

Aus dem klinischen Department für Nutztiere und Sicherheit von
Lebensmittelsystemen

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Zentrum für Systemtransformation und Nachhaltigkeit in der
Veterinärmedizin

(Leiterin: Univ.-Prof. Dr. Barbara Metzler-Zebeli)

**Bewertung von mikrobiellen Metaboliten und Wirtsmetaboliten als
Biomarker für die Darmgesundheit von Schweinen**

Diplomarbeit

vorgelegt von
Christina Kriegel

Wien, im Oktober 2024

Betreuerin:

Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Barbara Metzler-Zebeli

Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

Zentrum für Systemtransformation und Nachhaltigkeit in der Veterinärmedizin

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachterin

Priv.-Doz. Dr.rer.nat. Kathrin Kober-Rychli

Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen

Veterinärmedizinische Universität Wien

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Ziel der Studie, Hypothesen und Fragestellungen	2
3. Material und Methoden	3
3.1. Versuchstiere, Futtermittel und Management	3
3.2. Körpergewichtsmessungen und Durchfall-Scoring nach dem Absetzen	4
3.3. Serumanalyse	5
3.4. Messung der elektrophysiologischen Parameter des Darms (USSING-Kammer)	6
3.5. Statistische Auswertung	6
4. Ergebnisse	8
4.1. Leistung der Sauen beim Abferkeln	8
4.2. Körpergewicht der Ferkel vom 1. bis zum 33. Lebenstag	8
4.3. Gewichtszunahmen von abgesetzten Ferkeln mit verschiedenen Fütterungsgruppen	9
4.4. Durchfallmonitoring	10
4.5. Serumproben	13
4.6. Darm-Scores	15
4.7. Darmlängen	16
4.8. Elektrophysiologische Parameter des Darms – USSING-Kammer-Versuch	18
5. Diskussion	19
5.1. Saugferkelphase	19
5.2. Einfluss der Fütterungsadditiva auf die Darmgesundheit nach dem Absetzen	20
5.2.1. Lebenstag 28. bis 32.	20
5.2.2. Lebenstag 33. bis 42.	20
5.3. Ausblick und Zusammenfassung	23
6. Zusammenfassung	24
7. Summary	26
8. Danksagung	27

9. Literaturverzeichnis	28
10. Tabellenverzeichnis	31

1. Einleitung und Fragestellung

Für Ferkel ist die mikrobielle Besiedelung des Darms von großer Bedeutung für die Gesundheit, die Leistung, sowie auch für deren Entwicklung (1). Zum Zeitpunkt des Absetzens ist das Darmmikrobiom der Ferkel noch nicht vollständig ausgereift und aufgrund der Veränderungen und des Stresses, den die Ferkel in dieser kritischen Phase ihres Lebens ausgesetzt sind, oft instabil. Eine der wichtigsten Veränderungen in dieser Zeit betreffen das Fressverhalten der Ferkel, welches von einer milchbasierten zu einer pflanzlichen Ernährung übergeht. Aufgrund dessen verändert sich auch das bakterielle Ökosystem im Darm von einem milchbetonten Mikrobiom zu einer pflanzenbetonten Gemeinschaft, was die Darmhomöostase destabilisieren und zu verschiedenen dysbiotischen Zuständen führen kann (2). Um die Umstellung von Milch zu fester Nahrung zu erleichtern, wird oft, während der Säugeperiode bereits zusätzlich zu der Muttermilch der Sau, Futter auf Pflanzenbasis, den Ferkeln angeboten, um den Darm schon vorzeitig an die feste Nahrung zu gewöhnen (3, 2). Neben dem Aspekt der Futterumstellung und der damit verbundenen Umstellung des Mikrobioms, kommt es in der Zeit des Absetzens noch zu weiteren negativen Faktoren wie die Trennung von der Sau, einer neuen Bucht und dem erstmaligen Kontakt zu wurffremden Ferkeln (3). Daher ist es nicht verwunderlich, dass es genau in dieser sensiblen Zeit oft zu Darmproblemen kommt. Die beste Strategie zur Unterstützung der Ferkel beim Absetzen ist die Stimulierung ihrer Futteraufnahme. Viele präventive Strategien zur Unterstützung der Darmgesundheit bei abgesetzten Schweinen bestehen aus Futterzusätzen und einer sorgfältigen Auswahl der wichtigsten Protein- und Faserkomponenten und deren Mengen (1, 2). Die Anpassung des Mikrobioms an verschiedene Futtermittel ist insofern essenziell für den Wirt, da der eigene Organismus nicht in der Lage ist jegliche Bestandteile der Nahrung zu verstoffwechseln. Mikroben jedoch können die für den Körper unzugänglichen Nährstoffe verwerten und dem Wirt als Metabolite zur Verfügung stellen (4). Benzoesäure wird bereits in der Schweinefütterung als Futterzusatz genutzt, da sie viele positive Effekte auf die Darmgesundheit hat, wie die Senkung des pH-Wertes, das Verhältnis von Zottenhöhe zu Krypten tiefe, verbesserte Nährstoffverdauung und Nährstoffaufnahme, sowie auf die mikrobielle Besiedelung (5). Außerdem sind organische Säuren nicht nur in der Lage die Nährstoffverdauung zu fördern, sondern auch opportunistische Pathogene wie Stämme von *Escherichia coli* in der Nahrung und im Verdauungstrakt zu hemmen (6). Neben Säuren, wird auch Faser als Futterzusätze in der Schweineindustrie eingesetzt. Fasern sind ein nützlicher Nährstoff zur Vorbeugung von Darmerkrankungen wie zum Beispiel Verstopfung und tragen außerdem zur Verbesserung der Darmgesundheit bei (7). Zum Beispiel werden unterschiedliche Zellulosen, z.B. Lingozellulose, mikrokristalline Zellulose oder Carboxymethylcellulose, als Futterzusatzstoff eingesetzt, welche die Viskosität des Darminhaltes und die Darmmotilität beeinflussen. Die Carboxymethylcellulose kann zu einer vermehrten Reifung und Bildung von Becherzellen und somit zu einer vermehrten Schleimproduktion führen (8).

Die Möglichkeit der Beeinflussung des Darmmikrobioms durch verschiedene Futterzusätze, macht man sich in der vorliegenden Studie für diese Diplomarbeit zunutze und konzentriert

sich auf den Nachweis ernährungsbedingter invasiver und nicht invasiver Biomarker im Blut, Kot und in der Darmschleimhaut, um diese in Verbindung mit bestimmten Magen-Darm-Zuständen in Verbindung zu bringen. Dadurch wäre es möglich schon frühzeitig ein homöostatisches Ungleichgewicht im Verdauungstrakt zu erkennen und dementsprechend darauf reagieren zu können, noch bevor es zu Durchfall kommt. Im vorliegenden Projekt wurde die Ernährung als Instrument zur Veränderung der Zusammensetzung des gastrointestinalen Mikrobioms sowohl von Sauen als auch von Ferkeln verwendet, indem eine bestimmte Art von Fasern und eine organische Säure der Ernährung zugesetzt wurden. Faser und organische Säuren sind Nahrungsergänzungsmittel, die routinemäßig in der Schweinefütterung eingesetzt werden. Carboxymethylcellulose und Benzoesäure wurden in diesem Versuch verwendet, um unterschiedliche intestinale Interaktionen zwischen der Darmmikrobiota und dem Wirtstier herzustellen.

2. Ziel der Studie, Hypothesen und Fragestellungen

Die vorliegende Diplomarbeit beschäftigte sich mit der Identifikation von Metaboliten als Biomarker für die Darmgesundheit von Ferkeln. Es wurde angezielt, mit Futterzusätzen unterschiedliche Darm-homöostatische Bedingungen im Darm zu erzeugen. In diesem Zuge wurde untersucht, welche Auswirkungen die Supplementierung des Futters mit Benzoesäure und Carboxymethylcellulose auf das Wachstum, die Durchfall-Inzidenz, die Darmintegrität und biochemische Serumparmeter hat.

Durch die Ergebnisse dieses Versuchs, sollen folgende Hypothesen getestet werden: Erstens wird angenommen, dass der Gesundheitszustand des Verdauungstraktes Auswirkungen auf verschiedene Serumparmeter hat und diese potenzielle Marker darstellen. Zweitens wird in Bezug auf die Darmwand angenommen, dass die Abweichungen von der physiologischen Farbe der Darmschleimhaut mit pathologischen Vorgängen im Verdauungstrakt assoziiert werden können. Drittens: Die elektrophysiologischen Parameter der Darmwand verändern sich bei Entzündungen oder Infektionen mit Pathogenen, wie zum Beispiel *E. coli*. Die Vierte zu überprüfende Hypothese stellt die Konsistenz des Kotes dar: Es wird angenommen, dass die Konsistenz des Kotes mit der Funktionsfähigkeit des Darmes in Zusammenhang steht. Viele verschiedene Indikatoren können zu einer Konsistenzänderung des Kotes führen, wie Entzündungen, Infektionen oder auch die Ernährung selbst.

3. Material und Methoden

3.1. Versuchstiere, Futtermittel und Management

Der gesamte Versuch gliederte sich in zwei Versuchsabschnitte. Der erste Teil bestand aus einer Vorversuchsphase, bestehend aus der unterschiedlichen Fütterung (Kontrollgruppe und Säuregruppe) der Sauen während der Trächtigkeit, sowie auch während der Laktation. Der Hauptversuch begann erst nach dem Absetzen der Ferkel, wobei die Ferkel zunächst für die ersten fünf Tage nach dem Absetzen in ihren zwei Fütterungsgruppen blieben und ab dem 33. Lebenstag in vier verschiedene Fütterungsgruppen (Kontrollgruppe, Säuregruppe, Fasergruppe und Faser- und Säuregruppe) aufgeteilt wurden.

