungen im mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel lassen darauf schließen, dass besonders die verminderte Produktion von Butyrat infolge einer reduzierten Nahrungsaufnahme als pathophysiologisch relevanter Faktor für das Entstehen der Typhlocolitis des Pferdes in Betracht gezogen werden kann.

5 Zusammenfassung

Manuela Kuhn (2008): ***In-vitro*-Untersuchungen zum Einfluss von Erythromycin und Nahrungsreduktion auf mikrobielle Stoffwechselleistungen im Caecum des Pferdes**

Mit Hilfe der Colon-Simulationstechnik (Cositec), einer semikontinuierlichen *In-vitro*-Inkubationsmethode, wurden biochemische Parameter des mikrobiellen Dickdarmstoffwechsels beim Pferd untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu klären, inwieweit Veränderungen im mikrobiellen Stoffwechsel als mögliche Ursache für das Entstehen der Typhlocolitis des Pferdes in Betracht gezogen werden können. Eine Erythromycin-Applikation und eine Nahrungsreduktion werden als prädisponierend für das Entstehen der Typhlocolitis angesehen. Aus diesem Grund wurden beide Faktoren ausgewählt und ihre Wirkung auf den mikrobiellen Stoffwechsel untersucht.

Im ersten Teil der Arbeit wurde die Colon-Simulationstechnik für die Inkubation von Dickdarminhalt des Pferdes etabliert. Zur Charakterisierung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen wurden folgende Parameter bestimmt: pH-Wert, Redoxpotential, SCFA-Produktion, molare Anteile der einzelnen Fettsäuren, Ammoniak-Konzentration und Verdaulichkeit der organischen Substanz. Nach einer fünftägigen Äquilibrierungsphase nahmen diese Parameter über die Dauer der Kontrollphase von fünf Tagen konstante Werte an.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Einfluss der Faktoren Erythromycin und Nahrungsreduktion auf den mikrobiellen Stoffwechsel untersucht. In einem Dosis-Wirkungs-Versuch wurden 1,25 bis 20 mg/d Erythromycin appliziert. Ab einer Dosierung von 10 mg/d konnte eine dauerhafte Reduktion der Propionat-Produktion festgestellt werden. Auf Grundlage dieses Ergebnisses wurde die Dosierung von 10 mg/d Erythromycin beibehalten und mit abnehmenden Substratmengen (100, 60, 30 und 10 %) kombiniert. In allen Ansätzen wurde eine Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen hervorgerufen. Der Effekt des Erythromycins wurde ab einer Reduktion der Substratmenge auf 30 % verstärkt. In einem weiteren Versuch wurden die Faktoren Erythromycin (10 mg/d) und Reduktion der Substratmenge auf 30 % einzeln sowie in Kombination hinsichtlich ihrer Wirkung auf

den mikrobiellen Stoffwechsel untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigen, dass durch die Erythromycin-Applikation eine Reduktion der Propionat-Produktion und der Verdaulichkeit der organischen Substanz verursacht wurde. Eine stärkere Verminderung der mikrobiellen Stoffwechselleistungen wurde durch die Reduktion der Substratmenge hervorgerufen. Diese äußerte sich in einer Reduktion der Produktionsraten von Acetat, Propionat und Butyrat sowie der Ammoniak-Konzentration und der Verdaulichkeit der organischen Substanz. Besonders hervorzuheben ist hierbei, dass die Nachweisgrenze für Butyrat bereits am zweiten Tag der Versuchsphase unterschritten wurde. Der Effekt der Reduktion der Substratmenge wurde durch die Kombination mit Erythromycin in Bezug auf die Propionat-Produktion und die Verdaulichkeit der organischen Substanz verstärkt.

Die Colon-Simulationstechnik stellt ein geeignetes System dar, um den mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel des Pferdes *in vitro* zu simulieren. Aufgrund der Bedeutung des Butyrats für die Aufrechterhaltung der Integrität der Dickdarmmukosa könnte die verminderte Butyrat-Produktion infolge einer reduzierten Nahrungsaufnahme einen pathophysiologisch relevanten Faktor für das Entstehen der Typhlocolitis darstellen.

6 Summary

Manuela Kuhn (2008): **Cecal microbial metabolism in horses *in vitro* as affected by erythromycin and feed restriction**

The study was carried out using the semi-continuous colon simulation technique (Cositec) to evaluate biochemical parameters of hindgut microbial metabolism in the horse. The aim of the present *in vitro* study was to investigate if changes in hindgut microbial metabolism could be involved in the pathogenesis of the equine typhlocolitis. As application of erythromycin and feed restriction are potential risk factors for the onset of equine typhlocolitis, both factors were chosen to investigate their effects on hindgut microbial metabolism.

In the first part of this project the Cositec system was adjusted for studying hindgut microbial metabolism in horses under basic conditions. Basic parameters of microbial metabolism were recorded: pH value, redox potential, SCFA production rates, molar proportions of SCFA, ammonia concentration and digestibility of organic matter. After five days of equilibration, these basic parameters of microbial metabolism remained constant under controlled conditions over a period of five days.

In the second part of this project the effects of erythromycin and feed reduction on microbial metabolism were investigated. In a dose response experiment erythromycin was added at increasing dosage levels from 1.25 to 20 mg/d. At a dosage level of 10 mg/d, a permanent decrease in the production rates of propionate was recorded. Based on the results of this experiment erythromycin was applied at a dosage level of 10 mg/d and combined with decreasing amounts of fermentable substrate (100, 60, 30 and 10 % of controls). All experimental conditions had substantial effects on hindgut microbial metabolism. The reduction of fermentable substrate to 30 % of controls enhanced the effects of erythromycin.

A further experiment was carried out to investigate the separate and combined effects of erythromycin (10 mg/d) and a reduction of the fermentable substrate to 30 % of controls on microbial metabolism. The results of this experiment demonstrated that erythromycin decreased the production rates of propionate and the digestibility of organic matter. A greater impairment of microbial metabolism was

induced by reducing the fermentable substrate. This experiment decreased the production rates of acetate, propionate and butyrate, ammonia concentration and digestibility of organic matter. It is important to point out that butyrate was under detection limit already at the second day of the experiment. The effect of feed restriction on the production rates of propionate and digestibility of organic matter was intensified when feed restriction was combined with the application of erythromycin.

The Cositec system could be established as a valid approach for studying hindgut microbial metabolism in horses *in vitro*. The substantial reduction in butyrate production as a result of reduced feed intake has to be discussed as a relevant pathophysiological factor for the onset of typhlocolitis because of the importance of butyrate for the integrity of the intestinal mucosa.

7 Literaturverzeichnis

AINSWORTH, D. M. (1999):
Rhodococcal infections in foals.
Equine Vet. Educ. 11, 191-198

ALEXANDER, F. u. M. E. DAVIES (1963):
Production and fermentation of lactate by bacteria in the alimentary canal of the horse and pig.
J. Comp. Pathol. 73, 1-8

ANDREMONT, A., P. RAIBAUD u. C. TANCREDE (1983):
Effect of erythromycin on microbial antagonisms: a study in gnotobiotic mice associated with a human fecal flora.
J. Infect. Dis. 148, 579-587

ANDREMONT, A. u. C. TANCREDE (1981):
Reduction of the aerobic gram-negative bacterial flora of the gastro-intestinal tract and prevention of travellers diarrhea using oral erythromycin.
Ann. Inst. Pasteur Microbiol. B132, 419-427

ARGENZIO, R. A. (1990):
Physiology of digestive, secretory and absorptive processes.
in: N. A. White (Hrsg.): The equine acute abdomen.
Verlag Lea & Febiger, Philadelphia, London, S. 25-35

ARGENZIO, R. A., M. SOUTHWORTH u. C. E. STEVENS (1974):
Sites of organic acid production and absorption in the equine gastrointestinal tract.
Am. J. Physiol. 226, 1043-1050

BARTMANN, C. P., C. BAUMS, D. JOBST, J. VERSPOHL, G. AMTSBERG u. E. DEEGEN (2006):
Prophylaxe bei der Typhlocolitis des Pferdes.
Prakt. Tierarzt 87, 198-201

BARTMANN, C. P., J. VERSPOHL, G. AMTSBERG u. E. DEEGEN (1998):
Clinical and bacteriological investigations about the aetiology of typhlocolitis in equine.
in: 6th Equine Colic Research Symposium, Georgia, USA, Abstracts, S. 10

BAUMS, C. (2003)
Untersuchungen zur Pathogenese der Typhlocolitis des Pferdes.
Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

BAVERUD, V., A. FRANKLIN, A. GUNNARSSON, A. GUSTAFSSON u. A. HELLANDER-EDMAN (1998):
Clostridium difficile associated with acute colitis in mares when their foals are treated with erythromycin and rifampicin for *Rhodococcus equi* pneumonia.
Equine Vet. J. 30, 482-488

BENDER, A., G. BREVES, J. STEIN, S. LEONHARD-MAREK, B. SCHRÖDER u. C. WINCKLER (2001):
Colonic fermentation as affected by antibiotics and acidic pH: application of an *in vitro* model.
Z. Gastroenterol. 39, 911-918

BERGMAN, E. N. u. J. E. WOLFF (1971):
Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep.
Am. J. Physiol. 221, 586-592

BINDER, H. J. u. P. MEHTA (1989):
Short-chain fatty acids stimulate active sodium and chloride absorption *in vitro* in the rat distal colon.
Gastroenterology 96, 989-996

BONHOMME, A. (1986):
Attachment of horse cecal bacteria to forage cell walls.
Jpn. J. Vet. Sci. 48, 313-322

BREVES, G., J. DREYER u. H. J. OSLAGE (1991):
In vitro-studies on microbial hindgut metabolism in pigs.
in: M. Kirchgeßner (Hrsg.): Verdauungsphysiologie des Dickdarms.
Verlag Parey (Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.) 22, S. 89-92

BREVES, G., K. FAUL, B. SCHRÖDER, H. HOLST, W. F. CASPARY u. J. STEIN (2000):
Application of the colon-simulation technique for studying the effects of Saccharomyces boulardii on basic parameters of porcine cecal microbial metabolism disturbed by clindamycin.
Digestion 61, 193-200

BRYANT, M. P. u. I. M. ROBINSON (1962):
Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria.
J. Bacteriol. 84, 605-614

BURROWS, G. E. (1980):
Pharmacotherapeutics of macrolides, lincomycins, and spectinomycin.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 176, 1072-1077

CARMAN, R. J., M. A. SIMON, H. E. PETZOLD, III, R. F. WIMMER, M. R. BATRA, A. H. FERNANDEZ, M. A. MILLER u. M. BARTHOLOMEW (2005):
Antibiotics in the human food chain: establishing no effect levels of tetracycline, neomycin, and erythromycin using a chemostat model of the human colonic microflora.
Regul. Toxicol. Pharmacol. 43, 168-180

CATO, E. P., W. L. GEORGE u. S. M. FINEGOLD (1986):
Genus Clostridium Prazmowski 1880.
in: P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe u. J. G. Holt (Hrsg) : Bergeys manual of systematic bacteriology.
Verlag Williams & Wilkins, Baltimore, London, Bd. 2, S. 1141-1200
(zitiert nach DEEGEN et al. 1995)

CHOW, A. W. (1984):
Erythromycin.
in: A. M. Ristuccia u. B. A. Cunha (Hrsg.): Antimicrobial therapy.
Verlag Raven Press, New York, S. 209-219

CLAUSEN, M. R., H. BONNEN, M. TVEDE u. P. B. MORTENSEN (1991):
Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea.
Gastroenterology 101, 1497-1504

CLAUSEN, M. R. u. P. B. MORTENSEN (1994):
Kinetic studies on the metabolism of short-chain fatty acids and glucose by isolated rat colonocytes.
Gastroenterology 106, 423-432

CZERKAWSKI, J. W. u. G. BRECKENRIDGE (1977):
Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec).
Br. J. Nutr. 38, 371-384

DA VEIGA, L., F. CHAUCHEYRAS-DURAND u. V. JULLIAND (2005):
Comparative study of colon and faeces microbial communities and activities in horses fed a high starch diet.
Pferdeheilkd. 21, 45-46

DEEGEN, E., S. RADICKE u. H. MEYER (1995):
Untersuchungen über den Einfluss eines Nahrungsentzuges auf Verhalten, Blutparameter und Füllung des Darmkanals beim Pferd.
Pferdeheilkd. 11, 349-356

DILL, B., W. ENGELMANN, K. D. MARKUSKE u. A. ZEYNER (2007):
Comparison of equine caecum content and faeces in a modified ´rumen simulation technique`.
in: Proc. Soc. Nutr. Physiol. 16, 73

DREYER, J. (1990)
In vitro-Untersuchungen mit der Colon-Simulations-Technik (Cositec) zum mikrobiellen Stoffwechsel im Caecum von Schweinen.
Göttingen, Univ., Fachber. Agrarwiss., Diss.

