

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Entwicklung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber –
pathogenetische und prophylaktische Aspekte

von Julia Friedl

aus München

München 2015

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Reinhard K. Straubinger, Ph. D.

Angefertigt am:
Lehrstuhl für Tierhygiene
Wissenschaftszentrum für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
der Technischen Universität München

Mentor: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Johann Bauer

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Reinhard Straubinger

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael Erhard
Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann
Univ.-Prof. Dr. Rolf Mansfeld
Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger

Tag der Promotion: 31. Januar 2015

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATURÜBERSICHT	3
1	Entwicklung, Zusammensetzung und Funktion der intestinalen Mikrobiota	3
1.1	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota beim Kalb	3
1.2	Einfluss der intestinalen Mikrobiota auf die Gesundheit des Kalbes.....	7
1.2.1	Metabolische Funktionen	7
1.2.2	Strukturelle und immunologische Funktionen	7
1.2.3	Protektive Funktionen	9
1.3	Probiotika	13
1.3.1	Definition und Wirkungsweise.....	13
1.3.2	Auswahlkriterien für Probiotika.....	14
1.3.3	Als Probiotika verwendete Mikroorganismen.....	16
1.3.3.1	Gattung <i>Lactobacillus</i>	16
1.3.3.2	Gattung <i>Enterococcus</i>	17
1.3.3.3	Weitere als Probiotika verwendete Mikroorganismen	17
1.3.4	Probiotika beim Kalb	18
2	Neonatale Diarrhoe bei Kälbern.....	21
2.1	Bedeutung.....	21
2.2	Ätiologie.....	23
2.2.1	Infektiöse Durchfallursachen	23
2.2.1.1	Rotaviren	24
2.2.1.2	Coronaviren.....	25
2.2.1.3	Enterotoxische <i>Escherichia coli</i>	26
2.2.1.4	Salmonellen.....	27
2.2.1.5	Clostridien	28
2.2.1.6	Cryptosporidien	29
2.2.2	Prädisponierende Faktoren	30
2.3	Pathophysiologie	31
2.4	Klinik.....	32
2.5	Therapie.....	33
2.6	Durchfallprophylaktische Maßnahmen	34

2.6.1	Kolostrumversorgung des Kalbes	34
2.6.2	Haltungs- und Hygienemanagement	35
2.6.3	Vakzine- und Medikamenteneinsatz	37
2.6.4	Einsatz von Probiotika	38
III	MATERIAL UND METHODEN	40
1	Material	40
1.1	Arbeitsmaterial	40
1.1.1	Technische Geräte	40
1.1.2	Gebrauchsmaterial	41
1.1.3	Verbrauchsmaterial	41
1.1.4	Nährböden	43
1.1.5	Flüssige Nährmedien	44
1.1.6	Lösungen	45
1.1.7	Reagenzien	47
1.1.8	Weitere Chemikalien und Zusätze	48
1.1.9	Software	49
1.1.10	Zellkultur	49
1.1.11	Referenzstämme	49
1.1.12	Kandidatenkeime	49
1.2	Tiere	49
1.3	Datenerfassung	51
1.4	Probengewinnung	51
1.5	Lagerung und Transport des Probenmaterials	51
1.6	Struktur der untersuchten Betriebe	52
2	Methoden	53
2.1	1. Teil: Untersuchungen zum Durchfallgeschehen und zur Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber	53
2.1.1	Mikrobiologisch-kulturelle Untersuchungen	53
2.1.1.1	Keimzahlbestimmung	53
2.1.1.2	Keimisolierung und Keimidentifizierung	54
2.1.1.2.1	Bakteriologische Differenzierungsmethoden	55
2.1.1.2.2	Untersuchung auf Clostridien	58
2.1.1.2.3	Untersuchung auf Enterobakterien	58
2.1.1.2.4	Untersuchung auf Enterokokken	59

2.1.1.2.5	Untersuchung auf Laktobazillen	59
2.1.1.3	Cryokonservierung	60
2.1.2	Speziesidentifizierung mit MALDI-TOF-Massenspektrometrie	60
2.1.3	Beurteilung der Kotkonsistenz	61
2.1.4	Nachweis häufiger Durchfallerreger mittels ELISA	62
2.2	2. Teil: Auswahl geeigneter Isolate für ein Diarrhoe-Prophylaktikum	64
2.2.1	Allgemeines Vorgehen	64
2.2.2	Molekularbiologische Untersuchungen	65
2.2.2.1	DNA-Extraktion	65
2.2.2.2	PCR-Methoden	67
2.2.2.2.1	Speziesspezifische PCR	67
2.2.2.2.2	RAPD-PCR	68
2.2.2.2.3	16S rRNA-PCR mit Universalprimern	69
2.2.2.3	Gelelektrophorese	70
2.2.2.4	Sequenzierung	70
2.2.3	Mikrobiologisch-kulturelle Untersuchung	71
2.2.3.1	Prüfung der Antibiotika-Resistenz	71
2.2.3.2	Prüfung der Zytotoxizität mittels MTT-Test	72
2.2.3.3	Prüfung der Säure- und Gallensalzstabilität	75
2.2.3.4	Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität gegen Pathogene	76
2.3	3. Teil: Herstellung der <i>L.-reuteri</i> -Suspension und Prüfung der Diarrhoe-protectiven Wirkung	78
2.3.1	Herstellung der <i>L.-reuteri</i> -Suspension	78
2.3.2	Herstellung des Placebos	79
2.3.3	Fütterungsversuch	79
2.3.3.1	Tiere	79
2.3.3.2	Versuchsdurchführung	79
2.3.3.3	Kotuntersuchung	80
2.4	Datenanalyse	81
2.4.1	Durchfallinzidenz	81
2.4.2	Keimzahlanalyse	81
IV	ERGEBNISSE	82

1	1. Teil: Untersuchungen zum Durchfallgeschehen und zur Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber	82
1.1	Kälberdurchfall.....	82
1.1.1	Durchfallinzidenz	82
1.1.2	Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz.....	83
1.1.2.1	Betrieb	83
1.1.2.2	Betriebsgröße	83
1.1.2.3	Jahreszeit	84
1.1.2.4	Geschlecht	84
1.1.2.5	Zwillinge	84
1.1.2.6	Geburtsgewicht.....	85
1.1.2.7	Geburtsverlauf.....	86
1.1.2.8	Kolostrumversorgung.....	86
1.1.2.8.1	Erstgabe	86
1.1.2.8.2	Erstmenge.....	88
1.1.2.9	Anzahl der Laktationen des Muttertieres	89
1.1.2.10	Muttertierimpfung	90
1.1.3	Nachweis von Enteropathogenen in Durchfallproben	91
1.2	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota.....	94
1.2.1	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota gesunder Kälber.....	94
1.2.1.1	Aerobe Gesamtkeimzahl	95
1.2.1.2	Anaerobe Gesamtkeimzahl	95
1.2.1.3	Enterobacteriaceae	97
1.2.1.4	Enterokokken	100
1.2.1.5	Laktobazillen.....	102
1.2.2	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota durchfallkranker Kälber im Vergleich zu „darmgesunden“	105
1.2.2.1	Aerobe Gesamtkeimzahl	106
1.2.2.2	Anaerobe Gesamtkeimzahl	106
1.2.2.3	Enterobacteriaceae	108
1.2.2.4	Enterokokken	110
1.2.2.5	Laktobazillen.....	112
1.3	Auswahl der Kandidatenkeime	116

2	2. Teil: Auswahl geeigneter Isolate für ein Diarrhoe- Prophylaktikum.....	117
2.1	Speziesspezifische PCR	117
2.2	RAPD-PCR	118
2.3	Antibiotikaresistenz.....	122
2.4	MTT-Test	122
2.5	pH- und Gallesalzstabilität	124
2.6	Antimikrobielle Aktivität gegen Pathogene	126
2.7	Sequenzierung	127
3	3. Teil: In vivo Untersuchungen zur prophylaktischen Wirksamkeit der entwickelten Laktobazillensuspension	129
3.1	Auswirkungen auf das Durchfallgeschehen	129
3.1.1	Trockenmasse der Kotproben.....	129
3.1.2	Durchfallinzidenz	129
3.1.3	Nachweis von Enteropathogenen in Durchfallproben	131
3.2	Auswirkungen auf die Keimzahlen	132
V	DISKUSSION	134
1	Methodendiskussion.....	134
1.1	Untersuchungsmaterial.....	134
1.2	Tierzahlen.....	135
1.3	Durchfallinzidenz	135
1.4	Kulturelle Keimzahlanalyse	136
1.5	Auswahl der Kandidatenkeime für ein Substitutionsprophylaktikum	139
1.6	Untersuchung zur Wirksamkeit des Substitutionsprophylaktikums	141
2	Ergebnisdiskussion.....	142
2.1	Durchfallinzidenz	142
2.1.1	Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz.....	142
2.1.1.1	Betrieb	143
2.1.1.2	Jahreszeit	143
2.1.1.3	Geschlecht	144
2.1.1.4	Zwillinge	144
2.1.1.5	Geburtsgewicht.....	145
2.1.1.6	Geburtsverlauf	145

2.1.1.7	Kolostrumversorgung.....	146
2.1.1.8	Anzahl der Laktationen des Muttertieres	146
2.1.1.9	Muttertierimpfung	147
2.1.2	Nachweis von Enteropathogenen	148
2.2	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota gesunder Kälber.....	153
2.3	Entwicklung der intestinalen Mikrobiota durchfallkranker Kälber	159
2.4	Auswahl geeigneter Isolate für die Laktobazillensuspension	162
2.4.1	Antibiotika-Resistenzen von <i>L. reuteri</i>	162
2.4.2	Evaluierung der Zytotoxizität.....	163
2.4.3	Überlebensfähigkeit ausgewählter Isolate während der Magen-Darm-Passage	164
2.4.4	Antimikrobielle Aktivität gegen Pathogene	166
2.5	Wirksamkeit der entwickelten Laktobazillensuspension	167
VI	ZUSAMMENFASSUNG	171
VII	SUMMARY	174
VIII	LITERATURVERZEICHNIS	177
IX	ANHANG	206
X	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	280
XI	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	282
XII	TABELLENVERZEICHNIS	286
XIII	DANKSAGUNG	289

I EINLEITUNG

Die Zusammensetzung der intestinalen Mikroorganismen hat erhebliche Auswirkungen auf die Gesundheit des Wirts. Diese können sich sowohl in positiven Effekten wie der Aktivierung des Immunsystems, der Fermentation primär unverdaulicher Nahrungsbestandteile, in Barriereeffekten gegenüber pathogenen Mikroorganismen und/oder allergieprotektiven Eigenschaften äußern als auch in negativen Wirkungen, wie z. B. der Auslösung von Krankheiten durch Vermehrung pathogener Keime (Guarner und Malagelada, 2003; O'Hara und Shanahan, 2006). Die Entwicklung der Darmflora neugeborener Kälber ist bisher nur wenig erforscht (Smith, 1965; Lukas et al., 2007; Mayer et al., 2012). Dies überrascht, weil gerade in diesen ersten Lebenswochen die Weichen für das weitere Leben des Kalbes gestellt werden. Krankheiten in dieser frühen Entwicklungsphase führen nicht selten zum Tod des Tieres. Neben Atemwegserkrankungen stehen hier vor allem Durchfallerkrankungen im Vordergrund, welche besonders häufig bei sehr jungen Kälbern auftreten (Bothmer und Budde, 1992; Bendali et al., 1999a; Brändle, 2006). Bei überlebenden Tieren sind nachfolgend zumeist negative Auswirkungen auf die spätere Gesundheit und Leistungsfähigkeit des Rindes feststellbar (Donovan et al., 1998b; Trilk und Münch, 2004). So ist es nicht verwunderlich, dass Kälberdurchfall die wirtschaftlich bedeutsamste Erkrankung in der Rinderaufzucht darstellt (Elze et al., 1994; Doll et al., 1995; Brändle, 2006). Das Hauptaugenmerk der meisten Untersuchungen zum Thema „Kälberdurchfall“ liegt in der Erforschung der verschiedenen durchfallauslösenden Erreger (Pohlenz et al., 1978; Perez et al., 1990; Viring et al., 1993; Virtala et al., 1996a). Im Vergleich dazu existieren nur wenige fundierte Untersuchungen zur Entwicklung der kommensalen - und möglicherweise protektiven - Darmflora von Kälbern. Profunde Kenntnisse über die physiologische Zusammensetzung der natürlichen Mikrobiota gesunder Kälber könnten jedoch Möglichkeiten der Einflussnahme, insbesondere durch den Einsatz solcher protektiver Bakterien als Probiotika, aufzeigen.

Ziel dieser Forschungsarbeit ist es deshalb, die Entwicklung der mikrobiellen Dickdarmflora neugeborener Kälber innerhalb der ersten Lebenswoche zu analysieren und Unterschiede zwischen gesunden Kälbern und solchen, die eine

Durchfallerkrankung entwickeln, aufzuzeigen. Im Hinblick auf einen möglichen prophylaktischen Einsatz gilt ein besonderes Augenmerk den in Durchfallkälbern unterrepräsentierten Keimgruppen. Basierend auf diesen Ergebnissen sollen potentiell protektive Bakterien aus gesunden Kälbern isoliert und auf ihre Eignung für ein kälberspezifisches Probiotikum hin geprüft werden. Im zweiten Teil des Projektes wird die Durchfall-präventive Wirkung der ausgewählten Stämme auch direkt am Kalb geprüft.

II LITERATURÜBERSICHT

1 Entwicklung, Zusammensetzung und Funktion der intestinalen Mikrobiota

1.1 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota beim Kalb

Die bakterielle Besiedelung des Intestinaltraktes des Neugeborenen beginnt bereits während des Geburtsvorgangs mit Keimen der Vaginal- und Fäkalflora des Muttertieres (Baier et al., 1967; Ducluzeau, 1983; Favier et al., 2003). Einige Studien sprechen sogar dafür, dass die bakterielle Besiedelung des neonatalen Magen-Darm-Trakts bereits vor der Geburt durch eine direkte Übertragung von Bakterien der Mutter auf den Fetus stattfindet (Jiménez et al., 2005; Jiménez et al., 2008; Satokari et al., 2009; Mshvildadze et al., 2010). Nach der Geburt wird die Zusammensetzung der intestinalen Mikroorganismen von der Keimflora des Speichels, der Milchdrüse und der Haut des Muttertieres, und ebenso von der unmittelbaren Umgebung des Neugeborenen geprägt. Auch die anschließende Fütterung beeinflusst die Zusammensetzung der Bakterienflora des Darmes (Hartman et al., 1966; Ducluzeau, 1983; Harmsen et al., 2000; Penders et al., 2006; Malmuthuge et al., 2013). Zudem scheinen genetische Faktoren ebenfalls eine Rolle zu spielen (Benson et al., 2010; Mayer et al., 2012). Offenbar hat diese Erstbesiedelung langfristige Auswirkungen auf die Zusammensetzung der Darmflora. So konnte in der Darmflorazusammensetzung von durch Kaiserschnitt entbundenen Babys noch sechs Monate später ein Unterschied zur Flora natürlich geborener Babys festgestellt werden (Grönlund et al., 1999). Thompson et al. (2008) konnten zudem zeigen, dass die unmittelbare Umwelt, in der Ferkel gehalten werden, ebenfalls langanhaltende Effekte auf die Zusammensetzung der Darmbakterien hatte. Die Darmflora des neugeborenen Säugetieres unterliegt sowohl qualitativ als auch quantitativ noch erheblichen Schwankungen. Während einige Keimgruppen schon nach wenigen Tagen wieder verschwinden, etablieren sich andere Spezies erst nach einiger Zeit (Favier et al., 2003; Lukas et al., 2007; Thompson et al., 2008; Uyeno et al., 2010; Mayer et al., 2012). Fortschreitend nimmt zudem die Diversität und Komplexität der Mikroorganismengemeinschaft zu (Mayer et al., 2012; Moles et al., 2013). Dennoch scheint der dynamische Prozess der Erstbesiedelung, selbst speziesübergreifend, relativ einheitlich zu

verlaufen (Smith und Crabb, 1961; Smith, 1965). Da die erste bakterielle Besiedelung des Neugeborenen bereits im Geburtskanal oder sogar noch früher stattfindet, können zum Teil bereits im Mekonium Keime nachgewiesen werden. Moles et al. (2013) konnten sowohl mittels kultureller, als auch mittels molekularbiologischer Methoden im Mekonium frühgeborener Babys Keime verschiedener Gattungen nachweisen. Hierbei zeigten sich insbesondere grampositive Bakterien wie *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. und *Lactococcus* spp. als dominante Gattungen. Des Weiteren ließen sich auch Clostridien und gramnegative Bakterien, wie z. B. *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. oder *Pseudomonas* spp. detektieren (Moles et al., 2013). Im Mekonium neugeborener Kälber konnten Mayer et al. (2012) mittels molekularbiologischer Verfahren *Citrobacter* spp. und Milchsäurebakterien wie *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. und *Leuconostoc* spp. als Erstbesiedler ausmachen. Zu diesem frühen Zeitpunkt unterscheidet sich die Darmflora der einzelnen Individuen noch sehr stark voneinander. Die mittels kultureller Verfahren ermittelten Keimgehalte von Mekoniumproben können sowohl Werte unterhalb von 10^1 KBE/g Kot als auch Werte von bis zu 10^8 - 10^9 KBE/g Kot erreichen (Ducluzeau, 1983; Moles et al., 2013). Der Umfang der Besiedelung zum Zeitpunkt der Geburt hängt beim Kalb dabei erheblich von Verlauf und Dauer der Geburt ab (Baier et al., 1967). Zur Entwicklung der kälberspezifischen intestinalen Mikrobiota innerhalb der ersten Lebenswochen existieren nur wenige Studien. Dabei wurden einerseits kulturelle, andererseits molekularbiologische Verfahren angewendet. Vergleiche von kulturellen und molekularbiologischen Methoden lassen jedoch darauf schließen, dass nur etwa 20 - 50 % der Darmbakterien mittels Kultur detektierbar sind (Wilson und Blitchington, 1996; Suau et al., 1999). Dagegen wurden in den vorliegenden molekularbiologischen Studien Gesamtkeimzahlen zumeist nur semiquantitativ ermittelt bzw. lediglich das Verhältnis einzelner Bakteriengruppen zueinander bestimmt.

Mittels kultureller Verfahren konnten folgende Beobachtungen gemacht werden: Der Darmtrakt des neugeborenen Kalbes wird innerhalb kürzester Zeit von *E. coli*, Clostridien und Enterokokken besiedelt. Diese Spezies überwiegen zahlenmäßig während der ersten zwei Lebensstage des Kalbes (Smith, 1965). Ca. 24 h nach der Geburt etablieren sich Laktobazillen im Magen-Darm-Trakt und

stellen schon nach kurzer Zeit die dominierende Spezies im Magen und Dünndarm dar. Etwa 48 h nach der Geburt können zudem *Bacteroides* spp. im Dickdarm, nicht jedoch im Magen und Dünndarm, nachgewiesen werden. Zusammen mit den Laktobazillen werden sie mit Werten zwischen 10^9 - 10^{10} KBE/g Kot zu den dominierenden Vertretern der Dickdarmflora (Smith und Crabb, 1961; Smith, 1965). Innerhalb der ersten 24 - 48 h post partum erreicht die Gesamtkeimzahl im Darm des Neugeborenen mit Werten von 10^8 - 10^{10} KBE/g Kot bereits Maximalniveau (Smith und Crabb, 1961; Ducluzeau, 1983). Vlkova et al. (2010) konnten mittels FISH (Fluorescence in situ hybridization) im Vergleich zur kulturellen Methode ähnliche Keimzahlen ermitteln. Bereits am zweiten Tag nach der Geburt erreichte die anaerobe GKZ Werte von nahezu 10^{10} KBE/g Kot. Diese stieg bis zum 27. Tag nach der Geburt leicht an, um schließlich zum 60. Tag langsam abzufallen. Sowohl *E. coli* als auch Laktobazillen erreichten zwischen Tag 2 und Tag 41 Keimzahlen zwischen 10^8 - 10^9 KBE/g Kot. Auch Bifidobakterien ließen sich bereits am 2. Tag nach der Geburt nachweisen und lagen bei durchschnittlich 10^8 KBE/g Kot, konnten jedoch am 41. Tag nach der Geburt nicht mehr mittels FISH nachgewiesen werden (Detektionslimit $\approx 10^6$ - 10^7 KBE/g). Während unter den Vertretern der milchsäurebildenden Bakterien bei menschlichen Neugeborenen Bifidobakterien zahlenmäßig überwiegen (Mitsuoka, 1992), dominieren bei zahlreichen Tierarten hingegen Laktobazillen (Schaedler et al., 1965; Fuller, 1973; Karney et al., 1986; Moughan et al., 1992). Bei Kälbern erreichen jedoch sowohl Laktobazillen als auch Bifidobakterien Werte von 10^7 - 10^9 KBE/g Kot (Wallace und Newbold, 1992; Rada et al., 2006; Vlkova et al., 2010). Für die Enterokokken wurden mittels kulturellen Verfahren durchschnittliche Werte zwischen 10^6 - 10^7 KBE/g Kot ermittelt (Vlkova et al., 2006; Vlkova et al., 2010). Während mit der Zeit die obligat anaeroben Bakterien dominieren, nimmt die Zahl der Enterokokken und *E. coli* wieder ab (Smith, 1965). Mit zunehmendem Alter sinken die Gesamtkeimzahlen ab und erreichen bei Kälbern über 26 Wochen häufig nur noch Werte von ca. 10^6 KBE/g Kot (Smith und Crabb, 1961). Beim Vergleich der kulturell ermittelten Keimzahlen innerhalb verschiedener Darmabschnitte konnten bei Kälbern im Alter von 20 Wochen Laktobazillen im Vergleich zu Coliformen, Enterokokken und Bifidobakterien in allen Kompartimenten als dominante Keimgruppe detektiert werden (Vlkova et al., 2006).

Neuere, auf molekularbiologischen Methoden basierende Studien konnten bei Kälbern weitere Keime als Erstbesiedler ausmachen. Lukas et al. (2007) wiesen in ihrer Untersuchung an zwei Kälbern mittels PCR-DGGE beispielsweise *E. coli* und *Bifidobacterium animalis* nach. Zudem konnten sie *Faecalibacterium prausnitzii* ab dem 3. Tag nach der Geburt detektieren (Lukas et al., 2007). Auch andere molekularbiologische Studien weisen *Faecalibacterium* spp. als dominanten Besiedler des Intestinaltraktes von Kälbern aus (Uyeno et al., 2010; Oikonomou et al., 2013). Nach sechs Tagen wurde die Zusammensetzung der Mikroorganismen komplexer und zeigte deutliche Unterschiede zwischen einzelnen Kälbern. Darüber hinaus konnten ab diesem Zeitpunkt vermehrt bis dato noch nicht kultivierte Bakterien nachgewiesen werden (Lukas et al., 2007). Auch Mayer et al. (2012) beobachteten mittels PCR-SSCP nach sieben Tagen komplexere Profile und eine Häufung von bisher unkultivierten Bakterien. Als Erstbesiedler ermittelten sie *Citrobacter* spp. und neben Laktobazillen noch andere Milchsäurebakterien wie *Lactococcus* spp. und *Leuconostoc* spp. In Übereinstimmung mit kulturellen Studien wurden auch hier *E. coli* als dominante Bakterienspezies zwischen Tag 1 und Tag 7 identifiziert. Nach drei bis sieben Tagen nahm die Intensität der *E. coli*-Bande ab, während zeitgleich Banden von *Bacteroides* spp. an Intensität zunahmen. Des Weiteren konnten individuell etwas verschieden Clostridien ab ca. 24 - 48 h detektiert werden. (Mayer et al., 2012). Die initiale Besiedelung des Darmtraktes mit vorwiegend aeroben oder fakultativ anaeroben Bakterien trägt zur Schaffung eines geeigneten Milieus für die obligat anaeroben Darmbakterien bei, welche schließlich mit über 90 % den Großteil der Darmflora des erwachsenen Tieres ausmachen (Stark und Lee, 1982; Isik K., 2004; Morelli, 2008). Die Zusammensetzung der Darmflora ausgewachsener Rinder unterscheidet sich deutlich von derjenigen junger Kälber. Laktobazillen, Enterokokken, Bifidobakterien und Enterobacteriaceae nehmen mit der Zeit ab, während Clostridien und *Bacteroides* zu den dominanten Vertretern der Darmflora des adulten Rindes zählen (Ozutsumi et al., 2005; Dowd et al., 2008; Uyeno et al., 2010). Jedoch unterscheidet sich die Zusammensetzung der intestinalen Mikroorganismen auch individuell von Tier zu Tier (Durso et al., 2010). Im Gegensatz zum Neugeborenen gibt es bei erwachsenen Individuen erhebliche Unterschiede in der Darmflorazusammensetzung zwischen den einzelnen Tierarten (Smith und Crabb, 1961; Ellis et al., 2013). Auch zeigt sich die intestinale Mikrobiota des Erwachsenen gegenüber externen Einflüssen, wie

beispielsweise diätetischer Beeinflussung, im Gegensatz zum Jungtier vergleichsweise stabil (Mackie et al., 1999; Guarner und Malagelada, 2003).

1.2 Einfluss der intestinalen Mikrobiota auf die Gesundheit des Kalbes

1.2.1 Metabolische Funktionen

Die erste Lebensphase bis zum Absetzen mit 6 - 8 Wochen ist für das Kalb mit enormen strukturellen und metabolischen Veränderungs- und Anpassungsprozessen verbunden: In der ersten Phase nach der Geburt gelangt die aufgenommene Milch zunächst über die Schlundrinne ohne Passage des Pansens direkt in den Labmagen. Funktionell unterscheidet sich das Milchkalb daher nur wenig von einem monogastrischen Tier (Moran, 2002). Mit der Aufnahme fester Nahrungsbestandteile entwickelt sich das Kalb schließlich durch Ausbildung der Vormägen zum funktionellen Wiederkäuer (Davis und Drackley, 1998). Dabei muss sich der gesamte Magen-Darm-Trakt auf die veränderte Nahrung umstellen. Hierfür spielt die Ansiedelung einer stabilen Mikroorganismenpopulation im Gastrointestinaltrakt des Kalbes eine entscheidende Rolle. Erst durch die mikrobielle Fermentation rohfaserreicher Nahrung zu kurzkettigen Fettsäuren werden das Wachstum und die Reifung des Vormagen- und Darmepithels stimuliert und damit die effektive Energiegewinnung aus pflanzlicher Nahrung ermöglicht (Davis und Drackley, 1998; Guarner und Malagelada, 2003). Neben der Nutzbarmachung von Energie aus per se unverdaulichen Nahrungsbestandteilen und endogen produziertem Schleim der Epithelschicht, spielen die Mikroorganismen des Magen-Darm-Trakts auch bei der Vitaminsynthese (Vitamin K, Biotin, Folsäure) und der Absorption von Kalzium-, Magnesium- und Eisenionen eine wichtige Rolle für den Wirt (Conly et al., 1994; Miyazawa et al., 1996; Hill, 1997; Hooper und Gordon, 2001; Younes et al., 2001; Hooper et al., 2002; Guarner und Malagelada, 2003).

1.2.2 Strukturelle und immunologische Funktionen

Aufgrund des Aufbaus der Plazenta von Wiederkäuern (Placenta epitheliochorialis) ist eine transplazentare Übertragung von Immunglobulinen nicht möglich (Schnorr und Kressin, 2011). Erst die Aufnahme von Kolostrum unmittelbar nach der Geburt führt zu einer ausreichenden Versorgung des Kalbes mit Immunglobulinen (Rademacher, 2007). Die Aufnahme der Immunglobuline wird nur durch die kurzzeitig nach der Geburt erhöhte Permeabilität des

Darmepithels ermöglicht (Jochims et al., 1994). Jedoch erleichtert die schwache Barriere der Darmschleimhaut auch das Eindringen von Toxinen und Bakterien, wodurch Entzündungen und Infektionen begünstigt werden (Patel und Lin, 2010). Einhergehend mit der Bildung neuer Epithelzellen sinkt bei Kälbern innerhalb von 24 h nach der Geburt die Permeabilität der Darmmukosa rapide ab (Jochims et al., 1994). Kommensale Darmbakterien beeinflussen die Proliferation und Differenzierung der intestinalen Epithelzellen (Alam et al., 1994; Gordon et al., 1997; Hooper und Gordon, 2001). Zusätzlich wird die Epithelbarriere durch die Anwesenheit bestimmter Bakterien, wie beispielsweise Laktobazillen, gestärkt, indem die Expression von Tight-Junction-Proteinen direkt beeinflusst wird (Isolauri et al., 1993; Malmuthuge et al., 2013). Das intakte Darmepithel stellt zusammen mit der Darmflora eine Barriere gegen das Eindringen von pathogenen Mikroorganismen, Antigenen und anderen Substanzen aus dem Darmlumen dar (Holzapfel et al., 1998).