Dieses Experiment wurde in zwei Durchgängen mit insgesamt 24 Muttersauen, davon zwölf im ersten Durchgang (09.09.2022 – 7.10.2022) sowie zwölf im zweiten (23.12.2022 – 20.01.2023), durchgeführt. Der Versuch startete vier Wochen vor dem errechneten Abferkeltermin. Alle ausgewählten Sauen, waren gesund, lahmheitsfrei und von der Rasse Edelschwein. Bevor der eigentliche Versuch begonnen wurde, wurden die zwölf Muttersauen vor jedem Durchgang entsprechend ihrer Paritätszahl in zwei Gruppen geteilt, sodass beide Gruppen im Durchschnitt dieselbe Paritätszahl und dieselbe Anzahl von Tieren aufwies. Die erste Gruppe von sechs Sauen bildete die Kontrollgruppe, welche die Kontrollration ohne Benzoesäure erhielt. Das Futter der zweiten Sauengruppe bestand aus der gleichen Zusammensetzung, wie das Kontrollfutter, welches aber mit 5 mg/kg Benzoesäure versetzt wurde. Die Fütterung der Sauen erfolgte zweimal täglich. Es wurde darauf geachtet, ob die Sauen ausreichend fressen. Außerdem wurden die Futterreste der vorangegangenen Mahlzeit gemessen und entfernt bevor das neue Futter gegeben wurde.

Fünf Tage vor der Geburt wurden die tragenden Sauen in die Abferkelbucht gebracht. Während der Geburt wurde bei Bedarf Geburtshilfe geleistet und nach der Geburt wurde der gesundheitliche Zustand der Sauen überprüft. Dies geschah, indem die Nachgeburt überprüft wurde und die Temperatur gemessen wurde. Außerdem wurde auch an den drei weiteren Tagen nach der Geburt die innere Körpertemperatur kontrolliert, damit eine Infektion der Sauen erkannt wird. Am Tag der Geburt wurden alle Ferkel gezählt, gewogen, das Geschlecht kontrolliert, sowie die Sauglust der Ferkel beurteilt. Außerdem wurde auch der Nabelstrang gekürzt und desinfiziert. Am dritten Lebenstag (Durchgang eins) beziehungsweise am fünften Lebenstag (Durchgang zwei) haben die Ferkel eine Eisenspritze (Ferriphor, Dr. E. Graeub AG) erhalten. Außerdem wurden die Ferkel am elften bis zwölften Lebenstag kastriert. Am 18. Lebenstag (Durchgang eins) beziehungsweise 19. Lebenstag (Durchgang zwei) wurden die Ferkel geimpft gegen das *Procine Circovirus* Typ zwei und *Mycoplasma hyopneumoniae* (Ingelvac MycoFlex und Ingelvac CircoFlex, Boehringer Ingelheim GmbH).

Die Ferkel bekamen ab ihrem dritten Lebenstag bis zu ihrem 21. Lebenstag auf Molkepulverbasierten Milchaustauscher als Beifutter angeboten. Ab dem 21. Lebenstag wurde das Beifutter in Kombination mit dem Prestarter gefüttert, um die Ferkel langsam an das neue Futter zu gewöhnen. Ab dem 24. Lebenstag wurde der Prestarter zu 100% gefüttert. Außerdem wurde den Ferkeln, welche von den Sauen aus der Säure-Gruppe geboren wurden, 5 mg/kg

Benzoessäure dem Beifutter beigemischt. Die Ferkel wurden das erste Mal am ersten Lebenstag gewogen (=Geburtsgewicht), sowie auch an den zwei darauffolgenden Tagen. Danach wurden die Ferkel zum Absetzen einmal in der Woche gewogen, und zwar an den Lebenstagen 14, 21 und 28. Die Ferkel wurden am 28. Lebenstag abgesetzt.

Die Ferkel wurden am Tag des Absetzens in einem Raum des Aufzuchtstalls gebracht und sind bis zum Ende des Versuchs dort untergebracht gewesen. Der Raum im Aufzuchtstall war in acht Buchten unterteilt, jeweils vier Buchten pro Seite, die in der Mitte durch einen Gang getrennt waren. Jede Bucht war 3,3m x 4,6m groß, war in der Mitte plan-befestigt und hatte einen umlaufenden Spaltboden, eine klappbare ad-libitum-Tränke am Rand der Bucht und eine runde Fütterungsstelle in der Mitte. Außerdem gab es in jeder Bucht ein Ferkelnest mit einer beheizten Wand und Stroheinstreu. In jedem der beiden Durchgänge wurden 96 Ferkel, insgesamt 192 Ferkel verwendet. In jede Bucht wurden 12 Ferkel eingestallt. Auf jeder Seite des Raumes waren die Buchten gleichmäßig auf die Fütterungsgruppen verteilt. Vier Buchten beherbergten Ferkel aus den Kontroll-Würfen. In den anderen vier Buchten wurden Ferkel der Säure-Würfe eingestallt. Dabei wurden immer Geschwisterpaare eingestallt und auf eine gleichmäßige Verteilung der jeweiligen Kontroll- bzw. Säure-Würfe auf die Buchten geachtet. Vom 28. bis 32. Lebenstag erhielten die Ferkel das Futter entsprechend ihrer Saugferkel-Fütterungsgruppe. Am 33. Lebenstag zum Start des Hauptexperiments wurden die Ferkel in vier verschiedene Fütterungsgruppen eingeteilt. Es wurden jeweils zwei Buchten einer Fütterungsgruppe zugeteilt. Jede der vier Fütterungsgruppen bestand aus 24 Ferkel pro Durchgang und 48 Ferkel über beide Durchgänge. Die Fütterungsgruppen waren folgende: 1) Kontrolle, 2) Säure, 3) Faser und 4) Säure und Faser. Das Versuchsende war am 42. Lebenstag.

3.2 Körpergewichtsmessungen und Durchfall-Scoring nach dem Absetzen

Ab dem Zeitpunkt des Absetzens erfolgt ein kontinuierliches Durchfallmonitoring bei den Ferkeln, wobei hier mithilfe eines Bewertungsschemas von 0 bis 5, die Sauberkeit des Anus und auch die Konsistenz des Kotes beurteilt wird (Tabelle 1). Score 0 stellt dabei einen stark verschmutzten Anus beziehungsweise wässrigen Kot dar und Score 5 stellt einen sauberen Anus beziehungsweise bereits eine Verstopfung dar.

Tabelle 1: Kot-Score

Kot-Score	Kotkonsistenz	Verschmutzung Anus
0	Wässrig	Stark verschmutzt
1	Weich, nicht geformt	Mäßig verschmutzt
2	Weich, gut geformt	Leicht verschmutzt
3	Fest, sichtbare Risse	Sauber
4	Fest, bröselig	Sauber
5	Verstopfung	Sauber

Nach dem Absetzen werden die Ferkel an den Lebenstagen 33, 38, 39, 40, 41 und 42 erneut gewogen. An den letzten Tagen des Experiments, dem 39. bis 42. Lebenstag der Ferkel werden 24 Ferkel pro Versuchsdurchgang (sechs Ferkel pro Fütterungsgruppe) euthanasiert für die invasive Beprobung ausgewählt. Es wurden Geschwisterpaare mit einem durchschnittlichen Gewicht pro Bucht und Fütterungsgruppe ausgewählt. Jeden Tag wurden sechs Ferkel, drei männliche und drei weibliche zur Schlachtung ausgewählt. Zuerst wurden die Ferkel bereits in der Bucht mit einer Mischspritze aus Ketamin HCL (Narketan; Vétoquinol AG, Ittigen, Österreich) 10 mg/kg Körpergewicht und Azaperon (Stresnil; Biokema SA, Crissier, Schweiz) 2 ml/kg Körpergewicht, welche intramuskulär verabreicht wurde, sediert. Im Operationsraum wurden Blutproben (20-24ml) aus dem Herzen des sedierten Ferkel entnommen und in entsprechende Probenröhrchen (Serumröhrchen) gefüllt und auf Eis gelegt, bis sie zentrifugiert ($3000 \times g$ für 20 min bei 4°C; Eppendorf Zentrifuge 5810 R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) wurden. Nach der Blutentnahme wurde das Ferkel mittels Herzinjektion von Embutramid (T61; MSD Animal Health, Wien, Österreich) 10 ml/kg Körpergewicht euthanasiert und anschließend durch die Eröffnung der Jugulargefäße ausgeblutet. Nach der Euthanasie wurde die Bauchhöhle eröffnet und der gesamte Gastrointestinaltrakt entnommen und vermessen. Die Länge der Darmabschnitte wurden auf das Körpergewicht normalisiert und als cm/kg Körpergewicht dargestellt.

Der Dünn- und Dickdarm wurde in zehn Segmente eingeteilt; Duodenum, Start Jejunum, Mitte Jejunum, Ende Jejunum, Ileum, Caecum, Start Colon, Mitte Colon, Ende Colon und Rektum. Von all diesen Darmabschnitten wird die Darmschleimhaut auf Entzündungsanzeichen überprüft, mit einem Beurteilungsschema von Score null (physiologische Schleimhaut) bis Score drei (stark gerötete Schleimhaut) bewertet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Darm-Score

Darm-Score	Darmschleimhaut
0	Physiologische Schleimhautmorphologie
1	Leichte Verdickung der Darmwand ohne Hyperämie
2	Mäßige Verdickung der Darmwand mit Hyperämie
3	Schwere Verdickung der Darmwand mit Hyperämie

In Durchgang zwei wurden bei den ersten zwei Ferkeln pro Tag und bei den letzten Ferkeln pro Tag vom mittleren Jejunum Proben für Darmelektrophysiologische Untersuchungen mittels der USSING-Kammer entnommen. Dazu wurden 10cm vom mittleren Jejunum entnommen und in einen begasten und eiskalten modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer gegeben und auf Eis ins Labor transportiert.