DROCHNER, W. u. H. MEYER (1991):
Verdauung organischer Substanzen im Dickdarm verschiedener Haustierarten.
in: M. Kirchgeßner (Hrsg.): Verdauungsphysiologie des Dickdarms.
Verlag Parey (Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.) 22, S. 18-40

ENGELHARDT, W. v. (1995):
Absorption of short-chain fatty acids from the large intestine.
in: J. H. Cummings, J. L. Rombeau u. T. Sakata (Hrsg.): Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids.
University Press, Cambridge, S. 149-170

ENGELHARDT, W. v. u. H.-P. SALLMANN (1972):
Resorption und Sekretion im Pansen des Guanakos (Lama guanacoe).
Zentralbl. Veterinärmed. A 19, 117-132

EWING, P. J., G. BURROWS, C. MACALLISTER u. C. CLARKE (1994):
Comparison of oral erythromycin formulations in the horse using pharmacokinetic profiles.
J. Vet. Pharmacol. Therap. 17, 17-23

FINNIE, I. A., A. D. DWARAKANATH, B. A. TAYLOR u. J. M. RHODES (1995):
Colonic mucin synthesis is increased by sodium butyrate.
Gut 36, 93-99

FORD, E. J. u. H. A. SIMMONS (1985):
Gluconeogenesis from caecal propionate in the horse.
Br. J. Nutr. 53, 55-60

GARROD, L. P. u. P. M. WATERWORTH (1956):
Behaviour *in vitro* of some new antistaphylococcal antibiotics.
Br. Med. J. 2, 61-65

GERBER, V. u. R. STRAUB (2006):
Therapie der Typhlocolitis des adulten Pferdes.
Prakt. Tierarzt 87, 120-124

GIGUERE, S. u. J. F. PRESCOTT (1997):
Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals.
Vet. Microbiol. 56, 313-334

GLINSKY, M. J., R. M. SMITH, H. R. SPIRES u. C. L. DAVIS (1976):
Measurement of volatile fatty acid production rates in the cecum of the pony.
J. Anim. Sci. 42, 1465-1470

GOODSON, J., W. J. TYZNIK, J. H. CLINE u. B. A. DEHORITY (1988):
Effects of an abrupt diet change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony.
Appl. Environ. Microbiol. 54, 1946-1950

GRÜTTE, F. K. (1963):
Zur Methodik der elektrometrischen Redoxpotentialbestimmung in biologischem Material.
Ernährungsforsch. Ber. Mitt. 8, 290-302

GUSTAFSSON, A., V. BAVERUD, A. GUNNARSSON, M. H. RANTZIEN, A. LINDHOLM u. A. FRANKLIN (1997):
The association of erythromycin ethylsuccinate with acute colitis in horses in Sweden.
Equine Vet. J. 29, 314-318

HAIGHT, T. H. u. M. FINLAND (1952a):
The antibacterial action of erythromycin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 175-183

HAIGHT, T. H. u. M. FINLAND (1952b):
Observations on mode of action of erythromycin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 188-193

HARIG, J. M., K. H. SOERGEL, R. A. KOMOROWSKI u. C. M. WOOD (1989):
Treatment of diversion colitis with short-chain-fatty acid irrigation.
N. Engl. J. Med. 320, 23-28

HARTLEY, C. L., H. M. CLEMENTS u. K. B. LINTON (1978):
Effects of cephalexin, erythromycin and clindamycin on the aerobic gram-negative faecal flora in man.
J. Med. Microbiol. 11, 125-135

HASLER, W. L., A. HELDSINGER u. O. Y. CHUNG (1992):
Erythromycin contracts rabbit colon myocytes via occupation of motilin receptors.
Am. J. Physiol. 262, G50-55

HASS, R., R. BUSCHE, L. LUCIANO, E. REALE u. W. v. ENGELHARDT (1997):
Lack of butyrate is associated with induction of bax and subsequent apoptosis in the proximal colon of guinea pig.
Gastroenterology 112, 875-881

HEIMDAHL, A. u. C. E. NORD (1982a):
Effect of erythromycin and clindamycin on the indigenous human anaerobic flora and new colonization of the gastrointestinal tract.
Eur. J. Clin. Microbiol. 1, 38-48

HEIMDAHL, A. u. C. E. NORD (1982b):
Influence of erythromycin on the normal human flora and colonization of the oral cavity, throat and colon.
Scand. J. Infect. Dis. 14, 49-56

HERMANN, M. (1985):
Kolitis-X beim Pferd: 9 Fälle.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 127, 385-396

HILLIDGE, C. J. (1987):
Use of erythromycin-rifampin combination in treatment of *Rhodococcus equi* pneumonia.
Vet. Microbiol. 14, 337-342

HINTZ, H. F., R. A. ARGENZIO u. H. F. SCHRYVER (1971):
Digestion coefficients, blood glucose levels and molar percentage of volatile acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios.
J. Anim. Sci. 33, 992-995

HOVERSTAD, T., B. CARLSTEDT-DUKE, E. LINGAAS, E. NORIN, H. SAXERHOLT, M. STEINBAKK u. T. MIDTVEDT (1986):
Influence of oral intake of seven different antibiotics on faecal short-chain fatty acid excretion in healthy subjects.
Scand. J. Gastroenterol. 21, 997-1003

HUSKAMP, B., N. KOPF, W. SCHEIDEMANN u. G. F. SCHUSSER (2006):
Magen-Darm-Trakt.
in: O. Dietz u. B. Huskamp (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis.
3. Aufl., Verlag Enke, Stuttgart, S. 431-526

JACOB, H. E. (1970):
Redox potential.
in: J. R. Norris u. D. W. Ribbons (Hrsg.): Methods in microbiology.
2. Aufl., Academic Press, London, New York, S. 92-123

KELLNER, O., K. DREPPER u. K. ROHR (1984):
Grundzüge der Fütterungslehre.
16. Aufl., Verlag Parey, Berlin, Hamburg

KERN, D. L., L. L. SLYTER, E. C. LEFFEL, J. M. WEAVER u. R. R. OLTJEN (1974):
Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta.
J. Anim. Sci. 38, 559-564

KERN, D. L., L. L. SLYTER, J. M. WEAVER, E. C. LEFFEL u. G. SAMUELSON (1973):
Pony cecum vs. steer rumen: the effect of oats and hay on the microbial ecosystem.
J. Anim. Sci. 37, 463-469

KRAFT, W. (1985):
Hämorrhagische Enteritiden beim Pferd. Colitis X und Duodenojejunitis.
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 98, 332-339

KRIPKE, S. A., A. D. FOX, J. M. BERMAN, R. G. SETTLE u. J. L. ROMBEAU (1989):
Stimulation of intestinal mucosal growth with intracolonic infusion of short-chain fatty acids.
J. Parenter. Enteral. Nutr. 13, 109-116

KROKER, R., W. LÖSCHER, J. SIMUNEK, H. TROLLDENIER u. F. R. UNGEMACH (1996):
Chemotherapie bakterieller Infektionen.
in: H. H. Frey u. W. Löscher (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin.
Verlag Enke, Stuttgart, S. 454-508

KVIETYS, P. R. u. D. N. GRANGER (1981):
Effect of volatile fatty acids on blood flow and oxygen uptake by the dog colon.
Gastroenterology 80, 962-969

KWOK, Y. Y., V. L. SUTTER, I. OBERHAMMER u. S. M. FINEGOLD (1979):
Susceptibility of anaerobic bacteria to rosamicin, erythromycin and clindamycin and factors affecting the activity of rosamicin.
J. Antimicrob. Chemother. 5, 61-66

LAKRITZ, J. u. W. D. WILSON (2002):
Erythromycin and other macrolide antibiotics for treating *Rhodococcus equi* pneumonia in foals.
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 24, 256-261

LÄMMER, M., S. WALTHER u. M. VENNER (2008):
*Rhodococcus equ*i pneumonia in the foal.
Pferdeheilkd. 24, 549-553

LAUK, H. D., K. A. VON PLOCKI, U. JAENICH u. F. NEUHAUS (1987):
Colitis X beim hospitalisierten Pferd.
Pferdeheilkd. 3, 109-115

LORIAN, V. u. L. D. SABATH (1970):
Effect of pH on activity of erythromycin against 500 isolates of gram-negative bacilli.
Appl. Microbiol. 20, 754-756

LUCIANO, L., R. HASS, R. BUSCHE, W. V. ENGELHARDT u. E. REALE (1996):
Withdrawal of butyrate from the colonic mucosa triggers "mass apoptosis" primarily in the G_0/G_1 phase of the cell cycle.
Cell Tissue Res. 286, 81-92

MACKIE, R. I. u. C. A. WILKINS (1988):
Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract.
Appl. Environ. Microbiol. 54, 2155-2160

MACZULAK, A. E., K. A. DAWSON u. J. P. BAKER (1985):
Nitrogen utilization in bacterial isolates from the equine cecum.
Appl. Environ. Microbiol. 50, 1439-1443

MAROUNEK, M., P. BREZINA, J. SIMUNEK u. S. BARTOS (1991):
Influence of redox potential on metabolism of glucose in mixed cultures of rumen microorganisms.
Arch. Tierernähr. 41, 63-69

MELLON, A. F., S. A. DESHPANDE, J. C. MATHERS u. K. BARTLETT (2000):
Effect of oral antibiotics on intestinal production of propionic acid.
Arch. Dis. Child. 82, 169-172

MENDELIN, K. (1998)
In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von Ampicillin und Cephalexin auf den mikrobiellen Dickdarmstoffwechsel.
Gießen, Univ., veterinärmed. Fak., Diss.