Neben diesen Barrieremechanismen kommt insbesondere dem darmassoziierten lymphatischen Gewebe (GALT; gut-associated lymphoid tissue) eine besondere Schutzfunktion gegenüber Infektionserregern zu (Holzapfel et al., 1998; Frick und Autenrieth, 2009). Es stellt mit beinahe 80 % aller Immunglobulin produzierenden Zellen das größte lymphatische Organ des Körpers dar (Shanahan, 1994). Reifung und Entwicklung des Immunsystems hängen von Geburt an mit der Entwicklung und Zusammensetzung der kommensalen Mikroorganismen zusammen (Guarner und Malagelada, 2003; Nousiainen et al., 2004). Dies wird insbesondere an keimfrei gehaltenen Tieren deutlich: Im Vergleich zu konventionell gehaltenen Tieren zeigen sie Verminderungen in der Vaskularität, der Enzymaktivität, der Muskelwanddicke und der Cytokinproduktion im Darm. Zudem sind ihre Peyer'schen Plaques kleiner, die Anzahl der intraepithelialen Lymphozyten verringert und ihr Serumimmunglobulinspiegel erniedrigt (Thompson und Trexler, 1971; Falk et al., 1998; Butler et al., 2000; Tannock, 2001). Insgesamt zeigen solche keimfrei gehaltenen Tiere eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen (Collins und Carter, 1978; Fuller, 1978; Cebra, 1999). Während das intakte Immunsystem auf pathogene Mikroorganismen mit einer Inflamationsreaktion reagiert, sollte gegenüber apathogenen Keimen und Nahrungsbestandteilen keine Reaktion ausgelöst werden („orale Toleranz“) (Frick und Autenrieth, 2009). Dieser Mechanismus ist jedoch bei keimfrei gehaltenen

Tieren ebenfalls gestört, so dass natürliche Nahrungsbestandteile Immunreaktionen mit IgE-Produktion hervorrufen können (Sudo et al., 1997). Die Verabreichung einer intestinalen Mikroflora an keimfrei gehaltene Mäuse führt zu einer Wiederherstellung der physiologischen Funktionen des schleimhautassoziierten Immunsystems (Umesaki et al., 1995; Sudo et al., 1997). In der Studie von Sudo et al. (1997) gelang dies jedoch nur bei neugeborenen Tieren. Guarner und Malagelada (2003) kommen zu dem Schluss, dass nur die frühzeitige Auseinandersetzung des intestinalen lymphatischen Gewebes mit der Darmflora zu einer korrekten Entwicklung des Immunsystems führt. Abbildung 1 stellt die Wechselwirkungen zwischen GALT und Darmflora dar.

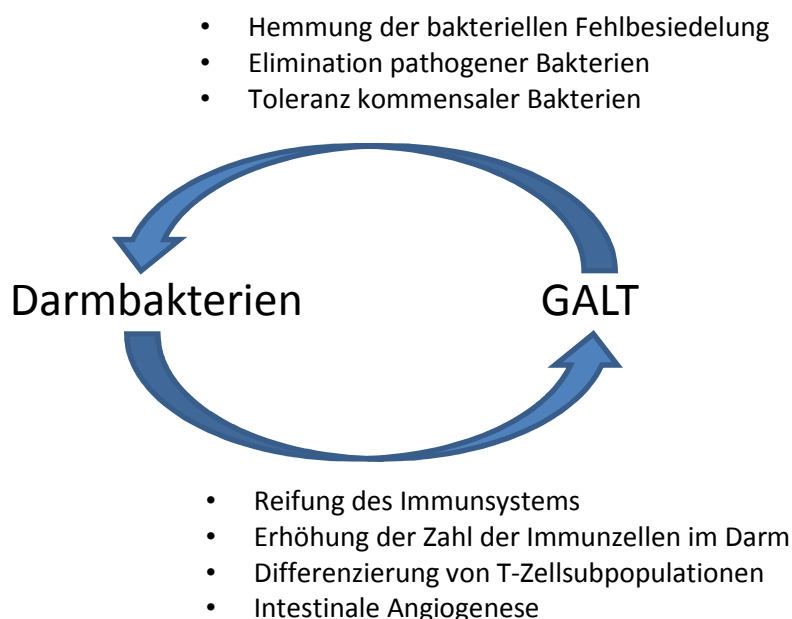


Abbildung 1: Wechselwirkungen zwischen GALT und Darmflora (nach Frick und Autenrieth, 2009)

1.2.3 Protektive Funktionen

Veränderungen der postnatalen Besiedelung des Darmtraktes können mit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber pathogenen Darmbakterien einhergehen (Barrow et al., 1977; Schulze et al., 1980). Kommensale Bakterien des Darms hingegen können über verschiedene protektive Wirkmechanismen der Vermehrung und Ansiedelung pathogener Mikroorganismen entgegenwirken („competitive exclusion“) (Fuller, 1992; Nousiainen et al., 2004):

1) Konkurrenz um Adhäsionsrezeptoren

Die Ansiedelung von Bakterien im Darmtrakt hängt von ihrer Fähigkeit zur Bindung an das intestinale Epithel ab, da sie so einer Ausschwemmung durch die Darmperistaltik entgehen können (Ouwehand und Vesterlund, 2004). Die Fähigkeit zur Adhärenz ist mitunter auch ein entscheidendes Kriterium für die Pathogenität von Bakterien (Mayr, 2007). Kommensale Darmbakterien können pathogene Bakterien verdrängen, indem sie mit ihnen um Ligandenstellen an der Darmschleimhaut konkurrieren und damit die Anheftung pathogener Mikroorganismen an die Darmzellen verhindern (Fuller, 1992; Nousiainen et al., 2004; Servin, 2004; Sengupta et al., 2013). Neeser et al. (2000) konnten beispielsweise zeigen, dass *L. johnsonii* La 1 über Oberflächenadhäsine verfügt, die auch bei verschiedenen Enteropathogenen vorkommen. Diverse Studien belegen, dass einige Laktobazillenstämme die Bindung verschiedener Darmpathogene (*E. coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) an die Darmschleimhaut verhindern können (Coconnier et al., 1993; Bernet et al., 1994; Forestier et al., 2001; Lee et al., 2003; Gusils et al., 1999).

2) Konkurrenz um Nährstoffe

Bakterien der autochthonen Intestinalflora konkurrieren um verfügbare Nährstoffe im Darm und können somit unter Umständen die Vermehrung pathogener Keime verringern (Fuller, 1992; Hooper et al., 1999).

3) Bildung antimikrobiell wirksamer Substanzen

Einen weiteren schützenden Effekt stellt möglicherweise die Bildung antimikrobiell wirksamer Substanzen dar (Lievin et al., 2000; Ouwehand und Vesterlund, 2004; Volzing et al., 2013). Die Bildung antimikrobieller Substanzen durch Milchsäurebakterien dient traditionell der Konservierung von Lebensmitteln, wie beispielsweise der Haltbarmachung von Milch, Fleisch und Gemüse durch Fermentation (Ouwehand und Vesterlund, 2004). In vitro konnte die Wirksamkeit verschiedener antimikrobieller Substanzen gegen pathogene Mikroorganismen bereits unter Beweis gestellt werden (Axelsson et al., 1989; Lievin et al., 2000). Ob diese Substanzen jedoch auch im Intestinaltrakt eine protektive Funktion erfüllen, ist noch nicht vollständig geklärt (Nousiainen et al., 2004).

Bakteriozine

Bakteriozine sind ribosomal synthetisierte, antimikrobielle Proteine mit hohem Molekulargewicht, die von einer Vielzahl von Bakterien gebildet werden. Durch Erkennung spezifischer Oberflächenrezeptoren gelangt das Bakteriozin in das Zellinnere und entfaltet seine Wirkung durch Bildung von Ionenkanälen in der Zytoplasmamembran, durch Degradation der zellulären DNA, durch Hemmung der Proteinsynthese oder durch Zelllyse (Ouwehand und Vesterlund, 2004; Riley, 2011). Während früher davon ausgegangen wurde, dass Bakteriozine nur nahe verwandte Stämme oder Spezies abtöten (Tagg et al., 1976), verfügen sie tatsächlich häufig über ein großes Wirkspektrum gegen grampositive, und, zu einem geringeren Anteil, auch gegen gramnegative Bakterien (Cintas et al., 2011). Zu den Bakteriozinen zählen beispielsweise das von *Lactococcus lactis* gebildete Nisin oder das von *Lactobacillus plantarum* gebildete Plantaricin (Ouwehand und Vesterlund, 2004).

Niedermolekulare antimikrobielle Substanzen

Neben ihrem niedrigen Molekulargewicht haben diese Substanzen weitere Gemeinsamkeiten: Sie sind thermostabil, weisen ein breites Aktivitätsspektrum auf und sind zudem löslich in Aceton (Ouwehand und Vesterlund, 2004). Zu diesen Substanzen zählt beispielsweise das von *Lactobacillus reuteri* gebildete Reuterin (3-Hydroxypropionaldehyd; 3-HPA), das mit Hilfe der Glycerol-Dehydratase aus Glycerol gebildet wird (Talarico et al., 1988; Talarico und Dobrogosz, 1989). Reuterin verfügt über ein breites Wirkspektrum gegen Bakterien, Pilze und Protozoen (Axelsson et al., 1989; Cleusix et al., 2007). 3-HPA kann in wässrigen Lösungen verschiedene Formen annehmen (Abbildung 2). Aufgrund der unterschiedlichen Strukturen, die Reuterin annimmt, ist der Wirkmechanismus bislang noch nicht vollständig geklärt. Eine Hypothese besagt, dass das Dimer des Reuterins, welches Ähnlichkeiten mit der Ribose aufweist, als kompetitiver Inhibitor der Ribonukleotid-Reduktase fungiert und damit zu einer Hemmung der DNA-Synthese führt (Talarico und Dobrogosz, 1989). Neure Studien deuten jedoch darauf hin, dass die Aldehydgruppe des Reuterins mit Thiolgruppen und primären Aminen interagiert und dadurch Proteine inaktivieren kann (Vollenweider und Lacroix, 2004; Schaefer et al., 2010).

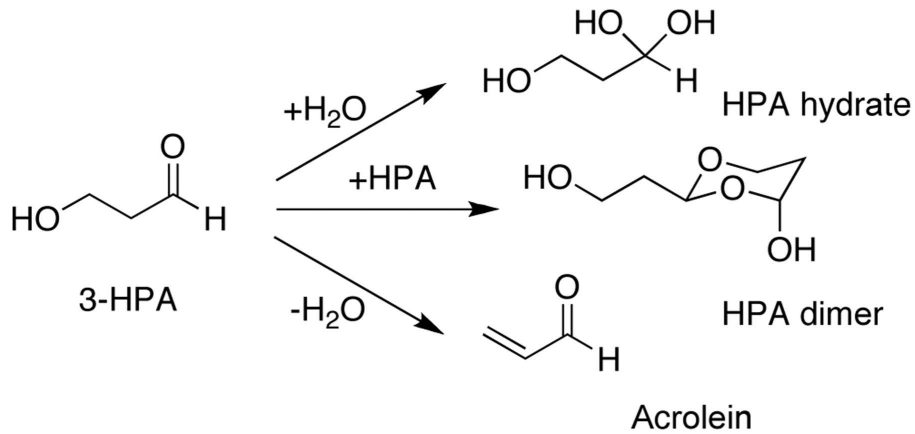


Abbildung 2: Reuterin (3-HPA) und seine verschiedenen Formen (Schaefer et al., 2010)

Reutericyclin ist eine weitere niedermolekulare, antimikrobielle Substanz, die von einigen *L. reuteri*-Stämmen produziert wird. Es handelt sich um ein negativ geladenes, stark hydrophobes Molekül, welches als Protonen-Ionophor wirkt. Die antimikrobielle Wirkung erstreckt sich auf eine Vielzahl von grampositiven Bakterien; gramnegative Bakterien erweisen sich hingegen aufgrund von Barriereigenschaften ihrer äußeren Membran als resistent (Höltzel et al., 2000; Gänzle, 2004). Die Fähigkeit zur Bildung von potenten antimikrobiellen Komponenten zusätzlich zu Bakteriozinen ist unter den Milchsäurebakterien einzigartig für *L. reuteri* (Gänzle, 2004).

Diacetyl

Diacetyl wird von Milchsäurebakterien verschiedener Gattungen gebildet. Gramnegative Bakterien und Hefen zeigen sich besonders sensibel gegenüber Diacetyl, während Milchsäurebakterien am wenigsten beeinflusst werden. Dies liegt vermutlich an der Interaktion mit dem Arginine-Binding-Protein gramnegativer Bakterien, wodurch die Verfügbarkeit der Aminosäure Arginin eingeschränkt wird (Lindgren und Dobrogosz, 1990; Ouwehand und Vesterlund, 2004).

Wasserstoffperoxid

Milchsäurebakterien sind durch verschiedene Enzyme (z. B. NADH-Oxidase, Superoxid-Dismutase) in der Lage, Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zu bilden. H_2O_2 wirkt aufgrund seines starken oxidativen Potentials bakterizid, indem es Sulfhydrylgruppen von Proteinen und Membranlipiden oxidiert. Zudem

katalysiert die Lactoperoxidase (LPO), die z. B. in Milch und Speichel vorkommt, die Oxidation von H_2O_2 und Thiocyanat zu Hypothiocyanit, welches auf grampositive Bakterien einen bakteriostatischen, auf gramnegative Bakterien jedoch einen bakteriziden Effekt hat (Lindgren und Dobrogosz, 1990; Ouwehand und Vesterlund, 2004).

Organische Säuren

Bei der Fermentation von Zuckern durch Laktobazillen entstehen organische Säuren wie Milchsäure oder Essigsäure. Im Vergleich zur Milchsäure erweist sich Essigsäure als stärkerer Inhibitor, mit einem breiten Wirkspektrum gegen Hefen, Schimmelpilze und Bakterien. Allerdings scheinen sich beide Säuren synergistisch zu beeinflussen, da eine Mischung aus beiden Säuren effektiver wirkt als jede Säure für sich (Rubin, 1978). Neben der pH-Wert-senkenden Wirkung zeigt Milchsäure zudem einen permeabilisierenden Effekt auf die Zellmembran (stärker als HCl) und kann damit die Wirkung anderer antimikrobieller Stoffe potenzieren (Alakomi et al., 2000).

1.3 Probiotika

1.3.1 Definition und Wirkungsweise

Die Geschichte der Probiotika geht auf den Nobelpreisträger Elie Metchnikoff zurück, der in seinem Buch „The prologation of life“ bereits 1907 die Einnahme von laktobazillenhaltigem Joghurt als gesundheitsfördernd und lebensverlängernd ansah und dies auf eine Veränderung der Darmflora zurückführte (Metchnikoff, 1907). Basierend auf seinen Ideen wurde der erste industriell hergestellte Joghurt entwickelt, der zur Behandlung von durchfallkranken Kindern dienen sollte (Vrese und Schrezenmeir, 2008). Die erste allgemein anerkannte Definition für das Wort „Probiotikum“ stammt von Fuller (1989): [a probiotic is] „a live microbial feed supplement which beneficially affects the host animal by improving its intestinal microbial balance“. Spätere Definitionen, wie beispielsweise die der FAO/WHO (2001), beziehen sich nicht nur auf die Auswirkungen auf die Darmflora, sondern auf die Gesundheit im Allgemeinen und schließen zudem den Menschen als Wirt ein: [probiotics are] „live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host“.

Über die bereits in 1.2 dargelegten Mechanismen können probiotische Mikroorganismen Einfluss auf die Gesundheit des Wirtes nehmen. Neben der direkten Wirkung auf pathogene Mikroorganismen (Produktion antimikrobieller Substanzen, Konkurrenz um Bindungsstellen, Konkurrenz um Nährstoffe), können sie auch Bakterien der autochthonen Darmflora, die ihrerseits über positive Eigenschaften verfügen, beeinflussen (Fuller, 1992; O'Hara und Shanahan, 2007). Beispielsweise fördert der als Probiotikum verwendete Stamm *Enterococcus faecium* SF68 die Regeneration subletal geschädigter *Lactobacillus reuteri* nach Antibiotikaaanwendung (Du Toit et al., 1998). Des Weiteren können sie über die Stärkung der Schleimhautbarriere des Darms die Schutzfunktionen gegenüber eindringenden Pathogenen erhöhen (Holzapfel et al., 1998; O'Hara und Shanahan, 2007). Zudem wirkt sich der Einsatz probiotischer Mikroorganismen durch Modulationen des Immunsystems auch auf andere Organe aus (Fuller, 1992; Vrese und Schrezenmeir, 2008).

1.3.2 Auswahlkriterien für Probiotika

Holzapfel et al. (1998) nennen 3 Kategorien, die als Kriterien für die Auswahl probiotischer Bakterien herangezogen werden:

Allgemeine mikrobiologische Kriterien

Hierunter fällt als wichtigstes Kriterium die Sicherheit für den Wirt, also die Apathogenität des ausgewählten Stammes (Holzapfel et al., 1998). Insbesondere Laktobazillen werden aufgrund ihrer langen und weit verbreiteten Anwendung als probiotische Bakterien als sicher eingestuft (FAO/WHO, 2001; Ouwehand et al., 2002). Sie besitzen im Allgemeinen GRAS-Status (generally recognized as safe), da sie als kommensale Darmbakterien nur äußerst selten mit Krankheiten in Verbindung gebracht werden (Salminen et al., 1998). Auch Laktokokken und Bifidobakterien weisen keine pathogenen Eigenschaften auf (Aguirre und Collins, 1993). Die wenigen Fälle, bei denen Laktobazillen eine Infektion verursachten, traten zumeist bei Patienten mit schweren zugrundeliegenden Vorerkrankungen oder Immunsuppression auf (Saxelin et al., 1996; Husni et al., 1997). Im Gegensatz dazu werden Enterokokken häufiger mit nosokomialen Infektionen wie Bakteriämie und Endokarditis in Verbindung gebracht. Zudem spielen sie eine Rolle in der Übertragung von Resistenzgenen gegen Antibiotika, insbesondere Vancomycin (Salminen et al., 1998; Franz et al., 2011). Wie bei Enterokokken

können auch bei anderen probiotischen Mikroorganismen Antibiotikaresistenzen auftreten, die unter Umständen auf andere, möglicherweise pathogene Bakterien übertragen werden können (Salminen et al., 1998). Bei der Auswahl probiotischer Bakterienstämme sollte daher darauf geachtet werden, dass sie keine übertragbaren Antibiotika-Resistenzgene enthalten (FAO/WHO, 2002). Von der EFSA (2012a) wurden diesbezüglich Cut-off-Werte zur Bestimmung der phänotypischen Resistenzen probiotisch häufig eingesetzter Bakterien gegenüber verschiedenen Antibiotika festgelegt.

Neben dem Sicherheitsaspekt zählt zu den allgemeinen mikrobiologischen Kriterien auch das Überleben des ausgewählten Stammes während der Magen-Darm-Passage (Holzapfel et al., 1998; Ouwehand et al., 2002). Aufgrund der wirtsspezifischen Wechselwirkungen spielt zudem der Ursprung des Stammes eine Rolle (Holzapfel et al., 1998; Saarela et al., 2000; Ouwehand et al., 2002). So wird durch indigene Bakterienstämme eine wesentlich bessere Ansiedelung und eine deutlich stärkere Aktivierung des Immunsystems erreicht als mit artfremden Bakterien (Fuller, 1997; Vinderola et al., 2004). Auch bei Kälbern konnten beispielsweise Gilliland et al. (1989) bei der Verabreichung von *Lactobacillus acidophilus* bessere Effekte mit einem kälberspezifischen Stamm erzielen.

Technologische Kriterien

Die technologischen Kriterien spiegeln wider, inwieweit sich ein Stamm für die industrielle Herstellung eines probiotischen Produktes eignet. Hierbei spielen Anzuchtbedingen sowie Verarbeitungs- und Haltbarkeitsaspekte eine wichtige Rolle (Holzapfel et al., 1998; Saarela et al., 2000).

Funktionale Kriterien

Funktionale Kriterien beziehen sich auf die gesundheitsfördernden Wirkungen eines ausgewählten Stammes. Hierzu können sowohl die zugrundeliegenden Wirkmechanismen (s. 1.2) als auch die resultierenden klinischen Effekte betrachtet werden (Holzapfel et al., 1998; Saarela et al., 2000). Bei der Bewertung der funktionalen Eignung eines Stammes werden in vitro insbesondere folgende Eigenschaften überprüft: antimikrobielle Aktivität, Bindungseigenschaften an intestinale Epithelzellen und immunmodulatorische Eigenschaften (Salminen et al., 1998; Saarela et al., 2000).

1.3.3 Als Probiotika verwendete Mikroorganismen

Als Probiotika finden viele verschiedene Mikroorganismen-Arten Verwendung. Am häufigsten werden jedoch Milchsäurebakterien, allen voran Laktobazillen, aber auch Enterokokken, eingesetzt (Salminen et al., 1998).

1.3.3.1 Gattung *Lactobacillus*

Laktobazillen sind grampositive, kokkoide bis fadenförmige Stäbchenbakterien, die keine Sporen ausbilden. Sie verhalten sich mikroaerophil bis anaerob und zeigen sich tolerant gegenüber niedrigen pH-Werten. Innerhalb der Milchsäurebakterien stellen sie mit 97 Spezies die artenreichste Gattung dar (Dellaglio und Felis, 2005). Laktobazillen verwerten Glucose entweder homofermentativ, einhergehend mit der Produktion von über 85 % Milchsäure, oder heterofermentativ, wobei Milchsäure, CO₂ und Ethanol gebildet werden. Laktobazillen stellen komplexe Ansprüche an ihre Ernährung und kommen daher besonders in kohlenhydratreichen Lebensräumen vor. Natürliches Habitat sind Schleimhäute von Mensch und Tier (Mundhöhle, Vagina, Intestinaltrakt), Pflanzen und fermentierte Lebens- und Futtermittel (Hammes und Vogel, 1995; Dellaglio und Felis, 2005). Die Schwierigkeit der taxonomischen Einordnung der Laktobazillenarten liegt in der Diskrepanz zwischen metabolischen Eigenschaften und phylogenetischen Beziehungen (Dellaglio und Felis, 2005). Anhand des Fermentationstyps werden Laktobazillen in drei Gruppen unterteilt: Gruppe A (obligat homofermentativ), Gruppe B (fakultativ heterofermentativ) und Gruppe C (obligat heterofermentativ) (Hammes und Vogel, 1995). Basierend auf phylogenetischen Verwandtschaftsbeziehungen wird die Gattung nach Dellaglio und Felis (2005) in acht Gruppen unterteilt. Dies sind die *L.-buchneri*-Gruppe, die *L.-delbrueckii*-Gruppe, die *L.-casei*-Gruppe, die *L.-plantarum*-Gruppe, die *L.-reuteri*-Gruppe, die *L.-sakei*-Gruppe, die *L.-salivarius*-Gruppe und die *L.-brevis*-Gruppe.

Laktobazillen gelten im Allgemeinen als sicher für die Anwendung als Probiotikum, da sie nur in seltenen Ausnahmefällen mit opportunistischen Infektionen in Verbindung gebracht werden (Borriello et al., 2003). Sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin werden Laktobazillen am häufigsten für die Verwendung als Probiotikum eingesetzt (Ouwehand et al., 2002). In klinischen Studien werden hierfür insbesondere Stämme von *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. johnsonii* und *L. plantarum* verwendet (Saarela et al.,

2000). Bei ihnen konnten zum Teil bereits verschiedene positive Effekte wie z. B. die Prävention oder verbesserte Therapie von Durchfällen beobachtet werden (Isolauri et al., 1991; Bennett et al., 1996; Shornikova et al., 1997a; Shornikova et al., 1997b).

1.3.3.2 Gattung *Enterococcus*

Enterokokken sind grampositive, sporenlose, fakultativ anaerobe Kokken, die sowohl einzeln als auch in Paaren oder in Ketten auftreten (Foulquié Moreno et al., 2006). Bis in die 1980er Jahre wurden sie zu den Streptokokken gezählt, bis diese in die Gattungen *Streptococcus*, *Lactococcus* und *Enterococcus* unterteilt wurden (Devriese und Pot, 1995). Zu den Enterokokken werden 37 Arten gezählt, die aufgrund genetischer Verwandtschaftsanalysen in 7 Gruppen unterteilt werden (Franz et al., 2011). Enterokokken kommen in zahlreichen Habitaten, wie beispielsweise im Erdboden und Abwasser, auf Pflanzen und im Gastrointestinaltrakt von Mensch und Tier vor. Daher spielen Enterokokken auch bei Kontaminationen tierischer Produkte eine wichtige Rolle (Franz et al., 2011). Enterokokken sind äußerst widerstandsfähig, wachsen bis auf wenige Ausnahmen bei Temperaturen zwischen 10 und 45 °C und sind relativ unempfindlich gegenüber Hitze und hohen pH-Werten (Foulquié Moreno et al., 2006). Wie Laktobazillen werden auch Enterokokken als Probiotika eingesetzt. Sie werden insbesondere als Zusatzstoffe in der Geflügel- und Schweineernährung eingesetzt, zum Teil jedoch auch als Therapeutikum für Menschen. Während *Ent. faecium* vor allem als Probiotikum für Tiere Verwendung findet, wird *Ent. faecalis* in erster Linie im Humanbereich eingesetzt (Klein et al., 1998). Bei einigen Stämmen konnten positive Effekte bei der Behandlung von Durchfällen bzw. bei der Verhinderung der Adhäsion pathogener Bakterien an die Darmmukosa beobachtet werden (Underdahl et al., 1982; Zeyner und Boldt, 2006; Bednorz et al., 2013). Aufgrund der Bedeutung als Infektionserreger und der möglichen Gefahr der Übertragung von Resistenzgenen spricht sich die FAO/WHO (2001) jedoch gegen eine Verwendung von Enterokokken als Probiotikum im Humanbereich aus.

1.3.3.3 Weitere als Probiotika verwendete Mikroorganismen

Neben Laktobazillen und Enterokokken werden noch weitere Bakterien als Probiotika verwendet; darunter beispielsweise verschiedene *Bifidobacterium*-

Spezies (*Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*), Laktokokken (*Lactococcus lactis*), Streptokokken (*Streptococcus thermophilus*), Bazillen (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) und *Escherichia coli* (*E. coli* „Nissle 1917“). Darüber hinaus werden auch Pilze (z. B. *Saccharomyces cerevisiae*) als Probiotika eingesetzt (Fuller, 1992; Holzapfel et al., 1998; Vrese und Schrezenmeir, 2008).

1.3.4 Probiotika beim Kalb

Zum Einsatz und zur Wirkung von Probiotika speziell beim Kalb existieren nur wenige wissenschaftliche Publikationen, die im Folgenden näher erläutert werden sollen: In einer kürzlich veröffentlichten Studie verabreichten Malik und Bandla (2010) verschiedene Probiotika (*Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*) und exogene fibrolytische Enzyme an Büffelkälber. Sie konnten einen positiven Effekt hinsichtlich täglicher Zunahmen und Fütterungseffizienz nachweisen. Fleige et al. (2009) zeigten eine gewisse immunmodulatorische Wirkung von mit *Enterococcus faecium* versetzten Milchaustauschern auf. Ein probiotisches Präparat für Tiere, entwickelt auf der Basis der aeroben Intestinalflora des Menschen, bestehend aus *Escherichia coli* G35No1-413, G35No2-412, G35No3-411 und *Enterococcus faecalis* G35No4-410, wurde in der Ukraine zur Zulassung angemeldet, nachdem ein positiver Effekt auf den Protein- und Mineralmetabolismus verzeichnet wurde (Rieznichenko et al., 2008). *Lactobacillus casei* ssp. *casei* soll die Milchleistung steigern (Yasuda et al., 2007). Donovan et al. (2002) stellten fest, dass das Probiotikum Enteroguard, eine Mischung aus Fructooligosacchariden, Allicin und nicht näher definierten Probiotika, hinsichtlich täglicher Zunahmen und Fütterungseffizienz ebenso wirksam ist wie (EU-weit nicht mehr zugelassene (EG 1831/2003)) antibiotikahaltige Milchaustauscher. Die Verabreichung ausgewählter Bakterienisolate, wie z. B. *E. coli*, *Streptococcus bovis* LCB 6 und *Lactobacillus gallinarum* LCB 12, teilweise in Kombination, führte meist zu einer Reduktion der Ausscheidung von enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) bei experimentell infizierten Kälbern (Ohya et al., 2000; Tkalcic et al., 2003; Zhao, 2003; Schamberger et al., 2004). Eine eventuelle durchfallprophylaktische Wirkung der jeweiligen Probiotika wurde in diesen Studien nicht erfasst.