3.3 Serumanalyse

Der Serumgehalt an Kalzium, Kalium, Natrium, Chlorid, Phosphat, Glucose, Cholesterol, Triglyceride, Gesamtprotein, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und alkalische Phosphatase (ALP) wurde mit enzymatischen kolorimetrischen Assays

unter Verwendung eines Autoanalyzers für klinische Chemie (Cobas 6000/c501; Roche Diagnostics GmbH, Rotkreuz, Schweiz) bestimmt.

3.4 Messung der elektrophysiologischen Parameter des Darms (Ussing-Kammer)

Im Durchgang zwei wurden Unterschiede in den elektrophysiologischen Merkmalen in Anlehnung an etablierte Protokolle mit leichten Modifikationen untersucht (Vötterl et al. 2020). Für jedes Ferkel wurden drei Wiederholungen vorbereitet. Die Serosa wurde entfernt, bevor die Jejunalgewebestücke in die Ussing-Kammern (exponierte Fläche $0,9 \text{ cm}^2$) eingesetzt wurden. Jede Ussing-Kammer war mit einem paar Zweikanal-Strom- und Spannungselektroden (Ag-AgCl) verbunden, die in 3%ige Agarbrücken, die mit 3-M Kaliumchlorid gefüllt waren, getaucht wurden. Nach einer zehnmütigen Equilibrierung unter Leerlaufbedingungen wurde das Gewebe kurzgeschlossen, indem die Spannung auf null (0 Minuten) geklemmt wurde. Elektrophysiologische Messwerte des Darms, einschließlich des Kurzschlussstroms (ISC, $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) und des transepithelialen Gewebewiderstands ($\Omega \times \text{cm}^2$) als Indikatoren für den Netto-Ionenfluss, wurden 30 Minuten lang automatisch mit einem mikroprozessorgesteuerten Voltage-Clamp-Gerät und Software (Version 9.10; Mussler, Microclamp, Aachen, Deutschland) aufgezeichnet. Die transepitheliale Gewebeleitfähigkeit (G_T , mS/cm^2) wurde als Kehrwert des transepithelialen Widerstands berechnet. Die Zeitspanne von 5 bis 30 Minuten nach dem Kurzschluss des Gewebes wurde für die Bewertung der diätetischen Wirkungen verwendet.

3.5 Statistische Auswertung

Zunächst wurden die Residuen aller untersuchten Parameter mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests und der UNIVARIATE-Prozedur in SAS (Version 9.4; SAS Stat Inc., Cary, NC, USA) auf Normalverteilung analysiert. Anschließend wurden die Parameter einer ANOVA unter Verwendung der MIXED-Prozedur in SAS unterzogen, wobei mehrere wiederholte und zufällige Modelle verwendet wurden.

Zunächst wurden wiederholte Messungen über die Zeit (Lebenstage) verwendet, um die Auswirkungen des Alters auf das Körpergewicht und die Wachstumsleistung von der Geburt bis zum 33. Lebenstag sowie für die Kotwerte zwischen dem 28. und 33. Lebenstag. In diesem Modell waren die festen Effekte die Wiederholungspartie (Durchgang), der Lebenstag, das Geschlecht, das Futter und die Zwei- und Drei-Wege-Interaktionen. Die Versuchseinheit war das Ferkel im Wurf. Nachdem die Ferkel am 33. Lebenstag den vier Fütterungsgruppen zugeteilt worden waren, wurden auch wiederholte Messungen über die Zeit (Lebenstage) verwendet, um die Auswirkungen der Diät auf die Kotwerte zwischen dem 33. und 42. Lebenstag zu untersuchen. Auch hier waren die festen Effekte die Wiederholungsscharge, der Lebenstag, das Geschlecht, das Futter und die Zwei- und Drei-Wege-Interaktionen. Zufallsmodelle wurden für die Parameter Wachstumsleistung, Darmlänge, Darmwerte und Serumparameter verwendet. Die festen Effekte waren die Wiederholungsscharge, das Geschlecht, das Futter und die Zwei- und Drei-Wege-Interaktionen. Da die Probeentnahmen im Laufe von vier Tagen durchgeführt wurden, das tatsächliche Alter und das Körpergewicht

der Ferkel bei der Geburt als Kovariaten berücksichtigt. Der Zufallseffekt war die Wiederholungscharge und die Versuchseinheit Ferkel innerhalb des Wurfs.

Für die Darmelektrophysiologie wurde ein separates Zufallsmodell verwendet, da dieser Ex-vivo-Versuch nur im zweiten Durchgang durchgeführt wurde. Hier waren die festen Effekte die Wiederholungscharge, das Geschlecht, das Futter und die Zwei- und Drei-Wege-Interaktionen. Das Alter der Ferkel wurde als Kovariate berücksichtigt. Der Zufallseffekt war „Ussing-Kammer-Replikat“ und die Versuchseinheit Ferkel innerhalb des Wurfs. Die Freiheitsgrade wurden mit der Kenward-Roger-Methode ($dffm = kr$) approximiert, und die paarweisen Vergleiche zwischen den Mittelwerten der kleinsten Quadrate wurden mit der Differenzwahrscheinlichkeitsoption in SAS berechnet. Zusätzlich wurden orthogonale Kontraste „Säure“ und „Faser“ für Parameter nach dem 33. Lebenstag berechnet. Die Daten wurden als Mittelwerte der kleinsten Quadrate \pm Standardfehler des Mittelwerts ausgedrückt, und die Unterschiede wurden als signifikant angesehen, wenn $P \leq 0,05$ und als Trend, wenn $0,05 < P \leq 0,10$.

4 Ergebnisse

4.1 Leistung der Sauen beim Abferkeln

Die Ergebnisse zur Wurfgröße und -gewicht der Sauengruppen nach der Geburt sind in Tabelle 3 ersichtlich. Es gab keine Unterschiede zwischen den Würfen der Sauen der Kontrollgruppe und den Sauen der Säuregruppe.

Tabelle 3: Leistungsparameter der aus der Kontroll- und der Säuregruppe (5 mg/kg Benzoessäure)

				p-Wert
	Kontrolle	Säure	SEM*	Fütterungs- gruppe
Wurfgröße	15,7	15,1	1,04	0,694
Lebendgeborene Ferkel	15,1	13,9	1,08	0,453
Totgeborene Ferkel	0,5	0,8	0,27	0,394
Mumifizierte Ferkel	0,1	0,3	0,16	0,285
Kleine Ferkel	1,1	0,5	0,34	0,244
Normalgroße Ferkel	11,5	11,9	1,10	0,792
Große Ferkel	2,5	1,5	0,54	0,202
Durchschnittliches Ferkelgewicht (kg)	1,5	1,6	0,06	0,785
Durchschnittliches Wurfgewicht (kg)	22,6	21,2	1,33	0,453

*SEM Standardabweichung

4.2 Körpergewicht der Ferkel vom 1. bis zum 33. Lebenstag

Die Ferkel wurden ab dem ersten Lebenstag regelmäßig gewogen (Tabelle 4). Es zeigte sich, dass das Alter einen signifikanten Unterschied bezogen auf das Gewicht der Ferkel hatte (Tabelle 4). Das Ferkelgewicht nimmt mit zunehmendem Alter kontinuierlich zu. Keinen Einfluss auf die Gewichtszunahme der Ferkel hatten das Geschlecht der Ferkel und die Fütterungsgruppe.

Tabelle 4: Vergleich der Gewichtszunahmen zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe (Zusatz von 5 mg/kg Benzoesäure) der Ferkel vom 1. bis zum 33. Lebenstag

Lebenstag		Körpergewicht (kg) Kontrollgruppe	Körpergewicht (kg) Versuchsgruppe	SEM*
1		1,62	1,71	0,09
3		1,68	1,68	
7		2,48	2,43	
14		4,09	4,04	
21		5,88	5,81	
28		7,69	7,53	
33		7,87	7,80	
p-Wert				
Alter	Geschlecht	Fütterungsgruppe	Alter x Fütterungsgruppe	Alter x Geschlecht x Fütterungsgruppe
<0,001	0,258	0,501	0,898	0,621

*SEM Standardabweichung

4.3 Gewichtszunahmen von abgesetzten Ferkeln in den verschiedenen Fütterungsgruppen

Ein signifikanter Unterschied zeigte sich in der durchschnittlichen Gewichtszunahme der Ferkel von Tag 33 bis Tag 39 (Tabelle 5). Die Kontrollgruppe nahm durchschnittlich am meisten zu, gefolgt von der Säure-Fütterungsgruppe, dann die Gruppe die Säure und Faser im Futter erhielt und die schlechteste Gewichtszunahme zeigte die Faser-Gruppe. Anhand der orthogonalen Kontraste lässt sich erkennen, dass die Faserergänzung in der Ration einen deutlichen Effekt auf die durchschnittliche Gewichtszunahme von Tag 33 bis 39 hatte (Tabelle 3). Die Ferkel dieser Gruppe nahmen signifikant weniger zu als die Ferkel, die keine faserreiche Fütterung erhielten.

Vor der Euthanasie wurden die Ferkel noch ein letztes Mal gewogen und es ergaben sich dabei keine bedeutenden Unterschiede zwischen den Endgewichten der Ferkel der unterschiedlichen Fütterungsgruppen (Tabelle 6).