MEYER, H. (1980):
Neue Erkenntnisse zur Dickdarmverdauung des Pferdes.
Übers. Tierernähr. 8, 123-150

MEYER, H. (1994):
Typhlocolitis und Fütterung.
in: B. Huskamp u. P. Kemper (Hrsg.): Typhlocolitis beim Pferd.
Symposium, 11. März 1993, Essen, S. 22-25

MEYER, H. u. M. COENEN (2002):
Pferdefütterung.
4. Aufl., Verlag Parey, Berlin, Hamburg

MEYER, H., G. LINDEMANN u. M. SCHMIDT (1982):
Einfluss unterschiedlicher Mischfuttergaben pro Mahlzeit auf praecaecale und postileale Verdauungsvorgänge beim Pferd.
in: H. Meyer (Hrsg.): Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Pferdes.
Verlag Parey (Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.) 13, S. 32-39

MIYAJI, M., K. UEDA, Y. KOBAYASHI, H. HATA u. S. KONDO (2008):
Fiber digestion in various segments of the hindgut of horses fed grass hay or silage.
Anim. Sci. J. 79, 339-346

MORTENSEN, F. V., H. NIELSEN, M. J. MULVANY u. I. HESSOV (1990):
Short chain fatty acids dilate isolated human colonic resistance arteries.
Gut 31, 1391-1394

MURRAY, M. J. (1997):
Acute Colitis.
in: N. E. Robinson (Hrsg.): Current therapy in equine medicine.
4. Aufl., Verlag Saunders Company, Philadelphia, London, S. 197-203

NORD, C. E., A. HEIMDAHL, L. KAGER u. A. S. MALMBORG (1984a):
The impact of different antimicrobial agents on the normal gastrointestinal microflora of humans.
Rev. Infect. Dis. 6, Suppl. 1, S270-275

NORD, C. E., L. KAGER u. A. HEIMDAHL (1984b):
Impact of antimicrobial agents on the gastrointestinal microflora and the risk of infections.
Am. J. Med. 76, 99-106

OKORIE, A. U., P. J. BUTTERY u. D. LEWIS (1977):
Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen.
Proc. Nutr. Soc. 36, A38

OTTERSON, M. F. u. S. K. SARNA (1990):
Gastrointestinal motor effects of erythromycin.
Am. J. Physiol. 259, G355-363

OWEN, R. (1980):
Adverse reactions to antibiotics in horses.
Vet. Rec. 107, 94-95

PEETERS, T., G. MATTHIJS, I. DEPOORTERE, T. CACHET, J. HOOGMARTENS u. G. VANTRAPPEN (1989):
Erythromycin is a motilin receptor agonist.
Am. J. Physiol. 257, G470-474

PERITI, P., T. MAZZEI, E. MINI u. A. NOVELLI (1993):
Adverse effects of macrolide antibacterials.
Drug Saf. 9, 346-364

POHLENZ, J. u. P. KEMPER (1994):
Morphologische Befunde und mögliche Pathogenese der Typhlocolitis.
in: B. Huskamp u. P. Kemper (Hrsg.): Typhlocolitis beim Pferd.
Symposium, 11. März 1993, Essen, S. 5-10

POHLENZ, J., N. STOCKHOFE-ZURWIEDEN u. R. RUDAT (1992):
Pathology and potential pathogenesis of typhlocolitis in horses.
in: 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, Pferdeheilkunde, Sonderheft, 201-206

PRESCOTT, J. F., D. J. HOOVER u. I. R. DOHOO (1983):
Pharmacokinetics of erythromycin in foals and in adult horses.
J. Vet. Pharmacol. Ther. 6, 67-73

PRESCOTT, J. F. u. C. R. SWEENEY (1985):
Treatment of *Corynebacterium equi* pneumonia of foals: a review.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 187, 725-728

RECHKEMMER, G., K. RÖNNAU u. W. v. ENGELHARDT (1988):
Fermentation of polysaccharides and absorption of short chain fatty acids in the mammalian hindgut.
Comp. Biochem. Physiol. 90A, 563-568

ROEDIGER, W. E. (1982):
Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon.
Gastroenterology 83, 424-429

ROEDIGER, W. E. (1986):
Metabolic basis of starvation diarrhea - implications for treatment.
Lancet 1, 1082-1084

ROONEY, J. R., E. R. DOLL u. J. T. BRYANS (1963):
Colitis "X" of Horses.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 142, 510-511

SABATH, L. D., V. LORIAN, D. GERSTEIN, P. B. LODER u. M. FINLAND (1968):
Enhancing effect on alkalinization of the medium on the activity of erythromycin against gram-negative bacteria.
Appl. Microbiol. 16, 1288-1292

SAKATA, T. (1984):
Short chain fatty acids as the luminal trophic factor.
Can. J. Anim. Sci. 64, Suppl., 189-190

SAKATA, T. u. T. YAJIMA (1984):
Influence of short chain fatty acids on the epithelial cell division of digestive tract.
Q. J. Exp. Physiol. 69, 639-648

SATTER, L. D. u. L. L. SLYTER (1974):
Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*.
Br. J. Nutr. 32, 199-208

SAVAGE, D. C. (1981):
The effect of stress, diet and environment on the stability of the gastrointestinal microflora.
Fortschr. Vet. med. 33, Suppl., 23-31

SAVAGE, D. C. (1986):
Gastrointestinal microflora in mammalian nutrition.
Annu. Rev. Nutr. 6, 155-178

SCHEPPACH, W. (1994):
Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function.
Gut 35, Suppl., S35-38

SCHEPPACH, W., P. BARTRAM, A. RICHTER, F. RICHTER, H. LIEPOLD, G. DUSEL, G. HOFSTETTER, J. RUTHLEIN u. H. KASPER (1992a):
Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa *in vitro*.
J. Parenter. Enteral. Nutr. 16, 43-48

SCHEPPACH, W., H. SOMMER, T. KIRCHNER, G. M. PAGANELLI, P. BARTRAM, S. CHRISTL, F. RICHTER, G. DUSEL u. H. KASPER (1992b):
Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis.
Gastroenterology 103, 51-56

SCHULZE, F. u. H. E. JACOB (1981):
Untersuchungen zum Durchfall junger Kälber. 4. Mitteilung: Das Redoxpotential im Magen-Darm-Kanal klinisch gesunder, spontan an Durchfall erkrankter, experimentell mit *Escherichia coli* infizierter sowie mit Cyclophosphamid behandelter Kälber.
Arch. exp. Veterinärmed. 35, 337-348

SCHWABENBAUER, K. (1979)
Einfluss von Futterzusammensetzung und Fütterungstechnik auf mikrobielle Umsetzungen im Blinddarm des Pferdes.
Hannover, tierärztl. Hochsch, Diss.

SCHWABENBAUER, K., H. MEYER u. G. LINDEMANN (1982):
Gehalt an flüchtigen Fettsäuren und Ammoniak im Caecuminhalt des Pferdes in Abhängigkeit von Futterart, Futterreihenfolge und Fütterungszeitpunkt.
in: H. Meyer (Hrsg.): Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Pferdes.
Verlag Parey (Fortschr. Tierphysiol. Tierernähr.) 13, S. 24-31

SICILIANO-JONES, J. u. M. R. MURPHY (1989):
Production of volatile fatty acids in the rumen and cecum-colon of steers as affected by forage: concentrate and forage physical form.
J. Dairy Sci. 72, 485-492

SMITH, B. u. M. BUTLER (1974):
Autonomic control of colonic mucin secretion in mouse.
Br. J. Exp. Pathol. 55, 615-621

SOERGEL, K. H. (1994):
Colonic fermentation: metabolic and clinical implications.
Clin. Investig. 72, 742-748

STAHLMANN, R. u. H. LODE (2005):
Antibiotika und Chemotherapeutika.
in: K. Aktories, U. Förstermann, F. B. Hofman u. K. Starke (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
9. Aufl., Verlag Urban & Fischer, München, Jena, S. 781-911

STOTT, N. M., G. E. MITCHELL, K. A. DAWSON u. J. P. BAKER (1983):
Technique for the continuous *in vitro* culture of equine cecal microorganisms.
J. Anim.Sci. 56, 1340-1344

STRATTON-PHELPS, M., W. D. WILSON u. I. A. GARDNER (2000):
Risk of adverse effects in pneumonic foals treated with erythromycin versus other antibiotics: 143 cases (1986-1996).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 217, 68-73

STÜCK, K. (1994)
Semikontinuierliche *in vitro* Untersuchungen zum Einfluss der Nahrungszusammensetzung auf die Synthese mikrobieller Dickdarmcarcinogenese-relevanter Stoffwechselprodukte.
Gießen, Univ., Fachber. Ernährungs- und Haushaltswiss., Diss.

STÜCK, K., K. FAUL, S. HYLLA, J. STEIN u. G. BREVES (1995):
The application of a semi-continuous colon simulation technique (Cositec) for studying the effects of clindamycin on microbial hindgut metabolism.
Z. Gastroenterol. 33, 241-246

SUTTER, V. L. u. S. M. FINEGOLD (1976):
Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents.
Antimicrob. Agents Chemother. 10, 736-752

SWEENEY, C. R., R. W. SWEENEY u. T. J. DIVERS (1987):
Rhodococcus equi pneumonia in 48 foals: response to antimicrobial therapy.
Vet. Microbiol. 14, 329-336

TASKER, J. B. (1967):
Fluid and electrolyte studies in the horse. IV. The effects of fasting and thirsting.
Cornell Vet. 57, 658-667

VELAZQUEZ, O. C., H. M. LEDERER u. J. L. ROMBEAU (1996):
Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia.
Dig. Dis. Sci. 41, 727-739

VINCE, A. J. u. S. M. BURRIDGE (1980):
Ammonia production by intestinal bacteria: the effects of lactose, lactulose and glucose.
J. Med. Microbiol. 13, 177-191

WHITLOCK, R. H. (1986):
Colitis: differential diagnosis and treatment.
Equine Vet. J. 18, 278-283

WILLARD, J. G., J. C. WILLARD, S. A. WOLFRAM u. J. P. BAKER (1977):
Effect of diet on cecal pH and feeding behavior of horses.
J. Anim. Sci. 45, 87-93

WOLLANKE, B. u. H. GERHARDS (2003):
Unterschiedliche klinische Erscheinungsbilder, Therapie und Prophylaxe der "Colitis X" des Pferdes.
Pferdeheilkd. 19, 359-364

8 Anhang

8.1 Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wiesen einen Reinheitsgrad von mindestens 98 % auf und wurden von der Firma Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland bezogen.

8.2 Einzelwerte der Versuche 1 bis 9

Tab. 8.1: pH-Werte in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	6,83	6,92	6,91	6,82	6,74
	B	6,83	6,84	6,82	6,80	6,69
	C	6,99	7,11	6,82	6,71	6,72
	D	6,77	6,77	6,84	6,68	6,73
	E	6,79	6,75	6,78	6,76	6,76
	F	6,77	6,84	6,81	6,57	6,45
2	A	6,89	6,72	6,77	6,74	6,86
	B	6,81	6,66	6,79	6,61	6,72
	C	6,81	6,74	6,73	6,72	6,79
	D	6,93	6,73	6,71	6,90	6,71
	E	6,86	6,58	6,65	6,73	6,79
	F	6,85	6,71	6,75	6,83	6,81
3	A	6,65	6,63	6,70	6,69	6,73
	B	6,70	6,66	6,78	6,74	6,77
	C	6,77	6,72	6,80	6,84	6,73
	D	6,62	6,46	6,46	6,50	6,47
	E	6,55	6,42	6,47	6,61	6,74
	F	6,71	6,53	6,52	6,53	6,48
4	A	6,81	6,62	6,50	6,67	6,74
	B	6,85	6,58	6,49	6,54	6,75
	C	6,72	6,64	6,56	6,65	6,66
	D	6,69	6,58	6,45	6,51	6,63
	E	6,74	6,51	6,43	6,51	6,59
	F	6,85	6,74	6,62	6,61	6,77
5	A	6,73	6,77	6,77	6,79	6,70
	B	6,63	6,64	6,76	6,64	6,57
	C	6,63	6,64	6,80	6,65	6,58
	D	6,60	6,63	6,70	6,60	6,50
	E	6,60	6,58	6,72	6,57	6,55
	F	6,59	6,56	6,70	6,59	6,55
	G	6,52	6,55	6,69	6,55	6,51
	H	6,64	6,71	6,79	6,68	6,61
	I	6,54	6,64	6,74	6,70	6,68
	J	6,54	6,61	6,69	6,61	6,60
	K	6,49	6,55	6,68	6,57	6,51
	L	6,71	6,53	6,88	6,70	6,41
6	A	6,62	6,64	6,77	6,73	6,69
	B	6,42	6,58	6,60	6,68	6,65
	C	6,48	6,70	6,58	6,66	6,62
	D	6,35	6,58	6,57	6,56	6,53
	E	6,53	6,72	6,67	6,63	6,53
	F	6,39	6,56	6,59	6,57	6,43