Folgende Studien berücksichtigen auch die Auswirkungen auf die Darmgesundheit: Abe et al. (1995), Galvao et al. (2005) sowie Mokhber-Dezfouli et al. (2007)

registrierten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine niedrigere Anzahl durchfallkranker Kälber nach der Verabreichung von *Bifidobacterium pseudolongum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* und nicht näher definierten Probiotika. Der Einsatz von *Lactobacillus rhamnosus* GG führte zu einer messbaren, jedoch statistisch nicht signifikanten Senkung der Mortalitätsrate und zu einer nicht signifikanten Erhöhung der Trockenmasse im Kot durchfallkranker Kälber (Ewaschuk et al., 2004; Ewaschuk et al., 2006). In der Studie von Cruywagen et al. (1996) zeigten sich bei Fütterung mit *Lactobacillus-acidophilus*-haltigem Milchaustauscher positive Auswirkungen auf das Körpergewicht; eine Reduktion der Durchfallhäufigkeit war jedoch nicht feststellbar. Magalhaes et al. (2008) stellten fest, dass eine Behandlung mit *Saccharomyces cerevisiae* Durchfälle zwar nicht verhindern, aber anscheinend zumindest zu einer Verkürzung der Dauer sowie zu einer Reduktion der Ausprägung der klinischen Symptome führen kann. Erhard et al. (2000) verabreichten Kälbern das Probiotikum ToyoCerin® (Fa. Lohmann Animal Health), welches den Stamm *Bacillus cereus* var. *toyoi* enthält. Sie konnten damit geringfügige Verbesserungen bei der Durchfalldauer und einen leicht verzögerten Durchfallbeginn feststellen.

Zusammenfassend scheinen verschiedene Probiotika insgesamt gewisse positive Effekte auszulösen - der durchschlagende Erfolg im Hinblick auf die Durchfallprävention bei Kälbern wurde jedoch noch nicht erzielt. Die in den genannten Studien als Probiotika eingesetzten Mikroorganismen wurden meist nicht direkt aus dem Rind, sondern z. B. aus Menschen bzw. anderen Tierarten isoliert und ursprünglich nicht primär für den Einsatz beim Kalb entwickelt. Daher verfolgten Nader-Macias et al. (2008) den Ansatz der Entwicklung eines „rinderspezifischen“ Probiotikums, indem sie verschiedene Milchsäurebakterien aus Vaginaltrakt, Euter, Faeces und Mundhöhle von Rindern isolierten und auf deren Produktion bestimmter antagonistisch wirksamer Substanzen beurteilten. Timmermann et al. (2005) testeten neben einem „Multispezies-Probiotikum“, bestehend aus den vom Menschen isolierten Stämmen *Lactobacillus acidophilus* W55, *Lactobacillus salivarius* W57, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* W56, *Lactobacillus plantarum* W59, *Lactococcus lactis* W58 und *Enterococcus faecium* W54, ein kälberspezifisches Probiotikum. Letztgenanntes Probiotikum besteht aus den sechs Stämmen *Lactobacillus sanfranciscensis*, *L. bif fermentans*, *L. viridescens*, *L. confusus*, *L. kefir*/*L. reuteri*, *L. fermentum*, die direkt aus Kälberfaeces isoliert wurden. Als Auswahlkriterien dienten verschiedene für Probiotika erwünschte Eigenschaften, wie z. B. die Inhibierung von *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium und

E. coli. Die Wissenschaftler konnten bei der Anwendung der Probiotika generell erhöhte tägliche Zunahmen sowie eine verbesserte Gesundheit, messbar unter anderem an einer reduzierten Durchfallinzidenz, nachweisen. Ein klarer Unterschied zwischen der Wirkung des Multispezies-Probiotikums und des kälberspezifischen Probiotikums war jedoch nicht erkennbar. Auch Abu-Tarboush et al. (1996) verglichen ein kommerzielles Probiotikum, welches *Lactobacillus acidophilus* und *Lactobacillus plantarum* enthielt, mit einem kälberspezifischen *Lactobacillus acidophilus*-Stamm. Sie konnten keine Effekte auf das Körpergewicht verzeichnen, stellten aber in der Gruppe, die den kälberspezifischen Stamm erhielt, eine verminderte Durchfallinzidenz in den Wochen 5, 7 und 8 nach der Geburt fest. In der ersten Lebenswoche trat jedoch bei allen Kälbern, unabhängig von der Behandlung, Durchfall auf. Ähnlich gingen auch Frizzo et al. (2010) vor, die ein Probiotikum verwendeten, das die aus Kälbern isolierten Stämme *Lactobacillus casei* DSPV 318T, *Lactobacillus salivarius* DSPV 315T und *Pediococcus acidilactici* DSPV 006T enthielt. Sie stellten Verbesserungen bei der Gewichtszunahme fest, konnten aber keinen Effekt auf die Kotkonsistenz verzeichnen. In einer weiteren Untersuchung verabreichten sie das Probiotikum an oral mit *Salmonella* Dublin infizierte Kälber. Trotz des Probiotikums befielen die Salmonellen Leber und Niere, jedoch fielen die histopathologischen Veränderungen deutlich milder aus als in der Kontrollgruppe (Frizzo et al., 2012). Gilliland et al. (1980) untersuchten die Auswirkungen von zwei *Lactobacillus acidophilus*-Stämmen unterschiedlichen Ursprungs auf die Zusammensetzung der Darmflora. Eine Gruppe erhielt einen Stamm menschlichen Ursprungs, die andere einen Stamm, der aus Kälberfaeces isoliert wurde. Beide Gruppen zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte Laktobazillenzahlen, gekoppelt mit einem stärkeren Abfall der Coliformen. Die Veränderungen in der Zusammensetzung der Darmflora fielen in der Gruppe, die den kälberspezifischen *L. acidophilus*-Stamm erhielt, jedoch deutlich größer aus.

2 Neonatale Diarrhoe bei Kälbern

2.1 Bedeutung

Durchfall gilt als die häufigste und wirtschaftlich bedeutendste Erkrankung junger Kälber (Elze et al., 1994; Doll et al., 1995). Bei Auftreten innerhalb der ersten zwei Lebenswochen wird dieser als Neugeborenendurchfall bezeichnet (Klee, 1989). In den ersten Lebenswochen steht Durchfall mit 80 % an der Spitze der Erkrankungen junger Kälber (Bothmer und Budde, 1992). Fünf bis zehn Prozent der lebend geborenen Kälber verenden innerhalb der ersten Lebenswochen (Kaske und Kunz, 2003). Dabei sind die ersten beiden Lebenswochen als besonders kritisch einzustufen: Etwa 60 % aller Kälber verenden in der ersten, weitere 20 - 30 % in der zweiten Lebenswoche (Bendali et al., 1999a; Fröhner und Reiter, 2005; Brändle, 2006). Laut Brändle (2006) lassen sich ca. 75 % der infektiös bedingten Kälberverluste auf Durchfall zurückführen. Weitere europäische, wie auch amerikanische Untersuchungen führen zu dem Ergebnis, dass Neugeborenendurchfall als Hauptgrund für Todesfälle innerhalb der ersten Lebenswochen der Kälber anzusehen ist (Hinrichs, 1992; Virtala et al., 1996a; Lorenz, 2006; Svensson et al., 2006; Gulliksen et al., 2009b).

In Bayern werden jährlich über eine Million Kälber geboren. 2012 verendeten bis zum Alter von maximal sechs Wochen 6,3 % der weiblichen Kälber bzw. bis zum Alter von maximal 30 Tagen 9,8 % der männlichen Kälber (inkl. Totgeburten). Der Anteil der tot geborenen Kälber betrug 3,9 % (LKV Bayern (Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V.), 2012). Für den Landwirt sind diese Verluste mit enormen wirtschaftlichen Einbußen verbunden. Zu den wirtschaftlichen Verlusten zählt hierbei nicht nur der Wert des einzelnen Kalbes. Hinzu kommen Lohn- und Futterkosten und bei notwendigen Behandlungen zusätzliche Tierarzt- und Medikamentenkosten (Roy, 1990; Moran, 2002; Brändle, 2006). Tabelle 1 zeigt eine Schätzung der durchfallbedingten Aufzuchtverluste und damit verbundene Kosten für den Landwirt.

Tabelle 1: Schätzung der Kosten durch diarrhoebedingte Kälberverluste in Bayern im Jahr 2012 (nach Brändle, 2006 und LKV Bayern, 2012)

	Anzahl [n]
Lebende Kälber pro Jahr	1.106.800
Aufzuchtverluste insgesamt, ♂ [ca. 5,9 %]	34.230
Aufzuchtverluste insgesamt, ♀ [ca. 2,4 %]	12.640
Durchfallbedingte Aufzuchtverluste, ♂ [50 %]	17.120
Durchfallbedingte Aufzuchtverluste, ♀ [50 %]	6.320
	Kosten [€]
Pekuniärer Verlust [Kalb ♂: 313 €; Kalb ♀: 205 €]	6.654.160
Lohn- und Futterkosten [ø 29 € pro Kalb]	679.760
Tierarzt- und Medikamentenkosten [ø 40 € pro Kalb]	937.600
Gesamtsumme	8.271.520

Jährlich entstehen somit allein in Bayern diarrhoebedingte wirtschaftliche Verluste von über 8 Millionen Euro pro Jahr. Die durch den Tod eines Kalbes entstehenden wirtschaftlichen Einbußen stellen jedoch nur die Spitze des Eisbergs dar. Hinzu kommen noch Kosten, welche durch behandlungsbedürftige, überlebende Kälber entstehen. Die Angaben zur Inzidenz von Durchfallerkrankungen in Bayern unterscheiden sich je nach Studie stark. Beurteilten die Landwirte über einen Fragebogen selbst die Durchfallinzidenz, so lag diese bei 15,4 % und 28,4 % (Katikaridis, 2000; Biewer, 2001). Wurde die Kotbeschaffenheit hingegen täglich von einem Tierarzt beurteilt, lag die Inzidenz bei 47,8 % bzw. 53,7 % (Girnius, 2004; Reski-Weide, 2013). Bei einer angenommenen Durchfallrate von lediglich 20 % kommen zu den Verlusten durch verendete Kälber mindestens weitere 850.000 € an Behandlungskosten für überlebende Kälber hinzu. Zusätzliche Folgeeinbußen entstehen durch Wachstums- und Leistungsdepressionen, die im Anschluss an Erkrankungen in der Aufzuchtphase auftreten können. Deutlich wird dieser Zusammenhang insbesondere in geringeren Größen- und Gewichtszunahmen, einem späteren Erstkalbealter und einer höheren Abgangsrate im Vergleich zu nicht erkrankten

Kälbern (Waltner-Toews et al., 1986; Virtala et al., 1996b; Donovan et al., 1998b; Trilk und Münch, 2004). Weitere, schwer zu beziffernde Einbußen ergeben sich aus einer geringeren Selektionsmöglichkeit bei der Zucht und damit verbundenem verringertem Zuchtfortschritt. Der daraufhin häufig notwendige Tierzukauf birgt zudem das Risiko der Krankheitseinschleppung in den Betrieb (Brändle, 2006).

2.2 Ätiologie

Der Entstehung und Ausprägung des Kälberdurchfalls liegt zumeist ein multifaktorielles Geschehen zugrunde (Rademacher et al., 2002; Lorenz, 2006). Es handelt sich dabei um ein Zusammenspiel von Durchfallerregern und prädisponierenden Einflussfaktoren, welche die Abwehrkräfte des Kalbes beeinträchtigen oder den Infektionsdruck erhöhen können (Doll et al., 1995; Kaske et al., 2008). Tabelle 2 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Faktoren, die am Geschehen der neonatalen Diarrhoe beteiligt sind.

Tabelle 2: Neugeboren-Durchfall: Zusammenspiel verschiedener Faktoren (nach Rademacher, 2007)

Infektiöse Faktoren	Nicht-infektiöse Faktoren (betriebsintern; Management)
Viren - Rotaviren - Coronaviren - andere Viren (Breda-, Calici-, Parvoviren) Bakterien - darmschädigende Stämme von <i>Escherichia coli</i> - Salmonellen - Clostridien Einzeller - Cryptosporidien Andere Erreger - Pilze?	Hygieneverhältnisse - Geburtshygiene - Aufstallung der Kälber - Tränkehygiene Immunstatus der Kälber - Kolostrumversorgung - Muttertierimpfung - Ernährung (körperliche Konstitution) Betreuung der Kälber

2.2.1 Infektiöse Durchfallursachen

Als die vier häufigsten Erreger im Zusammenhang mit Neugeborenenendurchfall bei Kälbern werden Rotaviren, Coronaviren, Cryptosporidien und enterotoxische *E. coli* angesehen (Doll et al., 1995; Garcia et al., 2000; Kaske und Kunz, 2003; Kaske et al., 2008; Foster und Smith, 2009). Sie sind mit 75 - 95 % für die überwiegende Mehrzahl von intestinalen Infektionen neugeborener Kälber verantwortlich (Tzipori, 1985). Verschiedene Studien in Europa belegen, dass

Rotaviren und Cryptosporidien die Hauptursache für Durchfälle darstellen, wohingegen Coronaviren und enterotoxische *E. coli* eine deutlich niedrigere Prävalenz aufweisen (Snodgrass et al., 1986; Fagan et al., 1995; La Fuente et al., 1998; Luginbühl et al., 2005; Lanz Uhde et al., 2008). Auch Infektionen mit Salmonellen und Clostridien können zu Durchfällen bei jungen Kälbern führen, sind jedoch aufgrund geringer Fallzahlen von untergeordneter Bedeutung (Kaske und Kunz, 2003). Laut Kaske und Kunz (2003) kann das Lebensalter des Kalbes beim Auftreten von Durchfall Hinweise auf die Art des Erregers geben (Abbildung 3). Allerdings können diese Keime auch aus klinisch gesunden Kälbern isoliert werden, weshalb für die Entstehung des Durchfalls ein Zusammenspiel von mehreren Faktoren angenommen werden kann (Reynolds et al., 1986; Luginbühl et al., 2005; Kaske et al., 2008; Gulliksen et al., 2009a).

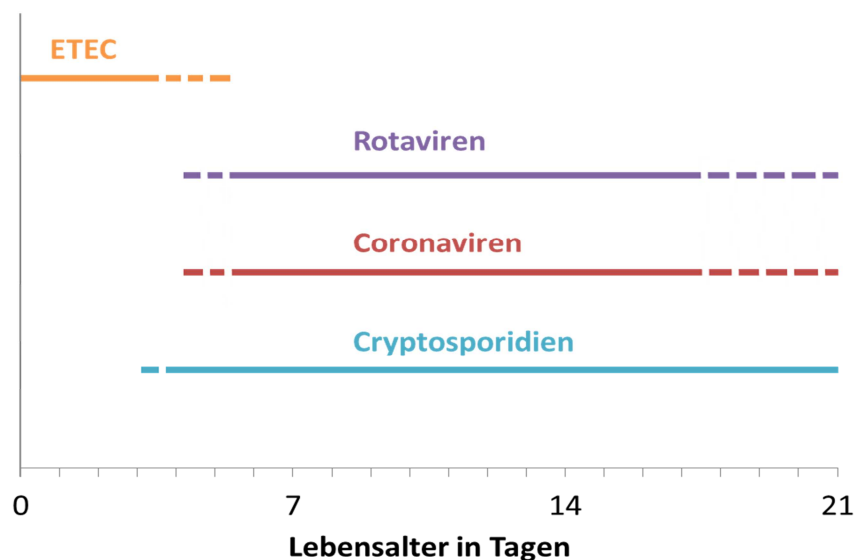


Abbildung 3: Zusammenhang zwischen Erreger und Lebensalter bei Auftreten des Durchfalls (modifiziert nach Kaske und Kunz, 2003)

2.2.1.1 Rotaviren

Rotaviren gehören zur Familie der Reoviridae. Es handelt sich dabei um unbehüllte 65 - 75 nm große Viren mit doppelsträngiger, segmentierter RNA (Holland, 1990; Kaske und Kunz, 2003). Rotaviren werden in sechs Serogruppen mit den Bezeichnungen A bis F eingeteilt. Vor allem die Gruppe A ist mit Durchfall bei Menschen und Nutztieren assoziiert (Holland, 1990). In der Regel sind neugeborene Menschen und Tiere von Durchfallerkrankungen betroffen. Rotaviren besitzen eine hohe Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen und bleiben

bei 20 °C 7 - 12 Monate infektiös (Mayr und Kaaden, 2007). Beim Rind kommen sowohl hochvirulente als auch schwachvirulente Stämme vor. Rotaviren vermehren sich nach oraler Aufnahme v.a. im oberen Drittel des Zottenepithels des distalen Jejunums (Mayr und Kaaden, 2007). Innerhalb weniger Stunden nach der Infektion kommt es zur Zottenatrophie und infolgedessen zu Funktionsstörungen wie Malabsorption und Hypersekretion (Holland, 1990; Mayr und Kaaden, 2007). Die Ausscheidung der Viren erfolgt vor allem während der ersten Erkrankungstage in großer Menge mit dem Kot. Jedoch stellen auch klinisch inapparent infizierte Tiere ein Erregerreservoir dar. Die Inkubationszeit beträgt 13 h bis 2 d und kann somit bei Infektionen um den Geburtszeitpunkt schon bei wenige Tage alten Kälbern auftreten. In erster Linie sind jedoch Kälber zwischen 5 und 14 Lebenstagen betroffen (Doll, 2006). In der Regel beträgt die Erkrankungsdauer 3 bis 8 d (Kaske und Kunz, 2003). Die meisten Rotavirusinfektionen verlaufen mild und selbstlimitierend (Holland, 1990). Mischinfektionen mit Coronaviren, enterotoxischen *E. coli* und Cryptosporidien führen jedoch meist zu schwereren Verlaufsformen und einer längeren Genesungsdauer (Tzipori et al., 1983; Holland, 1990; Mayr und Kaaden, 2007).

2.2.1.2 Coronaviren

Coronaviren zählen zur Familie der Coronaviridae. Die 60 - 120 nm großen Viren sind behüllt und besitzen eine einsträngige, nichtsegmentierte RNA positiver Polarität. Es lassen sich fünf antigene Gruppen unterscheiden, die untereinander nicht kreuzreagieren. Das bovine Coronavirus wird der Gruppe 2 zugeordnet (Mayr und Kaaden, 2007). Coronaviren können bei Mensch und Tier neben Enteritiden auch respiratorische Erkrankungen hervorrufen. Im Gegensatz zu den Rotaviren befallen Coronaviren neben dem Dünndarm auch das Zottenepithel des Kolons (Kaske und Kunz, 2003). Aufgrund des Ersatzes des Epithels durch unreife Kryptenzellen können Nahrungsbestandteile nicht mehr absorbiert werden, was anschließend zu Durchfällen führt (Mayr und Kaaden, 2007; Foster und Smith, 2009). Da ein größerer Abschnitt des Darms befallen ist, verlaufen Coronavirusinfektionen oftmals etwas schwerer und bedürfen einer längeren Genesungszeit als Rotavirusinfektionen (Kaske und Kunz, 2003; Foster und Smith, 2009). Aufgrund des zusätzlichen Befalls des Epithels der Lungenalveolen wird das Virus sowohl über Faeces als auch über Nasenflüssigkeit ausgeschieden (Mayr und Kaaden, 2007). Klinisch inapparent infizierte Kälber und ältere Rinder

sind als Virusreservoir von Bedeutung (Doll, 2006). In der Regel erkranken Kälber im Alter zwischen 5 und 21 d. Nach oronasaler Aufnahme der Viren kommt es nach einer Inkubationszeit von 18 - 36 h zu wässrigem Durchfall mit Schleimbeimengungen, der etwa 5 - 6 d andauert. In schweren Fällen versterben die Tiere nach 4 - 5 d (Mayr und Kaaden, 2007). Ebenso wie bei der Rotavirusinfektion können Mischinfektionen mit anderen Durchfallerregern das Erkrankungsgeschehen verkomplizieren (Mayr und Kaaden, 2007).

2.2.1.3 Enterotoxische *Escherichia coli*

E. coli sind gramnegative, fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae. Die meisten *E. coli* sind aufgrund einer peritrichen Begeißelung beweglich. Viele Stämme zählen als apathogene Kommensalen zu den natürlichen Bestandteilen der mikrobiellen Darmflora von Menschen, Säugetieren und Vögeln und sind hauptsächlich im Dickdarm angesiedelt. O-Antigene (Oberflächenantigene als Bestandteil des LPS-Komplexes der Zellwand), K-Antigene (Kapselantigene), H-Antigene (Geißelantigene) und F-Antigene (Fimbrienantigene) erlauben eine Unterteilung der verschiedenen *E. coli* in Serogruppen (Kaske und Kunz, 2003; Selbitz, 2007). Für die Virulenz einiger Stämme sind verschiedene Toxine und Adhäsionsfaktoren verantwortlich. Diese erlauben die Einteilung pathogener *E. coli* in sieben verschiedene Gruppen: ETEC (enterotoxische *E. coli*), STEC (Shiga-Toxin-bildende *E. coli*), EPEC (enteropathogene *E. coli*), NTEC (nekrotoxische *E. coli*), EAaggEC (enteroaggregative *E. coli*), EIEC (enteroinvasive *E. coli*) und DAEC (diffus adhärente *E. coli*) (Selbitz, 2007). Veterinärmedizinisch von Bedeutung sind dabei vor allem ETEC, welche bei verschiedenen Tierarten Neugeborenenendiarthoe verursachen können. Selten werden auch EPEC und die zu den STEC zählenden EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*) mit Diarrhoe bei Kälbern in Verbindung gebracht. Eine größere Rolle spielt hingegen das Zoonosepotential der EHEC, da diese häufig symptomlos von Rindern ausgeschieden werden und beim Menschen zu schweren Erkrankungen wie einer hämorrhagischen Kolitis und dem hämolytischen urämischen Syndrom (HUS) führen können (Kaske und Kunz, 2003; Selbitz, 2007).

ETEC stellen die häufigste bakterielle Durchfallursache bei Kälbern dar. Enterotoxische *E. coli* spielen in erster Linie bei Durchfällen während der ersten drei bis vier Lebenstage eine große Rolle. Mit Kälberdurchfall assoziierte ETEC

zählen meistens zu den Serogruppen O8, O9, O20 und O101 (Acres, 1985; Kaske und Kunz, 2003). Für die Virulenz sind zum einen bestimmte Fimbrienantigene, welche die Adhäsion an die Epithelzellen ermöglichen, und zum anderen Enterotoxine, welche die Sekretionsvorgänge im Darm beeinflussen, verantwortlich. Als Fimbrientypen sind vor allem F5 (früher K99) und F41 mit Durchfall assoziiert (Acres, 1985; Holland, 1990; Doll, 2006). Bei den Enterotoxinen werden hitzelabile (LT) von hitzestabilen (ST) Enterotoxinen unterschieden, wobei beim Kalb fast ausschließlich ST-produzierende Stämme im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen eine Rolle spielen (Doll, 2006). Das Enterotoxin verursacht eine Aktivierung des intrazellulären Second-Messenger-Systems, wodurch eine Störung des Natrium-Chlorid-Ionentransports zwischen Darmlumen und Darmepithelzelle hervorgerufen wird (Dreyfus et al., 1984). Die Folge ist eine sekretorische Diarrhoe mit starkem Flüssigkeitsverlust über den Darm. Neben der starken Dehydratation ist das Krankheitsgeschehen aufgrund des hohen Elektrolytverlustes durch metabolische Azidose und Hyperkaliämie gekennzeichnet (Holland, 1990; Foster und Smith, 2009). Die ersten klinischen Anzeichen der Erkrankung können bereits innerhalb der ersten 24 h nach der Geburt auftreten (Holland, 1990). Eine reine ETEC-Infektion tritt selten bei über drei Tage alten Kälbern auf (Acres, 1985; Snodgrass et al., 1986; Holland, 1990). Diese sog. Altersresistenz wird auf einen Rückgang der fimbrienspezifischen Darmrezeptoren zurückgeführt (Acres, 1985; Doll, 2006).

2.2.1.4 Salmonellen

Ebenso wie *E. coli* zählt auch die Gattung *Salmonella* zu den Enterobacteriaceae. Die gramnegativen, fakultativ anaeroben Stäbchenbakterien treten in einer Vielzahl unterschiedlicher Serovare und Stämme auf. Auf Basis der O- und H-Antigene erfolgt die Einordnung der Salmonellen in das sog. White-Kauffmann-Le-Minor-Schema. Die human- und veterinärmedizinisch bedeutsamste Spezies ist *S. enterica* ssp. *enterica* mit über 1500 Serovaren (Selbitz, 2007). Salmonellen besiedeln natürlicherweise den Darmtrakt von Menschen und Tieren und können aufgrund ihrer hohen Tenazität bis zu mehrere Monate in der Umwelt überleben (Selbitz, 2007). Erkrankungen werden bei Rindern zumeist durch das rinderadaptierte Serovar *S. Dublin*, aber auch durch die nicht wirtsspezifischen Serovare *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* hervorgerufen. Salmonelleninfektionen beim Rind sind besonders aufgrund des

zoonotischen Potentials von Bedeutung. Die Salmonellose bei Rindern unterliegt der Anzeigepflicht (Kaske und Kunz, 2003; Hofmann, 2005).

Für die Entstehung einer klinischen Salmonellose sind neben Dosis und Virulenz der Bakterien auch einige wirtsspezifische Faktoren, wie Alter und Immunstatus, verantwortlich (Blood und Radostits, 1989). Die Virulenz der Salmonellen ist abhängig von der Adhäsivität, der Invasivität, der Fähigkeit zum intrazellulären Überleben und der Toxinbildung (Selbitz, 2007). Die Infektion erfolgt über orale Aufnahme der Erreger. Klinisch gesunde Tiere fungieren dabei als Träger und Ausscheider der Bakterien (Hofmann, 2005). Erkrankungen mit Salmonellen können bei Rindern aller Altersgruppen auftreten, jedoch sind Kälber ab der 2. Lebenswoche am anfälligsten (Hofmann, 2005; Selbitz, 2007). Bei ihnen zeigen sich oft perakute bis akute Verlaufsformen mit hohem Fieber aufgrund einer Septikämie und wässrigen bis blutigen Durchfällen. Häufig verendet das Kalb innerhalb von ein bis zwei Tagen (Kaske und Kunz, 2003). In einigen Fällen können zusätzlich Arthritiden oder Bronchopneumonien auftreten (Roy, 1990). Bei älteren Rindern verläuft die Erkrankung zumeist milder, häufig in Verbindung mit chronischem leichtem Durchfall; sie kann jedoch gelegentlich auch hier als akute Verlaufsform in Erscheinung treten (Kaske und Kunz, 2003).

2.2.1.5 Clostridien

Die stäbchenförmigen Clostridien zählen zu den obligat anaeroben Sporenbildnern. Aufgrund der Sporenbildung kommt es zu einer spindelförmigen Auftreibung der Bakterienzelle. Im Grampräparat zeigen sich die Bakterien grampositiv, wobei sich ältere Kulturen auch gramlabil oder gramnegativ darstellen können. Als Auslöser für Enteritiden und Enterotoxämien bei Menschen und verschiedenen Tierarten spielt insbesondere *Clostridium perfringens* eine Rolle (Selbitz, 2007). Daneben steht auch *Clostridium difficile* in Verdacht, Durchfall bei jungen Kälbern verursachen zu können (Hammit et al., 2008). Im Rahmen des Kälberdurchfallkomplexes wird *C. perfringens* im Vergleich zu anderen Durchfallerregern jedoch nur eine untergeordnete Bedeutung beigemessen (Kaske und Kunz, 2003). *C. perfringens* bildet Toxine (α , β , ϵ , ι), anhand derer der Erreger in Toxovaren eingeteilt wird. Alle Typen (A - E) können bei Wiederkäuern Enterotoxämien und Enteritiden verursachen (Songer, 2010). Besonders gefährdet sind hierbei Jungtiere (Selbitz, 2007). Kälber erkranken meist im Alter von sieben bis zehn Lebenstagen (Blood und Radostits,

1989). Die Toxine verursachen Nekrosen im Bereich des Dünndarms, welche sich durch schweren, zum Teil blutigen Durchfall in Verbindung mit starken Schmerzen äußern (Kaske und Kunz, 2003). Jedoch kann *C. perfringens*, unabhängig vom Toxin-Typ, auch aus gesunden Kälbern isoliert werden (Ferrarezi et al., 2008). Ursache für die Erkrankung ist demnach eine schlagartige Vermehrung des Erregers im Darm, welche aufgrund der massiven Toxinbildung nachfolgend zu einer nekrotisierenden Enteritis und Enterotoxämie führen kann (Selbitz, 2007).