Tabelle 5: Vergleich der Gewichtszunahme der Ferkel zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen am Tag 39, sowie die durchschnittlichen Gewichtszunahmen von Tag 33 bis Tag 39

	Fütterungsgruppe				SEM*
	Kontrolle	Faser	Säure	Säure und Faser	
Körpergewicht 39. Lebenstag (kg)	9,85	9,49	9,55	9,37	0,21
Durchschnittliche Gewichtszunahme Tag 33 bis 39 (kg)	0,287	0,220	0,264	0,250	0,01
	p-Wert			Orthogonale Kontraste	
	Fütterungsgruppe	Geschlecht	Geschlecht x Fütterungsgruppe	Faser	Säure
Körpergewicht 39. Lebenstag (kg)	0,389	0,132	0,966	0,196	0,303
Durchschnittliche Gewichtszunahme Tag 33 bis 39 (kg)	0,009	0,209	0,925	0,004	0,786

*SEM Standardabweichung

Tabelle 6: Gewicht der ausgewählten Ferkel am Tag der Euthanasie

	Fütterungsgruppe				SEM*	
	Kontrolle	Faser	Säure	Säure+ Faser		
Körpergewicht (kg)	9,7	9,1	10,4	10,3	0,59	
	p-Wert				Orthogonale Kontraste	
	Alter	Fütterung	Geschlecht	Fütterung x Geschlecht	Faser	Säure
Körpergewicht (kg)	0,986	0,421	0,720	0,864	0,635	0,151

*SEM Standardabweichung

4.4 Durchfallmonitoring

Das Durchfallmonitoring wurde vom 28. Lebenstag, nach dem Absetzen der Ferkel durchgeführt. Vom 28. Lebenstag bis zum 33. Lebenstag gab es in der Kotkonsistenz signifikante Unterschiede in Bezug auf das Alter der Ferkel (Tabelle 7). So zeigten die Ferkel am 32. Lebenstag eine weichere Kotkonsistenz als die Tage zuvor, sowohl in der Säuregruppe als auch in der Kontrollgruppe. Es ist anzumerken, dass in der Kontrollgruppe lediglich bei den männlichen Tieren eine weichere Konsistenz des Kotes festzustellen war. Bei den weiblichen

Tieren der Kontrollgruppe blieb die Kotkonsistenz im Vergleich zu den vorhergehenden Tagen unverändert. Weiters zeigte sich, dass das Geschlecht sowie auch die Fütterungsgruppe der Ferkel keinen relevanten Einfluss auf die Konsistenz des Kotes hatte.

Tabelle 7: Kot-Scores der Ferkel vom 28. bis zum 32. Lebenstag

	Fütterungsgruppe	Geschlecht	Kot-Score
28. Lebenstag	Kontrolle	W	3,50
	Kontrolle	M	3,50
	Säure	W	3,50
	Säure	M	3,50
29. Lebenstag	Kontrolle	W	3,50
	Kontrolle	M	3,50
	Säure	W	3,50
	Säure	M	3,50
30. Lebenstag	Kontrolle	W	3,50
	Kontrolle	M	3,50
	Säure	W	3,50
	Säure	M	3,50
31. Lebenstag	Kontrolle	W	3,50
	Kontrolle	M	3,50
	Säure	W	3,50
	Säure	M	3,50
32. Lebenstag	Kontrolle	W	3,50
	Kontrolle	M	3,46
	Säure	W	3,46
	Säure	M	3,42
P- Werte			
	Kot-Score		
SEM*	0,02		
Lebenstag	0,003		
Geschlecht	0,330		
Fütterungsgruppe	0,320		
Fütterungsgruppe x Lebenstag	0,412		
Fütterungsgruppe x Lebenstag x Geschlecht	0,924		

*SEM Standardabweichung

In Tabelle 8 werden die Kot-Scores vom 33. bis 42. Lebenstag veranschaulicht. Die in Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse, zeigen, dass der Lebenstag, das Geschlecht ($P < 0.05$) sowie die Fütterungsgruppe x Geschlecht x Lebenstag als Trend Auswirkungen auf die Konsistenz des

Kotes der Absatzferkel hatten. Kurz nach dem Absetzen an den Lebenstagen 33 bis 36 ist der Kot der Ferkel tendenziell weicher als in den Tagen danach. Weiters zeigte sich, dass eher männliche Tiere zu weicherem Kot neigen als weibliche. Wenn man Fütterung, Geschlecht und das Alter gemeinsam berücksichtigt zeigt sich, dass männliche Tiere kurz nach dem Absetzen im Vergleich zu den späteren Tagen den weichsten Kot aufweisen. Generell zeigt sich das ab Lebenstag 40 wieder alle Fütterungsgruppen sowie Geschlechter einen annähernd gleichen Kot-Score zwischen 3,42 (männliche Tiere der Kontroll-, Säure- und Säure + Faser -Gruppe) und 3,50 (alle anderen Gruppen) aufweisen. Am 42. Lebenstag zeigten sogar alle Gruppen den gleichen Kot-Score von 3,50.

Bei Betrachtung der orthogonalen Kontraste fällt auf, dass sich ein Trend ($P=0,075$) bei der Ergänzung von Fasern in der Ration abzeichnet (Tabelle 8). Die Beobachtung deutet daraufhin, dass der Kot der Ferkel, die Fasern in ihrer Ration erhielten, fester war im Vergleich zu dem Kot der Ferkel ohne Faserzusatz.

Tabelle 8: Kot-Scores der Ferkel vom 33. bis zum 42. Lebenstag nach Fütterungsgruppe

Lebenstag	33							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	2,92	2,83	3,08	2,83	2,89	3,34	3,08	3,00
Lebenstag	34							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	2,71	2,75	3,00	3,08	2,98	2,74	3,17	2,73
Lebenstag	35							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,17	3,08	3,33	3,33	2,87	3,30	3,50	2,98
Lebenstag	36							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,42	3,25	3,50	3,42	3,33	3,02	3,50	3,25
Lebenstag	37							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,50	3,50	3,50	3,50	3,41	3,50	3,50	3,25

Lebenstag	38							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure+ Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,50	3,42	3,50	3,42	3,50	3,50	3,50	3,25
Lebenstag	39							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,50	3,42	3,50	3,50	3,50	3,42	3,50	3,42
Lebenstag	40							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,42
Lebenstag	41							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	W	M
Kot-Score	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,42
Lebenstag	42							
Fütterungsgruppe	Kontrolle	Kontrolle	Faser	Faser	Säure	Säure	Säure + Faser	Säure + Faser
Geschlecht	W	M	W	M	W	M	F	M
Kot-Score	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
	SEM*	P-Wert					Orthogonale Kontraste	
		Lebens-tag	Geschlecht	Fütterung	Fütterungsgruppe x Lebenstag	Fütterungsgruppe x Geschlecht x Lebenstag	Faser	Säure
Kot-Score	0,11	<0,001	0,009	0,122	0,446	0,068	0,075	0,463

*SEM Standardabweichung

4.5 Serumproben

Die Serumanalyse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen (Tabelle 9). Weiters hatten auch das Geschlecht und Alter keinen bedeutenden Einfluss auf die Ergebnisse. Bei Betrachtung der Kontrastanalyse zeigte sich ein Trend ($P=0,086$) bei der Faser-Fütterung in Bezug auf die Phosphorwerte (Tabelle 8). Die Phosphorwerte waren tendenziell höher, wenn Fasern in der Ration ergänzt wurden, im Vergleich zu den Fütterungsgruppen ohne Faserzusatz.

Tabelle 9: Ergebnisse der Serumanalysen der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen

	Fütterungsgruppe					SEM*
	Kontrolle		Faser	Säure	Säure + Faser	
Glucose	141,4		141,3	131,5	135,4	6,47
Totalprotein	4,33		4,22	3,98	4,27	0,15
Triglyceride	42,8		42,2	41,4	41,0	2,89
Cholesterol	51,0		51,7	49,4	57,1	3,79
ALP	326,5		360,8	298,4	351,6	29,96
AST	42,6		55,9	57,0	61,1	10,05
ALT	46,7		47,2	48,6	53,8	4,74
Ca	2,59		2,50	2,49	2,56	0,08
P	2,63		2,68	2,65	2,93	0,09
Na	143,0		141,2	140,4	145,5	4,76
K	5,66		5,61	5,17	5,39	0,22
Cl	110,9		107,9	107,7	112,2	3,89
	p-Werte				Orthogonale Kontraste	
	Alter	Fütterungs- gruppe	Geschlecht	Fütterungs- gruppe+ Geschlecht	Faser	Säure
Glucose	0,715	0,652	0,251	0,462	0,773	0,230
Totalprotein	0,868	0,425	0,253	0,363	0,547	0,336
Triglyceride	0,172	0,970	0,496	0,247	0,853	0,655
Cholesterol	0,694	0,520	0,589	0,231	0,275	0,618
ALP	0,937	0,469	0,140	0,201	0,151	0,535
AST	0,917	0,587	0,237	0,173	0,390	0,334
ALT	0,567	0,693	0,676	0,447	0,549	0,367
Ca	0,560	0,784	0,253	0,311	0,932	0,831
P	0,104	0,102	0,280	0,270	0,086	0,162
Na	0,456	0,886	0,149	0,488	0,726	0,862
K	0,690	0,365	0,686	0,775	0,694	0,103
Cl	0,450	0,819	0,143	0,528	0,856	0,888

*SEM Standardabweichung

4.6 Darm-Scores

Beim Vergleich der Darm-Scores zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen gab es Unterschiede bei den Darm-Score von Magen ($P < 0,05$) und mittleren Colon ($P < 0,10$) (Tabelle 10). Mithilfe der Methode der kleinsten Quadrate zeigten sich bei Betrachtung der Darm-Scores des Magens signifikante Unterschiede zwischen Säuregruppe und der Kontrollgruppe, sowie zwischen der Säuregruppe und der Fasergruppe. Bei beiden Vergleichen der Fütterungsgruppen hatte die Säuregruppe signifikant bessere Ergebnisse als die jeweilige Vergleichsgruppe. Bei Betrachtung der Unterschiede zwischen der Säuregruppe und der Faser- und Säuregruppe zeigte sich bezogen auf den Darm-Score des Magens ein Trend, dass die Säuregruppe niedrigere Werte bei den Darm-Scores erzielte. Die Darm-Score Ergebnisse vom mittleren Colon zeigten, bei Betrachtung der Unterschiede der kleinsten Quadrate, dass es nur signifikante Unterschiede zwischen der Fasergruppe und der Faser- und Säuregruppe gab. Weiters zeigte sich aber ein Trend zwischen der Säuregruppe und der Fasergruppe in den Darm-Scores von Mitte Colon. Eine weitere bedeutende Differenz zeigte sich zwischen Männchen und Weibchen bei den Darm-Scores für des mittleren Jejunums. Hier zeigte sich, dass weibliche Tiere einen durchschnittlich höheren Darm-Score aufwiesen als männliche Ferkel. Wenn man die Interaktion von Geschlecht x Fütterungsgruppe bei den Ferkeln betrachtet, zeigten sich Veränderungen der Darm-Scores im Magen ($P < 0,05$) und im Anfangsbereich des Jejunums ($P < 0,05$) (Tabelle 10). Bei der Betrachtung der orthogonalen Kontraste verbesserte die Faser tendenziell ($P = 0,073$) die Darm-Score-Werte des Duodenums. Die orthogonalen Kontraste zeigten weiterhin, dass die Säure den Darm-Score des Magens ($P = 0,003$), als auch im Bereich Mitte Colon ($P = 0,014$) und tendenziell des Zäkums verkleinerte.