Tab. 8.2: Redoxpotentiale [mV] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	-231	-226	-215	-182	-166
	B	-259	-244	-235	-217	-217
	C	-267	-286	-259	-238	-243
	D	-264	-275	-233	-242	-225
	E	-257	-275	-230	-234	-217
	F	-258	-263	-233	-243	-223
2	A	-131	-148	-158	-162	-151
	B	-200	-195	-201	-217	-201
	C	-218	-210	-199	-223	-217
	D	-219	-227	-232	-219	-244
	E	-231	-242	-220	-239	-244
	F	-226	-210	-243	-245	-266
3	A	-164	-151	-166	-175	-175
	B	-197	-184	-202	-204	-195
	C	-209	-192	-203	-207	-210
	D	-221	-203	-210	-213	-216
	E	-214	-196	-202	-221	-232
	F	-228	-218	-218	-218	-222
4	A	-184	-210	-167	-133	-159
	B	-185	-217	-258	-170	-262
	C	-215	-212	-206	-192	-231
	D	-248	-241	-222	-184	-216
	E	-206	-246	-211	-211	-193
	F	-227	-222	-199	-233	-194
5	A	-178	-157	-181	-157	-151
	B	-211	-200	-201	-189	-195
	C	-233	-223	-226	-206	-203
	D	-232	-227	-215	-200	-210
	E	-232	-226	-224	-217	-209
	F	-239	-229	-237	-229	-221
	G	-243	-237	-237	-226	-209
	H	-243	-222	-221	-216	-213
	I	-248	-227	-230	-206	-210
	J	-242	-235	-235	-230	-144
	K	-238	-244	-242	-214	-189
	L	-201	-244	-197	-216	-239
6	A	-147	-190	-185	-160	-186
	B	-210	-201	-202	-174	-176
	C	-197	-206	-204	-194	-209
	D	-191	-213	-207	-166	-207
	E	-175	-204	-207	-190	-207
	F	-206	-213	-236	-210	-224

Tab. 8.3: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	2,05	1,78	1,89	2,19	2,16
	B	1,67	1,77	1,88	1,82	2,08
	C	1,37	1,12	1,62	1,89	2,09
	D	1,87	1,88	1,81	2,02	1,99
	E	1,70	2,06	1,88	2,01	1,79
	F	1,89	1,87	2,10	1,88	1,68
2	A	1,76	1,97	1,81	1,74	1,66
	B	1,74	1,77	1,68	1,75	1,73
	C	1,89	1,70	1,82	1,99	1,77
	D	1,50	1,77	1,83	1,26	2,09
	E	1,86	1,98	1,80	1,84	1,86
	F	1,73	1,90	1,77	1,73	1,66
3	A	1,47	1,39	1,47	1,49	1,44
	B	1,38	1,44	1,40	1,43	1,41
	C	1,24	1,24	1,30	1,19	1,36
	D	1,38	1,40	1,70	1,74	1,66
	E	1,56	1,57	1,74	1,73	1,58
	F	1,37	1,47	1,68	1,61	1,76
4	A	1,27	1,50	1,61	1,29	1,21
	B	1,21	1,24	1,17	1,04	0,81
	C	1,36	1,17	1,27	1,22	1,38
	D	1,36	1,50	1,44	1,85	1,67
	E	1,65	1,47	1,52	1,58	1,47
	F	1,18	1,33	1,15	1,42	1,44
5	A	1,52	1,44	1,45	1,32	1,29
	B	1,55	1,53	1,53	1,51	1,59
	C	1,59	1,52	1,51	1,55	1,44
	D	1,53	1,61	1,60	1,60	1,63
	E	1,53	1,56	1,55	1,51	1,52
	F	1,62	1,41	1,50	1,46	1,50
	G	1,58	1,54	1,45	1,53	1,53
	H	1,72	1,55	1,46	1,45	1,43
	I	1,60	1,55	1,55	1,52	1,43
	J	1,57	1,58	1,54	1,55	1,47
	K	1,69	1,67	1,58	1,67	1,61
	L	1,36	1,44	1,37	1,32	1,62
6	A	1,70	1,58	1,36	1,37	1,39
	B	1,78	1,74	1,65	1,63	1,45
	C	1,83	1,67	1,58	1,44	1,40
	D	1,82	1,82	1,67	1,63	1,55
	E	1,72	1,52	1,49	1,53	1,61
	F	1,67	1,67	1,65	1,61	1,77

Tab. 8.4: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	1,48	1,30	1,36	1,56	1,55
	B	1,16	1,21	1,29	1,25	1,43
	C	1,02	0,87	1,20	1,38	1,54
	D	1,27	1,27	1,26	1,43	1,44
	E	1,17	1,36	1,29	1,33	1,24
	F	1,27	1,24	1,41	1,30	1,18
2	A	1,03	1,17	1,03	1,15	0,97
	B	1,08	1,15	1,07	1,16	1,16
	C	1,22	1,07	1,14	1,19	1,11
	D	0,88	1,10	1,16	0,89	1,33
	E	1,16	1,19	1,13	1,17	1,16
	F	1,07	1,14	1,08	1,01	1,05
3	A	0,90	0,86	0,92	0,95	0,92
	B	0,88	0,90	0,90	0,94	0,93
	C	0,70	0,75	0,81	0,76	0,87
	D	0,83	0,85	1,02	1,06	1,00
	E	0,99	0,97	1,05	1,06	1,01
	F	0,84	0,92	1,03	0,98	1,07
4	A	0,80	0,93	0,99	0,81	0,80
	B	0,76	0,78	0,73	0,69	0,56
	C	0,88	0,73	0,80	0,78	0,88
	D	0,89	0,99	0,93	1,20	1,12
	E	1,09	0,96	0,98	1,01	0,96
	F	0,74	0,86	0,75	0,94	0,97
5	A	1,04	1,00	1,00	0,90	0,85
	B	1,06	1,06	1,05	1,05	1,08
	C	1,09	1,05	1,03	1,06	0,99
	D	1,05	1,12	1,12	1,10	1,12
	E	1,04	1,07	1,06	1,04	1,03
	F	1,10	0,98	1,05	1,00	1,01
	G	1,09	1,06	1,00	1,06	1,04
	H	1,18	1,06	0,99	0,98	0,97
	I	1,10	1,06	1,05	1,07	0,98
	J	1,08	1,08	1,04	1,06	1,01
	K	1,16	1,16	1,07	1,15	1,10
	L	0,94	1,01	0,95	0,87	1,09
6	A	1,16	1,07	0,92	0,94	0,94
	B	1,17	1,16	1,14	1,15	1,02
	C	1,22	1,13	1,09	0,97	0,95
	D	1,20	1,25	1,15	1,14	1,08
	E	1,12	0,99	1,01	1,04	1,12
	F	1,10	1,14	1,14	1,13	1,25

Tab. 8.5: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	0,57	0,48	0,54	0,63	0,61
	B	0,51	0,56	0,59	0,57	0,64
	C	0,35	0,25	0,42	0,51	0,56
	D	0,59	0,60	0,55	0,59	0,55
	E	0,53	0,70	0,59	0,68	0,55
	F	0,62	0,63	0,68	0,58	0,50
2	A	0,59	0,68	0,64	0,44	0,57
	B	0,52	0,51	0,47	0,46	0,45
	C	0,52	0,48	0,52	0,64	0,53
	D	0,50	0,54	0,53	0,37	0,61
	E	0,55	0,63	0,54	0,56	0,54
	F	0,53	0,62	0,56	0,60	0,48
3	A	0,43	0,39	0,42	0,41	0,39
	B	0,37	0,40	0,38	0,36	0,35
	C	0,42	0,38	0,38	0,33	0,37
	D	0,36	0,41	0,52	0,52	0,51
	E	0,42	0,45	0,52	0,51	0,43
	F	0,40	0,41	0,48	0,48	0,52
4	A	0,37	0,43	0,46	0,36	0,30
	B	0,34	0,36	0,32	0,26	0,21
	C	0,37	0,35	0,36	0,36	0,40
	D	0,35	0,39	0,37	0,48	0,42
	E	0,44	0,40	0,42	0,44	0,39
	F	0,33	0,36	0,31	0,37	0,36
5	A	0,33	0,30	0,31	0,29	0,30
	B	0,33	0,33	0,32	0,30	0,32
	C	0,31	0,28	0,28	0,30	0,29
	D	0,29	0,29	0,30	0,31	0,32
	E	0,30	0,30	0,31	0,30	0,31
	F	0,33	0,28	0,29	0,30	0,31
	G	0,32	0,31	0,30	0,30	0,30
	H	0,36	0,32	0,32	0,32	0,31
	I	0,32	0,31	0,32	0,30	0,31
	J	0,32	0,32	0,34	0,33	0,31
	K	0,33	0,33	0,32	0,34	0,35
	L	0,28	0,28	0,28	0,31	0,36
6	A	0,39	0,37	0,31	0,30	0,31
	B	0,44	0,40	0,35	0,34	0,30
	C	0,44	0,39	0,35	0,32	0,32
	D	0,43	0,41	0,37	0,35	0,32
	E	0,43	0,38	0,34	0,33	0,34
	F	0,40	0,37	0,35	0,33	0,36

Tab. 8.6: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] in den Versuchen 2 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
2	A	0,14	0,12	0,14	0,14	0,12
	B	0,14	0,11	0,14	0,13	0,12
	C	0,16	0,15	0,16	0,16	0,14
	D	0,12	0,13	0,13	0,00	0,15
	E	0,15	0,15	0,12	0,12	0,16
	F	0,13	0,13	0,14	0,12	0,13
3	A	0,14	0,13	0,14	0,14	0,14
	B	0,13	0,14	0,12	0,13	0,13
	C	0,12	0,11	0,11	0,11	0,13
	D	0,19	0,14	0,16	0,15	0,15
	E	0,15	0,15	0,16	0,15	0,14
	F	0,13	0,13	0,17	0,15	0,16
4	A	0,10	0,14	0,16	0,12	0,11
	B	0,11	0,10	0,11	0,09	0,04
	C	0,11	0,09	0,11	0,09	0,10
	D	0,11	0,12	0,14	0,17	0,14
	E	0,13	0,11	0,12	0,13	0,12
	F	0,10	0,12	0,10	0,11	0,12
5	A	0,15	0,15	0,15	0,13	0,14
	B	0,17	0,14	0,16	0,15	0,19
	C	0,20	0,19	0,19	0,19	0,16
	D	0,19	0,20	0,18	0,19	0,19
	E	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18
	F	0,20	0,16	0,16	0,16	0,17
	G	0,17	0,17	0,15	0,17	0,19
	H	0,17	0,17	0,15	0,17	0,19
	I	0,18	0,17	0,19	0,15	0,15
	J	0,17	0,18	0,17	0,16	0,15
	K	0,20	0,18	0,19	0,18	0,16
	L	0,13	0,14	0,13	0,13	0,16
6	A	0,15	0,14	0,13	0,13	0,13
	B	0,17	0,17	0,16	0,14	0,14
	C	0,18	0,16	0,15	0,15	0,14
	D	0,18	0,17	0,16	0,15	0,15
	E	0,17	0,15	0,14	0,15	0,14
	F	0,16	0,16	0,16	0,15	0,16