2.2.1.6 Cryptosporidien

Cryptosporidium spp. sind Protozoen des Stammes Apicomplexa. Sie zählen zu der Familie Cryptosporidiidae der Unterordnung Eimeriina (Tenter, 2006). Im Zusammenhang mit Durchfall wurde der Organismus zum ersten Mal 1971 von Panciera et al. bei einem Kalb nachgewiesen (Panciera et al., 1971). Die bedeutsamste Art bei Nutztieren, insbesondere im Zusammenhang mit Infektionen junger Kälber, ist *Cryptosporidium parvum* (Santin et al., 2004; Tenter, 2006). Sie führt vor allem bei Kälbern und Lämmern, seltener bei Ferkeln zu Durchfallerkrankungen (Holland, 1990). Auch Menschen, insbesondere Kinder und immunschwache Erwachsene, können sich mit Cryptosporidien infizieren. Da *Cryptosporidium parvum* keine Wirtsspezifität aufweist, ist es auch als Zoonoseerreger von Bedeutung (Holland, 1990). *Cryptosporidium parvum* bildet ca. 5,0 x 4,5 µm große Oozysten (Tenter, 2006). Nach oraler Aufnahme der bereits sporulierten Oozysten aus der Umwelt werden die Sporozoiten im Dünndarm des Wirtstieres freigesetzt. Sie verschmelzen mit den Mikrovilli des Bürstensaumepithels und entwickeln sich dort in einer parasitophoren Vakuole weiter (Holland, 1990; Tenter, 2006). Besonders befallen ist zumeist das Epithel des Ileums, jedoch können auch andere Teile des Dünndarms und Teile des Dickdarms betroffen sein (Foster und Smith, 2009). In der Folge des mehrstufigen Vermehrungszyklus kommt es zur Bildung dünn- und dickwandiger sporulierter Oozysten. Dünnwandige Oozysten führen zu einer Autoinfektion des Wirtes, da die Sporozoiten bereits im Darm freigesetzt werden, dickwandige Oozysten hingegen werden über den Kot ausgeschieden (Holland, 1990; Tenter, 2006; Foster und Smith, 2009). Die Oozysten sind äußerst stabil gegenüber Umwelteinflüssen und können über mehrere Monate hinweg infektiös bleiben (Tenter, 2006). Klinische Symptome zeigen sich 3 - 5 d nach der Infektion und

dauern etwa 4 - 17 d an (Fayer et al., 1998). Infizierte Kälber können bis zu 10^7 Oozysten pro Gramm Kot ausscheiden und stellen damit eine Infektionsquelle für gesunde Kälber dar, bei denen bereits 10 - 100 Oozysten eine klinische Cryptosporidiose auslösen können (Fayer et al., 1998; Tenter, 2006). Im Bereich der parasitophoren Vakuole werden die Mikrovilli der Epithelzellen verdrängt, wodurch eine Atrophie und Verklebung der Darmzotten und anschließend eine Kryptenhyperplasie entstehen (Heine et al., 1984; Argenzio et al., 1990). Infolgedessen kommt es zur Malabsorption der Nahrungsbestandteile und daraus resultierendem profusen bis wässrigen Durchfall (Foster und Smith, 2009). Die meisten Erkrankungen treten innerhalb der ersten vier Lebenswochen auf, meistens im Alter von 5 - 14 d (Tenter, 2006). Häufig werden auch Mischinfektionen mit anderen Durchfallerregern, wie z. B. Rotaviren, Coronaviren und ETEC nachgewiesen, die sich oftmals negativ auf den Krankheitsverlauf auswirken (Holland, 1990).

2.2.2 Prädisponierende Faktoren

Die meisten Durchfallerreger sind ubiquitär verbreitet und lassen sich häufig auch bei gesunden Kälbern nachweisen (Naciri et al., 1999; Luginbühl et al., 2005; Kaske et al., 2008). Zu einer klinischen Erkrankung kommt es insbesondere dann, wenn sich neben den verschiedenen Infektionserregern zusätzliche Einflussfaktoren prädisponierend auf die Entstehung von Durchfall auswirken. Dies sind in erster Linie Faktoren, die entweder die Abwehrbereitschaft des Kalbes herabsetzen oder den Infektionsdruck in der Umgebung des Kalbes erhöhen (Kaske et al., 2008). Insbesondere ist hierfür eine unzureichende Kolostrumversorgung verantwortlich. Aber auch Hygienemängel bei Geburt und Aufzucht des Kalbes, ein schlechtes Tränkemanagement oder eine ungenügende Eisenversorgung spielen eine Rolle (Rademacher, 2007; Godden, 2008; Kaske et al., 2008). Alimentär bedingte Durchfallerkrankungen entstehen beispielsweise durch zu große Tränkemengen, zu hohe oder niedrige Temperaturen der Tränke und Zwangstränken von Kälbern mittels Sonde. Dabei wird die Funktion der Schlundrinne beeinträchtigt, die Milch gelangt in den Pansen und wird hier mikrobiell fermentiert. Es resultiert eine Azidose mit nachfolgender Entzündung der Vormagenschleimhaut (Kaske et al., 2008). Fütterungsfehler spielen jedoch im Vergleich zu infektiösen Ursachen eher eine untergeordnete Rolle (Mansfeld et al., 2005; Kaske et al., 2008).

2.3 Pathophysiologie

Je nachdem, welche pathophysiologischen Vorgänge bei der Entstehung des Durchfalls im Vordergrund stehen, wird häufig zwischen sekretorischer und osmotischer (bzw. malabsorptiver) Diarrhoe unterschieden (Kaske und Kunz, 2003). ETEC-bedingten Durchfällen liegt die sekretorische Diarrhoe zu Grunde (Foster und Smith, 2009). Die von ETEC produzierten Enterotoxine stimulieren über Aktivierung cAMP-gesteuerter Ionenkanäle die Sekretion von Chlorid-Ionen aus dem Blut in das Darmlumen. Osmotisch bedingt führt dies nachfolgend zu einem Einstrom von Wasser (Argenzio, 1985; Field und Semrad, 1993). Ist aufgrund großer Wassermengen im Darmlumen die Rückresorptionskapazität des Dickdarms erschöpft, kommt es zu einer erhöhten Wasser- und Elektrolytausscheidung mit dem Kot. Die Resorption von Nahrungsbestandteilen wird durch ETEC-Toxine kaum beeinträchtigt (Kaske et al., 2008).

Bei der osmotischen Diarrhoe kommt es aufgrund von Schädigungen der Darmschleimhaut, insbesondere durch eine Zottenatrophie, zu einer verminderten Resorptionskapazität von Nahrungsbestandteilen aus dem Darmlumen. Dies ist auf den Verlust von schleimhautassoziierten Transportsystemen und die Verringerung der resorptionsfähigen Darmoberfläche zurückzuführen (Foster und Smith, 2009). Das Verbleiben osmotisch wirksamer Moleküle im Darm führt im weiteren Verlauf zum Einstrom von Wasser in das Darmlumen. Infektionen mit Rotaviren, Coronaviren und Cryptosporidien führen aufgrund der Schädigungen an der Darmschleimhaut zu einer osmotischen Diarrhoe (Kaske et al., 2008; Foster und Smith, 2009). Gleichzeitig sind jedoch auch bei diesen Infektionsursachen sekretorische Prozesse am Durchfallgeschehen beteiligt. Dafür wird eine, durch Prostaglandine oder andere Entzündungsmediatoren vermittelte, erhöhte Anionensekretion in das Darmlumen verantwortlich gemacht (Gookin et al., 2002; Lorrot und Vasseur, 2007).

Das durchfallkranke Kalb verliert über den Darm große Mengen an Flüssigkeit und Elektrolyten (Natrium, Kalium, Chlorid, Hydrogenkarbonat) (Roy, 1990; Rademacher, 2007). Die großen Flüssigkeitsverluste über den Darm führen zu einer Dehydratation des Kalbes und einer damit verbundenen Hämokonzentration (Koch et al., 2009). Als Folge wird die renale Flüssigkeitsausscheidung verringert, wodurch es zu einer Akkumulation von Harnstoff und Kalium im Blut kommt. Eine Hyperkaliämie kann sich in Herzarrhythmien äußern, die zum Tod des

Kalbes führen können (Roy, 1990). Daneben entwickeln durchfallkranke Kälber, insbesondere bei schwererem Verlauf der Erkrankung, häufig eine metabolische Azidose. Dem Absinken des pH-Wertes im Blut liegen mehrere Ursachen zugrunde: Zum einen verliert das Kalb Puffersubstanzen in Form von Hydrogenkarbonat über den Kot („Subtraktionsazidose“), zum anderen hat die verringerte Nierendurchblutung eine Reduktion der renalen Säureausscheidung zur Folge („Retentionsazidose“). Des Weiteren kommt es aufgrund der Gewebhypoxie zu einer vermehrten Bildung von L-Laktat infolge einer anaeroben Glykolyse und die verringerte Resorptionsfähigkeit von Nahrungsbestandteilen führt zusätzlich zu einer vermehrten Bildung von L- und D-Laktat durch Mikroorganismen („Additionsazidose“) (Kaske und Kunz, 2003; Lorenz, 2006; Koch et al., 2009). Insbesondere die Bildung von D-Laktat, welches im Vergleich zu L-Laktat nur sehr langsam metabolisiert wird, zeigt sich als Hauptfaktor in der Pathogenese der metabolischen Azidose (Lorenz, 2004a).

2.4 Klinik

Neben der Durchfallsymptomatik, also dem Absetzen von dünnbreiigem, suppigem oder wässrigem Kot, zeigen sich bei durchfallkranken Kälbern insbesondere Symptome in Folge der Dehydratation und der metabolischen Azidose (Rademacher et al., 2002). Je nach Schweregrad äußert sich die Dehydratation in gestörtem Allgemeinbefinden, eingesunkenen Bulbi und vermindertem Hautturgor (Constable et al., 1998). Aufgrund der Abnahme der extrazellulären Flüssigkeit kommt es im Rahmen der Dehydratation zu einem hypovolämischen Schockgeschehen, welches sich in Festliegen, blassen Schleimhäuten, Tachykardie und kalten Akren äußert (Koch et al., 2009). Im Allgemeinen führt jedoch erst ein hoher Dehydratationsgrad zu einer Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Zumeist lässt sich die klinische Symptomatik vor allem auf die metabolische Azidose zurückführen (Koch et al., 2009). Die Gefahr der Entwicklung einer metabolischen Azidose ist insbesondere bei Kälbern mit osmotischer Diarrhoe, älteren Kälbern und Kälbern mit längerer Durchfalldauer erhöht. Sowohl der physiologische Zellstoffwechsel, als auch viele Rezeptor-vermittelte Steuerungsprozesse sind direkt vom pH-Wert des Blutes abhängig (Kaske und Kunz, 2003). Der Ausfall des Saugreflexes, Bewusstseinstörungen und Ataxien sind bei azidotischen Kälbern, insbesondere

in Verbindung mit hohem Serum-D-Laktat-Spiegel, anzutreffen (Lorenz, 2004b; Lorenz, 2009).

2.5 Therapie

Die klinische Erscheinung durchfallkranker Kälber ist in erster Linie Folge der Dehydratation und der metabolischen Azidose. Im Fokus der Therapie steht daher, unabhängig von der Durchfallursache, die Substitution von Flüssigkeit und Elektrolyten (Doll et al., 1995; Rademacher, 2007; Foster und Smith, 2009). In Abhängigkeit vom Ausmaß der Erkrankung kann diese Substitution in Form oraler Rehydrationslösungen oder in Form parenteraler Infusionslösungen erfolgen (Doll et al., 1995; Rademacher, 2007). Sofern die Kälber noch selbstständig trinken, empfehlen Doll et al. (1995) und Rademacher (2007) für die Deckung des täglichen Energiebedarfs die kontinuierliche Tränkung von Milch. Sie liefert nicht nur Energie für das Wachstum des Kalbes, sondern auch Nährstoffe für die Wiederherstellung der geschädigten Darmmukosa (Heath et al., 1989).

Obwohl dem Kälberdurchfall in den meisten Fällen virale oder protozoale Ursachen zugrunde liegen, werden häufig Antibiotika bei der Behandlung des Durchfalls angewendet (Doll et al., 1995; Sawant et al., 2005; Lorenz, 2006; Walker et al., 2012). Im Hinblick auf die vermehrte Selektion antibiotikaresistenter Bakterienstämme durch den Einsatz antibakteriell wirksamer Substanzen, sollte, insbesondere im veterinärmedizinischen Bereich, die Indikation für deren Anwendung kritisch beurteilt werden (Mateu und Martin, 2001; Berge et al., 2009b). Der routinemäßige Antibiotikaeinsatz bei unkompliziert verlaufenden Durchfallerkrankungen wird daher nicht empfohlen (Rademacher et al., 2002; Constable, 2004; Berge et al., 2009b). Kommen jedoch zu der Durchfallsymptomatik Anzeichen einer systemischen Erkrankung (z. B. Fieber) oder interkurrente Erkrankungen (z. B. eine Bronchopneumonie) hinzu, ist der Einsatz einer geeigneten antibakteriellen Medikation angezeigt (Rademacher et al., 2002; Constable, 2004). Fecteau et al. (1997) und Lofstedt et al. (1999) wiesen in ihren Untersuchungen an 169 bzw. 252 schwer an Durchfall erkrankten Kälbern bei ca. 30 % eine Bakteriämie nach. In den meisten Fällen war hierfür *E. coli* verantwortlich (Fecteau et al., 1997; Lofstedt et al., 1999). Besonders anfällig für die Entwicklung einer Bakteriämie zeigten sich Kälber mit ungenügender Immunglobulinversorgung, Kälber unter fünf Lebenstagen,

festliegende Kälber und Kälber ohne Saugreflex (Lofstedt et al., 1999). Constable (2004) empfiehlt für die antibakterielle Therapie schwer durchfallkranker Kälber daher Substanzen, die sich sowohl im Blut, als auch im Darmtrakt als wirksam gegen *E. coli* erweisen. Koch et al. (2009) legen bei entsprechender Indikation die parenterale Verabreichung von in Deutschland für die Behandlung von Durchfallerkrankungen bzw. Septikämien bei Kälbern zugelassenen Wirkstoffen wie Ceftiofur, Ampicillin oder Fluorchinolone nahe.

2.6 Durchfallprophylaktische Maßnahmen

2.6.1 Kolostrumversorgung des Kalbes

Eine adäquate Kolostrumversorgung stellt die wichtigste Maßnahme zur Minimierung von Aufzuchtverlusten dar (Godden, 2008). Da intrauterin kein Transfer maternaler Antikörper auf das Kalb möglich ist, wird das Kalb ohne schützende Immunabwehr geboren. Erst die Aufnahme von Kolostrum unmittelbar nach der Geburt führt zu einer ausreichenden Versorgung des Kalbes mit Immunglobulinen (Rademacher, 2007; Kaske et al., 2009). Diese können das Darmepithel jedoch nur kurz nach der Geburt passieren. Bereits 6 h nach der Geburt beginnt sich die Permeabilität des Darmepithels stetig zu verringern und nach spätestens 24 h ist die sog. „Darmschranke“ für Antikörper unpassierbar (Jochims et al., 1994; Kaske et al., 2009). Bei Kälbern, die in dieser kurzen Zeitspanne nicht adäquat mit Kolostrum versorgt werden, ist die Mortalitätsrate, im Vergleich zu Kälbern mit ausreichender passiver Immunität, fünffach erhöht (Donovan et al., 1998a). Eine ungenügende Kolostrumversorgung („failure of passive transfer“; FPT) liegt vor, wenn der Serum-IgG-Spiegel unterhalb von 10 mg/ml liegt (Weaver et al., 2000; Godden, 2008). Je höher das Volumen an Kolostrum ist, welches innerhalb der ersten sechs Lebensstunden an Kälber verfüttert wird, umso geringer ist das Risiko von FPT (Trotz-Williams et al., 2008a). Erhard et al. (2000) zeigen auf, dass die Inzidenz und Intensität des Neugeborenenendurchfalls mit der Höhe der IgG-Konzentration im Serum der Kälber in Zusammenhang steht. Auch Katikaridis (2000) und Biewer (2001) kommen in ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass die Rate der Durchfallerkrankungen und -sterblichkeiten bei Kälbern von der ausreichenden Kolostrumaufnahme innerhalb der ersten 12 h p. n. abhängen. In zahlreichen weiteren Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen FPT und einer

erhöhten Morbidität bzw. Mortalität von Kälbern festgestellt werden (Fallon und Harte, 1983; Tyler et al., 1998; Waldner und Rosengren, 2009; Stilwell und Carvalho, 2011; Priestley et al., 2013). Zu beachten ist, dass der Immunglobulingehalt im Kolostrum von Erstkalbinnen unter demjenigen pluriparer Kühe liegt (Shearer et al., 1992; Gutzwiller, 2002). Erhard et al. (2000) stellen jedoch keinen Zusammenhang zwischen der Höhe des IgG-Gehalts im Kolostrum und dem IgG-Gehalt in Kälberseren fest. Neben dem hohen Immunglobulingehalt ist Kolostrum außerdem reich an Vitaminen und Mineralstoffen (Davis und Drackley, 1998). Zudem stellen Kolostrum und Milch eine Quelle für Milchsäurebakterien dar, welche sowohl lokal als auch systemisch zahlreiche positive Wirkungen hervorrufen können (Martin et al., 2003; Martin et al., 2009; Fernandez et al., 2013). Die Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung (TierSchNutztV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2006 (BGBl. I S. 2043), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 5. Februar 2014 (BGBl. I S. 94) geändert worden ist, schreibt die Erstversorgung des Kalbes mit Kolostrum innerhalb der ersten vier Lebensstunden vor. Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2014) rät in den Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern darüber hinaus zu einer Tränkung des Kalbes mit mindestens 2 l Kolostrum. Auch nach dem Schluss der Darmschranke können bis zur zweiten Lebenswoche zusätzlich zur konventionellen Fütterung weiterhin kleinere Mengen Erstkolostrum täglich als sog. „Schutztränke“ verabreicht werden, da darin enthaltene Immunglobuline (IgA) eine lokale Wirkung an der Darmschleimhaut entfalten (Doll et al., 1995; Gutzwiller, 2002; Rademacher, 2007; Berge et al., 2009a). Trotz guter Kolostrumversorgung kann die Kälberverlustrate jedoch in Abhängigkeit vom Haltungs- und Fütterungsmanagement zwischen einzelnen Betrieben erheblich schwanken (Kaske et al., 2009). Die adäquate Kolostrumversorgung ist somit zwar der wichtigste, jedoch nicht der einzige Faktor, welcher die Kälbergesundheit beeinflusst. Auch ein optimales Haltungs- und Hygienemanagement sind für eine erfolgreiche Kälberaufzucht unerlässlich (Kaske et al., 2009).

2.6.2 Haltungs- und Hygienemanagement

Die erste bakterielle Kontamination des Kalbes erfolgt bereits während des Geburtsvorgangs; insbesondere bei Schwereburten ist eine starke bakterielle

Besiedelung des Kalbes schon zum Zeitpunkt der Geburt zu verzeichnen (Baier et al., 1967). Bis zum Zeitpunkt der ersten Kolostrumaufnahme verfügt das Kalb jedoch über keine aktive oder passive Immunität, die es vor der Ansiedelung potentieller Durchfallerreger schützen könnte. Daher gilt es besonders in dieser ersten kritischen Phase nach der Geburt eine Kontamination mit Durchfallerregern durch gute Haltungs- und Hygienebedingungen zu vermeiden (Rademacher, 2007; Kaske et al., 2009). In den aktuellen Empfehlungen des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (2014) für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern werden die bei der Abkalbung zu beachtenden Maßnahmen zusammenfassend dargestellt. Ein wichtiger Aspekt ist hierbei die Geburtshygiene. Zum einen sollten Geburtshilfemaßnahmen nur erfolgen, falls diese unerlässlich sind, da hierdurch mögliche pathogene Keime von außen in den Geburtskanal eingebracht werden können (Baier et al., 1967). Zum anderen muss bei einem notwendigen manuellen Eingreifen auf eine ordnungsgemäße Reinigung und Desinfektion von Händen und Material geachtet werden (Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2007). Ein weiterer Aspekt zur Vermeidung erhöhter bakterieller Kontamination ist die Nutzung einer regelmäßig gereinigten und desinfizierten Abkalbebox, in die das Muttertier rechtzeitig vor der Geburt verbracht wird (Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2007). Kälber hingegen, die nicht in Abkalbeboxen geboren werden, weisen eine höhere Durchfallrate auf (Curtis et al., 1988). Für die weitere Unterbringung des Kalbes nach der Geburt haben sich Einzelboxen bewährt, die vor jeder Neubelegung gereinigt und desinfiziert werden sollen (Kaske und Kunz, 2003). Insbesondere der Einsatz sog. Kälberiglus im Außenbereich wirkt sich in einer signifikanten Verringerung der Durchfallinzidenz aus (Biewer, 2001; Girnus, 2004). Bei ausreichender Energieversorgung des Kalbes und trockener Einstreu hat die Igluhaltung selbst im Winter positive Effekte auf die Gesundheit und das Wachstum der Kälber (Gutzwiller und Morel, 2003). Dabei ist jedoch zu beachten, dass laut § 6 Abs. 4 der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung (TierSchNutztV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2006 (BGBl. I S. 2043), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 5. Februar 2014 (BGBl. I S. 94) geändert worden ist, „Seitenbegrenzungen bei Boxen [...] so durchbrochen sein [müssen], dass die Kälber Sicht- und Berührungskontakt zu anderen Kälbern haben können“. Im Hinblick auf die Durchfallprävention, empfiehlt Rademacher (2011) jedoch

dennoch eine Vermeidung jeglichen Berührungskontakts von Kälbern in den ersten zwei Lebenswochen (Rademacher et al., 2011).

2.6.3 Vakzine- und Medikamenteneinsatz

Eine weitere mögliche Maßnahme zur Erhöhung der Immunität des Kalbes liegt in der Vakzination des Muttertieres gegen virale und bakterielle Durchfallerreger. Kommerziell erhältliche Impfstoffe enthalten meist eine Kombination aus Rotavirus-, Coronavirus- und *E. coli* F5-Antigen (Kaske und Kunz, 2003). Durch die Impfung während der Trockenstehzeit bildet das Muttertier erhöhte Mengen spezifischer Antikörper, die mit dem Kolostrum auf das Kalb übertragen werden (Kohara et al., 1997; Crouch et al., 2001). Entscheidend für den Schutz des Kalbes ist daher wiederum eine ausreichende Kolostrumversorgung. Insbesondere ist eine Tränkung mit Kolostrum der Mutterkuh bis zur 2. Lebenswoche sinnvoll, damit die in der Milch enthaltenen Antikörper auch lokal im Darm wirken können (Kaske und Kunz, 2003; Mansfeld et al., 2005; Rademacher, 2007). Hinsichtlich der durchfallprophylaktischen Wirksamkeit einer Muttertierimpfung liefern die meisten, jedoch nicht alle klinischen Untersuchungen ein positives Ergebnis (Saif et al., 1983; Kohara et al., 1997; Bendali et al., 1999b; Katikaridis, 2000; Le Rousic et al., 2000; Girnus, 2004; Jayappa et al., 2008; Razzaque et al., 2009). Eine orale Vakzination mit einem stallspezifischen *E.-coli*-Impfstoff erwies sich als weniger effektiv als die parenterale Vakzination des Muttertieres (Bauer, 1986). Eine Impfung zum Schutz vor einer Cryptosporidien-Infektion ist nicht verfügbar. Zwar gelang es, mittels einer aus lyophilisierten Oozysten hergestellten oralen Vakzine die Durchfallinzidenz und -dauer von im Alter von einer Woche experimentell mit *Cryptosporidium parvum* infizierten Kälbern zu senken, jedoch zeigte die Impfung im Feldversuch keinen Erfolg (Harp und Goff, 1998). Die Autoren führen diese Beobachtung darauf zurück, dass die Infektion der Kälber mit Cryptosporidien im Betrieb häufig bereits in den ersten Stunden bis Tagen erfolgt und daher die Zeitspanne zwischen Impfung und Cryptosporidien-Exposition zu kurz ist, um eine schützende Immunität aufzubauen. Zur Prophylaxe und Behandlung der Cryptosporidiose ist in Deutschland Halofuginon zugelassen. Das Chemotherapeutikum wirkt cryptosporidiostatisch und kann sowohl die Ausscheidung von Oozysten als auch die klinische Symptomatik verringern (Joachim et al., 2003; Klein, 2008; Waele et al., 2010). Diese Maßnahme ist jedoch nur in Verbindung mit einem verbesserten

Hygienemanagement erfolgversprechend (Waele et al., 2010). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen können Trotz-Williams et al. (2011) nach Anwendung von Halofuginon zwar eine tendenziell verringerte Ausscheidung von Oozysten, jedoch keine Abnahme der Diarrhoeinzidenz feststellen.

2.6.4 Einsatz von Probiotika

Wie bereits in Punkt 1.3.4 ausgeführt, gibt es einige Studien, die darauf hinweisen, dass Probiotika durchaus positive Einflüsse auf die Kälbergesundheit haben können. Hierunter fallen eine durchfallpräventive Wirkung, erhöhte Gewichtszunahmen und eine Regulation der mikrobiellen Darmflora (Gilliland et al., 1980; Abu-Tarboush et al., 1996; Timmerman et al., 2005). Die von der EU als Futterzusatzstoff für Kälber zugelassenen Mikroorganismen sind in Tabelle 3 aufgeführt. Hinsichtlich der Wirksamkeit kommen die einzelnen Untersuchungen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Zusammenfassend kann ein positiver Effekt auf die täglichen Gewichtszunahmen bzw. das Endgewicht der Kälber bei den untersuchten Zusatzstoffen festgestellt werden. Untersuchungen zur Durchfallinzidenz wurden nur im Falle von BioPlus 2B[®] und Cylactin[®] angestellt. Hier konnten jedoch keine bzw. nur geringe Verbesserungen ermittelt werden (Kowalski et al., 2009; EFSA, 2013a).