Tabelle 10: Ergebnisse für die Darm-Scores in den vier Fütterungsgruppen

	Fütterungsgruppe				SEM*
Score	Kontrolle	Faser	Säure	Säure + Faser	
Magen	0,89a	0,74a	0,14b	0,55ab	0,15
Duodenum	1,59	1,25	1,58	1,17	0,20
Start Jejunum	0,69	0,72	0,58	0,61	0,19
Mitte Jejunum	0,42	0,72	0,37	0,42	0,21
Ende Jejunum	0,35	0,69	0,36	0,19	0,16
Ileum	0,55	0,64	0,32	0,63	0,15
Zäkum	1,05	1,52	0,76	0,96	0,25
Start Colon	1,12	1,03	0,44	0,71	0,22
Mitte Colon	0,59ab	0,78a	0,26ab	0,17b	0,18
Ende Colon	1,08	1,09	0,78	0,67	0,23
	p-Wert			Orthogonale Kontraste	
	Fütterungs- gruppe	Geschlecht	Fütterungsgruppe x Geschlecht	Faser	Säure
Magen	0,006	0,817	0,002	0,355	0,003
Duodenum	0,334	0,310	0,119	0,073	0,832
Start Jejunum	0,954	0,106	0,025	0,896	0,578
Mitte Jejunum	0,628	0,086	0,541	0,402	0,402
Ende Jejunum	0,198	0,247	0,094	0,634	0,138
Ileum	0,414	0,726	0,065	0,181	0,431
Zäkum	0,183	0,434	0,188	0,175	0,093
Start Colon	0,124	0,434	0,302	0,685	0,026
Mitte Colon	0,079	0,766	0,238	0,771	0,014
Ende Colon	0,480	0,252	0,801	0,807	0,132

*SEM Standardabweichung

a und b zeigen, dass es zwischen diesen Gruppen (a und b) signifikante Unterschiede bei der Methode der kleinsten Quadrate gab ($P < 0.05$)

4.7 Darmlängen

Es konnten keine signifikanten Unterschiede bei den Darmlängen der Ferkel der unterschiedlichen Fütterungsgruppen beobachtet werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Darmlängen (cm/kg) der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen

	Fütterungsgruppe				SEM *	
Größe (cm/kg)	Kontrolle	Faser	Säure	Säure + Faser		
Magen	1,69	1,49	1,66	1,65	0,09	
Duodenum	1,09	1,11	1,15	1,08	0,05	
Jejunum	97,90	98,50	100,80	98,30	4,87	
Ileum	1,61	1,51	1,50	1,64	0,11	
Zäkum	1,30	1,25	1,27	1,31	0,07	
Colon	23,70	25,0	25,50	23,0	1,69	
	p-Wert				Orthogonale Kontraste	
	Alter	Fütterungs- gruppe	Geschlecht	Geschlecht x Fütterungs- gruppe	Faser	Säure
Magen	0,926	0,452	0,610	0,456	0,266	0,516
Duodenum	0,622	0,816	0,364	0,670	0,585	0,784
Jejunum	0,464	0,977	0,188	0,653	0,846	0,784
Ileum	0,136	0,769	0,821	0,440	0,870	0,975
Zäkum	0,726	0,923	0,919	0,732	0,977	0,831
Colon	0,615	0,715	0,490	0,420	0,728	0,935

*SEM Standardabweichung

4.8 Elektrophysiologische Parameter des Darms – USSING-Kammer-Versuch

Tabelle 12 veranschaulicht die Ergebnisse für die elektrophysiologischen Parameter des mittleren Jejunums zwischen 5 und 30 Minuten nach dem Kurzschließen des Darmstücks. Es zeigten sich signifikante Unterschiede beim Kurzschluss-Stromfluss (ISC) zwischen den Fütterungsgruppen. Mithilfe der Methode der kleinsten Quadrate konnten signifikante Unterschiede zwischen der Säuregruppe und der Fasergruppe beziehungsweise der Faser- + Säuregruppe festgestellt werden (Tabelle 12). Bei beiden Vergleichen hat die Säuregruppe niedrigere Werte für den ISC aufgewiesen. Die Kontrastanalyse zeigte, dass die Faser und die Säure einen gegensätzlichen Einfluss auf den ISC hatten (Tabelle 12). Bei Betrachtung der transepithelialen Leitfähigkeit (GT) gab es keine Unterschiede.

Tabelle 12: Ergebnisse für die elektrophysiologischen Parameter im mittleren Jejunum der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen

	Fütterungsgruppe				SEM*	
	Kontrolle	Faser	Säure	Säure+ Faser		
ISC	-45,50ab	-52,81a	-28,23b	-46,10a	6,15	
GT	20,12	23,55	19,13	17,37	2,52	
	p-Werte				Orthogonale Kontraste	
	Lebenstag	Fütterungs- gruppe	Geschlecht	Fütterungs- gruppe x Geschlecht	Faser	Säure
ISC	0,270	0,047	0,353	0,126	0,048	0,059
GT	0,756	0,376	0,714	0,890	0,743	0,164

*SEM Standardabweichung

a und b zeigen, dass es zwischen diesen Gruppen (a und b) signifikante Unterschiede bei der Methode der kleinsten Quadrate gab (P=0.05)

5. Diskussion

Dieser Versuch wurde unter der Annahme durchgeführt, dass verschiedene Darmgesundheitszustände durch Veränderungen im Serum, Kot und in der Darmwand widergespiegelt werden können. Mithilfe von unterschiedlichen Fütterungsgruppen wurde das Mikrobiom und dadurch auch die Darmgesundheit der Ferkel beeinflusst, um unterschiedliche Zustände im Verdauungstrakt zu generieren. Bei den Ergebnissen des Durchfallmonitorings zeigte sich kurz nach dem Absetzen eine Tendenz zu weicherem Kot, welcher vor allem bei männlichen Tieren ausgeprägt war. Bei der letzten Erhebung des Kot-Scores der Ferkel am 42. Lebenstag stabilisierte sich die Kotkonsistenz wieder und war bei allen Fütterungsgruppen wieder physiologisch. Die aufgestellte Hypothese, dass Biomarker im Serum zu finden sind und diese im Zusammenhang mit der Darmgesundheit stehen, konnte mit den für die vorliegende Diplomarbeit untersuchten Parametern nicht bestätigt werden. Es zeigten sich bei der Serumanalyse keine signifikanten Unterschiede. Die Überprüfung der Darmschleimhaut auf Anzeichen einer Inflammation, veranschaulichte, dass die Ferkel der Säuregruppe eine weniger gerötete Darmschleimhaut hatten als die anderen drei Vergleichsgruppen. Dies könnte in Zusammenhang mit einer besseren Darmgesundheit der Gruppe gebracht werden. Bei Betrachtung der elektrophysiologischen Parameter des Darms zeigte sich bezüglich des Kurzschluss-Stromflusses (ISC) ein gegensätzlicher Einfluss einer Säure- bzw. Faserergänzung in der Ration. Die Ergänzung von Fasern führte zu einer Erniedrigung des ISC und die Säureergänzung zu einer Erhöhung. Dies wiederum spricht wieder für einen besseren Gesundheitszustand der Ferkel der Säuregruppe, wohingegen die Ergänzung von Fasern in der Ration eher die Sekretion im Jejunum erhöhte.

5.1. Saugferkelphase

Es zeigte sich, dass die Fütterung der Sauen mit Säuren während der Trächtigkeit keinen Einfluss auf das Geburtsgewicht hatte. Dies ist für die weitere Interpretation der Gewichtszunahmen von Bedeutung, da ein geringeres Geburtsgewicht in der weiteren Entwicklung der Ferkel schlechtere Gewichtszunahmen mit sich ziehen kann (9, 10). Die Gewichtsbeobachtung der Ferkel vor dem Absetzen zeigte, dass allein das Alter bei der Gewichtszunahme der Ferkel eine Rolle spielte. Die Ferkel nehmen mit zunehmendem Alter stetig an Gewicht zu, was auch den Erwartungen entspricht (10). Sie entwickeln sich weiter und nehmen, entsprechend ihrer Milchaufnahme, kontinuierlich an Gewicht zu, vor allem in den ersten Lebenswochen. Die Gabe von Säure zum Beifutter bereits während der Säuge-Phase der Ferkel zeigte keine Unterschiede in Bezug auf die Gewichtsentwicklung der Ferkel. Es ist wahrscheinlich, dass es keinen sichtbaren Effekt bei den Saugferkeln in Bezug auf die Gewichtsentwicklung gab, da die Beifutteraufnahme sehr gering war. Bei Absetzferkeln und Mastschweinen hingegen konnte in Studien nachgewiesen werden, dass die Fütterung von Benzoesäure positive Auswirkungen auf die Wachstumsleistung hatte (11).