Tab. 8.7: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	6,0	5,7	5,4	6,0	5,8
	B	5,9	5,9	5,9	6,3	5,8
	C	5,5	5,4	6,1	5,8	6,2
	D	5,4	5,8	5,8	5,9	6,0
	E	5,9	5,8	5,9	6,0	6,2
	F	5,8	5,6	6,0	6,1	6,5
2	A	5,9	5,7	5,6	5,6	4,9
	B	5,9	6,5	6,1	6,3	5,9
	C	5,7	6,1	5,8	6,0	5,4
	D	5,4	5,8	6,1	5,2	5,5
	E	5,2	5,8	5,9	6,3	5,3
	F	6,4	5,7	6,4	6,2	6,4
3	A	8,3	8,6	8,4	10,1	10,4
	B	9,7	9,1	9,9	9,9	9,6
	C	8,9	8,5	9,0	8,9	9,3
	D	9,2	9,3	8,8	9,0	8,7
	E	7,5	8,1	9,1	8,8	10,0
	F	8,6	9,9	9,6	9,0	8,9
4	A	7,8	9,8	9,4	8,3	8,4
	B	8,4	8,2	7,5	5,1	5,7
	C	8,5	8,8	8,8	9,3	8,5
	D	8,6	8,0	9,3	10,6	9,9
	E	6,0	6,5	8,2	8,1	8,4
	F	8,0	8,5	8,6	7,8	8,6
5	A	9,3	9,3	8,5	8,7	8,6
	B	9,4	8,5	9,5	9,4	10,3
	C	9,2	9,9	10,0	9,4	10,0
	D	10,3	9,3	9,8	9,1	9,9
	E	9,8	8,7	9,0	8,8	10,0
	F	9,6	9,4	8,5	9,3	9,4
	G	10,2	10,0	9,5	9,0	9,4
	H	9,4	9,5	9,0	9,4	9,0
	I	9,5	9,3	8,6	7,9	8,2
	J	10,7	10,4	9,9	9,9	9,1
	K	10,5	9,4	9,4	8,9	8,9
	L	9,8	9,2	8,9	8,4	9,6
6	A	9,7	9,6	10,1	9,6	10,2
	B	9,0	9,2	8,6	8,6	8,2
	C	9,9	9,5	9,9	8,9	9,0
	D	9,6	9,0	9,1	9,2	9,6
	E	9,6	9,1	9,6	9,0	8,8
	F	9,4	9,6	9,2	9,1	8,3

Tab. 8.8: Verdaulichkeiten der organischen Substanz [%] in den Versuchen 1 bis 6

Versuch	Fermenter	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
1	A	18,4	22,4	17,2	20,9	21,8
	B	17,9	17,1	17,9	19,6	26,6
	C	24,7	25,8	20,5	26,2	24,2
	D	18,1	21,2	18,3	25,7	23,7
	E	20,8	20,6	20,8	24,4	23,5
	F	20,4	16,5	18,5	22,9	24,3
2	A	17,4	20,6	21,9	23,4	17,1
	B	14,4	18,1	20,9	23,0	16,1
	C	16,3	18,7	21,3	22,3	15,5
	D	16,7	20,9	22,8	25,1	16,7
	E	14,3	16,3	22,7	21,2	16,2
	F	15,8	14,0	22,5	22,3	17,5
3	A	17,3	17,1	15,6	11,6	14,5
	B	16,5	15,7	15,0	14,1	18,8
	C	18,1	15,9	14,5	12,1	13,3
	D	18,2	18,2	19,9	16,7	17,6
	E	17,7	19,1	19,5	17,0	15,1
	F	17,9	16,8	17,4	17,0	20,3
4	A	17,3	14,7	16,7	14,8	16,6
	B	15,9	15,3	15,9	16,8	15,9
	C	15,2	15,0	15,3	17,3	15,8
	D	15,7	16,7	17,5	19,5	18,2
	E	18,0	17,2	16,9	18,0	21,2
	F	17,9	19,1	16,1	18,2	17,6
5	A	12,7	14,8	13,5	14,1	11,9
	B	14,2	15,3	14,6	16,2	14,9
	C	13,3	15,6	15,1	14,6	13,2
	D	13,7	15,9	16,7	16,4	16,9
	E	11,9	15,7	15,0	14,1	15,1
	F	12,5	16,6	13,2	15,2	14,8
	G	16,8	15,3	14,2	15,1	14,1
	H	15,3	14,0	14,7	15,6	14,1
	I	14,2	14,0	15,8	12,9	13,7
	J	13,1	12,9	16,3	14,4	13,1
	K	15,5	13,0	14,4	15,8	13,5
	L	13,0	11,1	18,2	15,5	16,0
6	A	14,3	14,4	16,0	13,5	12,7
	B	17,0	15,5	13,9	12,4	14,0
	C	15,8	13,5	12,3	12,3	12,4
	D	16,1	13,1	13,9	13,0	13,3
	E	16,7	12,1	15,4	14,3	15,2
	F	15,2	16,1	15,0	13,5	12,3

Tab. 8.9: pH-Werte vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	6,56	6,56	6,38	6,39	6,27	6,35
	7	6,43	6,36	6,32	6,26	6,32	6,29
	8	6,44	6,44	6,27	6,36	6,40	6,35
	9	6,43	6,42	6,33	6,43	6,33	6,39
	10	6,46	6,40	6,27	6,35	6,34	6,38
Versuch	11	6,47	6,28	6,20	6,36	6,39	6,34
	12	6,51	6,37	6,23	6,29	6,38	6,35
	13	6,46	6,38	6,27	6,21	6,26	6,27
	14	6,44	6,31	6,37	6,39	6,39	6,37
	15	6,41	6,31	6,38	6,32	6,23	6,10
	16	6,47	6,39	6,35	6,27	6,30	6,42
	17	6,43	6,40	6,34	6,25	6,14	6,32
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	6,29	6,28	6,30	6,32	6,29	6,31
	7	6,27	6,28	6,34	6,21	6,26	6,31
	8	6,28	6,23	6,48	6,38	6,44	6,26
	9	6,32	6,24	6,31	6,42	6,45	6,33
	10	6,32	6,27	6,26	6,33	6,28	6,37
Versuch	11	6,32	6,14	6,28	6,21	6,45	6,33
	12	6,35	6,28	6,30	6,26	6,37	6,37
	13	6,34	6,32	6,29	6,22	6,34	6,28
	14	6,36	6,23	6,48	6,40	6,31	6,34
	15	6,37	6,29	6,22	6,32	6,37	6,36
	16	6,43	6,38	6,31	6,40	6,44	6,44
	17	6,40	6,34	6,41	6,37	6,37	6,25

Tab. 8.10: Redoxpotentiale [mV] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	-117	-132	-151	-164	-157	-122
	7	-72	-116	-131	-116	-148	-154
	8	-62	-92	-112	-121	-124	-128
	9	-69	-83	-99	-114	-117	-75
	10	-76	-87	-103	-116	-121	-91
Versuch	11	-85	-101	-124	-146	-131	-152
	12	-60	-79	-114	-130	-50	-138
	13	-26	-25	-72	-82	-72	-102
	14	-16	-13	-75	-72	-60	-59
	15	4	5	-34	13	-32	-43
	16	22	-2	-31	-33	-22	-40
	17	12	-18	-37	-46	-41	-64
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	-161	-114	-182	-182	-183	-175
	7	-114	-144	-150	-83	-147	-158
	8	-122	-100	-129	-73	-140	-143
	9	-128	-123	-133	-126	-144	-148
	10	-109	-136	-138	-120	-138	-145
Versuch	11	-78	-142	-136	-144	-116	-150
	12	-106	-115	-102	-108	-94	-118
	13	-91	-76	-84	-73	-85	-109
	14	-66	-85	-92	-93	-95	-91
	15	4	-48	-54	-58	-62	-43
	16	-65	-60	-69	-60	-65	-70
	17	-78	-78	-70	-75	-78	-82

Tab. 8.11: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	1,50	1,50	1,76	1,55	1,81	1,53
	7	1,58	1,62	1,71	1,66	1,81	1,67
	8	1,71	1,64	1,82	1,67	1,64	1,58
	9	1,77	1,62	1,89	1,58	1,68	1,64
	10	1,79	1,59	1,84	1,63	1,67	1,49
Versuch	11	1,55	1,69	1,89	1,61	1,49	1,52
	12	1,56	1,68	1,98	1,50	1,49	1,51
	13	1,47	1,61	1,92	1,77	1,62	1,51
	14	1,62	1,44	1,61	1,64	1,73	1,65
	15	1,65	1,77	1,58	1,64	1,70	1,86
	16	1,82	1,79	1,69	1,70	1,79	1,96
	17	1,83	1,82	1,79	1,90	2,00	1,68
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	1,87	1,65	1,84	1,69	1,86	1,92
	7	1,82	1,83	1,75	1,82	1,92	1,81
	8	1,79	1,88	1,73	1,70	1,75	1,68
	9	1,83	1,90	1,98	1,68	1,66	1,91
	10	1,68	1,83	1,91	1,61	1,80	1,70
Versuch	11	1,80	1,69	1,80	1,78	1,87	1,58
	12	1,61	1,70	1,78	1,85	1,62	1,53
	13	1,65	1,56	1,71	1,72	1,69	1,41
	14	1,65	1,73	1,72	1,68	1,59	1,54
	15	1,62	1,68	1,67	1,62	1,62	1,39
	16	1,68	1,63	1,95	1,58	1,57	1,47
	17	1,69	1,71	1,87	1,60	1,78	1,66

Tab. 8.12: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	0,95	0,96	1,09	0,98	1,21	0,98
	7	1,07	1,11	1,14	1,13	1,27	1,15
	8	1,16	1,18	1,25	1,19	1,17	1,10
	9	1,22	1,14	1,31	1,10	1,16	1,13
	10	1,22	1,10	1,29	1,10	1,13	1,03
Versuch	11	1,05	1,16	1,32	1,10	1,02	1,03
	12	1,09	1,19	1,43	1,05	1,05	1,06
	13	1,04	1,18	1,44	1,29	1,18	1,09
	14	1,20	1,10	1,20	1,20	1,28	1,22
	15	1,21	1,36	1,19	1,18	1,23	1,35
	16	1,32	1,31	1,22	1,20	1,30	1,38
	17	1,28	1,31	1,25	1,33	1,42	1,18
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	1,20	1,04	1,24	1,08	1,22	1,24
	7	1,20	1,24	1,21	1,23	1,28	1,22
	8	1,24	1,32	1,21	1,18	1,20	1,15
	9	1,24	1,32	1,38	1,18	1,13	1,33
	10	1,14	1,27	1,33	1,12	1,21	1,19
Versuch	11	1,23	1,16	1,21	1,22	1,31	1,07
	12	1,12	1,24	1,25	1,35	1,20	1,10
	13	1,19	1,20	1,24	1,27	1,28	1,05
	14	1,22	1,33	1,31	1,30	1,24	1,18
	15	1,21	1,33	1,29	1,21	1,23	1,06
	16	1,26	1,23	1,50	1,20	1,20	1,11
	17	1,25	1,26	1,40	1,19	1,32	1,27