Tabelle 3: Für Kälber als Futterzusatzstoff zugelassene Mikroorganismen (nach Richtlinie 70/524/EWG, Übergangsregelung und Futterzusatzstoff-VO EG 1831/2003; Stand: Juni 2011; Quelle: www.bvl.bund.de)

Zusatzstoff	Produktname	Zulassung	KBE/kg Alleinfuttermittel	Untersuchungen zur Wirksamkeit bei Kälbern
<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 5749, <i>Bacillus subtilis</i> DSM 5750	BioPlus 2B®	Kälber bis 3 Monate	$1,28 \cdot 10^9$	(Kowalski et al., 2009)
<i>Enterococcus faecium</i> NCIMB 10415	Cylactin® LCB	Kälber bis 6 Monate	$1,0 \cdot 10^9 - 6,6 \cdot 10^9$	(EFSA, 2013a)
<i>Enterococcus faecium</i> NCIMB 11181	Lactiferm®	Kälber bis 6 Monate	$5,0 \cdot 10^8 - 2,0 \cdot 10^{10}$	(EFSA, 2012b)
<i>Enterococcus faecium</i> DSM 10663/NCIMB 10415	Oralin®	Kälber bis 6 Monate	$1,0 \cdot 10^9 - 1,0 \cdot 10^{10}$	
<i>Enterococcus faecium</i> DSM 7134, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> DSM 7133	Provita LE	Kälber bis 4 Monate	$1,0 \cdot 10^9 - 5,0 \cdot 10^9$	(EFSA, 2013b)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CBS 493.94	YEA-SACC ¹⁰²⁶ ®	Kälber bis 6 Monate	$2,0 \cdot 10^8 - 2,0 \cdot 10^9$	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC Sc47	Biosaf® Sc47	Aufzucht-kälber	mind. $1,5 \cdot 10^8$	(EFSA, 2010)

III MATERIAL UND METHODEN

1 Material

1.1 Arbeitsmaterial

1.1.1 Technische Geräte

Analysenwaagen	Sartorius, Research und LC4200
Brutschrank	Memmert, U40 und 500
Bunsenbrenner	Usbeck, 1040/1 Nr.92.03c451
CO ₂ -Brutschrank	Thermo, 351
ELISA-Plate-Reader	Dynex, MRX Revelation
Gefrierschrank -70°C	Heraeus, Hera freeze
Gefriertruhe -20°C	Bosch, automatic
Horizontalschüttler	Heidolph Titramax 1000
Kolonienzählgerät	Schütt Labortechnik, 30808002
Kühlschrank	Privileg, Öko Energiesparer
Laborschüttler	Scientific Industries, Vortex Genie2, G-560E; IKA-Labortechnik, KS 250
Lichtmikroskop	Leitz Typ 307-127.001; Wilovert [®]
Lyophilisator	Christ, Alpha I-5
MALDI-TOF-MS	Bruker Microflex [™] LT
Micronaut Sprint	Merlin Diagnostic, ST-6001-001
Mikrozentrifuge	Hettich Zentrifugen, 200; VWR Galaxy 16 DH
pH-Meter	WTW, pH 330
UV-Vis Spectralphotometer	Shimadzu, UV-1202
Spannungsgerät für die Gelelektrophorese	BIO-RAD, Power Pac Junior
Sterilbank	Antair BSK (Typ BSK/6)
Thermocycler	Biometra, T3000
UV-Kabinett	Intas Science Imaging Instruments
Zentrifuge	Hermle Labortechnik, Hermle Z 383; Hettich Zentrifugen, Rotanta 460R

1.1.2 Gebrauchsmaterial

Anaerobiertöpfe	Merck, 107040 BD GasPak™, 260672
Anaeroclip	Merck, 1.14226
Aufbewahrungsboxen	VWR, 479-0310
Bunsenbrenner	Usbeck, Typ 1040/1
Eimer 5 l	OBI
Einsätze für Cryoboxen	VWR, 479-0364
Exsikator	Duran, Vakuumtest
Färbewannen	Henry Schein, 420-575
Finnpipette 1-5 ml	Labsystems, 000662 4500
Fuchs-Rosenthal-Zählkammer	Mariefeld
Glasspatel	Brennstein Laborbedarf
Kämme für Gelelektrophorese	Peqlab, 40-1214-24D
McFarland Standard	bioMérieux, SA 818531501
Mehrkanal-Pipette	Transferpette® S-8 30 - 300 µl
Metalllöffel	
Metallösen	
Metallspatel	
MSP 96 Target ground steel	Bruker, 224990
PerfectBlue™ Gelsystem Mini L für Gelelektrophorese	Peqlab, 40-1214
Pipette Eppendorf Research 10 µl	VWR, 613-3588
Pipette Eppendorf Research 100 µl	VWR, 613-3588
Pipette Eppendorf Research 1000 µl	VWR, 613-3587
Pipettus accu-jet®	Brand, 26300
Reagenzgläser steril	Schott Duran, 212-1116
Reagenzglashalter	VWR, 212-6122
Sterile Glaspipetten	
Verschließzange für Bördekkappen	

1.1.3 Verbrauchsmaterial

1-Kanal-Reservoirs	Merlin, R-4-510
96-Loch-Mikrotiterplatten	Greiner Bio One, 2014-3
Abdeckfolie	Merlin, B4-003-100

Abdeckplatte für 96-Loch-Mikrotiterplatten	Greiner Bio One, 656101
Allzweckbeutel 1 l	Rossmann
Anaeorocult IS	Merck, 1.13829.0001
Anaerocult A	Merck, 1.16819.0001
Baktolin Waschlotion	Bode, 974122
Bördelkappen	Brennstein Laborbedarf
Cryoröhrchen	Brand, 4791203
Einmalösen	VWR, 631-2211
Einmalspritzen 20 ml	Terumo, SS+T20ES1
Einwegösen	VWR 612-9354
ELISA-Kit zum Antigennachweis von Rotavirus, Coronavirus, <i>E. coli</i> F5 (K99) und <i>Cryptosporidium parvum</i> beim Rind	Bio-X Diagnostics, BIO K348
Etiketten	Zweckform, 3659
Filterpapier	
Finntips 1-5 ml	VWR, 612H6391
Gummistopfen	Brennstein Laborbedarf
Korkbohrer (Ø 5mm)	VWR, 217-9690
Minisart-Membranfilter, Porengröße 0,2 µm	Sartorius, 514-7011
Multiply®-PCR-Ketten	Sarstedt 72.991.002
Nitrilhandschuhe	Kimberly-Clark, 52001M
Objektträger mit Mattrand	Henry Schein, 9002573
Petrischalen	Sarstedt, 821473
Pipettenspitzen 100 µl	Sarstedt, 70.760
Pipettenspitzen 1000 µl	Sarstedt, 70.762
Pipettenspitzen für Mikronaut Sprint	Merlin, ST3-001-500
Pipettenspitzen mit Filter 10 µl	Sarstedt, 70.762.411
Polypropylenröhrchen 15 ml	Greiner Bio One, 188271
50 ml	Greiner Bio One, 227261
Rectal Handschuhe	Krutex, 260685
Resistenztest-Panels	Merlin, E1 960-100 und 961-100; ES 212-100 und 213-100

Safe Seal MicoTube 1,5 ml	Sarstedt, 72.706.400
Safe Seal MicoTube 2 ml	Sarstedt, 72.695.400
Safe Sept Hautdesinfektion Pumpspray	Henry Schein, 9006271
Schwamm	Rossmann
Vakzinefläschchen, 50 ml	Brennstein Laborbedarf
Wasserfester Filzstift	
Wattestäbchen, steril	VWR, 1158270
Zahnstocher	Rossmann
Zellkulturflaschen	Greiner Bio One, 660160

1.1.4 Nährböden

Blut-Agar

60 g Blut-Agar-Basis Nr. 2	Oxoid, CM271
100 ml defibriniertes Schafblut	Fiebig, 1000100
1 1/2 l dest. H ₂ O	

CATC-Agar

54,5 g CATC-Agar	Sifin, TN 1273
1 ml Tween 80	Roth, 9139.1
1 l dest. H ₂ O	

Fluorocult ECD-Agar

53,1 g Fluorocult ECD-Agar	Merck, 1.04038
1 l dest. H ₂ O	

Gassner-Agar

77 g Gassner-Agar	Merck, 1.01282
1 l dest. H ₂ O	

LAMVAB-Agar

1 l Lösung A	
104,4 g MRS-Broth	Merck, 1.10661
1 ml Cystein-HCl-Lösung	Merck, 2839
1ml Bromcresol-Grün-Lösung	Applichem, A 1051
1 l dest. H ₂ O	

1 l Lösung B

40 g MRS-Agar Oxoid, CM361

10 g Agar-Agar Oxoid, L11

1 l dest. H₂O

20 ml Lösung C

Vancomycinhydrochlorid Sigma, V0045000

MRS-Agar

62 g MRS-Agar Oxoid, CM361

4 g Agar-Agar Oxoid, L11

1 l dest. H₂O

MSRV-Agar

15,8 g MSRV-Nährboden-Basis Oxoid, CM 910

10 mg MSRV-Selektiv-Supplement Oxoid, SR 161

500 ml dest. H₂O

Platecount-Agar

60 g Blut-Agar-Basis Nr.2 Oxoid, CM271

1 1/2 l dest. H₂O

Schaedler-Agar

41,9 g Schaedler-Agar BD, 212189

50 ml defibriniertes Schafblut Fiebig, 1000100

1 ml 1%ige Vitamin K₁-Lösung Merck, 5.01890

1 l dest. H₂O

1.1.5 Flüssige Nährmedien**MRS-Bouillon**

52,2 g MRS-Broth Merck, 1.10661

1 l dest. H₂O

MRS für Kryo

26 g MRS-Broth Merck, 1.10661

100 g Glycerol (20 %) Applichem, A 3552

500 ml dest. H₂O

Nutrient Broth für Kryo

12,5 g Nutrient Broth No. 2	Oxoid, CM67
75 g Glycerol (15 %)	Applichem, A 3552
500 ml bidest. H ₂ O	

Peptonwasser zur Salmonellenanreicherung

10 g Pepton aus Casein	Merck, 1.07213
5 g NaCl	Merck, 1.06400
3,75 g Na ₂ HPO ₄	Merck, 1.06586
1,5 g KH ₂ PO ₄	Merck, 1.04873
1 l dest. H ₂ O	

Phenolrotbouillon

7,5 g Phenolrotbasis	Merck, 1.10987
450 ml dest. H ₂ O	

Zusätze für 10 %ige Zuckerlösung

5 g Xylose (D (+)- Xylose)	Merck, 1.08689
5 g Arabinose (L (+)-Arabinose)	Merck, 1.01492
5 g Manitol (D (-)-Manitol)	Merck, 1.05982
5 g Natriumpyruvat (Na-Pyruvate)	Fluka, 15990
+ jeweils 50 ml bidest. H ₂ O	

Wilkins-Chalgren-Anaerobe-Broth

33 g Wilkins-Chalgren-Anaerobe-Broth	Oxoid, CM 643
1 l dest. H ₂ O	

1.1.6 Lösungen

Ladepuffer

3 g Ficoll 400	Merck, 341691
1 ml Na ₂ EDTA pH 8 (0,5 M)	Merck, 1.08454
0,25 ml Bromphenolblau (4%)	Merck, 1.08122
10 ml dest. H ₂ O	

NaCl-Lösung, gepuffert

7,65 g NaCl	Merck, 1.06400
0,724 g Na ₂ HPO ₄	Merck, 1.06586
0,21 g KH ₂ PO ₄	Merck, 1.04873
1 l dest. H ₂ O	

NaCl-Lösung, 0,9 %

9 g NaCl	Merck, 1.06400
1 l dest. H ₂ O	

PBS-Lösung

9,55 g PBS-Puffer	Applichem, A 0964,9050
1 l dest. H ₂ O	

STV (Saline-Trypsin-Versen)

100 ml Saline	
80 g NaCl	Merck, 1.06400
10 g Glukose	Sigma, G0350500
2 g KCl	Merck, 1.04936
11,5 g Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O	Merck, 1.06586
2 g KH ₂ PO ₄	Merck, 1.04873
100 ml Phenolrot (0,1 %)	Merck, 1.07241
900 ml dest. H ₂ O	
50 ml Trypsin (1,25 %)	PAA, L11-001
25 ml Versen (1 %)	Sigma, E-6511
825 ml dest. H ₂ O	

TBE-Puffer (10x)

108 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris)	Merck, 1.08382
55 g Borsäure	Applichem, A3581
40 ml Na ₂ EDTA pH 8 (0,5 M)	Merck, 1.08454
960 ml dest. H ₂ O	

Trypanblau-Lösung

1 ml 0,5 % Trypanblau	Biochrom, L6323
8,9 ml PBS-Dulbecco	Biochrom, L182-5005

Zimtsäurematrix

14 mg Zimtsäure	Aldrich, 476870
500 µl Acetonitril	Fluka, 34967
25 µl Trifluoressigsäure	Fluka, 74564
475 µl dest. H ₂ O	

1.1.7 ReagenzienAPI-Testsystem

	bioMérieux
Api 20 E	REF 20100/20160
API Suspensionsmedium	REF 70700
TDA	REF 70402
James	REF 70542
VP1 und VP2	REF 70422
NIT1 und NIT2	REF 70442
Zn Reagenz	REF 70380

Gramfärbung

Aceton	Applichem, 11-36-66-67
Immersionsöl	Merck, 1.15577
Karbolfuchsinlösung	Merck, 9215
Kristallviolettlösung	Merck, 1.09218
Lugol'sche Lösung	
Jod doppelt sublimiert	Merck, 4761
Kaliumiodid neutral	Merck, 5043

MTT-Test

Dimethylsulfoxid DMSO	Merck, 1.02952
Fetales Kälberserum (FKS)	Biochrom, S0115
Gliotoxin	Sigma, G9893
L-Glutamin	PAA, M11-004
MTT	Sigma, M2128

Penicillin/Streptomycin	PAA, P11-010
RPMI 1640	Sigma, R8758

PCR- und Elektrophorese

DNA-Ladder (100 bp)	New England Biolabs, N3231L
Agarose	Peqlab, 35-1020
dNTP Mix, 200 µM	Quiagen, 201901
Ethidiumbromid	Sigma, E8751
Hot Start Polymerase 5 U/ml (inkl. 10 * PCR-Puffer mit MgCl ₂)	Quiagen, 203203
Nuklease-freies Wasser	Promega, P119C
PCR Master-Mix	Promega, M7505
PowerSoil™ DNA Isolation Kit	MoBio, 12888-50
Primer	Metabion

Serologische Differenzierung

Anti-Salmonella, omnivalent	Sifin, TR 1101
Anti-Coli O157:K-	Sifin, TS 2218

1.1.8 Weitere Chemikalien und Zusätze

Bacterial test standard	Bruker, 255343
Ethanol	Roth, 9065.5
Gallenextrakt Rind (Oxgall powder)	Fluka, B3883
Glycerol	Applichem, A 3552
Kovacs Indol-Reagenz	Merck, 1.09293
Maisstärke	Mondamin
Milchsäure	Merck, 1.00366
Natronlauge (NaOH)	Sigma, S5881
Oxidase-Reagenz	Sigma, T3134
Salzsäure (HCl)	Merck, 1.09057
Streptomycinsulfat	Sigma, S6501
Wasserstoffperoxid 30 %	Roth, 8070.2

1.1.9 Software

ELISA-Plate-Reader Software	Dynex Revelation Software, Version 4.22
MALDI Biotyper Software	Bruker
Excel 2010	Microsoft
SigmaPlot 12.0	Sigma
SPSS Statistics 21	IBM

1.1.10 Zellkultur

Verozellen (Nierenzellen Grüner Meerkatzen)	DSMZ, ACC 33
--	--------------

1.1.11 Referenzstämme

<i>Lactobacillus reuteri</i>	DSM 20016
<i>Clostridium perfringens</i>	DSM 756
<i>Escherichia coli</i> O101: K99	Lehrstuhl für Tierhygiene, Nr. 33
<i>Salmonella</i> Typhimurium	DSM 554

1.1.12 Kandidatenkeime

Alle verwendeten Kandidatenkeime der Spezies *L. reuteri* (n = 57) wurden während des ersten Teils des Versuches aus den untersuchten Faecesproben isoliert. Die Isolat-ID setzt sich folgendermaßen zusammen: Die erste Zahl kennzeichnet die Nummer des Betriebes, die zweite die Nummer des Kalbes und die dritte die Probennummer. Anschließend folgt bei Laktobazillenisolaten das Kürzel „Lac“ und die Nummer des entsprechenden Isolates (Tabelle 26).

1.2 Tiere

Für die vorliegende Arbeit wurden Kotproben von insgesamt 327 Kälbern, überwiegend der Rasse Fleckvieh, untersucht. Im ersten Versuchsabschnitt wurden in der Zeit zwischen dem 26.11.2010 und dem 21.06.2012 von insgesamt 145 Kälbern aus 12 verschiedenen Betrieben, sofern möglich, jeweils sieben Kotproben innerhalb der ersten acht Lebenstage (= Beprobungszeitraum) gewonnen. Parallel dazu wurde der Gesundheitszustand für die ersten zwei Lebenswochen (= Beobachtungszeitraum) der Kälber erfasst. Von diesen 145 Kälbern wurden sieben aus bestimmten Gründen (z. B. andere Erkrankungen außer Durchfall oder antibiotische Behandlung) bei der statistischen Auswertung

nicht berücksichtigt, so dass die Daten von 138 Kälbern in die Auswertung einfließen. Zudem wurden Untersuchungsergebnisse aus einem Vorversuch zwischen dem 25.02.2008 und dem 27.05.2008 mit 12 weiteren Kälbern in die statistische Auswertung miteinbezogen. Tabelle 4 gibt einen Überblick über die für die Endauswertung berücksichtigte Kälberanzahl pro Betrieb. Eine detaillierte Übersicht der untersuchten Kälber findet sich in Tabelle 30 und Tabelle 31 (Anhang).

Tabelle 4: Übersichtstabelle über die im ersten Versuchsteil untersuchten Kälber

Betrieb	Landkreis	Kälber gesamt (n)	weibl. Kälber (n)	männl. Kälber (n)	Zwillings- kälber (n)	Beprobungs- zeitraum
1	Erding	8	4	4	0	26.11.2010 - 25.01.2011
2	Erding	6	2	4	2	09.12.2010 - 16.12.2010
3	Weißenburg- Gunzenhausen	13	3	10	0	20.05.2011 - 06.07.2011
4	Weißenburg- Gunzenhausen	13	6	7	4	17.05.2011 - 02.09.2011
5	Neuburg- Schrobenhausen	13	5	8	2*	01.09.2011 - 24.11.2011
6	Donau-Ries	15	7	8	2	16.09.2011 - 03.11.2011
7	Aichach- Friedberg	12	6	6	0	25.10.2011 - 01.03.2012
8	Eichstätt	14	8	6	0	25.10.2011 - 02.02.2012
9	Aichach- Friedberg	4	1	3	0	17.01.2012 - 24.01.2012
10	Aichach- Friedberg	14	7	7	1*	15.01.2012 - 17.03.2012
11	Aichach- Friedberg	18	9	9	3*	18.03.2012 - 14.06.2012
12	Neuburg- Schrobenhausen	8	3	5	0	16.03.2012 - 21.06.2012
13	Freising	12	5	7	0	25.02.2008 - 15.04.2008

* Geschwisterzwilling(e) verendet oder an anderer Krankheit außer Diarrhoe erkrankt

Darüber hinaus wurden im 3. Teil der Arbeit zwischen dem 10.02.2013 und dem 25.11.2013 jeweils 4 Kotproben von weiteren 170 Kälbern der oben genannten Betriebe (außer den Betrieben 9, 10 und 13) untersucht (Tabelle 45, Anhang).

1.3 Datenerfassung

Zu jedem Kalb wurde ein Begleitblatt ausgefüllt, das Angaben über die Identität des Kalbes, Geschlecht, Rasse, Geburtsdatum, Geburtsgewicht, Geburtsverlauf, Gesundheitszustand nach der Geburt, Muttertier, Kolostrumaufnahme sowie Auftreten von Durchfall und Medikamentengaben beinhaltete.

1.4 Probengewinnung

Das Untersuchungsmaterial (Kälberfaeces) wurde zumeist vom Landwirt selbst direkt aus dem After des Kalbes gewonnen. Hierzu wurde zunächst die Analregion des Kalbes gesäubert und desinfiziert. Anschließend wurde ein industriereiner Handschuh übergezogen, wobei zuvor sorgfältig darauf geachtet wurde, dass dieser nicht mit der Umgebung in Berührung kam. Das Probenmaterial wurde daraufhin mit einem Finger direkt aus dem After des Kalbes entnommen. Beim Ausziehen wurde der Handschuh auf links gedreht und die Luft herausgestrichen. Anschließend wurde der Handschuh verknotet und in einen mit der entsprechenden Probennummer beschrifteten Gefrierbeutel gegeben. Auf diese Art wurden von jedem Kalb sieben Proben innerhalb seiner ersten acht Lebenstage gewonnen (Tabelle 5).

Tabelle 5: Zeitpunkte der Probenentnahme

Probennummer	Entnahmezeitpunkt nach der Geburt
1	0 Stunden
2	6 Stunden
3	12 Stunden
4	24 Stunden
5	28 Stunden
6	3 Tage
7	7 Tage

1.5 Lagerung und Transport des Probenmaterials

Bis zur Abholung (maximal 48 Stunden nach Entnahme) wurden die Kotproben in einem Kühlschrank bei +4 bis +8 °C auf dem Betrieb aufbewahrt. Der Transport in das Untersuchungslabor erfolgte unter Kühllhaltung in einer handelsüblichen Kühlbox, die mit Kühlakkus versehen war. Die Untersuchung der Proben wurde unmittelbar nach Ankunft im Untersuchungslabor durchgeführt. Anschließend wurden die Proben bei -20° C eingefroren.

1.6 Struktur der untersuchten Betriebe

Die untersuchten Betriebe waren auf die drei bayerischen Regierungsbezirke Oberbayern, Schwaben und Mittelfranken verteilt. Der Milchviehbestand der Betriebe umfasste 55 bis 165 Kühe in konventioneller Laufstallhaltung. Die Tränkung der Kälber mit Kolostrum erfolgte, sofern möglich, unmittelbar nach der Geburt. In allen Betrieben wurden die Kälber spätestens 24 h nach der Geburt in sogenannte Kälberiglus oder Einzelboxen im Außenbereich verbracht.

2 Methoden

2.1 1. Teil: Untersuchungen zum Durchfallgeschehen und zur Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber

2.1.1 Mikrobiologisch-kulturelle Untersuchungen

2.1.1.1 Keimzahlbestimmung

Zur quantitativen Untersuchung wurde 1 g Kälberkot in 9 ml physiologischer NaCl-Lösung suspendiert und daraus eine Verdünnungsreihe mit Faktor 1:10 erstellt. 0,1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe wurden anschließend im Oberflächen-Spatel-Verfahren in Anlehnung an Gedek (1974) auf verschiedene Nährböden aufgebracht. Je nach Probenzeitpunkt wurden unterschiedliche Verdünnungsstufen verwendet (Tabelle 6).

Tabelle 6: Verdünnungsstufen pro Nährboden für verschiedene Faecesproben

Probennummer	Nährboden	Verdünnungsstufen
1	Blut, Schaedler, Gassner	10^{-2} bis 10^{-5}
	CATC, LAMVAB	10^{-2} bis 10^{-3}
2	Blut, Schaedler, Gassner	10^{-2} bis 10^{-7}
	CATC	10^{-2} bis 10^{-6}
	LAMVAB	10^{-2} bis 10^{-4}
3, 4	Blut, Schaedler	10^{-2} bis 10^{-9}
	Gassner, CATC	10^{-2} bis 10^{-8}
	LAMVAB	10^{-2} bis 10^{-6}
5, 6, 7	Blut, Schaedler, Gassner	10^{-6} bis 10^{-9}
	CATC	10^{-2} bis 10^{-7}
	LAMVAB	10^{-2} bis 10^{-8}

Für die Bestimmung der Bakterienanzahl in den verschiedenen Keimgruppen wurden, wie bei Hölzel et al. (2010) beschrieben, unterschiedliche Anzuchtmedien verwendet (Tabelle 7). Die Bestimmung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl erfolgte auf Blut-Agar, einem unselektiven Agar, der die Beurteilung des Hämolyseverhaltens von Bakterien ermöglicht. Die anaerobe mesophile Gesamtkeimzahl wurde nach Bebrütung unter anaeroben Bedingungen

auf Schaedler-Agar bestimmt, der durch die Zugabe von Schafblut und Vitamin K₁ das Wachstum obligater Anaerobier fördert. Für die Erhebung der Zahl der Enterobacteriaceae wurde Gassner-Agar verwendet. Gassner-Agar enthält Metachromgelb vor allem zur Hemmung der grampositiven Begleitflora und Laktose als Reaktionskörper, deren Abbau zu Säure durch den Indikator Wasserblau angezeigt wird. Wasserblau ist im sauren Bereich tiefblau, im alkalischen Bereich hingegen farblos. Im alkalischen Bereich tritt daher die gelbe Farbe des Metachromgelbs zunehmend in Erscheinung. Dies ermöglicht eine Unterscheidung der Enterobakterien in laktosepositiv und laktosenegativ. Die Enterokokken-Zahl wurde mit Hilfe des CATC-Agars erhoben. Die hohen Konzentrationen an Azid und Citrat hemmen die Begleitflora fast vollständig. Enterokokken können das farblose 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid zu rotem Formazan reduzieren, weshalb sie auf diesem Agar rote Kolonien bilden. Zum Nachweis der Laktobazillen diente der LAMVAB-Agar nach Hartemink et al. (1997). Sein Wirkungsprinzip beruht darauf, dass er zum einen mittels eines niedrigen pH-Werts die Konkurrenzflora (Enterobakterien, Clostridien, andere Anaerobier, usw.) hemmt und zum anderen durch das zugegebene Vancomycin (20 mg/ml) weitere Milchsäurebakterien wie Enterokokken und Bifidobakterien unterdrückt.

Nach 48-stündiger Inkubation bei 37 °C (Schaedler- und LAMVAB-Agar im Anaerobierbehälter) wurden pro Probe und pro Nährbodenart zwei Agarplatten aufeinander folgender Verdünnungsstufen ausgezählt und nach Multiplikation mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor der Mittelwert beider Platten als durchschnittlicher Keimgehalt berechnet.

Tabelle 7: Anzuchtmedien zur bakteriologischen Untersuchung von Kälberfaeces

Nährmedium	Keimbestimmung
Blut- Agar	Aerober Keimgehalt
Schaedler- Agar	Anaerober Keimgehalt (Clostridien)
CATC- Agar	Enterokokken
Gassner- Agar	Enterobacteriaceae
LAMVAB- Agar	Laktobazillen

2.1.1.2 Keimisolierung und Keimidentifizierung

Alle Zielkeime (Enterobakterien, Enterokokken, Laktobazillen und Clostridien) wurden nach der Keimzahlbestimmung morphologisch beschrieben. Dabei

wurden Größe, Form, Oberflächenstruktur und Pigmentierung berücksichtigt. Anschließend wurde, wie unter 2.1.1.1 beschrieben, für alle visuell unterschiedlichen Kolonien auf einer Nährbodenart die jeweilige Keimzahl ermittelt. Nach Isolierung und Subkultivierung der zuvor beschriebenen Kolonien und weiteren 24 h Bebrütung wurden die Reinkulturen verschiedenen orientierenden Differenzierungsreaktionen unterzogen (Tabelle 8). Je nach Zielkeim wurden anschließend weitere Differenzierungstests durchgeführt.

Tabelle 8: Prüfschema zur orientierenden Differenzierung in Kälberfaeces vorkommender Bakterien

Keim	Färbung		Reaktion		
	Gram	Sporenbildner	Katalase	Oxidase	Indol
Enterobacteriaceae	- St	-	+	-	+ / -
<i>Enterococcus</i> spp.	+ K	-	-	n.u.	n.u.
<i>Clostridium</i> spp.	+/- St	+	-	-	+ oder -
<i>Lactobacillus</i> spp.	+ St	-	-	-	-

n.u. = nicht untersucht; - neg. Reaktion; + pos. Reaktion; St = Stäbchen; K = Kokken

2.1.1.2.1 Bakteriologische Differenzierungsmethoden

Gramfärbung

Prinzip

Bei der Gramfärbung wird ein unlöslicher Farbstoffkomplex innerhalb der Zelle gebildet, welcher bei grampositiven Bakterien aufgrund ihrer mehrschichtigen Zellwand durch Alkohol nicht gelöst werden kann. Deshalb erscheinen sie in der Farbe des Komplexes. Bei gramnegativen Bakterien hingegen umfasst die Mureinschicht lediglich ein bis drei Schichten, weshalb der Farbstoffkomplex durch Alkohol gelöst werden kann. Daher erscheinen sie in der Farbe der Gegenfärbung.

Durchführung

- Eine Öse mit Bakterienmaterial in einem Tropfen NaCl-Lösung auf einem Objektträger verreiben.
- Präparat lufttrocknen und hitzefixieren (3 Mal durch die Flamme ziehen).
- Mit Karbolgentianaviolett-Lösung für 3 min bedecken, dann abgießen.
- 1 ½ min mit Lugol'scher Lösung beizen.
- Mit Leitungswasser abspülen.

- In Alkohol und Alkohol-Aceton-Mischung entfärben, bis keine Farbwolken mehr abgehen.
- Mit Leitungswasser nachspülen.
- Gegenfärben mit Fuchsin für 30 sek.
- Mit Wasser abspülen und trocken lassen.
- Grampositive Keime erscheinen blau, gramnegative hingegen rot.

Katalase-Test

Prinzip

Nachweis des Enzyms Katalase, das den Umbau von Wasserstoffperoxid in Sauerstoff und Wasser bedingt.