5.2. Einfluss der Fütterungsadditiva auf die Darmgesundheit nach dem Absetzen

5.2.1. Lebenstag 28. bis 33.

Die Gewichtszunahmen der Ferkel von Tag 28. bis Tag 33. zeigten keine Unterschiede zwischen der Säuregruppe und der Kontrollgruppe. Dies könnte damit zusammenhängen, dass die Futteraufnahme nach dem Absetzen zu gering war und sich deshalb keine Unterschiede zwischen den beiden Fütterungsgruppen widerspiegeln. Bei Betrachtung der Ergebnisse des Durchfallmonitorings zeigte sich, dass es vier Tage nach dem Absetzen (Lebenstag 32) zu weicherem Kot kam als in den Tagen zuvor. Es gab allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Fütterungsgruppen. Auffällig war, dass männliche Ferkel eher zu weicherem Kot neigten als weibliche. Diese Beobachtung könnte eventuell in Zusammenhang mit der Zusammensetzung des Mikrobioms gebracht werden. Denn es ist bestätigt, dass die mikrobielle Zusammensetzung des Verdauungstraktes geschlechtsspezifische Unterschiede aufweist (12). Weiters könnten auch die zahlreichen Stressoren, die in der Zeit des Absetzens der Ferkel auf diese wirken eine Rolle spielen. In der Zeit des Absetzens kommt es durch die Umgruppierungen der Ferkel vermehrt zu Rangordnungskämpfen, welche sich verstärkt negativ auf die männlichen Ferkel auswirken haben könnten.

5.2.2. Lebenstag 33. bis 42.

Die Gewichtszunahmen von Tag 33. bis 39. der Fasergruppe waren signifikant schlechter als bei den anderen drei Fütterungsgruppen (Säuregruppe, Säure- und Fasergruppe, Kontrollgruppe). Dies könnte damit zusammenhängen, dass sich Carboxymethylcellulose negativ auf die Nährstoffverdaulichkeit im Dünndarm auswirkt und für die Wachstumsleistung der Ferkel von Nachteil ist (13). Die verminderte Verdaulichkeit von Nährstoffen, hängt mit der Viskositätssteigerung des Darminhaltes durch die hoch-visköse Carboxymethylcellulose zusammen (13). Die Viskositätssteigerung des Darminhaltes bewirkt zwar eine längere Transitzeit durch den Verdauungstrakt, jedoch behindert sie auch bei der Aufnahme von Nährstoffen (14). In einer anderen Studie wurde ebenfalls eine negative Beeinflussung, bezüglich der Resorption im Dünndarm durch Fütterung von Fasern beschrieben (7). Die Fütterung von hochviskösen Fasern, wie Carboxymethylcellulose, kann außerdem die Proliferation von *Escherichia coli* begünstigen (15). Der genaue Mechanismus ist bisweilen noch nicht geklärt, allerdings wird vermutet, dass die erhöhte Proliferation von *E. coli* durch eine veränderte Zusammensetzung des Mukus oder Veränderungen von Rezeptoren an der Zelloberfläche zusammenhängen (15).

Entgegen den Erwartungen, dass die Absetzferkel, welcher der Säure-Gruppe angehörten, höhere Werte bei der Gewichtszunahme erzielen würde, hatten in diesem Versuch alle Fütterungsgruppen, außer die Fasergruppe, annähernd gleiche Gewichtszunahmen. Benzoesäure kann die Wachstumsleistung durch eine Erhöhung der Verdaulichkeit der Nährstoffe im Futter bewirken, wie bereits aus vorangegangenen Studien hervor geht (16). Die unterschiedlichen Ausprägungen des Einflusses von Benzoesäure auf das Wachstum von Schweinen könnte auch im Zusammenhang mit der Rasse, dem Alter, verschiedenen Umweltfaktoren oder durch die Zusammensetzung des Futters beeinflusst werden (17). Die

Wachstumsleistung in diesem Versuch entsprach der erwarteten Zunahmen in diesem Alter. Es zeigten sich nur geringe Unterschiede zwischen einzelnen Fütterungsgruppen. Dies steht wahrscheinlich im Zusammenhang damit, dass es zu keinen stark unterschiedlichen dysbiotischen Zuständen im Darm der Ferkel in den verschiedenen Fütterungsgruppen gekommen ist.

Die Beschaffenheit des Kotes variierte mit dem Alter der Ferkel. Nach dem Absetzen der Ferkel bis zwei Wochen nach dem Absetzen schwankte die Konsistenz des Kotes zwischen weichem Kot und physiologischer Kotkonsistenz. Dies könnte mit der Futterumstellung von Milch auf pflanzenbasierte Nahrung zusammenhängen. Weiters können die vielen Stressoren, die in der Zeit des Absetzens der Ferkel vorhanden sind, einen Einfluss auf das Verdauungssystem und in weiterer Folge auch auf die Kotkonsistenz haben. In dieser Zeit kann es leicht zu Dysbalancen im Verdauungstrakt kommen, die sich in Form von weicherem Kot zeigen kann, bis sich der Magen-Darm-Trakt an die neue Futterquelle gewöhnt (2). Alles in allem gab es aber in diesem Versuch keine gravierenden Konsistenzänderungen durch das Absetzen, was für ein gutes Management und ein stabiles Mikrobiom der Ferkel spricht. Außerdem kam es während des Versuches in keiner der Fütterungsgruppen zu starken Dysbiosen. Überraschend war, dass die Fasergruppe des Experimentes im Vergleich zu den anderen Fütterungsgruppen entweder die gleiche Konsistenz hatte oder sogar eine etwas festere. Carboxymethylcellulose hat die Eigenschaft den Kot visköser zu machen (8). Frühere Studien hatten gezeigt, dass hochvisköse Fasern in der Ration der Absetzferkeln zu einer erhöhten Ausscheidung von enterotoxischen *Escherichia coli* und somit verstärkt zu Absatzferkeldurchfall führen kann (15). Der Grund wieso die Ferkel, welche die Faser-Ration erhielten in unserem Experiment keinen Durchfall zeigten, sondern sogar festeren Kot oder eine gleiche Kotkonsistenz wie die anderen Fütterungsgruppen hatten, liegt wahrscheinlich daran, dass 3% Carboxymethylcellulose dem Futter beigemischt wurde. In den Vergleichsstudien wurden 4-5% Carboxymethylcellulose ins Futter supplementiert. Deshalb zeigten sich wahrscheinlich keine so starken Effekte in der Kotkonsistenz, wie in anderen Studien.

Die Serumanalysen der verschiedenen Fütterungsgruppen der Ferkel, zeigten keine signifikanten Unterschiede. Es ist davon auszugehen, dass die verschiedenen Futterzusatzstoffe keinen Einfluss auf die von uns betrachteten Serumparameter haben. Aus diesem Grund war es nicht möglich, aus diesen Biomarker zu identifizieren.

Die Darmschleimhaut hat viele wichtige Funktionen, sie schützt vor dem Eindringen von schädlichen Organismen wie Bakterien oder Parasiten. Außerdem wird sie von zahlreichen Mikroorganismen besiedelt, welche als Kommensalen im Verdauungstrakt angesiedelt sind. Diese Besiedelung von Mikroorganismen im Darm spielt nicht nur eine Rolle bei der Verstoffwechselung von Futterbestandteilen, die ansonsten dem Wirt unzugänglich wären (4). Sie verdrängen außerdem Pathogene von der Besiedelung im Darm (6). Eine Veränderung der physiologischen Farbe der Schleimhaut, kann verschiedene Ursachen haben, zum einen kann dies durch Infektionen mit Pathogenen verursacht werden, zum anderen auch durch nicht infektiöse Ursachen wie Stress, schlechte Haltungsbedingungen oder Futterumstellungen. Benzoessäure hat Einfluss auf die mikrobielle Besiedelung im Darm. Benzoessäure verändert die

mikrobielle Zusammensetzung des Darms und kann die Aktivität von pathogenen reduzieren (18), zu denen unter anderen auch *Escherichia coli* zählt. Außerdem belegen Studien das Benzoesäure positive Auswirkungen auf die Schleimhautmorphologie hat (17), was mit den Ergebnissen dieses Versuchs übereinstimmt. Im vorliegenden Versuch zeigte die Überprüfung der Darmschleimhaut, dass Ferkel, welche die Säure-Ration erhielten, niedrigere Darm-Scores im Magen sowie im mittleren Kolon hatten. Das Darm-Scoring spiegelt den Entzündungsgrad der Darmmukosa wider. Deshalb könnten die niedrigeren Darm-Scores, der Ferkel, die in der Säure-Gruppe waren, in Verbindung mit einer besseren Darmgesundheit gebracht werden. Bei Entzündungen im Verdauungstrakt kommt es zu einer Funktionsstörung der Schleimhautbarriere (19), was wiederum das Eindringen von pathogenen Mikroorganismen begünstigen kann, und zu systemischen Erkrankungen führen kann.

Fasern können die Entwicklung des Darms beeinflussen, durch eine erhöhte Expression von Epidermal Growth Factor (EGF) und Glucagon-like Peptide-2 (GLP-2) im Darm (20). Eine Studie mit Rübenschnitzel als Faserquelle zeigte, dass der Dickdarm durch eine Faserergänzung im Futter signifikant länger war als der Darm der Kontrollgruppe (20). Die Darmlängen zeigten im vorliegenden Versuch keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen. Wahrscheinlich liegt dies daran, dass eine andere Faserquelle verwendet wurde. In der Tat handelt es sich bei den beiden Fasern, Carboxymethylcellulose und Rübenschnitzel, um verschiedene Fasertypen, die nicht miteinander verglichen werden können.