Tab. 8.13: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	0,40	0,41	0,51	0,43	0,45	0,42
	7	0,37	0,37	0,43	0,39	0,41	0,39
	8	0,40	0,33	0,42	0,36	0,34	0,36
	9	0,42	0,34	0,43	0,35	0,39	0,39
	10	0,43	0,35	0,42	0,39	0,42	0,36
Versuch	11	0,38	0,38	0,44	0,38	0,36	0,37
	12	0,34	0,34	0,41	0,33	0,32	0,33
	13	0,30	0,27	0,34	0,29	0,26	0,26
	14	0,25	0,21	0,29	0,24	0,23	0,24
	15	0,26	0,25	0,23	0,24	0,25	0,28
	16	0,31	0,29	0,28	0,29	0,28	0,35
	17	0,36	0,32	0,33	0,36	0,38	0,32
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	0,53	0,44	0,45	0,47	0,47	0,51
	7	0,48	0,43	0,40	0,45	0,47	0,44
	8	0,43	0,42	0,39	0,41	0,41	0,40
	9	0,46	0,43	0,46	0,39	0,39	0,44
	10	0,42	0,41	0,44	0,38	0,44	0,39
Versuch	11	0,44	0,40	0,45	0,45	0,42	0,40
	12	0,35	0,33	0,37	0,37	0,29	0,32
	13	0,25	0,22	0,24	0,25	0,21	0,21
	14	0,16	0,18	0,17	0,18	0,13	0,15
	15	0,14	0,15	0,14	0,15	0,14	0,11
	16	0,14	0,16	0,16	0,15	0,12	0,13
	17	0,17	0,19	0,16	0,15	0,16	0,14

Tab. 8.14: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	0,14	0,13	0,16	0,14	0,14	0,13
	7	0,14	0,14	0,15	0,14	0,13	0,13
	8	0,14	0,13	0,15	0,13	0,13	0,13
	9	0,14	0,14	0,14	0,12	0,12	0,13
	10	0,14	0,14	0,14	0,14	0,11	0,10
Versuch	11	0,12	0,15	0,13	0,13	0,11	0,12
	12	0,12	0,15	0,14	0,13	0,11	0,12
	13	0,13	0,16	0,14	0,19	0,18	0,16
	14	0,17	0,14	0,12	0,21	0,22	0,19
	15	0,19	0,17	0,16	0,22	0,22	0,24
	16	0,19	0,19	0,19	0,21	0,21	0,24
	17	0,18	0,20	0,20	0,21	0,20	0,19
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	0,14	0,16	0,15	0,14	0,16	0,17
	7	0,14	0,16	0,13	0,13	0,17	0,14
	8	0,13	0,15	0,12	0,11	0,14	0,13
	9	0,13	0,15	0,15	0,12	0,13	0,14
	10	0,13	0,15	0,15	0,11	0,14	0,12
Versuch	11	0,13	0,12	0,14	0,11	0,14	0,11
	12	0,14	0,13	0,16	0,13	0,14	0,11
	13	0,21	0,14	0,22	0,19	0,20	0,15
	14	0,27	0,21	0,23	0,20	0,22	0,21
	15	0,27	0,21	0,23	0,25	0,26	0,22
	16	0,28	0,24	0,29	0,23	0,25	0,23
	17	0,28	0,26	0,30	0,26	0,30	0,25

Tab. 8.15: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	7,8	7,5	8,0	7,8	7,4	8,1
	7	7,7	7,0	7,8	7,5	6,9	8,0
	8	7,3	6,9	7,2	6,9	7,0	7,2
	9	7,4	7,2	6,9	7,2	7,4	7,9
	10	7,4	7,4	7,2	7,3	7,1	7,8
Versuch	11	7,5	7,6	6,6	7,5	7,2	7,8
	12	7,2	7,7	6,6	6,7	6,9	6,6
	13	6,8	6,6	6,6	6,5	6,8	6,3
	14	5,8	5,8	6,0	6,5	6,2	6,1
	15	6,1	5,6	6,0	6,3	6,5	6,0
	16	6,5	6,1	6,6	7,0	6,2	7,1
	17	6,5	6,0	7,1	7,1	6,6	7,4
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	7,4	8,4	6,4	8,3	6,8	8,6
	7	6,7	8,3	6,7	7,7	6,9	8,8
	8	6,5	8,1	6,8	6,5	6,6	8,5
	9	6,8	8,3	6,9	6,5	6,8	7,8
	10	7,0	8,2	6,9	6,4	7,6	7,9
Versuch	11	7,0	7,8	6,5	6,7	6,9	7,6
	12	6,9	7,3	6,7	6,8	5,7	7,4
	13	6,0	6,4	6,1	6,8	6,1	7,1
	14	5,6	6,3	6,3	6,3	6,3	7,1
	15	6,2	6,9	6,7	6,3	6,7	6,7
	16	6,5	7,9	6,6	6,6	6,4	7,0
	17	7,2	8,4	7,0	7,1	7,5	7,6

Tab. 8.16: Verdaulichkeiten der OS [%] vor und während der Erythromycin-Zugabe (Versuch 7)

Phase	Tag	A 1,25 mg E/d	B 1,25 mg E/d	C 1,25 mg E/d	D 2,5 mg E/d	E 2,5 mg E/d	F 2,5 mg E/d
Kontrolle	6	13,3	12,1	13,9	12,5	16,2	12,1
	7	12,8	13,4	14,5	12,7	11,1	13,0
	8	12,9	11,1	13,6	11,1	8,8	10,3
	9	15,2	20,1	8,0	9,5	2,7	17,3
	10	13,0	17,2	16,1	11,4	12,6	11,4
Versuch	11	14,1	16,7	14,7	15,0	10,0	12,6
	12	10,7	14,7	16,0	12,1	12,9	11,7
	13	13,2	14,1	17,9	17,1	18,2	11,7
	14	12,7	14,3	12,5	14,7	18,1	14,8
	15	14,6	13,5	11,5	12,3	17,1	24,7
	16	17,0	15,2	17,1	18,9	18,6	16,0
	17	19,2	20,3	19,1	19,3	16,3	19,1
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d**	**H 10 mg E/d**	**I 10 mg E/d**	**J 20 mg E/d**	**K 20 mg E/d**	**L 20 mg E/d**
Kontrolle	6	14,5	12,1	13,8	10,8	15,0	14,8
	7	15,5	16,4	14,4	16,1	16,5	13,0
	8	11,4	5,7	18,8	13,4	21,3	7,2
	9	14,9	14,9	14,3	8,9	10,5	12,6
	10	14,4	15,2	14,9	11,6	14,7	12,1
Versuch	11	14,4	19,0	15,6	16,3	18,2	11,2
	12	15,2	11,2	13,6	14,3	13,7	10,7
	13	13,4	14,8	19,3	13,4	14,2	12,8
	14	14,2	18,9	14,2	9,5	15,2	15,5
	15	15,6	17,8	16,2	13,8	17,7	16,4
	16	17,3	19,0	23,5	17,1	17,5	18,3
	17	17,1	17,4	18,9	17,9	20,0	18,1

Tab. 8.17: pH-Werte vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	6,55	6,51	6,70	6,52	6,51	6,47
	7	6,49	6,55	6,69	6,55	6,48	6,55
	8	6,32	6,49	6,55	6,55	6,49	6,51
	9	6,32	6,43	6,55	6,53	6,44	6,52
	10	6,24	6,30	6,46	6,41	6,33	6,49
Versuch	11	6,54	6,60	6,67	6,45	6,48	6,54
	12	6,78	6,91	7,13	6,64	6,58	6,68
	13	7,05	7,08	7,22	6,78	6,59	6,78
	14	7,13	7,23	7,33	6,84	6,73	6,77
	15	7,20	7,29	7,47	6,87	6,79	6,84
	16	7,30	7,38	7,59	6,90	6,85	6,93
	17	7,34	7,43	7,58	6,93	6,98	7,00
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	6,55	6,56	6,55	6,58	6,56	6,54
	7	6,53	6,54	6,51	6,47	6,61	6,71
	8	6,49	6,48	6,45	6,32	6,58	6,44
	9	6,45	6,45	6,32	6,47	6,52	6,27
	10	6,46	6,32	6,35	6,31	6,6	6,23
Versuch	11	6,56	6,43	6,58	6,46	6,57	6,62
	12	6,64	6,50	6,68	6,51	6,70	6,68
	13	6,73	6,57	6,73	6,60	6,76	6,82
	14	6,78	6,61	6,78	6,68	6,85	6,72
	15	6,75	6,74	6,85	6,95	6,88	6,78
	16	6,72	6,91	6,90	6,73	6,80	6,76
	17	6,71	6,92	6,87	6,69	6,85	6,76

Tab. 8.18: Redoxpotentiale [mV] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	-232	-262	-279	-270	-273	-275
	7	-233	-260	-268	-268	-266	-269
	8	-244	-261	-265	-268	-268	-265
	9	-217	-250	-261	-273	-279	-266
	10	-216	-246	-248	-262	-263	-255
Versuch	11	-204	-240	-246	-265	-264	-260
	12	-173	-197	-146	-211	-222	-226
	13	-67	-148	-165	-163	-187	-181
	14	-97	-136	-160	-136	-120	-135
	15	-12	-86	-111	-87	-104	-72
	16	25	-69	-51	-60	-68	-90
	17	58	-61	-100	-76	-66	-91
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/ d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	-283	-285	-286	-275	-288	-287
	7	-277	-279	-281	-279	-273	-190
	8	-279	-276	-277	-270	-274	-272
	9	-273	-284	-273	-287	-258	-252
	10	-267	-273	-270	-272	-258	-265
Versuch	11	-263	-270	-269	-272	-281	-205
	12	-224	-220	-218	-224	-194	-179
	13	-195	-190	-192	-187	-138	-147
	14	-170	-159	-160	-163	-118	-148
	15	-137	-88	-130	-110	-107	-87
	16	-122	-66	-144	-100	-97	-86
	17	-121	-92	-106	-113	-113	-102

Tab. 8.19: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	1,47	1,66	1,56	1,71	1,72	1,78
	7	1,57	1,69	1,50	1,67	1,67	1,67
	8	1,78	1,56	1,67	1,70	1,60	1,68
	9	1,73	1,72	1,51	1,62	1,54	1,58
	10	1,93	1,82	1,70	1,60	1,86	1,54
Versuch	11	1,32	1,27	1,24	1,47	1,45	1,42
	12	1,03	0,84	0,72	1,19	1,30	1,10
	13	0,48	0,48	0,44	0,81	1,04	0,79
	14	0,39	0,34	0,29	0,67	0,80	0,69
	15	0,27	0,26	0,15	0,60	0,73	0,68
	16	0,23	0,22	0,18	0,53	0,61	0,53
	17	0,20	0,21	0,11	0,48	0,46	0,34
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	1,57	1,53	1,47	1,49	1,57	1,65
	7	1,60	1,57	1,17	1,69	1,52	1,66
	8	1,62	1,61	1,70	1,71	1,57	1,62
	9	1,58	1,54	1,79	1,58	1,50	1,70
	10	1,63	1,74	1,83	1,70	1,50	2,00
Versuch	11	1,47	1,56	1,49	1,60	1,51	1,55
	12	1,39	1,40	1,17	1,51	1,28	1,43
	13	1,16	1,23	1,01	1,37	1,20	1,15
	14	1,01	1,09	0,95	1,17	0,97	1,20
	15	0,92	0,99	0,91	1,10	0,77	1,05
	16	1,03	0,84	0,83	1,04	1,03	1,03
	17	0,99	0,79	0,80	0,45	0,85	1,11