Durchführung

- Einen Tropfen 3%iges Wasserstoffperoxid auf einen Objektträger geben.
- Wenig Koloniematerial mit der Öse einreiben; dabei darauf achten, dass kein Blutagarmaterial verrieben wird => falschpositive Ergebnisse.
- Gasbläschenbildung durch Sauerstofferzeugung wird als positive Reaktion gewertet.

Oxidase-Test

Prinzip

Nachweis des Enzyms Cytochrom-c-Oxidase in Bakterienzellen.

Durchführung

- Filterpapier auf einen Objektträger legen und mit einigen Tropfen Oxidase-Reagenz (Tetramethyl-p-Phenylendiamin-Dihydrochlorid) tränken.
- Eine Einwegöse aus Plastik mit Bakterienkultur auf dem Filterpapier verreiben (Metallösen können zu falschpositiven Ergebnissen führen).
- Blaufärbung nach spätestens 30 sek gilt als positive Reaktion.

Indol-Nachweis

Prinzip

Das Enzym Tryptophanase katalysiert den Umbau der Aminosäure Tryptophan zu Indol, Ammoniak und Brenztraubensäure. Als Indikatorstoff fungiert p-Dimethylaminobenzaldehyd, das bei Anwesenheit von Indol rot wird.

Durchführung

- Filterpapier auf einem Objektträger mit Kovacs-Reagenz tränken.
- Koloniematerial mit einer Öse auf Filterpapier verreiben.
- Alternativ kann Kovacs-Reagenz auch direkt auf den Nähragar getropft werden.
- Rotfärbung innerhalb von ein bis drei Minuten wird als positive Reaktion gewertet.

Serumagglutination

Prinzip

Serologische Identifizierungsmethode, bei der im Serum enthaltene spezifische Antikörper mit den entsprechenden Antigenen Komplexe bilden.

Durchführung

- Einen Tropfen Serum auf den Objektträger geben.
- Bakterienmaterial mit der Öse einreiben.
- Negativkontrolle mit einem Tropfen NaCl-Lösung.
- Als positive Reaktion gilt eine sichtbare Verklumpung des Serums.

Biochemische Identifizierung mittels API 20 E®

Prinzip

Das API System stellt eine standardisierte und miniaturisierte Bunte Reihe dar. Verschiedene biochemische Reaktionen werden in Mikroröhrchen auf einem Teststreifen durchgeführt. Die in den Mikroröhrchen enthaltenen dehydrierten Substrate werden durch die zu untersuchende Bakteriensuspension gelöst. Die daraus resultierenden biochemischen Reaktionen werden entweder direkt oder nach Zugabe von Reagenzien durch einen Farbumschlag sichtbar. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines Auswertungsbogens und einer Datenbank.

Durchführung

- Inkubationswanne mit destilliertem Wasser benetzen und Teststreifen in die Wanne legen.
- Kolonien aus einer Reinkultur abnehmen und im API Suspensionsmedium suspendieren (Trübungsstandard McFarland 0,5).
- Suspension blasenfrei in die Mikroröhrchen des Streifens einfüllen.
- Inkubationswanne abdecken und bei 37 °C für 18 bis 24 h bebrüten.
- Zugabe festgelegter Zusatzreagenzien in die Mikroröhrchen und Ablesen der Reaktionen.
- Ermittlung des numerischen Profils auf dem Ergebnisblatt und Identifizierung anhand der Datenbasis von Biomerieux.

2.1.1.2.2 Untersuchung auf Clostridien

Zur Identifizierung von Clostridien wurden auf Schaedler-Agar unter anaeroben Bedingungen wachsende Keime nach morphologischen Kriterien ausgewählt und sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen subkultiviert, um fakultativ anaerobe Keime auszuwählen. Die verbliebenen obligaten Anaerobier wurden in Verbindung mit den Resultaten aus der Gramfärbung und den Ergebnissen der Differenzierungsreaktionen (Tabelle 8) auf Gattungsebene als *Clostridium* spp. identifiziert.

2.1.1.2.3 Untersuchung auf Enterobakterien

Die Enterobacteriaceae wurden zusätzlich auf ihre Fähigkeit zur Laktosespaltung und, mit Hilfe des Fluorocult-Agars, auf die Aktivität der β -D-Glucuronidase überprüft. Die β -D-Glucuronidase hydrolysiert das im Agar enthaltene 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronid zu 4-Methylumbelliferon, welches eine Fluoreszenz im UV-Licht aufweist. Die Aktivität der β -D-Glucuronidase ist charakteristisch für die meisten *Escherichia coli*-Stämme, abgesehen von dem enterohämorrhagischen *E. coli*-Stamm O157:H7 (EHEC). Laktose- und indolpositive Stämme, welche sich auf Fluorocult-Agar negativ darstellten, wurden zusätzlich mit *E. coli* O157-Antiserum auf Agglutination überprüft. Laktose- und indolnegative Stämme hingegen wurden zur Überprüfung auf Salmonellen mit omnivalentem *Salmonella*-Antiserum auf Agglutination getestet. Bei ausgewählten Keimen wurde eine Speziesidentifizierung mit Hilfe des API 20 E®-Testsystems durchgeführt.

2.1.1.2.4 Untersuchung auf Enterokokken

Enterococcus spp. wurden zur genauen Spezifizierung zusätzlichen Zuckertests unterzogen (Bejuk et al., 2000). Dafür wurde jeweils eine Öse mit Koloniematerial in Röhrchen mit 5 ml der jeweiligen Zuckerlösung gerührt und durch Vortexen gut durchmischt. Nach 24-stündiger Bebrütung bei 37 °C wurde die Verstoffwechslung der Zucker überprüft. Ein Farbumschlag der zuvor roten Zuckerlösung nach gelb wurde als positives Ergebnis gewertet. In Übereinstimmung mit dem morphologischen Erscheinungsbild wurden die Enterokokken anhand ihrer Stoffwechselprofile in drei Gruppen eingeteilt: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus nonfaecalis/nonfaecium* (Tabelle 9).

Tabelle 9: Zuckerverstoffwechslung verschiedener *Enterococcus* spp. (nach Bejuk et al., 2000)

Spezies	Substrat			
	Xylose	Mannitol	Arabinose	Natriumpyruvat
<i>Ent. faecalis</i>	-	+	-	+
<i>Ent. faecium</i>	-	+	+	-
<i>Ent.</i> nonfaecalis/nonfaecium- Gruppe				
<i>Ent. gallinarum</i>	+	+	+	-
<i>Ent. casseliflavus</i> (= <i>flavescens</i>)	+	+	+	-
<i>Ent. raffinosus</i>	+	+	+	+/-
<i>Ent. hirae</i>	-	- (+)	-	-
<i>Ent. durans</i>	-	-	-	-
<i>Ent. villorum</i>	-	-	-	-
<i>Ent. avium</i>	-	+	+	+

2.1.1.2.5 Untersuchung auf Laktobazillen

Alle von LAMVAB-Agar isolierten Keime, welche die Kriterien in Tabelle 5 erfüllten, wurden als „Laktobazillen“ angesehen. Von den einzelnen Proben wurden bis zu acht verschiedene Einzelkeime isoliert. Eine genaue Speziesidentifizierung erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt mit Hilfe der

MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight) Massenspektrometrie (MS) wie bei Sauer et al. (2008) und Wieser et al. (2012) beschrieben (s. 2.1.2). Stichprobenhaft wurden auch morphologisch identische Kolonien auf ihre Übereinstimmung mittels MALDI-TOF MS überprüft.

2.1.1.3 Cryokonservierung

Nach der Differenzierung erfolgte die Konservierung der Isolate bei -70 °C. Hierfür wurden die Keime subkultiviert, für 24 h (bzw. 48 h bei Laktobazillen) bei 37 °C inkubiert und anschließend mit cryoprotektivem Medium versehen. Bei den Laktobazillen diente glycerolhaltige MRS-Bouillon, bei allen anderen Keimen Nutrient Broth mit Glycerol als cryoprotektives Medium.

2.1.2 Speziesidentifizierung mit MALDI-TOF-Massenspektrometrie

Alle den Laktobazillen zugeordneten Isolate wurden einer genauen Identifizierung mittels MALDI-TOF-MS unterzogen. Die MALDI-TOF-MS stellt derzeit die schnellste, präziseste und kostengünstigste Methode für die Identifizierung intakter Bakterien in der Routinediagnostik dar (Carbonnelle et al., 2011). Die bakterielle Diagnostik mithilfe der MALDI-TOF-MS beruht vorwiegend auf der Analyse ribosomaler Proteine anhand ihrer Massen und dem Abgleich des dadurch entstehenden charakteristischen Spektrums mit einer Datenbank. Dafür wird eine Bakterienkolonie direkt auf eine metallische Target-Platte aufgetragen und mit einer Zimtsäurematrix-Lösung kokristallisiert. Nach Erzeugung eines Vakuums wird die Probe mit einem fokussierten Laserstrahl beschossen, wodurch die Matrix explosionsartig verdampft. Dabei werden die in die Matrix eingebetteten Analyten herausgelöst und ionisiert. Die ionisierten Moleküle werden in einem elektrischen Feld beschleunigt und deren Flugzeit im Vakuum bestimmt (Schubert und Wieser, 2010; Carbonnelle et al., 2011) (Abbildung 4). Anhand der Flugzeit wird die exakte Masse der einzelnen Analyten berechnet und in einem Gesamtspektrum dargestellt. Anschließend werden die gewonnenen Spektren mit der Referenzdatenbank abgeglichen und das Ergebnis mit zugehörigen Übereinstimmungswerten (Score) in einer Liste dargestellt. Die Score-Werte können zwischen 0 und 3 liegen. Ein Score-Wert über 2,0 wird als korrekte Speziesidentifizierung angesehen, ein Score-Wert über 1,7 als verlässliche Genusidentifizierung (Freiwald und Sauer, 2009; Schubert und Wieser, 2010).

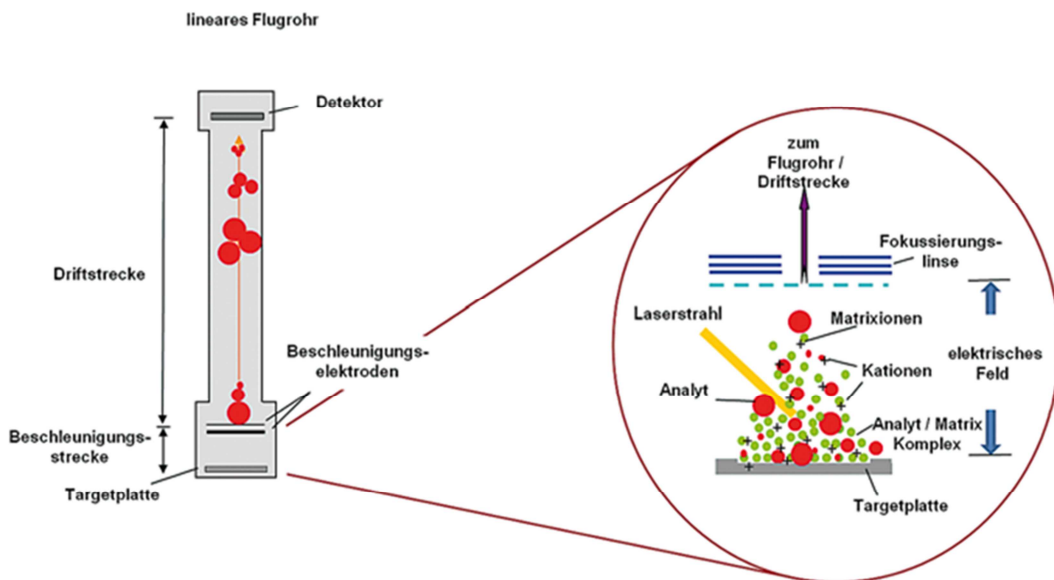


Abbildung 4: Prinzip der Identifikation von Proteinen mittels MALDI-TOF-MS (Schubert und Wieser, 2010)

Für die Durchführung der Untersuchung mittels MALDI-TOF-MS wurden zunächst 2 ml Organic-Solvent-Lösung (OS), bestehend aus 1 ml Acetonitril, 950 µl dest. H₂O und 50 µl Trifluoressigsäure, hergestellt. Anschließend wurden für die Herstellung der Zimtsäurematrix-Lösung 14 mg Zimtsäure (α -Cyano-4-hydroxy-cinnamicacid) mit 1 ml OS in Lösung gebracht. Daraufhin wurde je 1 µl Bacterial-Test-Standard auf zwei Analysepositionen (Spots) der Target-Platte pipettiert und bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Anschließend wurden die Spots mit 1 µl Zimtsäurematrix überschichtet. Für die Diagnostik der Laktobazillenisolates wurde je eine kleine Menge einer Bakterienkolonie aus einer Reinkultur (MRS-Agar; 48 h Bebrütung; anaerob) mit Hilfe eines autoklavierten Zahnstochers auf einen Spot der Target-Platte aufgebracht. Jedes Bakterienisolat wurde im Doppelansatz aufgetragen. Die Probe wurde schließlich mit 1 µl Zimtsäurematrix überschichtet und luftgetrocknet. Die automatische Messung (240 Laserschüsse an verschiedenen Stellen des Spots) wurde anschließend im MALDI-Biotyper durchgeführt und die gewonnen Spektren mit der Referenzdatenbank abgeglichen.

2.1.3 Beurteilung der Kotkonsistenz

Jede Kotprobe wurde, in Anlehnung an die Beurteilungsmethode der Klinik für Wiederkäuer der LMU München (Friedrich et al., 2011), anhand ihres Wassergehaltes grobsinnlich in fünf Grade eingeteilt (Tabelle 10). Entsprechend

einem der drei Grade „wässrig“, „suppig“ oder „dünnbreiig“, wurde sie als Durchfall-Probe bezeichnet. Fiel sie hingegen in die Kategorien „mittel- oder dickbreiig“, so wurde dies als normale Kotbeschaffenheit gewertet. Neben der direkten Beurteilung der vorliegenden Proben wurden des Weiteren für die Zeiträume zwischen den Probennahmen die Angaben des Landwirtes im Fragebogen berücksichtigt.

Tabelle 10: Beurteilung der Kotkonsistenz (nach der Methode der Klinik für Wiederkäuer, LMU München; Friedrich et al., 2011)

Konsistenz	Beschreibung
wässrig	wie Wasser
suppig	wie Erbsensuppe
dünnbreiig	breiiger Kot, der durch die gespreizten Finger fällt
mittelbreiig	bleibt auf den gespreizten Fingern der Hand liegen
dickbreiig	fest und knetbar

2.1.4 Nachweis häufiger Durchfallerreger mittels ELISA

Kotproben derjenigen Kälber, die innerhalb des Beprobungszeitraumes Durchfall entwickelten, wurden zur Abklärung der Ursache mithilfe eines digestiven ELISA-Tests (Fa. Bio-X Diagnostics) auf das Vorhandensein von Rotaviren, Coronaviren, *E.coli* F5 (K99) und *Cryptosporidium parvum* untersucht. Dafür wurde, falls genügend Probenmaterial vorhanden war, die Durchfall-Probe verwendet, ansonsten die nächste darauf folgende Probe.

Bei dem verwendeten Testkit handelte es sich um einen sogenannten Sandwich-ELISA. Dabei wird in der Probe enthaltenes Antigen durch Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes gebunden. Durch Zugabe enzymmarkierter antigenspezifischer Antikörper kann anschließend hinzugefügtes Substrat im positiven Fall hydrolisiert werden. Dies wird durch eine Farbreaktion sichtbar, die photometrisch nachgewiesen werden kann.

Die Durchführung des ELISA-Tests erfolgte nach den Herstellerangaben (Abbildung 5).

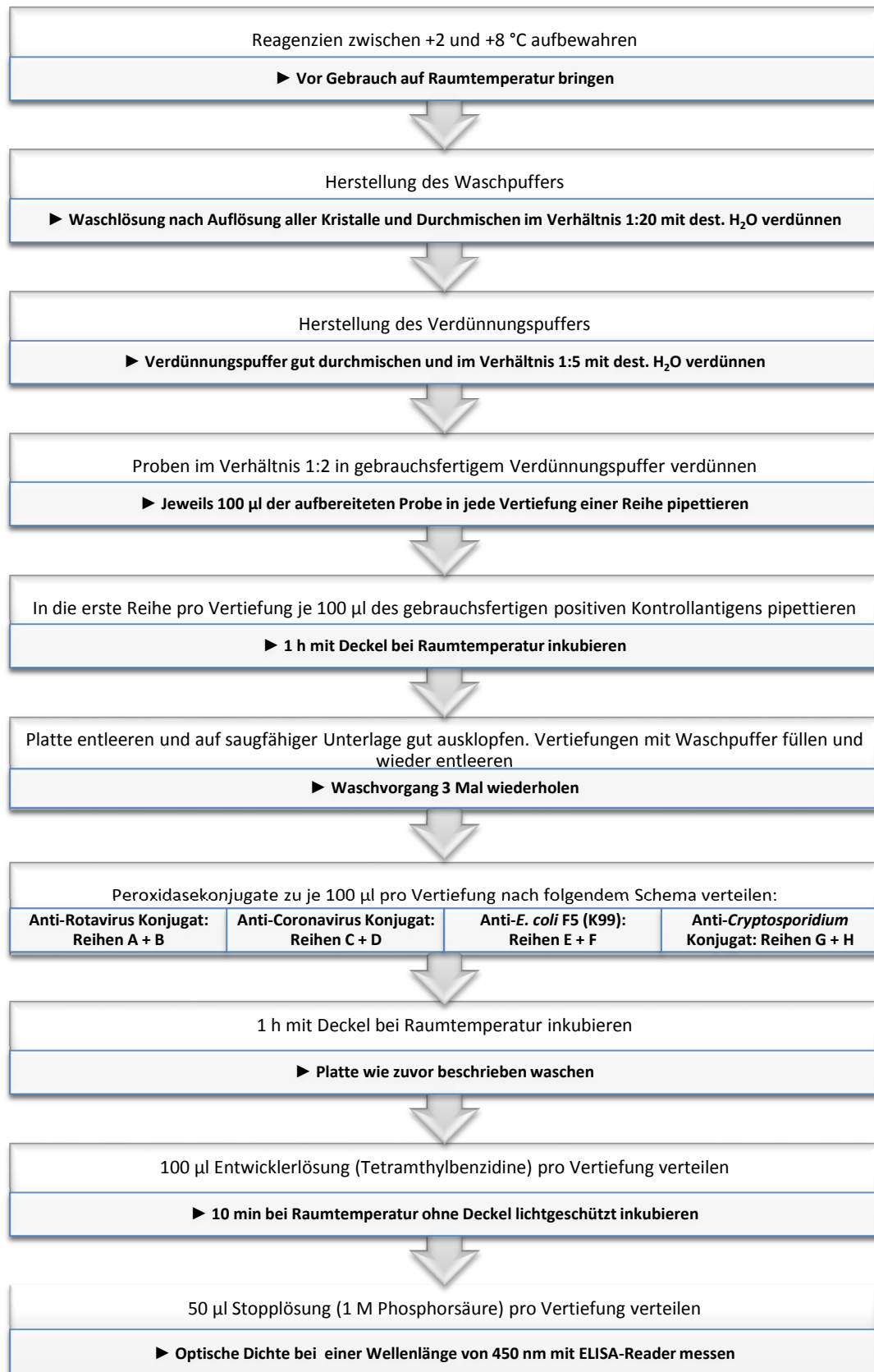


Abbildung 5: Schema für die Untersuchung von Faecesproben auf Rotaviren, Coronaviren, *E. coli* F5 (K99) und *Cryptosporidium parvum* mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Testkits

2.2 2. Teil: Auswahl geeigneter Isolate für ein Diarrhoe-Prophylaktikum

2.2.1 Allgemeines Vorgehen

Die Ergebnisse des ersten Teils der vorliegenden Arbeit zeigen Unterschiede in den Laktobazillenpopulationen gesunder und durchfallkranker Kälber auf. Basierend auf dem Vergleich der mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie nachgewiesenen Laktobazillenspezies wurden für die nachfolgenden Untersuchungen *L.-reuteri*-Isolate verwendet, die aus einer 48 h-Kotprobe isoliert wurden (n = 57). Als Positivkontrolle fungierte bei allen Untersuchungen *L. reuteri* DSM 20016. Abbildung 6 zeigt die Vorgehensweise zur Auswahl geeigneter Stämme für ein Probiotikum auf.

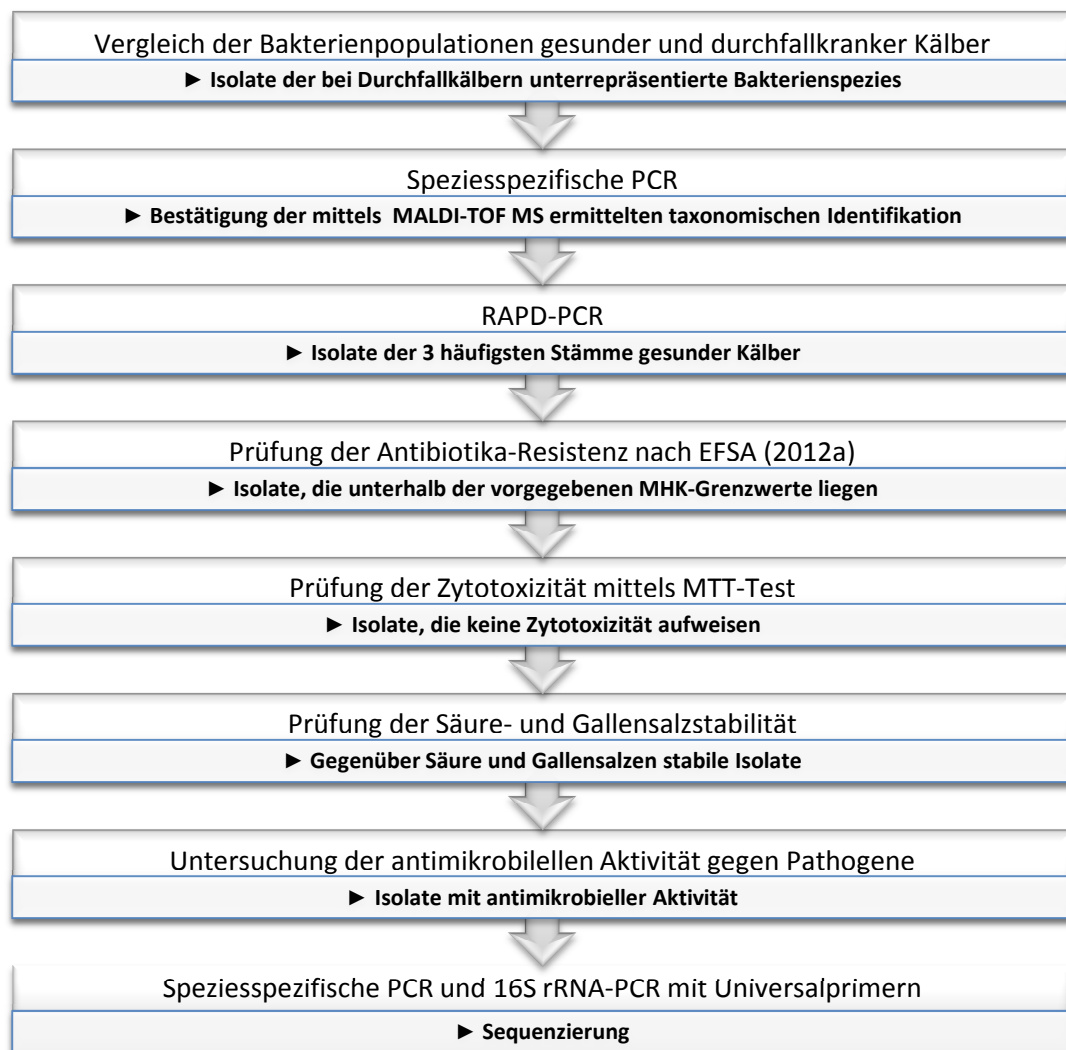


Abbildung 6: Schema für die Auswahl geeigneter Stämme für ein Probiotikum

2.2.2 Molekularbiologische Untersuchungen

Die FAO/WHO (2002) hat Richtlinien für die Evaluierung von Probiotika in Nahrungsmitteln aufgestellt. Allen voran wird eine Genus- und Speziesidentifizierung mit validierten molekularbiologischen Methoden, beispielsweise mittels DNA-Sequenzierung der 16S rRNA, vorgeschrieben. Da probiotische Eigenschaften häufig stammspezifisch sind (Fuller, 1992; Ramos et al., 2013), wird zudem die Typisierung des ausgewählten Stammes, z. B. mittels RAPD-PCR empfohlen.

2.2.2.1 DNA-Extraktion

Die Extraktion der DNA aus bakteriellem Kulturmateriel erfolgte mit dem Power Soil™ DNA Isolation Kit (Fa. MoBio Laboratories). Tabelle 11 zeigt die Zusammensetzung des verwendeten Extraktions-Kits.

Tabelle 11: Bestandteile des Power Soil™ DNA Isolation Kits

Kit-Bestandteil	Bestandteile (auszugsweise)
PowerBead Tubes (750 µl)	Beads (= Glaskügelchen), Pufferflüssigkeit
Solution C1	SDS und andere Detergentien
Solution C2	1. Präzipitationsreagenz
Solution C3	2. Präzipitationsreagenz
Solution C4	Hochkonzentrierte Salzlösung
Solution C5	Ethanol-basierte Waschlösung
Solution C6	DNA-freier Elutionspuffer
Spin Filters (Einheiten in 2 ml Tubes)	Silica-Membran
Collection Tubes	

Die Durchführung der Extraktion mittels Power Soil™ DNA Isolation Kit erfolgte nach Herstellerangaben (Abbildung 7).

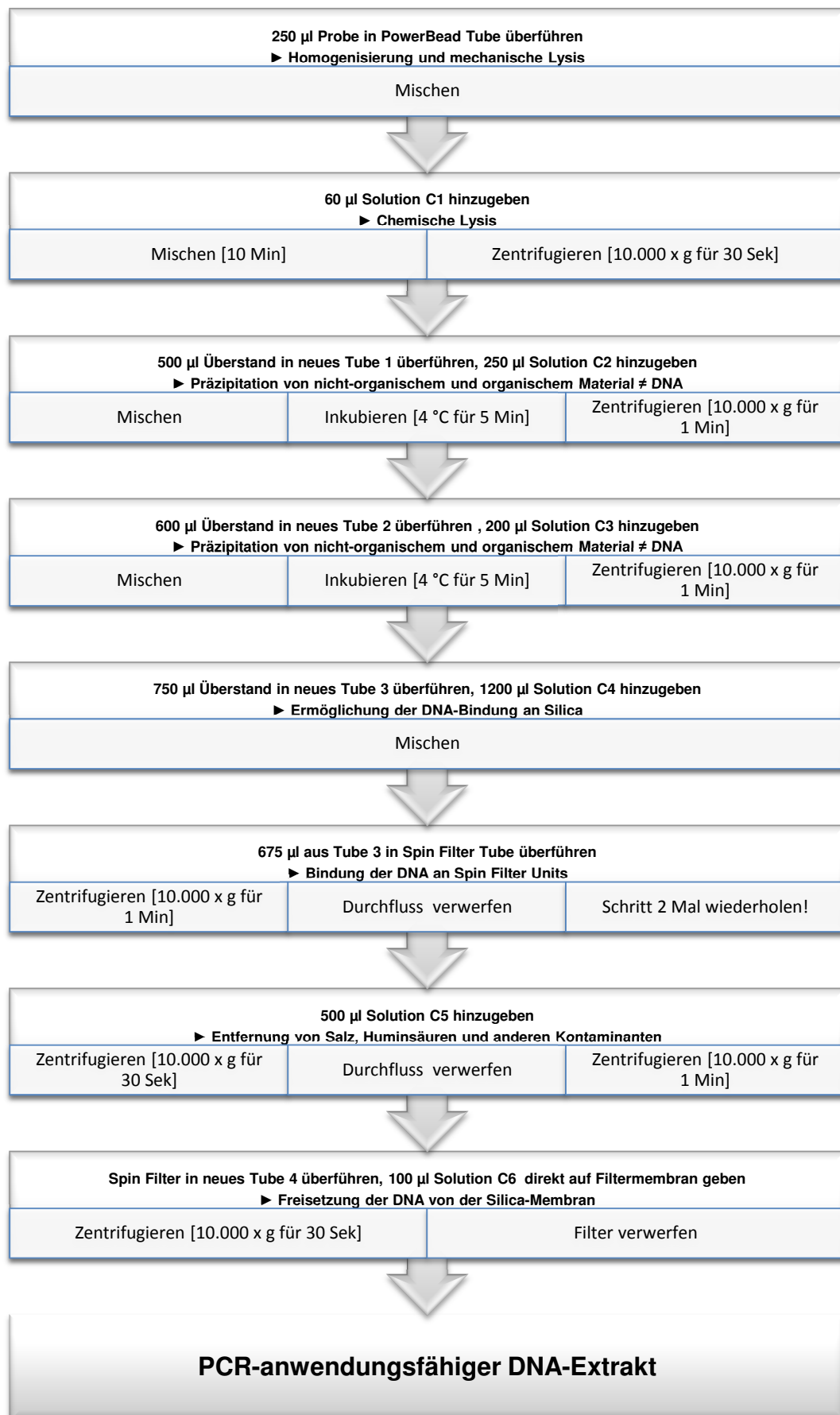


Abbildung 7: Arbeitsschritte der Extraktion mittels Power Soil™ DNA Isolation Kit

2.2.2.2 PCR-Methoden

2.2.2.2.1 Speziesspezifische PCR

Die speziesspezifische PCR wurde nach der Methode von Chagnaud et al. (2001) durchgeführt. Für die Identifizierung von *L. reuteri* wird hierbei eine 1000 bp umfassende Sequenz innerhalb des 16S rRNA Gens der bakteriellen DNA amplifiziert. Dabei bindet ein Primer (forward) an einer speziesspezifischen Region, während der andere (reverse) an einer konservierten, genuspezifischen Region des 16S rRNA Gens bindet. Für die speziesspezifische PCR wurden die 57 ausgewählten Kandidatenkeime verwendet, die mittels MALDI-TOF-MS als *L. reuteri* identifiziert wurden. Der Referenzstamm *L. reuteri* DSM 20016 diente bei allen PCR-Methoden als Positiv-Kontrolle, nukleasefreies Wasser an Stelle der Template DNA als Negativ-Kontrolle. Die PCR wurde mit den von Chagnaud et al. (2001) beschriebenen Primern (Tabelle 12) durchgeführt.