Im Darm wird die Flüssigkeitssekretion durch den Transport von Ionen, insbesondere durch Chloridionen über unterschiedliche Kanäle reguliert. Der cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) spielt bei der Chlorid Sekretion dabei die größte Rolle (21). Eine übermäßige Stimulierung dieses Ionenkanals kann zu einer vermehrten Sekretion von Chlorid und Bicarbonat führen, was zu der Entwicklung einer Diarrhoe führen kann (21). Sekretorische Diarrhoe wird bei Ferkeln oft durch enterotoxische *Escherichia coli* (ETEC) Infektionen verursacht. ETEC-Infektionen können zu Schäden an der Darmwand führen und die Permeabilität der Darmwand erhöhen (21). Benzoesäure als Zusatzstoff im Futter von Ferkel kann positive Eigenschaften auf die Darmbarrierefunktion (22), sowie antimikrobielle und antimykotische Wirkungen haben (6). Durch die antimikrobielle Wirkung kann Benzoesäure Pathogene, wie zum Beispiel ETEC reduzieren und somit die Darmgesundheit fördern. Die Ergebnisse dieses Versuchs bestätigen, dass der Zusatz von Benzoesäure positive Auswirkungen auf die Darmbarriere hat. In diesem Versuch wurde die Nettoionenbewegung zwischen der mukosalen und serosalen Darmwandseite, als Kurzschluss-Strom dargestellt. Der Kurzschluss-Strom war bei der Säure-Gruppe der Ferkel am niedrigsten und bei der Fasergruppe am höchsten. Das kann darauf hinweisen, dass die Chlorid-Sekretion in das Darmlumen verringert war. In früheren Studien wurden positive Effekte von Ballaststoffen auf die Darmbarriere Funktion beschrieben. Jedoch hängt die positive Wirkung auf die Darmbarriere stark von der Zusammensetzung der Ballaststoffe ab (23). In der Studie, welche einen positiven Zusammenhang beschreibt, wurden Weizenkleie- und Erbsenfasern als Ballaststoffquelle verwendet und nicht wie in diesem Versuch Carboxymethylcellulose. In Studien, die als Faserquelle Carboxymethylcellulose verwendeten, zeigte sich, dass dieser Zusatz das Darmökosystem stören kann, indem es die Proliferation von *E. coli* begünstigt (24,

15), was wiederum die Integrität der Darmschleimhaut negativ beeinflussen kann und zu einer vermehrten Sekretion ins Darmlumen führen kann. Aus diesem Grund wird auch eine Ergänzung von Carboxymethylcellulose in der Ration von Absatzferkeln als natürliches experimentelles Modell für eine *E. coli* Infektion nach dem Absetzen verwendet (24). Allerdings kann auch hier die Supplementierung von 3% angeführt werden, die eine stärkere Dysbiose verhindert hat. Um eine genauere Aussage zur Darmhomöostase treffen zu können, wird es wichtig sein, das Darmmikrobiom zu untersuchen, was nicht Teil dieser Diplomarbeit war.

5.3 Ausblick und Zusammenfassung

Für weitere Versuche sollten höhere Dosierungen von den Futtermittelzusatzstoffen in Erwägung gezogen werden, um größere Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen erzielen zu können. Für die genauere Beurteilung der Effekte der Futtermittelzusätze wäre es außerdem auch von Vorteil, die Futteraufnahme der Ferkel genau zu überwachen, was in dem vorliegenden Versuch nicht möglich war. Vor allem in der Saugferkelphase wäre es interessant zu wissen, wie gut das Beifutter angenommen wurde. In diesem Experiment war das Management während des Versuches sehr gut und es hat wahrscheinlich aus diesem Grund nur geringe Unterschiede zwischen den Ferkelgruppen, zwischen den Fütterungsgruppen gegeben. Es wären wahrscheinlich größere Unterschiede bei den untersuchten Parametern zu finden gewesen, wenn es tatsächlich zur Ausbildung von Absatzferkeldurchfall bei einigen Ferkeln gekommen wäre.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Benzoesäure als Futtermittelzusatzstoff positive Auswirkungen auf die Darmbarriere, sowie auf die Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes hatte, was sich positiv auf die Darmgesundheit der Absatzferkeln ausgewirkt hat. Carboxymethylcellulose als Zusatzstoff, hatte negative Auswirkungen auf die Sekretion in den Dünndarm und auf die Gewichtszunahme von den Ferkeln. Als Biomarker ließen sich anhand der vorliegenden Daten der Grad der Inflammation der Darmmukosa und der Kurzschlussstromfluss im mittleren Jejunum identifizieren.

6. Zusammenfassung

Das Absetzen ist ein schwieriger Zeitpunkt im Leben eines Ferkels. Es ist mit zahlreichen Stressoren verbunden, die sich negativ auf den Gesundheitszustand und das Wohlbefinden der Ferkel auswirken. Unter anderem zählt die Futterumstellung zu den wichtigsten Stressoren in dieser Lebensphase, welche eine Änderung des Mikrobioms mit sich zieht und nicht selten zu Dysbiosen im Verdauungstrakt führt. Deshalb kommt es nicht selten in dieser sensiblen Lebensphase zu Durchfallerkrankungen, welche nicht nur für die Ferkel negativ ist, sondern auch wirtschaftliche Verluste bedeutet. Ziel dieses Versuchs war es mithilfe von verschiedenen Futtermittelzusätzen unterschiedliche Bedingungen im Verdauungstrakt zu generieren. Dies wurde durch die beiden Futtermittelzusätze Carboxymethylcellulose (CMC) und Benzoesäure umgesetzt. Die Auswirkungen von den Ergänzungen in den Rationen wurde anhand von Wachstum, Durchfall-Monitoring, Darmintegrität und Serumparameter beurteilt. Anhand dieser Daten wurde versucht Biomarker für die Darmgesundheit von Schweinen zu identifizieren.

Um die Darmgesundheit der Ferkel zu beeinflussen, wurden bereits die Muttertiere in der späten Trächtigkeit in zwei Fütterungsgruppen eingeteilt. Die Hälfte der Sauen erhielten in der späten Trächtigkeit, sowie während der Laktation 5 mg/kg Benzoesäure, die dem Futter beigemischt wurde. Während der Säugephase erhielten die Ferkel entsprechend ihrer Muttersau Beifutter mit 5 mg/kg Benzoesäure oder das Kontroll-Beifutter. Die Ferkel verblieben nach dem Absetzen (28. Lebenstag) bis zum 32. Lebenstag in den beiden Fütterungsgruppen. Der Hauptversuch des Experiments begann am 33. Lebenstag der Ferkel. Die Ferkel wurden in vier verschiedene Fütterungsgruppen aufgeteilt: Säure-Gruppe (5 mg/kg Benzoesäure), Fasergruppe (3% Carboxymethylcellulose), Säure und Faser-Gruppe (5 mg/kg Benzoesäure und 3% Carboxymethylcellulose) und Kontrollgruppe. Während des Versuchs gab es regelmäßige Gewichtsmessungen, sowie Durchfallmonitoring. Eine invasive Beprobung wurde vom 39.-42. Lebenstag bei ausgewähltem Ferkel durchgeführt, wobei Blutproben entnommen, der Gastrointestinaltrakt vermessen, die Darmschleimhaut auf Entzündungsanzeichen kontrolliert und Gewebestücke vom Jejunum für Darnelektrophysiologische Untersuchungen mittels der Ussing-Kammer entnommen wurden.

Die Analyse der betrachteten Parameter zeigte, dass die intestinale Schleimhaut der Säure-Gruppe signifikant geringere Werte im Darm-Scoring zeigte, in den Bereichen Magen und Mitte Kolon. Das Darm-Scoring spiegelt den Grad der Inflammation der Darmmukosa wider, was bedeutet dass die Ergänzung von Benzoesäure in der Ration positive Auswirkungen auf die Darmgesundheit hat. Die betrachteten Serumparameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen. Der Kurzschlussstromfluss bei der Säuregruppe war signifikant geringer als bei den anderen Fütterungsgruppen. Dies könnte darauf hindeuten, dass weniger Flüssigkeit ins Darmlumen in der Säure-Gruppe sekretiert wurde als in den anderen Fütterungsgruppen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es möglich war, den Inflammationsgrad der Darmschleimhaut, sowie den elektrischen Kurzschluss-Stromfluss des Darms als Biomarker

für die Darmgesundheit zu identifizieren. Außerdem wurde der positive Einfluss von Benzoessäure als Futtermittelzusatzstoff auf die Darmgesundheit von Schweinen bestätigt.

7. Summary

Weaning is a difficult time in the life of a piglet. It is associated with numerous stressors that have a negative impact on the health and well-being of the piglets. Among other factors, the change in feed is one of the most important stressors in this phase of life, which entails a change in the microbiome and often leads to dysbiosis in the digestive tract. As a result, diarrhoea often occurs during this sensitive phase of life, which is not only negative for the piglets, but also means economic losses. The aim of this trial was to generate different conditions in the digestive tract with the help of different feed additives. This was achieved with the two feed additives carboxymethylcellulose (CMC) and benzoic acid. The effects of the supplements in the rations were assessed based on growth, diarrhoea monitoring, gut integrity and serum parameters. Based on the above data, an attempt was made to identify biomarkers for the intestinal health of pigs.

In order to influence the intestinal health of the piglets, the dams were divided into two feeding groups in late pregnancy. Half of the sows received 5 mg/kg benzoic acid added to the feed in late pregnancy and during lactation. During the suckling phase, the piglets received 5 mg/kg benzoic acid or the control complementary feed, depending on their mother sow. The piglets remained in the two feeding-groups even after weaning (28th day of life) until the 32nd day of life. The main trial of the experiment began on the piglets' 33rd day of life. The piglets were divided into four different feeding groups: Acid group (5 mg/kg benzoic acid), fibre group (3% carboxymethylcellulose), acid and fibre group (5 mg/kg benzoic acid and 3% carboxymethylcellulose) and control group. Regular weight measurements and diarrhoea monitoring were carried out during the experiment. Invasive sampling was carried out in selected piglets from 39-42 days of the piglets' life, whereby blood samples were taken, the gastrointestinal tract was measured, the intestinal mucosa was checked for signs of inflammation and tissue samples were taken from the jejunum for intestinal electrophysiological examinations using the Ussing-chamber.