Tab. 8.20: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	0,88	1,01	0,92	0,97	1,04	1,06
	7	0,93	1,04	0,89	1,00	1,00	1,00
	8	1,09	0,99	1,00	0,98	0,97	1,06
	9	1,07	1,14	0,88	1,00	0,96	1,02
	10	1,18	1,23	1,02	1,01	1,16	1,01
Versuch	11	0,78	0,84	0,75	0,92	0,90	0,87
	12	0,69	0,59	0,52	0,84	0,88	0,76
	13	0,39	0,40	0,36	0,69	0,79	0,66
	14	0,34	0,31	0,29	0,59	0,65	0,61
	15	0,27	0,26	0,15	0,54	0,59	0,57
	16	0,23	0,22	0,18	0,53	0,51	0,53
	17	0,20	0,21	0,11	0,48	0,46	0,34
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100% TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	0,97	0,94	0,91	0,93	0,99	0,91
	7	1,01	0,99	0,99	1,10	0,99	0,92
	8	1,06	1,04	1,11	1,16	1,05	0,93
	9	1,05	1,02	1,15	1,10	0,99	0,92
	10	1,11	1,20	1,18	1,18	1,02	1,12
Versuch	11	0,97	1,09	0,97	1,09	1,04	0,92
	12	0,96	1,03	0,84	1,08	0,93	0,95
	13	0,86	0,96	0,79	1,03	0,91	0,85
	14	0,80	0,88	0,76	0,88	0,75	0,92
	15	0,73	0,80	0,72	0,83	0,60	0,81
	16	0,81	0,70	0,66	0,79	0,80	0,81
	17	0,79	0,70	0,64	0,34	0,66	0,87

Tab. 8.21: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	0,44	0,45	0,46	0,56	0,48	0,54
	7	0,47	0,47	0,43	0,48	0,49	0,50
	8	0,50	0,40	0,48	0,55	0,46	0,45
	9	0,49	0,41	0,46	0,45	0,42	0,41
	10	0,57	0,42	0,50	0,42	0,51	0,39
Versuch	11	0,43	0,33	0,38	0,41	0,42	0,42
	12	0,27	0,19	0,19	0,26	0,32	0,27
	13	0,09	0,08	0,07	0,12	0,17	0,13
	14	0,05	0,03	0,00	0,08	0,09	0,07
	15	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,05
	16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
	17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	0,44	0,42	0,40	0,39	0,40	0,57
	7	0,42	0,42	0,02	0,41	0,38	0,58
	8	0,40	0,41	0,42	0,39	0,37	0,54
	9	0,37	0,36	0,47	0,33	0,35	0,63
	10	0,36	0,38	0,48	0,36	0,34	0,71
Versuch	11	0,36	0,34	0,38	0,36	0,34	0,48
	12	0,31	0,27	0,25	0,30	0,25	0,36
	13	0,19	0,18	0,15	0,22	0,19	0,21
	14	0,12	0,11	0,11	0,16	0,12	0,17
	15	0,10	0,10	0,11	0,15	0,09	0,13
	16	0,11	0,08	0,10	0,15	0,13	0,12
	17	0,10	0,09	0,09	0,06	0,10	0,14

Tab. 8.22: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	0,16	0,20	0,17	0,18	0,20	0,18
	7	0,16	0,19	0,17	0,19	0,18	0,17
	8	0,19	0,17	0,19	0,17	0,17	0,17
	9	0,17	0,17	0,17	0,18	0,16	0,15
	10	0,17	0,17	0,18	0,17	0,19	0,15
Versuch	11	0,11	0,11	0,11	0,14	0,13	0,13
	12	0,07	0,05	0,00	0,09	0,10	0,08
	13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00
	14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00
	15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,05
	16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00
	17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	0,16	0,17	0,16	0,17	0,17	0,17
	7	0,17	0,17	0,15	0,18	0,15	0,16
	8	0,17	0,17	0,17	0,16	0,15	0,15
	9	0,16	0,15	0,18	0,15	0,15	0,15
	10	0,16	0,16	0,17	0,16	0,14	0,18
Versuch	11	0,14	0,12	0,13	0,15	0,14	0,15
	12	0,12	0,09	0,09	0,14	0,11	0,12
	13	0,11	0,09	0,07	0,13	0,11	0,09
	14	0,09	0,10	0,08	0,13	0,11	0,12
	15	0,10	0,09	0,08	0,12	0,08	0,11
	16	0,12	0,06	0,08	0,11	0,11	0,10
	17	0,10	0,00	0,07	0,05	0,09	0,10

Tab. 8.23: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	7,9	8,7	7,5	8,5	8,8	7,9
	7	8,0	8,3	7,8	8,0	8,5	7,6
	8	7,9	8,5	7,0	7,4	8,7	7,9
	9	7,0	7,8	7,1	7,7	8,3	6,9
	10	7,1	7,6	6,3	7,8	8,0	6,5
Versuch	11	6,0	6,0	4,9	6,0	6,6	6,1
	12	5,9	5,2	4,5	5,4	5,9	5,4
	13	5,1	5,0	4,6	4,8	5,1	4,5
	14	4,4	4,7	4,6	4,8	4,8	4,8
	15	4,4	4,7	4,4	4,6	4,6	4,9
	16	4,2	4,6	4,1	4,4	4,5	4,4
	17	4,7	4,7	4,3	4,5	4,5	4,6
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 % TS**
Kontrolle	6	8,3	8,7	8,7	8,8	8,3	8,1
	7	8,5	7,9	8,2	8,7	7,1	7,8
	8	8,2	8,1	7,9	8,0	7,6	7,6
	9	8,3	6,8	7,0	7,9	7,3	6,8
	10	7,7	7,7	6,4	7,1	6,4	6,6
Versuch	11	7,4	6,3	6,1	6,9	7,3	6,5
	12	6,4	5,9	5,9	7,1	6,8	6,5
	13	5,9	5,5	5,6	6,6	5,9	6,4
	14	6,1	5,5	5,5	6,8	5,4	6,5
	15	6,1	5,8	5,5	6,8	5,8	6,0
	16	5,7	5,6	5,7	6,4	6,1	5,6
	17	5,7	5,6	5,6	6,0	5,9	5,8

Tab. 8.24: Verdaulichkeiten der OS [%] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 8)

Phase	Tag	A 10 mg E/d 10 % TS	B 10 mg E/d 10 % TS	C 10 mg E/d 10 % TS	D 10 mg E/d 30 % TS	E 10 mg E/d 30 % TS	F 10 mg E/d 30 % TS
Kontrolle	6	15,8	14,3	14,3	12,3	12,4	14,7
	7	14,7	14,0	12,4	13,3	12,4	14,1
	8	16,2	13,5	13,5	12,5	13,1	13,5
	9	16,0	14,9	13,8	14,1	13,7	14,6
	10	19,8	17,1	14,3	15,0	15,4	11,0
Versuch	11	16,8	13,1	18,7	15,0	11,9	12,9
	12	11,9	-4,1	-5,0	13,5	16,4	9,8
	13	5,0	-0,5	-1,7	9,6	15,5	9,8
	14	-7,5	-7,7	-6,7	7,1	9,2	4,3
	15	-9,2	-9,0	-9,1	4,7	2,5	3,0
	16	-8,9	-8,7	-6,2	-2,2	-1,1	0,9
	17	0,4	-5,7	-7,0	6,7	3,6	1,9
Phase	**Tag**	**G 10 mg E/d 60 % TS**	**H 10 mg E/d 60 % TS**	**I 10 mg E/d 60 % TS**	**J 10 mg E/d 100 % TS**	**K 10 mg E/d 100 % TS**	**L 10 mg E/d 100 %**
Kontrolle	6	13,7	13,0	12,9	13,7	12,7	12,6
	7	13,9	12,9	13,3	14,7	12,0	9,4
	8	14,7	17,3	16,5	16,5	12,0	12,8
	9	12,4	12,0	17,2	10,2	12,9	17,6
	10	9,6	15,9	18,3	14,9	13,6	17,8
Versuch	11	13,8	14,0	12,4	12,3	12,3	13,7
	12	13,7	13,9	11,3	12,1	12,2	14,8
	13	9,9	12,1	9,7	9,3	10,6	9,5
	14	11,7	13,4	9,7	8,2	11,9	10,8
	15	6,4	5,6	3,5	7,6	8,4	8,5
	16	6,0	5,4	2,1	6,2	6,3	7,8
	17	8,1	8,4	6,3	7,8	7,9	9,2

Tab. 8.25: pH-Werte vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	6,48	6,47	6,49	6,42	6,48	6,39
	7	6,68	6,58	6,63	6,46	6,33	6,31
	8	6,54	6,38	6,45	6,35	6,40	6,37
	9	6,35	6,44	6,47	6,42	6,40	6,21
	10	6,41	6,35	6,44	6,46	6,42	6,30
Versuch	11	6,44	6,35	6,63	6,54	6,56	6,55
	12	6,50	6,39	6,64	6,60	6,63	6,64
	13	6,41	6,48	6,63	6,69	6,64	6,65
	14	6,33	6,48	6,66	6,77	6,41	6,74
	15	6,43	6,37	6,63	6,69	6,39	6,59
	16	6,47	6,11	6,72	6,61	6,47	6,63
	17	6,33	6,38	6,60	6,68	6,50	6,73
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	6,61	6,51	6,55	6,54	6,43	6,48
	7	6,55	6,53	6,59	6,24	6,47	6,42
	8	6,56	6,58	6,58	6,39	6,50	6,48
	9	6,52	6,57	6,48	6,42	6,49	6,45
	10	6,67	6,51	6,58	6,48	6,49	6,39
Versuch	11	6,66	6,54	6,70	6,79	6,91	6,62
	12	6,86	6,74	6,75	7,09	7,17	6,91
	13	7,00	6,79	6,79	7,31	7,14	7,11
	14	6,89	6,81	6,84	7,37	7,09	7,07
	15	6,87	6,90	6,83	7,36	7,11	7,15
	16	6,99	7,00	6,79	7,36	7,12	7,15
	17	6,93	7,07	6,80	7,41	7,26	7,20

Tab. 8.26: Redoxpotentiale [mV] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	-207	-228	-218	-238	-230	-234
	7	-168	-219	-228	-256	-235	-233
	8	-150	-225	-222	-258	-234	-250
	9	-220	-252	-247	-264	-249	-261
	10	-222	-251	-214	-262	-249	-261
Versuch	11	-234	-255	-210	-264	-267	-269
	12	-245	-261	-251	-247	-258	-249
	13	-242	-259	-193	-192	-215	-213
	14	-225	-245	-177	-177	-136	-134
	15	-217	-241	-169	-164	-111	-106
	16	-218	-234	-191	-162	-130	-115
	17	-219	-238	-196	-169	-134	-118
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	-228	-245	-247	-262	-253	-262
	7	-239	-255	-249	-254	-259	-266
	8	-251	-259	-238	-248	-258	-265
	9	-263	-278	-272	-262	-273	-288
	10	-262	-282	-277	-257	-280	-286
Versuch	11	-259	-288	-291	-283	-263	-290
	12	-270	-302	-307	-272	-275	-291
	13	-278	-308	-308	-227	-240	-258
	14	-283	-285	-281	-183	-168	-208
	15	-285	-272	-280	-190	-155	-164
	16	-253	-270	-276	-192	-198	-180
	17	-287	-270	-288	-181	-180	-212