Tabelle 12: Primer für *L.-reuteri*-spezifische PCR

Primer	Sequenz
REUT1 (forward)	5'-TGAATTGACGATGGATCACCAGTG-3'
LOWLAC (reverse)	5'-CGACGACCATGAACCACCTGT-3'

Für die PCR wurden 25 µl Reaktionsgemisch verwendet, welches 1 µl des Power Soil™ Extraktes (=Template) enthielt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Zusammensetzung der Reagenzien für *L.-reuteri*-spezifische PCR

Bestandteil	Volumen (µl)
Nukleasefreies Wasser	11,0
Promega Master Mix	12,5
Primer REUT1	0,25 (1 µM)
Primer LOWLAC	0,25 (1 µM)
Template DNA	1,0

Die PCR wurde mittels Thermocycler nach folgendem Schema durchgeführt (Tabelle 14).

Tabelle 14: Thermocycler-Protokoll für *L.-reuteri*-spezifische PCR

PCR-Schritt	Temperatur (°C)	Zeit (min:sek)	Zyklen
Denaturierung	95	10:00	
Denaturierung	95	00:30	30
Annealing	65	00:30	
Elongation	72	01:00	
Finale Elongation	72	10:00	

Die Amplifikate wurden anschließend mittels Elektrophorese in 1 %igem Agarose-Gel aufgetrennt. Isolate, die nicht eindeutig als *L. reuteri* identifizierbar waren, wurden als mögliche Kandidatenkeime für ein Prophylaktikum ausgeschlossen.

2.2.2.2.2 RAPD-PCR

Die bereits oben genannten, als Kandidatenkeime infrage kommenden *L.-reuteri*-Isolate (n = 57) wurden mit der von Williams et al. (1990) beschriebenen RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-PCR) weiter differenziert, um die bei gesunden Kälbern am häufigsten vorkommenden Genotypen für das Substitutionsprophylaktikum zu selektieren. Die RAPD-PCR ist eine Fingerprinting-Methode, bei der kurze, meist 10 bp umfassende Primer für die Amplifizierung der DNA verwendet werden. Aufgrund einer geringen Annealingtemperatur lagern sich die Primer auch an DNA-Abschnitte an, die nur teilweise ihrer eigenen Sequenz entsprechen. Im Gegensatz zur klassischen PCR ist eine genaue Kenntnis des zu amplifizierenden Genabschnitts nicht erforderlich. Vielmehr werden zufällig, je nach Sequenz des Primers, unterschiedlich lange DNA-Abschnitte amplifiziert, die nachfolgend ein für den jeweiligen Bakterienstamm charakteristisches Bandenmuster ergeben (Williams et al., 1990; Reineke, 2004). Die RAPD-PCR findet bereits häufig Anwendung in der Charakterisierung und Differenzierung von Laktobazillen (Kwon, 2000; Roy et al., 2000; Schillinger et al., 2003; Korhonen et al., 2007; Martin et al., 2009; Baruzzi et al., 2011).

Für die RAPD-PCR wurde der Primer OPA-18 (Mättö et al., 2004) verwendet (Tabelle 15).

Tabelle 15: Für RAPD-PCR verwendeter Primer

Primer	Sequenz
OPA-18	5'-AGGTGACCGT-3'

Der PCR-Ansatz (25 µl) setzte sich aus folgenden Reagenzien zusammen (Tabelle 16).

Tabelle 16: Zusammensetzung der Reagenzien für RAPD-PCR

Bestandteil	Volumen (µl)
Nukleasefreies Wasser	10,5
Promega Master Mix	12,5
Primer OPA-18	1,0 (0,4 µM)
Template DNA	1,0

Folgendes Protokoll wurde für die Durchführung der PCR mittels Thermocycler angewendet (Tabelle 17).

Tabelle 17: Thermocycler-Protokoll für RAPD-PCR

PCR-Schritt	Temperatur (°C)	Zeit (min:sek)	Zyklen
Denaturierung	95	05:00	
Denaturierung	94	01:00	45
Annealing	32	01:00	
Elongation	72	02:00	
Finale Elongation	72	10:00	

Die PCR-Produkte wurden gefärbt, mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließend mit Hilfe von UV-Licht visualisiert. Für die Selektion möglicher Kandidatenkeime für ein Substitutionsprophylaktikum wurden Isolate der drei am häufigsten bei gesunden Kälbern nachzuweisenden Stämmen verwendet.

2.2.2.2.3 16S rRNA-PCR mit Universalprimern

Diese PCR-Methode wurde lediglich mit den final ausgewählten *L.-reuteri*-Stämmen (n = 2) und dem Referenzstamm durchgeführt. Sie diente der Überprüfung der Spezies durch eine Sequenzierung der Amplifikate. Die PCR wurde in Anlehnung an Korthals et al. (2008) mit den universellen Primern com1/com2Ph durchgeführt, mit denen ein 400 bp langes Fragment des bakteriellen 16S rRNA Gens vervielfältigt wird (Schwieger und Tebbe, 1998; Korthals et al., 2008) (Tabelle 18).

Tabelle 18: Universalprimer für 16S rRNA-PCR

Primer	Sequenz
com1 (forward)	5'-CAGCAGCCGCGGTAATAC-3'
com2Ph (reverse)	5'-Ph-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT -3'

Der 25 µl-Reaktionsansatz enthielt dabei die in Tabelle 19 aufgeführten Substanzen.

Tabelle 19: Zusammensetzung der Reagenzien für 16S rRNA-PCR mit Universalprimern

Bestandteil	Volumen (µl)
Nukleasefreies Wasser	20,37
10 x Puffer (mit MgCl ₂)	2,5 (1,5 mM)
dNTP Mix	0,5 (200 µM)
Primer com1	0,25 (0,5 µM)
Primer com2Ph	0,25 (0,5 µM)
Hotstart Polymerase	0,13
Template DNA	1,0

Die Vervielfältigung der bakteriellen DNA erfolgte im Thermocycler nach folgendem Protokoll.

Tabelle 20: Thermocycler-Protokoll für 16S rRNA-PCR mit Universalprimern

PCR-Schritt	Temperatur (°C)	Zeit (min:sek)	Zyklen
Denaturierung	95	15:00	
Denaturierung	94	01:00	30
Annealing	50	01:00	
Elongation	72	01:10	
Finale Elongation	72	05:00	

2.2.2.3 Gelelektrophorese

Die PCR-Produkte aus oben aufgeführten PCR-Methoden wurden mittels horizontaler Gelelektrophorese aufgetrennt. Das 1 %ige Agarose-Gel enthielt 100 ml 0,5 x TBE-Puffer und 3,6 µl gesättigte Ethidiumbromidlösung (10 mg/ml). Anschließend wurden 8 µl des PCR-Produktes mit 2 µl Ladepuffer gemischt und auf das Gel aufgetragen. Zusätzlich wurden auf beiden Seiten des Gels je 10 µl einer 100 bp DNA-Ladder aufgetragen. Nach Anlegen einer Spannung von 200 V für 45 min wurde das Gel mittels UV-Licht visualisiert. Die Position der einzelnen DNA-Fragmente im Gel wurde visuell bestimmt.

2.2.2.4 Sequenzierung

Eine Sequenzierung erfolgte nur für Stämme, die zuletzt für das probiotische Endprodukt ausgewählt wurden (n = 2). Die Sequenzanalyse der PCR-Produkte

aus speziesspezifischer PCR und 16S rRNA-PCR mit Universalprimern wurde von der Firma Sequiserve (Vaterstetten) durchgeführt. Die Nukleotidsequenzen der Genfragmente wurden anschließend mit Hilfe des BLAST-Programms (Basic Local Alignment Search Tool; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) mit Sequenz-Datenbanken verglichen und die statistische Wahrscheinlichkeit für Speziesübereinstimmungen ermittelt.

2.2.3 Mikrobiologisch-kulturelle Untersuchung

2.2.3.1 Prüfung der Antibiotika-Resistenz

Zur Prüfung der Antibiotika-Resistenz wurde die minimale Hemmkonzentration (MHK) mittels Mikrodilutionsverfahren bestimmt. Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines Antibiotikums (mg/l), ab der ein Bakterienisolat kein Wachstum aufweist. Die Festlegung sog. Cut-off-Werte ermöglicht die Unterscheidung von sensiblen und resistenten Isolaten. Stimmt der MHK-Wert eines zu untersuchenden Isolates mit dem Cut-off-Wert überein oder liegt er darunter, so ist es als sensibel einzustufen. Ein MHK-Wert über dem Cut-off-Wert kennzeichnet ein resistentes Isolat (EFSA, 2012a).

Für diese Untersuchung wurden kommerzielle Mikrotiterplatten, die mit verschiedenen Antibiotika in aufsteigenden Konzentrationen vorbeschichtet sind, verwendet. Mittels oben aufgeführter Methoden wurden 18 *L.-reuteri*-Isolate ausgewählt, die auf ihr Resistenzverhalten hin überprüft wurden. Die Überprüfung erfolgte nach dem von Hölzel (2006) beschriebenen Verfahren zur Testung von Laktobazillen. Hierfür wurden einige Kolonien einer *Lactobacillus*-Kultur (48 h, 37 °C, anaerob) von MRS-Agar in 0,9 %ige NaCl-Lösung überführt und eine dem Teststandard McFarland 0,5 entsprechende Trübung eingestellt. Anschließend wurden 100 µl dieser Suspension zu zwei Teströhrchen mit jeweils 13 ml Wilkens-Chalgren-Broth hinzugegeben. Die Befüllung der Kavitäten der Mikrotiterplatte mit je 100 µl der zuvor hergestellten Lösung erfolgte mit Hilfe des Micronaut® Sprint Dispensierautomaten. Nach fünfminütigem Schütteln auf einem Horizontalschüttler wurden die Mikrotiterplatten mit Klebefolie versehen und anaerob bei 37 °C für 48 h bebrütet. Anschließend wurde die MHK visuell beurteilt. Zum Ausschluss einer Kontamination wurde für jede der hergestellten Lösungen ein Kontrollausstrich auf Blut angefertigt, der 24 h bei 37 °C bebrütet wurde.

Da sich Streptomycin nicht auf der vorbeschichteten Mikrotiterplatte befand, wurde dieses für die Untersuchung auf Streptomycinresistenz in Wilkens-Chalgren-Broth gelöst und sterilfiltriert. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe erstellt, wodurch Streptomycinkonzentrationen von 8, 16, 32, 64 und 128 mg/l in der Lösung erreicht wurden. 50 µl jeder Verdünnungsstufe wurden in die Kavitäten einer 96-Loch-Mikrotiterplatte vorgelegt und mit 50 µl der oben beschriebenen Wilkens-Chalgren-Keim-Suspension aufgefüllt. Nach Befüllung der Platten wurde wie oben beschrieben weiter vorgegangen.

In Tabelle 21 sind die von der EFSA (2012a) vorgegebenen Cut-off-Werte verschiedener Antibiotika für *L. reuteri* aufgeführt. Diese Werte wurden für die Evaluation möglicher Kandidatenkeime für ein Diarrhoe-Prophylaktikum berücksichtigt. Da *L. reuteri* über eine intrinsische Resistenz gegenüber Vancomycin verfügt (Klein et al., 2000), wurde von der EFSA (2012a) für *L. reuteri* kein Grenzwert für dieses Antibiotikum angegeben.

Tabelle 21: Cut-off-Werte für *L. reuteri* (nach EFSA, 2012a)

Antibiotikum	Cut-off-Wert (mg/l)
Ampicillin	2
Gentamicin	8
Kanamycin	64
Streptomycin	64
Erythromycin	1
Clindamycin	1
Tetracycline	16
Chloramphenicol	4

2.2.3.2 Prüfung der Zytotoxizität mittels MTT-Test

Der MTT-Test stellt einen diagnostischen Zellkulturtest dar, welcher der Überprüfung der Zytotoxizität, Zellviabilität und Zellproliferation dient (Mosmann, 1983). Es handelt sich dabei um ein colorimetrisches Verfahren, das auf der Reduktion von wasserlöslichem, gelbem MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromid) zu wasserunlöslichem, violetter Formazan beruht (Gareis, 2006) (Abbildung 8).

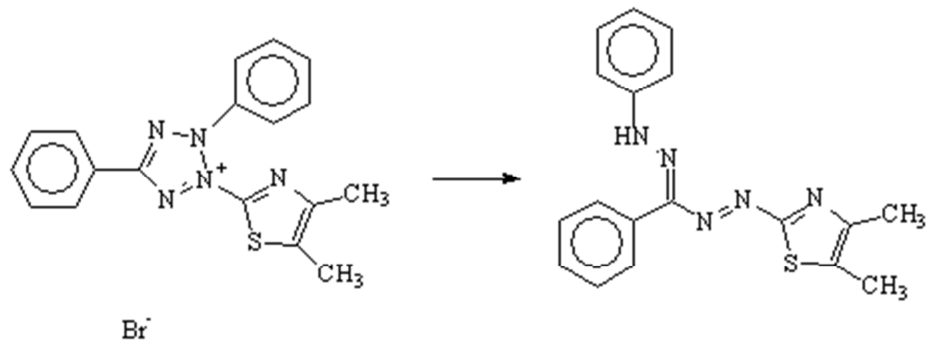


Abbildung 8: Reduktion von MTT zu Formazan (Hebestreit, 2004)

MTT wird durch intrazelluläre Enzyme, insbesondere NAD(P)H-Oxidoreduktasen, umgesetzt (Berridge et al., 2005). Da diese Vorgänge nur in lebenden Zellen ablaufen, stellt die MTT-Reduktionsrate ein Maß für die Lebensfähigkeit bzw. die metabolische Aktivität von Zellen dar. Zytotoxische Substanzen setzen die enzymatische Aktivität der Zellen herab, was sich in einer verminderten Formazanbildung äußert (Gareis, 2006).

Für die Prüfung der Zytotoxizität erfolgte zunächst die Herstellung der Überstände der Laktobazillenkulturen und der Kontrollmedien wie bei Motevaseli et al. (2013) beschrieben. Dafür wurden jeweils 50 ml MRS-Bouillon (pH 6,5) mit den Testkeimen ($n = 2$) beimpft und für 24 h (37 °C, anaerob) unter permanentem Schütteln (150 rpm) bebrütet. Die Bakteriensuspension wurde daraufhin bei 1100 * g für 15 min bei 4 °C zentrifugiert. Die resultierenden Überstände wurden in zwei Aliquots unterteilt. Bei einem Aliquot wurde der pH-Wert mittels NaOH auf pH = 6,5 eingestellt. Um Matrixeffekte zu evaluieren, wurde sowohl unbeimpfte MRS-Bouillon (pH = 6,5), als auch mittels Milchsäure auf den pH-Wert der Laktobazillenüberstände (pH = 4,3) eingestellte MRS-Bouillon als Mediumkontrolle verwendet. Anschließend wurden die Überstände mit Hilfe eines 0,2 µm Membran-Filter filtriert, um Verschmutzungen und verbleibende Bakterien zu entfernen.

Für den MTT-Test wurden Verozellen verwendet, welche in RPMI-1640-Medium, versetzt mit 2 % fetalem Kälberserum, 2 % L-Glutamin und 1 % Penicillin/Streptomycin, kultiviert wurden. Zunächst wurden die Verozellen mit 5 ml PBS-Lösung gewaschen und der Überstand abpipettiert. Anschließend folgte ein weiterer Waschschriff mit 5 ml STV (Saline-Trypsin-Versen). Daraufhin

wurden die Zellen mittels Zugabe von 5 ml STV und Bebrütung bei 37 °C für 10 min (5 % CO₂, 95 % relative Feuchtigkeit) aus den Zellkulturflaschen herausgelöst und in ein 50 ml Polypropylenröhrchen überführt. Die Zellkulturflasche wurde mit 10 ml RPMI-1640-Medium gespült, welches ebenfalls in das Röhrchen überführt wurde. Anschließend wurde die Zellsuspension bei 135 * g für 3 min zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Zellpellet in RPMI-1640-Medium gelöst. Die Unterscheidung von lebenden und toten Zellen erfolgte durch eine Färbung mit Trypanblau. Dafür wurden 10 µl der homogenen Zellsuspension mit 990 µl Trypanblau-Lösung vermischt und für 3 min langsam geschwenkt. Anschließend wurde die Zellzahl mittels Auszählung der hellen, lebenden Zellen in einer Fuchs-Rosenthal-Kammer bestimmt. Um eine Zellzahl von $1 \cdot 10^6$ Zellen/ml einzustellen, wurde RPMI-1640-Medium hinzugegeben, dessen benötigtes Volumen nach folgender Formel berechnet wurde:

$$\text{Gesamtvolumen} = \frac{\text{gezählte Zellen} \times \text{Suspensionsmenge} \times \text{Kammerfaktor}}{\text{gewünschte Zelldichte} \times \text{ausgezählte Kleinstquadrate}}$$

Anschließend wurden, mit Ausnahme der Randvertiefungen, die Kavitäten einer 96-Loch-Mikrotiterplatte mit jeweils 100 µl der Zellsuspension befüllt. Zur Vermeidung von Verdunstungseffekten wurden in die Randvertiefungen der Platte jeweils 200 µl PBS-Lösung pipettiert. Die Platten wurden daraufhin für 24 h bei 37 °C (5 % CO₂, 95 % relative Feuchtigkeit) im Brutschrank bebrütet.

Am nächsten Tag wurden die Zellen mikroskopisch auf gleichmäßiges Wachstum überprüft, das gesamte RPMI-1640-Medium aus den Kavitäten entfernt und durch frisches Medium, welchem 2 % fetales Kälberserum, 2 % L-Glutamin und 1 % Penicillin/Streptomycin zugesetzt wurden, ersetzt. Aus den Kavitäten B2 – G2 wurde das Medium wieder entfernt und mit 200 µl unverdünntem Überstand bzw. MRS-Medium befüllt. Anschließend wurde in den Kavitäten der Mikrotiterplatte eine Verdünnungsreihe mit dem Faktor 2 erstellt (bis zur Verdünnungsstufe 1:128). Alle Überstände wurden auf zwei verschiedenen Mikrotiterplatten jeweils im Doppelansatz getestet. Als Positiv- bzw. Toxinkontrolle diente Glyotoxin (10 µg/ml), als Negativkontrolle der Zusatz von Kulturmedium. Anschließend wurden die Mikrotiterplatten für weitere 24 h bebrütet (37 °C, 5 % CO₂, 95 % relative Feuchtigkeit).

Am dritten Tag erfolgten die Zugabe von 25 µl MTT (5 mg/ml PBS) zu allen zellhaltigen Kavitäten und eine erneute Bebrütung für 1 h bei 37 °C (5 % CO₂, 95 % relative Feuchtigkeit). Um die gebildeten Formazankristalle in Lösung zu bringen, wurde die Flüssigkeit aus den zellhaltigen Kavitäten entfernt und anschließend 100 µl DMSO hinzugefügt. Nach Durchmischung bei 350 rpm auf einem Horizontalschüttler wurde die optische Dichte bei 490 nm mittels eines ELISA-Readers bestimmt.

Für die Auswertung wurden die Extinktionswerte der unbehandelten Zellkontrollen als 100 % Spaltungsaktivität definiert und die Messwerte der Proben dazu in Relation gesetzt. Die MTT-Spaltungsaktivität wurde hierfür mit folgender Formel berechnet:

$$MTT - \text{Spaltungsaktivität (\%)} = \frac{OD(\text{Probe}) * 100}{OD(\text{Zellkontrolle})}$$

Als toxische Grenzkonzentration wurde der IC₅₀-Wert ermittelt. Dieser stellt die Toxinkonzentration dar, bei welcher die MTT-Spaltungsaktivität im Vergleich zur Zellkontrolle um 50 % reduziert ist (Gareis, 2006).

2.2.3.3 Prüfung der Säure- und Gallensalzstabilität

Die Prüfung der Säure- und Gallensalzstabilität erfolgte in modifizierter Weise nach der Methode von Saarela et al. (2003). Die verwendeten Testparameter orientierten sich an den von Vlkova et al. (2009) und Maldonado et al. (2012) ausgewählten Parametern für die Selektion probiotischer Bakterien für junge Wiederkäuer. Für die Untersuchung wurden 50 ml einer MRS-Bouillon mit einem der Testkeime (n = 2) beimpft und anaerob bei 37 °C unter permanentem Schütteln (150 rpm) über Nacht bebrütet. Anschließend wurde die Bakteriensuspension für 10 min bei 835 * g zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das verbleibende Pellet mit 5 ml steriler PBS-Lösung resuspendiert. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt (10 min, 835 * g) wurde das verbleibende Pellet mit 10 ml PBS-Lösung resuspendiert. Zuvor wurden verschiedene PBS-Lösungen hergestellt: Bei zwei Lösungen wurde der pH-Wert mittels HCl auf die Werte 2 bzw. 3 eingestellt. Anschließend wurden die Lösungen steril filtriert. Zwei weitere Lösungen wurden durch Zugabe von bovinem Gallenextrakt auf eine Konzentration von 0,5 % bzw. 1,5 % eingestellt. Zur Kontrolle der Reinheit erfolgte ein Ausstrich auf Blutagar (37 °C, 24 h). Die

unveränderte PBS-Lösung (pH = 7,2) diente als Kontrolle. Neun Milliliter dieser fünf verschiedenen PBS-Lösungen wurden mit je 1 ml der Bakteriensuspension versetzt. Die hergestellten Lösungen wurden anschließend anaerob unter permanentem Schütteln (150 rpm) bebrütet. Die Bestimmung der KBE mittels Tropfplattenverfahren erfolgte zu folgenden Zeitpunkten: 0 h, 2 h, 3 h, 4 h. Dafür wurde aus jeder Lösung jeweils 1 ml entnommen und eine Verdünnungsreihe mit dem Faktor 10 erstellt. Anschließend wurden 4 * 50 µl der Verdünnungsstufen 10^{-1} bis 10^{-7} auf MRS-Agarplatten aufgetropft. Nach Einzug der Flüssigkeit in die Agarplatten wurden diese anaerob für 48 h bei 37 °C bebrütet und anschließend die Keimzahl bestimmt.

2.2.3.4 Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität gegen Pathogene

Probiotika können das Wachstum pathogener Mikroorganismen durch Bildung antimikrobieller Substanzen hemmen. Zu diesen Substanzen zählen sowohl Bakteriozine, als auch niedermolekulare Stoffe, wie das von *L. reuteri* gebildete Reuterin oder organische Säuren (Milchsäure und Essigsäure) und Wasserstoffperoxid (Axelsson et al., 1989; O'Hara und Shanahan, 2007). Reuterin (3-Hydroxypropionaldehyd) wird von einigen *L.-reuteri*-Stämmen durch Fermentation von Glycerol durch die Glycerol-Dehydratase gebildet (Talarico und Dobrogosz, 1989). Es verfügt über ein breites antimikrobielles Spektrum, das sowohl gramnegative und grampositive Bakterien (z. B. *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*) als auch einige Pilze (*Candida albicans*) und Protozoen (*Trypanosoma cruzi*) einschließt. Während das Wachstum vieler Mikroorganismen bei Konzentrationen von 15 bis 30 µg/ml inhibiert wird, zeigen sich Milchsäurebakterien erst gegenüber 4- bis 5-Mal so hohen Konzentrationen sensibel (Axelsson et al., 1989, 1989; Casas und Dobrogosz, 2000).

Für die Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität gegen Pathogene wurde der Agar-Diffusionstest nach Schillinger und Lücke (1989), modifiziert nach Maldonado et al. (2012) und interpretiert nach Nader-Macias et al. (2008) angewendet. Die Teststämme (n = 2) wurden über Nacht in 10 ml MRS-Bouillon unter permanentem Schütteln (150 rpm) anaerob bebrütet und anschließend bei 2320 *g für 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde in 2 Aliquots unterteilt, deren pH-Wert mittels pH-Meter bestimmt wurde. Ein Aliquot des Überstandes wurde mittels NaOH auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellt. Anschließend wurden

die beiden Aliquots des Überstandes mittels eines Mikrofilters steriltfiltriert. Als pathogene Mikroorganismen wurden häufige bakterielle Durchfallerreger des Kalbes ausgewählt: *E. coli* O 101:K 99, *Salmonella* Typhimurium und *Clostridium perfringens*. Von Übernachtskulturen der pathogenen Bakterien wurden Einzelkolonien mittels steriler Öse in physiologische NaCl-Lösung überführt und im Falle von *E. coli* und *Salmonella* Typhimurium ein McFarland-Trübungsstandard von 0,5, im Falle von *Clostridium perfringens* ein Standard von 2 eingestellt. Ein mit der Suspension getränkter Tupfer wurde anschließend auf einem zur Bebrütung des Pathogens geeigneten Agar ausgestrichen. Für *E. coli* und *Salmonella* Typhimurium wurde Platecount-Agar verwendet, für *Clostridium perfringens* Schaedler-Agar. Anschließend wurden sechs Löcher mit jeweils 5 mm Durchmesser mit Hilfe eines Korkbohrers aus den Agarplatten ausgestanzt. Die Löcher wurden mit je 35 µl Testsubstanz gefüllt. Ein Loch wurde mit unveränderter MRS-Bouillon (pH = 6,5) gefüllt, eines mit MRS-Bouillon, die entsprechend dem pH-Wert des Überstandes mit HCl-Lösung adjustiert wurde (pH = 4,4) und jeweils 2 Löcher mit dem unbehandeltem bzw. neutralisiertem Überstand (Abbildung 9). Die Platten wurden 1 h bei Raumtemperatur inkubiert, damit die Flüssigkeit in den Agar diffundieren konnte. Anschließend wurden sie 24 h bei 37 °C aerob (*C. perfringens* anaerob) bebrütet. Danach wurde der Durchmesser der Inhibitionszone gemessen.

Oben aufgeführter Versuchsansatz wurde anschließend modifiziert, um ggf. auch einen möglichen Effekt durch von den Teststämmen produziertes Reuterin nachweisen zu können. Um die Bildung von Reuterin zu stimulieren, wurde, wie bei Rodriguez et al. (2003) beschrieben, MRS-Bouillon mit 250 mmol Glycerol versetzt (Rodriguez et al., 2003). Anschließend wurde der Versuch wie oben beschrieben durchgeführt.