The analysis of the parameters considered showed that the intestinal mucosa of the acid group showed significantly lower intestinal scoring values in the stomach and mid-colon areas. The intestinal scoring reflects the degree of inflammation of the intestinal mucosa, which means that the addition of benzoic acid to the ration has a positive effect on intestinal health. The serum parameters analysed showed no significant differences between the feeding groups. The short-circuit current flow in the acid group was significantly lower than in the other feeding groups. This could indicate that less fluid is secreted in the intestinal lumen of the acid feeding-group than in the other groups.

In summary, it was possible to identify the extent of inflammation of the intestinal mucosa and the electrical short-circuit current flow of the intestine as biomarkers for intestinal health. In addition, the positive influence of benzoic acid as a feed additive on the intestinal health of pigs was confirmed.

8. Danksagung

An dieser Stelle geht ein besonderer Dank an das österreichische Bundesministerium für Digitalisierung und Wirtschaftsstandort und der Nationalstiftung für Forschung, Technologie und Entwicklung für die Förderung dieser Forschung. Ein weiterer Dank geht an die zu dsm-firmenich gehörende BIOMIN Holding GmbH, welche das Christian Doppler-Labor für Innovative Darmgesundheitskonzepte bei Nutztieren finanziell unterstützte.

Außerdem möchte ich mich herzlich bei Frau Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Barbara Metzler-Zebeli bedanken, für die Möglichkeit eine Arbeit im Rahmen der Ernährungsphysiologie schreiben zu dürfen und für die Unterstützung während des gesamten Schreibprozesses.

9. Literaturverzeichnis

1. Bauer E, Metzler-Zebeli B, Verstegen M, & Mosenthin R. 2011. Intestinal gene expression in pigs: Effects of reduced feed intake during weaning and potential impact of dietary components. *Nutrition Research Reviews*, 24(2), 155-175. doi:10.1017/S0954422411000047 (Zugriff: 15.02.2024)
2. Metzler-Zebeli B. 2022. Porcine Gut Microbiota and Host Interactions during the Transition from the Suckling to Post-Weaning Phase. In: *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90303-9_8 (Zugriff: 01.02.2024)
3. Campbell JM, Crenshaw JD, Polo J. 2013. The biological stress of early weaned piglets. *Journal Animal Science Biotechnology*. DOI: 10.1186/2049-1891-4-19 (Zugriff: 16.02.2024)
4. Fohse JM, Zijlstra RT, Willig BP. 2016. The role of gut microbiota in health and disease of pigs. *Animal Frontiers*, Band 6, Ausgabe 3, Seiten 30-36. DOI:10.2527/AF.2016-0031 (Zugriff: 20.03.2024)
5. Diao H, Zheng P, Yu B, He J, Mao XB, Yu J, Chen DW. 2014. Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livestock Science*, Ausgabe 167, Seite 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.029>. (Zugriff: 20.02.2024)
6. Mao X, Yang Q, Chen D, Yu B, He J. 2019. Benzoic Acid Used as Food and Feed Additives Can Regulate Gut Functions. *Biomed Res Int*. Feb 26; 2019:5721585. DOI: 10.1155/2019/5721585 (Zugriff: 01.03.2024)
7. Ingvar B. 2004. Fibre effects on intestinal functions (diarrhea, constipation and irritable bowel syndrome). *Clin Nutr Suppl* 1, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.006> (Zugriff: 05.03.2024)
8. Piel C, Montagne L, Sève B, Lallès JP. 2005. Increasing digesta viscosity using carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates ileal goblet cell numbers and maturation. *J Nutr*;135(1):86-91. DOI: 10.1093/jn/135.1.86200 (Zugriff: 16.02.2024)
9. Quiniou N, Dagorn J, Gaudré D. 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance, *Livestock Production Science*, Volume 78, Issue 1, Pages 63-70, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00181-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00181-1). (Zugriff 14.05.2024)
10. Václavková E, Daněk P, Rozkot M. (2012). The influence of piglet birth weight on growth performance. *Research in Pig Breeding*, roč. 6(1), s. 59-61. ISSN 1802-7547. (Zugriff: 14.05.2024)
11. Zhai H, Ren W, Wang S, Wu J, Guggenbuhl P, Klünter AM. 2017. Growth performance of nursery and grower-finisher pigs fed diets supplemented with benzoic acid, *Animal*

Nutrition, Volume 3, Issue 3, Pages 232-235. DOI: 10.1016/j.aninu.2017.05.001 (Zugriff: 01.04.2024)

12. He M, Gao J, Wu J, Zhou Y, Fu H, Ke S, Yang H, Chen C, Huang L. 2019 Host Gender and Androgen Levels Regulate Gut Bacterial Taxa in Pigs Leading to Sex-Biased Serum Metabolite Profiles. *Front Microbiol.* June 18; 10:1359. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01359. (Zugriff: 14.05.2024)

13. Hung YT, Zhu J, Shurson GC, Urriola PE, Saqui-Salces M. 2022. Decreased nutrient digestibility due to viscosity is independent of the amount of dietary fibre fed to growing pigs. *British Journal Nutrition.* January 28;127(2):177-187. DOI: 10.1017/S0007114521000866. (Zugriff 07.06.2024)

14. Wenk C. 2001. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig, *Animal Feed Science and Technology*, Volume 90, Issues 1–2, Pages 21-33, [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00194-8](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00194-8). (Zugriff 05.06.2024)

15. Hopwood DE, Pethick DW, Hampson DJ. 2002. Increasing the viscosity of the intestinal contents stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Brachyspira pilosicoli* in weaner pigs., *British Journal of Nutrition.*;88(5):523-532. DOI: 10.1079/BJN2002694 (Zugriff: 09.02.2024)

16. Kiarie E, Voth C, Wey D, Zhu C, Vingerhoeds P, Borucki S, and Squires EJ. 2018. Comparative efficacy of antibiotic growth promoter and benzoic acid on growth performance, nutrient utilization, and indices of gut health in nursery pigs fed corn–soybean meal diet. *Canadian Journal of Animal Science.* 98(4): 868-874. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0056> (Zugriff: 20.02.2024)

17. Diao H, Gao Z, Yu B, Zheng P, He J, Yu J, Huang Z, Chen D, Mao X. 2016. Effects of benzoic acid (VevoVital®) on the performance and jejunal digestive physiology in young pigs. *Journal Animal Science Biotechnology.* May 28;7:32. DOI:10.1186/s40104-016-0091-y (Zugriff: 06.03.2024)

18. Liu Y, Espinosa CD, Abelilla JJ, Casas GA, Lagos LV, Lee SA, Kwon WB, Mathai JK, Navarro DMDL, Jaworski NW, Stein HH. 2018. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Animal Nutrition.* Jun;4(2):113-125. DOI: 10.1016/j.aninu.2018.01.007. (Zugriff 07.06.2024)

19. Ocansey DKW, Zhang L, Wang Y, Yan Y, Qian H, Zhang X, Xu W, Mao F. 2020. Exosome-mediated effects and applications in inflammatory bowel disease. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2020 Okt; 95(5):1287-1307. DOI: 10.1111/brv.12608. (Zugriff 05.06.2020)

20. Diao H, Jiao A, Yu B, He J, Zheng P, Yu J, Luo Y, Luo J, Mao X, Chen D. 2020. Beet Pulp: An Alternative to Improve the Gut Health of Growing Pigs. *Animals* 10, no. 10: 1860. <https://doi.org/10.3390/ani10101860> (Zugriff: 01.03.2024)

21. Moeser AJ, Blikslager AT. 2007. Mechanisms of porcine diarrheal disease. *J Am Vet Med Assoc.* Jul 1;231(1):56-67. DOI: 10.2460/javma.231.1.56 (Zugriff: 24.04.2024)

22. Chen JL, Zheng P, Zhang C, Yu B, He J, Yu J, Luo JQ, Mao XB, Huang ZQ, Chen DW. 2017. Benzoic acid beneficially affects growth performance of weaned pigs which was associated with changes in gut bacterial populations, morphology indices and growth factor gene expression. *Journal Animal Physiology Animal Nutrition (Berl).* Dec;101(6):1137-1146. DOI: 10.1111/jpn.12627 (Zugriff: 03.03.2024)

23. Chen H, Mao X, He J, Yu B, Huang Z, Yu J, Zheng P, Chen D. 2013. Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. *British Journal of Nutrition.* Nov;110(10):1837-48. DOI:10.1017/S0007114513001293 (Zugriff: 21.03.2024)

24. Montagne L, Cavaney FS, Hampson DJ, Lall s JP, Pluske JR. 2004. Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets, *Journal of Animal Science*, Volume 82, Issue 8, August, Pages 2364–2374, <https://doi.org/10.2527/ocans.8282364> (Zugriff 01.06.2024)

11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Kot-Score	4
Tabelle 2:	Darm-Score	5
Tabelle 3:	Leistungsparameter der aus der Kontroll- und der Versuchsgruppe (mit Benzoesäure)	8
Tabelle 4:	Vergleich der Gewichtszunahmen zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe (Zusatz von 5 mg/kg Benzoesäure) der Ferkel vom 1. bis zum 33. Lebenstag	9
Tabelle 5:	Vergleich der Gewichtszunahme der Ferkel zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen am Tag 39, sowie die durchschnittlichen Gewichtszunahmen von Tag 33 bis Tag 39	10
Tabelle 6:	Gewicht der Ferkel am Tag der Euthanasie	10
Tabelle 7:	Kot-Scores der Ferkel vom 28. bis zum 32. Lebenstag	11
Tabelle 8:	Kot-Scores der Ferkel vom 33. bis zum 42. Lebenstag nach Fütterungsgruppe	12
Tabelle 9:	Ergebnisse der Serumanalysen der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen	14
Tabelle 10:	Ergebnisse für die Darm-Scores in den vier Fütterungsgruppen	16
Tabelle 11:	Darmlängen (cm/kg) der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen	17
Tabelle 12:	Ergebnisse für die elektrophysiologischen Parameter im mittleren Jejunum der Ferkel in den vier Fütterungsgruppen	18