Tab. 8.27: SCFA-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	1,54	1,58	1,60	1,65	1,56	1,48
	7	1,41	1,51	1,48	1,72	1,71	1,64
	8	1,64	1,61	1,48	1,55	1,76	1,66
	9	1,81	1,68	1,57	1,70	1,65	1,72
	10	1,87	1,80	1,82	1,64	1,26	1,74
Versuch	11	1,69	1,87	1,59	1,61	1,63	1,70
	12	1,64	1,65	1,41	1,37	1,38	1,25
	13	1,73	1,81	1,11	1,23	1,20	1,21
	14	1,81	1,61	1,38	1,29	1,36	1,12
	15	1,85	1,83	1,37	1,10	1,38	1,24
	16	1,78	2,04	1,11	1,34	1,53	1,13
	17	1,77	2,16	1,00	1,33	1,44	1,03
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	1,41	1,79	1,65	1,63	1,53	1,52
	7	1,50	1,52	1,54	1,66	1,59	1,48
	8	1,35	1,42	1,42	1,71	1,55	1,45
	9	1,55	1,48	1,53	1,59	1,62	1,38
	10	1,32	1,52	1,50	1,58	1,48	1,54
Versuch	11	1,03	1,10	1,06	0,90	1,10	0,99
	12	0,76	0,96	0,88	0,58	0,57	0,63
	13	0,49	0,65	0,71	0,35	0,46	0,42
	14	0,48	0,64	0,66	0,32	0,35	0,41
	15	0,50	0,50	0,60	0,27	0,41	0,29
	16	0,51	0,52	0,61	0,24	0,40	0,29
	17	0,11	0,50	0,52	0,18	0,40	0,35

Tab. 8.28: Acetat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	0,94	0,99	0,95	1,04	1,04	0,97
	7	0,91	1,00	0,96	1,15	1,09	1,05
	8	1,07	1,01	0,96	1,01	1,13	1,11
	9	1,24	1,09	1,04	1,15	1,07	1,15
	10	1,29	1,19	1,23	1,11	0,85	1,19
Versuch	11	1,13	1,28	1,10	1,14	1,15	1,22
	12	1,16	1,17	0,97	1,02	1,00	0,91
	13	1,18	1,26	0,77	0,96	0,89	0,92
	14	1,26	1,10	0,95	1,02	1,08	0,89
	15	1,28	1,27	0,94	0,86	1,16	1,01
	16	1,25	1,41	0,75	1,05	1,28	0,90
	17	1,20	1,54	0,68	1,02	1,14	0,81
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	0,98	1,16	1,08	1,02	1,01	0,99
	7	1,03	0,99	0,96	1,07	1,06	0,95
	8	0,88	0,96	0,88	1,16	1,05	0,93
	9	1,05	1,00	0,97	1,08	1,09	0,90
	10	0,89	1,04	0,98	1,11	1,01	1,05
Versuch	11	0,77	0,83	0,72	0,67	0,78	0,75
	12	0,57	0,73	0,65	0,44	0,44	0,50
	13	0,38	0,49	0,53	0,28	0,37	0,35
	14	0,37	0,49	0,50	0,24	0,35	0,35
	15	0,40	0,39	0,46	0,22	0,41	0,29
	16	0,39	0,41	0,46	0,24	0,34	0,29
	17	0,40	0,39	0,41	0,18	0,33	0,30

Tab. 8.29: Propionat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	0,47	0,45	0,48	0,47	0,41	0,41
	7	0,40	0,38	0,40	0,46	0,49	0,48
	8	0,49	0,46	0,40	0,42	0,50	0,44
	9	0,48	0,46	0,41	0,46	0,45	0,44
	10	0,48	0,47	0,47	0,42	0,32	0,44
Versuch	11	0,44	0,47	0,39	0,36	0,39	0,37
	12	0,35	0,37	0,34	0,25	0,28	0,25
	13	0,43	0,41	0,27	0,18	0,21	0,19
	14	0,45	0,38	0,34	0,18	0,17	0,16
	15	0,45	0,43	0,33	0,15	0,14	0,16
	16	0,43	0,49	0,28	0,19	0,16	0,15
	17	0,45	0,51	0,25	0,19	0,18	0,14
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	0,32	0,50	0,43	0,46	0,39	0,41
	7	0,37	0,42	0,43	0,48	0,41	0,43
	8	0,36	0,38	0,41	0,44	0,39	0,40
	9	0,40	0,38	0,43	0,40	0,40	0,36
	10	0,34	0,38	0,41	0,38	0,37	0,39
Versuch	11	0,26	0,27	0,27	0,23	0,26	0,24
	12	0,19	0,23	0,23	0,13	0,13	0,13
	13	0,11	0,16	0,18	0,07	0,08	0,07
	14	0,10	0,15	0,15	0,08	0,00	0,06
	15	0,12	0,11	0,14	0,05	0,00	0,00
	16	0,10	0,12	0,15	0,00	0,07	0,00
	17	0,11	0,11	0,11	0,00	0,07	0,06

Tab. 8.30: Butyrat-Produktionsraten [mmol/d] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	0,13	0,14	0,16	0,14	0,10	0,10
	7	0,10	0,13	0,13	0,11	0,13	0,11
	8	0,08	0,14	0,11	0,12	0,13	0,10
	9	0,09	0,13	0,12	0,09	0,13	0,13
	10	0,10	0,14	0,12	0,11	0,09	0,11
Versuch	11	0,11	0,13	0,10	0,10	0,09	0,10
	12	0,13	0,12	0,09	0,09	0,10	0,09
	13	0,13	0,13	0,07	0,09	0,09	0,10
	14	0,11	0,13	0,09	0,08	0,10	0,07
	15	0,13	0,14	0,10	0,08	0,08	0,08
	16	0,10	0,14	0,09	0,10	0,10	0,09
	17	0,12	0,12	0,07	0,11	0,11	0,09
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	0,11	0,14	0,14	0,15	0,13	0,12
	7	0,09	0,12	0,15	0,11	0,12	0,11
	8	0,11	0,09	0,12	0,11	0,11	0,11
	9	0,10	0,10	0,13	0,11	0,13	0,11
	10	0,09	0,10	0,11	0,09	0,10	0,11
Versuch	11	0,00	0,00	0,07	0,00	0,07	0,00
	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tab. 8.31: Ammoniak-Konzentrationen [mmol/l] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	5,9	6,4	5,6	6,7	5,9	6,7
	7	6,0	6,7	5,7	6,5	6,4	6,2
	8	5,1	6,5	4,7	6,1	6,8	5,9
	9	5,4	6,7	5,4	6,5	6,5	6,1
	10	5,7	7,2	5,2	7,1	6,3	5,6
Versuch	11	5,9	6,3	5,7	6,6	6,5	6,0
	12	6,3	5,8	5,6	6,3	5,8	6,6
	13	5,9	6,5	5,7	6,2	6,4	6,5
	14	6,0	5,7	5,2	5,3	5,0	6,0
	15	5,8	4,8	4,5	6,0	5,8	6,0
	16	5,5	5,3	4,6	5,8	5,3	5,0
	17	5,4	5,4	4,2	7,0	5,9	5,7
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	6,2	7,1	6,8	5,8	6,6	7,4
	7	5,8	6,7	6,4	5,4	6,2	7,1
	8	5,5	6,5	6,3	5,8	6,3	6,3
	9	5,7	6,1	6,2	5,8	6,5	6,8
	10	5,5	6,9	5,5	5,9	6,2	6,5
Versuch	11	5,2	5,9	5,5	5,5	4,2	5,8
	12	4,6	4,9	5,1	4,4	5,6	4,9
	13	4,2	4,8	5,3	5,2	4,6	5,2
	14	4,1	4,5	4,7	4,9	4,4	5,1
	15	4,6	4,1	3,8	4,3	4,7	5,0
	16	4,3	4,5	4,7	4,3	4,5	4,1
	17	4,1	4,5	4,5	4,0	4,5	3,6

ab. 8.32: Verdaulichkeiten der OS [%] vor und während der E-Zugabe und der Reduktion der TS (Versuch 9)

Phase	Tag	A Kontrolle	B Kontrolle	C Kontrolle	D 10 mg E/d	E 10 mg E/d	F 10 mg E/d
Kontrolle	6	14,4	14,0	16,2	14,1	13,2	13,1
	7	14,4	11,9	13,7	13,5	15,6	15,5
	8	15,9	12,8	14,8	13,9	14,1	14,7
	9	19,7	15,4	16,5	17,5	15,5	13,4
	10	17,0	16,5	19,6	14,3	15,0	16,2
Versuch	11	16,8	16,5	17,8	15,5	13,5	13,5
	12	13,7	16,4	15,5	11,6	10,1	8,5
	13	17,1	14,0	16,1	8,1	12,8	10,1
	14	21,9	17,3	18,0	16,0	17,1	11,0
	15	17,2	18,0	17,4	12,6	15,4	24,8
	16	17,4	20,0	18,4	15,3	15,5	12,6
	17	19,8	18,0	15,9	13,8	15,3	12,3
Phase	**Tag**	**G 30 % TS**	**H 30 % TS**	**I 30 % TS**	**J 10 mg E/d 30 % TS**	**K 10 mg E/d 30 % TS**	**L 10 mg E/d 30 % TS**
Kontrolle	6	15,7	17,2	14,6	17,7	16,3	13,6
	7	16,2	16,6	17,7	20,0	17,0	15,3
	8	16,7	16,9	17,9	16,3	16,6	15,6
	9	16,1	14,6	15,9	14,9	16,3	12,9
	10	15,4	16,1	16,8	17,4	16,7	16,8
Versuch	11	17,4	16,5	13,9	13,8	14,3	15,4
	12	11,0	12,7	12,2	-3,5	3,8	7,4
	13	14,0	3,4	10,4	-4,2	9,0	3,6
	14	11,8	9,6	11,6	-6,8	3,4	1,2
	15	7,7	8,4	13,8	2,5	5,7	7,6
	16	11,7	12,3	13,9	0,4	8,9	2,1
	17	11,2	12,6	17,5	2,1	8,2	4,7

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei all denen bedanken, ohne die das Gelingen dieser Arbeit nur schwer möglich gewesen wäre.

Prof. Dr. Gerhard Breves danke ich für die Überlassung der interessanten Thematik und die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe.

Weiterhin danke ich PD Dr. Korinna Huber und PD Dr. Sabine Leonhard-Marek für die Anregungen und die Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an Marion Burmester für ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft in jeder Situation.

Dr. Martin Beyerbach und Bettina Kreutzkamp danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Prof. Dr. Karsten Feige, Prof. Dr. Helmut Waibl und Werner Jausch gebührt mein Dank für die freundliche Kooperation bei der Gewinnung des Caecuminhaltes.

Des Weiteren danke ich PD Dr. Kai Bester für die Bestimmung der Erythromycin-Konzentration im Caecuminhalt.

Yvonne Armbrecht und Michael Rohde danke ich für die Unterstützung bei der Entnahme des Caecuminhaltes, der Befüllung der Beutel und die täglichen Kaffeefreuden während der Versuchszeit.

Weiterhin richtet sich mein Dank an alle Doktorranden und Mitarbeiter des Physiologischen Institutes für die nette Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft. Ganz besonders möchte ich mich bei Meike Zurich, Susanne Becker und Nina Tippkemper bedanken, die die Höhen und Tiefen der letzten Zeit mit mir geteilt haben und nie aufgehört haben mir Mut zu machen.

Meinen Eltern, insbesondere meiner Mutter, danke ich für die grenzenlose Unterstützung in jeder Hinsicht, die unzähligen aufmunternden Worte und das stete Vertrauen in meine Fähigkeiten.

Mein besonderer Dank geht an Christian, der immer für mich da ist und mir in der letzten Zeit viel Geduld und Verständnis entgegengebracht hat.