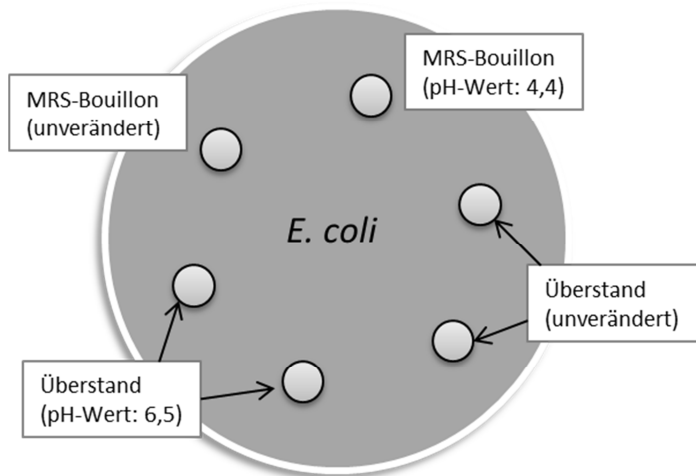


Abbildung 9: Applikationsschema für die Überprüfung der antimikrobiellen Aktivität gegen Pathogene

2.3 3. Teil: Herstellung der *L.-reuteri*-Suspension und Prüfung der Diarrhoe-protectiven Wirkung

2.3.1 Herstellung der *L.-reuteri*-Suspension

Die Herstellung der Laktobazillensuspension wurde nach folgendem Schema durchgeführt: Die gewählten *L.-reuteri*-Stämme ($n = 2$) wurden zunächst einzeln in jeweils $3 \cdot 200$ ml MRS-Bouillon unter permanentem Schütteln (150 rpm) für 24 h bei 37°C anaerob inkubiert. Die Bakteriensuspension wurde anschließend durch dreimaliges Waschen von der MRS-Bouillon gereinigt. Dafür erfolgte zuerst ein Zentrifugationsschritt bei $370 \cdot g$ für 10 min bei 10°C . Anschließend wurde der Überstand abgegossen und das Zentrifugengefäß mit 100 ml physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt. Nach sorgfältiger Resuspension erfolgte der nächste Zentrifugationsschritt. Nach insgesamt drei Waschvorgängen wurden die Bakteriensuspensionen zusammengeführt und mit gepufferter NaCl-Lösung auf einen Extinktionswert ($\lambda = 600 \text{ nm}$) zwischen 2,3 und 2,4 eingestellt. Anschließend wurden jeweils 10 ml der Bakteriensuspension in zuvor autoklavierte Glasfläschchen überführt. Diese wurden mit einem Gummistopfen verschlossen und mit einer Bördelkappe versehen. Die befüllten Fläschchen wurden mit Etiketten versehen und im Kühlschrank (5°C) aufbewahrt. Die Reinheit der hergestellten Suspension wurde durch Ausstrich von $100 \mu\text{l}$ der Bakteriensuspension auf Platecount-, Blut- und Gassneragar im Doppelansatz und Inkubation für 24 h bei 37°C geprüft. Eine Kontamination mit Salmonellen

wurde durch Anreicherung von 1 ml der Bakteriensuspension in 5 ml Peptonwasser zur Salmonellenanreicherung überprüft. Nach 24-stündiger Inkubation bei 37 °C wurden 100 µl der Anreicherung auf MSR-V-Agar getropft und weitere 24 h bei 42 °C bebrütet. Salmonellenwachstum ist durch eine trübe, milchige Schicht gekennzeichnet, die den vormals klaren Agar überzieht. Zudem wurde die Gesamtkeimzahl der Laktobazillen im Probiotikum durch Erstellung einer Verdünnungsreihe und Ausstrich auf MRS-Agar (Inkubation: anaerob, 48 h, 37 °C) überprüft.

2.3.2 Herstellung des Placebos

Als Placebo wurde eine 1 %ige Stärkelösung verwendet. Autoklavierte Maisstärke wurde dafür in gepufferte NaCl-Lösung eingewogen und bei 400 rpm geschüttelt, bis sich alle festen Bestandteile gelöst hatten. Wie oben beschrieben wurden die Glasfläschchen mit 10 ml der Stärkelösung befüllt, mit Gummistopfen und Bördelkappe verschlossen und mit Etiketten versehen. Die Reinheitskontrolle erfolgte auf Platecount-, Blut-, Gassner- und MRS-Agar. Zudem wurde die Lösung ebenfalls auf Salmonellenwachstum kontrolliert.

2.3.3 Fütterungsversuch

2.3.3.1 Tiere

Die Prüfung der Wirksamkeit der hergestellten *L.-reuteri*-Suspension erfolgte in Betrieben, die bereits am ersten Versuchsabschnitt teilgenommen hatten. Es wurden jeweils 17 Kälber der Betriebe 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11 und 12 in die Versuchsdurchführung einbezogen. Von den insgesamt 170 untersuchten Kälbern erkrankten vier bereits vor Verabreichung des Gebrauchsmusters bzw. Placebos an Diarrhoe. Diese wurden daher bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

2.3.3.2 Versuchsdurchführung

Nach Auskunft der Regierung von Oberbayern wurde festgestellt, dass es sich beim vorliegenden Fütterungsversuch nicht um einen Tierversuch im Sinne des Gesetzes handelt, da bei der Verabreichung eines Keimes mit GRAS-Status keine Schmerzen, Leiden oder Schäden für das Tier zu erwarten sind. Daher wurde vor Versuchsdurchführung lediglich eine Ausnahmegenehmigung gemäß § 69 Satz 2 LFGB für Fütterungsversuche zu Forschungs- und Untersuchungszwecken bei der

Regierung von Oberbayern (AZ.: 56-2660-2416-13) eingeholt. Die Versuchsdurchführung erfolgte als Einfachblindstudie, bei der die Landwirte keine Kenntnis davon besaßen, welches der Kälber der Versuchs- bzw. Kontrollgruppe zugeteilt war. Die Kälber der Versuchsgruppe erhielten ca. 24 h nach der Geburt ein Fläschchen der Laktobazillensuspension (entspricht mindestens $6 \cdot 10^9$ KBE/Dosis) per os. Insgesamt erhielten sie vier Fläschchen im Abstand von jeweils 24 h unmittelbar vor der Tränkung. In den ersten vier Lebenstagen erhielten die Kälber die Milch der Mutterkuh; anschließend wurde auf den betriebsüblichen Milchaustauscher umgestellt. Mit den Kälbern der Kontrollgruppe wurde in gleicher Weise verfahren. Statt der Laktobazillensuspension erhielten sie jedoch das Placebo.

2.3.3.3 Kotuntersuchung

Die erste Kotprobe wurde ca. 24 h nach der Geburt, noch vor Verabreichung des Gebrauchsmusters bzw. Placebos gewonnen. Die weiteren Kotproben wurden zu den Zeitpunkten 48 h, 3 d und 7 d nach der Geburt gewonnen. Die Bearbeitung und Untersuchung der Kotproben erfolgte wie im ersten Versuchsabschnitt beschrieben. Lediglich eine Isolierung von Einzelkeimen blieb bei diesem Versuchsaufbau aus. Im Gegensatz zum ersten Versuchsabschnitt wurde im zweiten Versuchsabschnitt neben der grobsinnlichen Beurteilung der Proben zudem von allen nach der Applikation der Laktobazillensuspension bzw. des Placebos gewonnenen Kotproben (48 h-, 3 d- und 7 d-Probe; $n = 465$) die Trockensubstanz durch Lyophilisation bestimmt. Dafür wurden zwischen 1,0 und 1,1 g der Kotprobe in ein Polypropylenröhrchen eingewogen, im Lyophilisator bis zur vollständigen Trocknung eingeengt und anschließend rückgewogen. Der Trockensubstanzgehalt wurde aus der Differenz zwischen Frisch- und Trockenmasse berechnet. In Anlehnung an Bellosa et al. (2011) wurden Kotproben mit einer Trockenmasse von 16,3 % oder weniger als Durchfallprobe eingestuft. Bei wenigen Kotproben war das Probenmaterial für die Analyse der Trockenmasse nicht ausreichend. In diesen Fällen wurde die Kotprobe, wie bereits unter 2.1.3 dargelegt, visuell beurteilt. Bei Durchfällen, welche zwischen den einzelnen Probennahmezeitpunkten oder außerhalb des Beprobungszeitraumes auftraten, wurden die Angaben des Landwirtes herangezogen.

2.4 Datenanalyse

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit Microsoft Excel 2010, Sigma Plot 12.0 und IBM SPSS Statistics 21.

2.4.1 Durchfallinzidenz

Die Analyse verschiedener Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz erfolgte bei nominal skalierten Daten mit Hilfe des Fischer's-Exact-Tests bzw. Chi-Quadrat-Tests und bei ordinal skalierten Daten mit dem Mann-Whitney-U-Test.

2.4.2 Keimzahlanalyse

Für die Analyse der Keimzahlen wurden die Zahlen logarithmiert (\log_{10}). Ergebnisse, die unter die Nachweisgrenze von 10^2 KBE/ml fielen, wurden auf den Wert "0" gesetzt. Wurden 2 Gruppen miteinander verglichen, wurde bei Normalverteilung und Varianzgleichheit der Variablen der t-Test, andernfalls der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Bei mehreren Gruppen fand bei normalverteilten Daten mit gleicher Varianz die Varianzanalyse (analysis of variance: ANOVA) Anwendung, ansonsten der Kruskal-Wallis-Test. Bei mehreren Gruppen wurden die einzelnen Gruppen anschließend mit dem Holm-Sidak- bzw. Dunn-Test paarweise miteinander verglichen.

Für den Vergleich einzelner Laktobazillenspezies gesunder und durchfallkranker Kälber wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt, bei der der Betrieb als Faktor berücksichtigt wurde.

IV ERGEBNISSE

1 1. Teil: Untersuchungen zum Durchfallgeschehen und zur Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber

1.1 Kälberdurchfall

1.1.1 Durchfallinzidenz

Siebzig der insgesamt 150 in der ersten Studie untersuchten Kälber entwickelten innerhalb der ersten beiden Lebenswochen Durchfall (46,7 %). Abbildung 10 zeigt den Zeitpunkt des Durchfallbeginns bei den einzelnen Kälbern. Dabei fällt auf, dass besonders am 2. Tag (in 22,9 % der Fälle; $n = 16$), und am 6. Tag nach der Geburt (in 20,0 % der Fälle; $n = 14$), eine Häufung der Durchfallgeschehen auftrat. Insgesamt zeigten die Kälber deutlich häufiger in der ersten Lebenswoche Durchfall als in der zweiten. Bis zum 7. Tag nach der Geburt (Beprobungszeitraum) entwickelten 81,4 % ($n = 57$) der insgesamt 70 Durchfallkälber die Erkrankung.

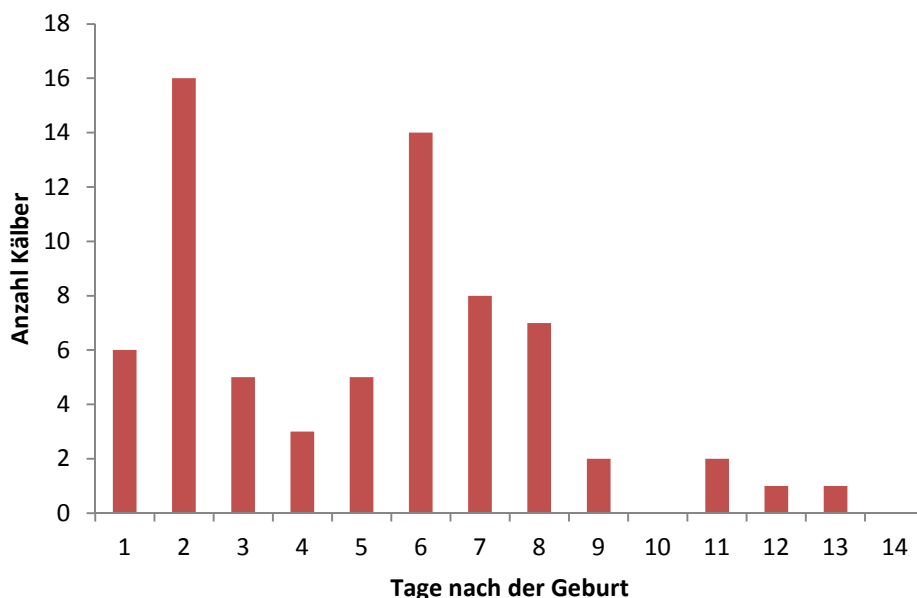


Abbildung 10: Zeitpunkt des Durchfallbeginns der einzelnen Kälber

Ein Kalb verstarb 5 Tage nach der Geburt aufgrund einer Durchfallerkrankung. Die Letalität betrug somit 1,4 %.

1.1.2 Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz

1.1.2.1 Betrieb

Die 13 untersuchten Betriebe unterscheiden sich deutlich in der Inzidenz der neonatalen Kälberdiarrhoe (Abbildung 11). Durchschnittlich trat bei 46,7 % der untersuchten Kälber ($n = 150$) Durchfall auf. Bei Betrachtung der einzelnen Betriebe lag die Durchfallinzidenz je nach Betrieb zwischen 7,1 % und 100 %. Bei Betrieb 9 entwickelten alle untersuchten Kälber ($n = 4$) eine Durchfallerkrankung. Auch bei den Betrieben 5 ($n = 13$), 7 ($n = 12$) und 12 ($n = 8$) lag die Durchfallinzidenz mit 92,3 %, 66,7 % und 75,0 % überdurchschnittlich hoch. Die Betriebe 10 ($n = 14$) und 13 ($n = 12$) lagen dagegen mit 7,1 % und 8,3 % Durchfallinzidenz weit unterhalb des Durchschnitts.

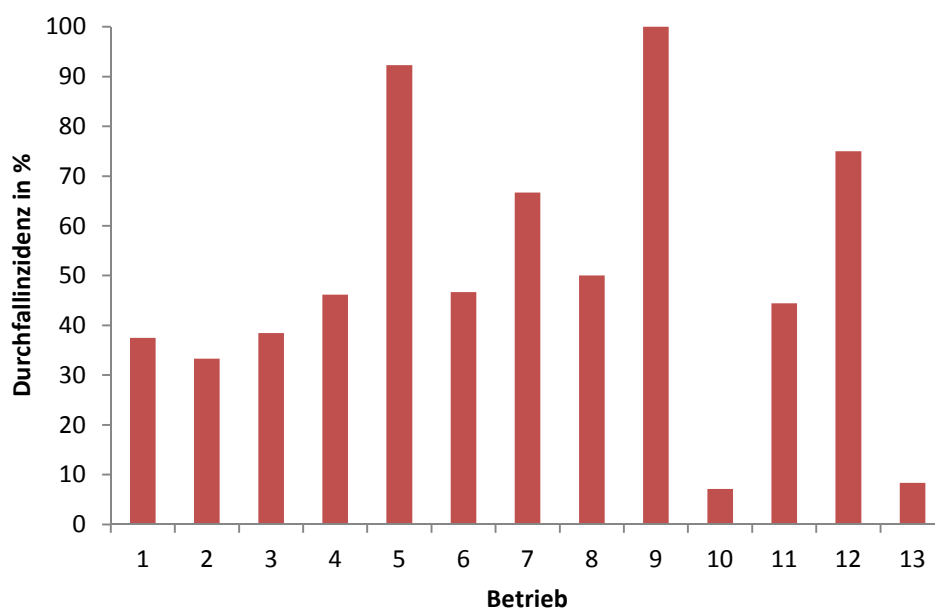


Abbildung 11: Durchfallinzidenz der einzelnen Betriebe

1.1.2.2 Betriebsgröße

Die Anzahl der Kühe der einzelnen Betriebe lag zwischen minimal 55 und maximal 165. Die Gesamtrinderzahl reichte von 140 bis 338 Tieren pro Betrieb. Sowohl für die Zahl der Kühe als auch für die Gesamtrinderzahl ergibt sich im

Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Zusammenhang mit der Durchfallinzidenz ($p = 0,587$ bzw. $p = 0,107$).

1.1.2.3 Jahreszeit

Von den insgesamt 150 erfassten Kälbern wurden die meisten ($n = 44$) im Herbst (September – November) geboren. Zu dieser Jahreszeit zeigte sich auch eine Zunahme der Durchfallinzidenz. Während sie im Frühjahr (März – Mai), Sommer (Juni – August) und Winter (Dezember – Februar) bei 33,3 %, 44,0 % und 42,9 % lag, stieg sie im Herbst auf 63,6 % an (Abbildung 12). Der Zusammenhang zwischen Jahreszeit und Durchfallinzidenz ist laut Chi-Quadrat-Test signifikant ($p = 0,042$).

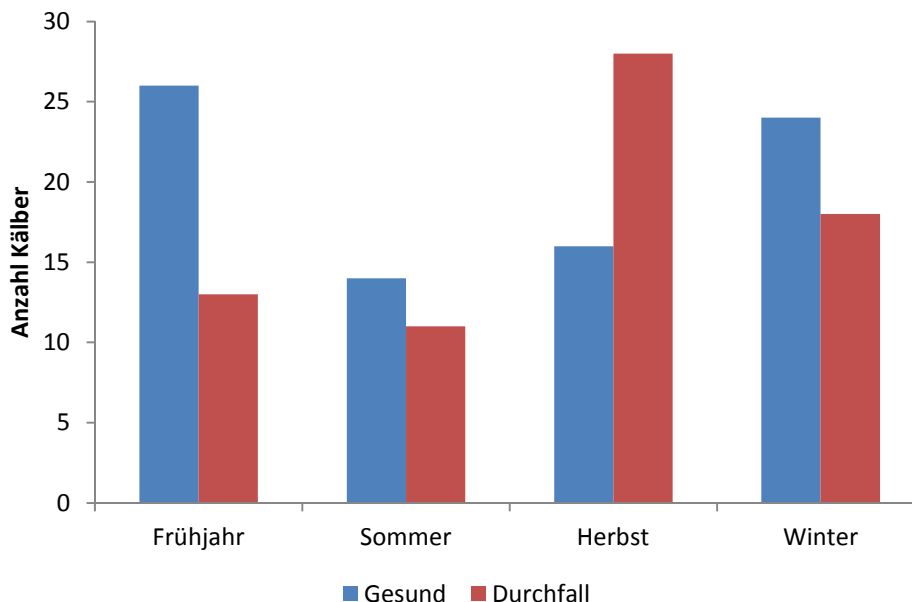


Abbildung 12: Jahreszeitlicher Vergleich der Durchfallinzidenz

1.1.2.4 Geschlecht

84 der insgesamt 150 erfassten Kälber waren männlich, 66 Kälber weiblich. Die Durchfallinzidenz der männlichen Tiere betrug 45,2 %, die der weiblichen Tiere 48,5 %. Es besteht laut Chi-Quadrat-Test kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Durchfallinzidenz und dem Geschlecht ($p = 0,692$).

1.1.2.5 Zwillinge

Insgesamt wurden 14 Zwillingeskälber erfasst, von denen 9 an Durchfall erkrankten. Die Durchfallinzidenz betrug damit 64,3 %. Nicht-Zwillingeskälber

zeigten dagegen eine Erkrankungsrate von 44,9 %. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant ($p = 0,165$). Bei 4 Tieren ging jeweils nur ein Zwilling in die statistische Auswertung ein, da entweder der andere Zwilling verendete oder an einer anderen Krankheit außer Durchfall erkrankte. Bei den 5 untersuchten Zwillingspaaren fiel auf, dass entweder beide Zwillinge erkrankten ($n = 8$) oder beide gesund blieben ($n = 2$).

1.1.2.6 Geburtsgewicht

Lediglich drei Betriebe verfügten über eine Waage und gaben das Geburtsgewicht in kg an. Bei diesen wurde das Gewicht der Kälber wie bei Girnus (2004) beschrieben eingeteilt: Kälber unter 35 kg wurden als leicht, Kälber von 35 bis 45 kg als mittelschwer und Kälber über 45 kg als schwer eingestuft. Bei Betrieben ohne Waage wurde das Geburtsgewicht der Kälber von den Landwirten entsprechend oben aufgeführten Werten geschätzt und in die Kategorien leicht, mittel und schwer eingeteilt. Nach dieser Einstufung zeigten 12,7 % der Kälber ($n = 19$) ein leichtes Geburtsgewicht, 65,3 % ($n = 98$) ein mittleres und 22,0 % ($n = 33$) ein schweres Geburtsgewicht. Abgesehen von einem Kalb der Rasse Holstein-Schwarzbunt (SBT) und einem Hybriden der Rasse SBT und Fleckvieh (FL), gehörten alle untersuchten Kälber der Rasse FL an. Ein rassetypischer Gewichtsunterschied kann daher vernachlässigt werden. Die Durchfallinzidenz bei Kälbern mit leichtem Geburtsgewicht lag bei 63,2 %, die von Kälbern mit mittlerem Geburtsgewicht bei 48,0 %. Kälber mit schwerem Geburtsgewicht zeigten eine Durchfallinzidenz von lediglich 33,3 % (Abbildung 13). Der Zusammenhang der beiden Charakteristika ist jedoch nicht signifikant ($p = 0,105$).

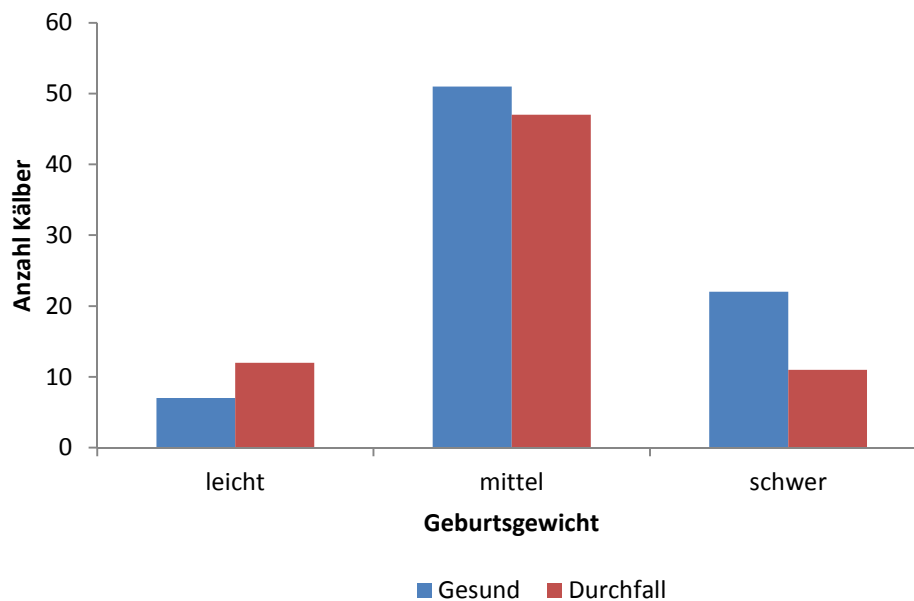


Abbildung 13: Durchfallinzidenz bei verschiedenen Geburtsgewichten

1.1.2.7 Geburtsverlauf

Von 137 Kälbern wurde der Verlauf der Geburt vom jeweiligen Landwirt dokumentiert. Von diesen wurden 80 Kälber ohne manuelles Eingreifen und 57 Kälber mit Zughilfe geboren. Die Durchfallinzidenz der alleine geborenen Kälber betrug 45,0 %, diejenige der Kälber, die mit Zughilfe geboren wurden, 56,1 %. Der Zusammenhang ist jedoch nicht signifikant ($p = 0,199$).

1.1.2.8 Kolostrumversorgung

1.1.2.8.1 Erstgabe

Die Zeit, die jeweils zwischen Geburt und erster Kolostrumtränkung verging, wurde vom Landwirt auf dem entsprechenden Fragebogen notiert. Insgesamt wurde von 135 Kälbern die Kolostrumerstaufnahme erfasst. Im Durchschnitt wurden die Kälber 1,7 h nach der Geburt mit Kolostrum getränkt. Abbildung 14 gibt einen Überblick über die Dauer, die zwischen Geburt und Kolostrumerstversorgung bei den einzelnen Kälbern verging.

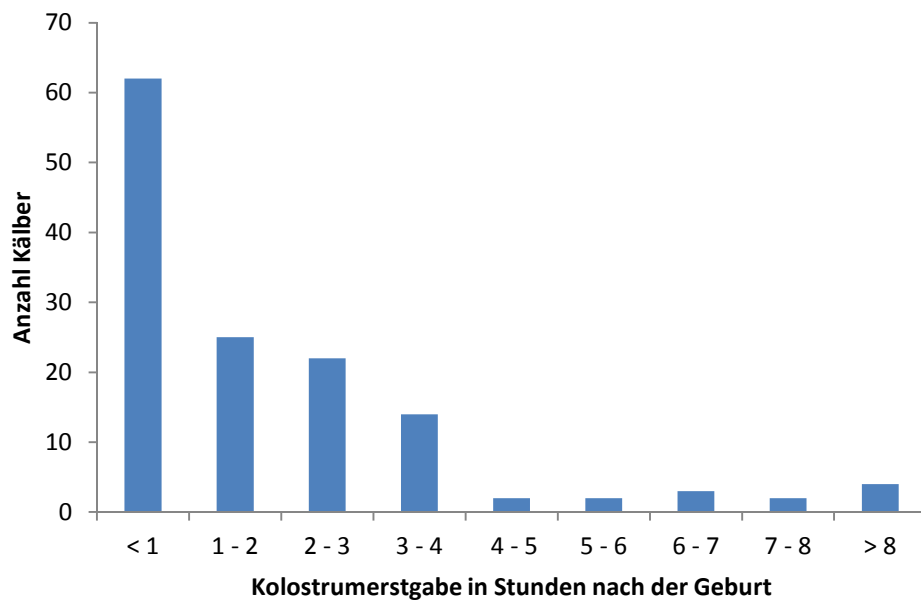


Abbildung 14: Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe

Kälber, die während der ersten zwei Lebenswochen gesund blieben, erhielten im Durchschnitt nach 1,6 h Kolostrum, diejenigen, die Durchfall entwickelten, nach 1,8 h. Der Vergleich der gesunden Kälber mit den Durchfallkälbern zeigt einen Anstieg der Durchfallerkrankungen bei einer Kolostrumersttränkung ab 2 h nach der Geburt (Abbildung 15). Im Mann-Whitney-U-Test ergibt sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe und der Durchfallinzidenz ($p = 0,396$). Im Vergleich zu allen Kälbern, die Erstkolostrum nach mehr als zwei Stunden erhielten, weisen im Chi-Quadrat-Test jedoch Kälber, welche innerhalb der ersten zwei Lebensstunden mit Kolostrum versorgt wurden, eine signifikant niedrigere Durchfallinzidenz auf ($p = 0,049$).

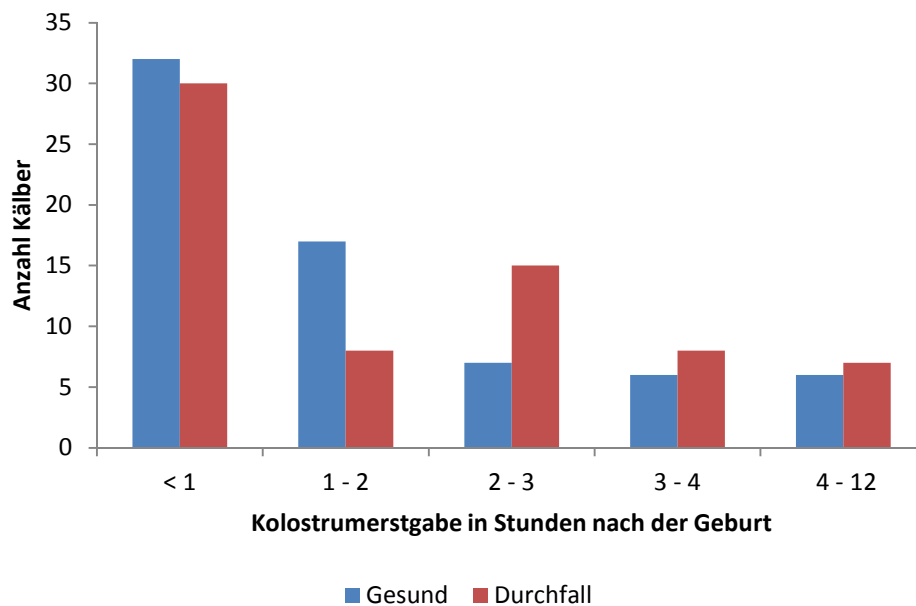


Abbildung 15: Vergleich der Dauer zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe bei gesunden und durchfallkranken Kälbern

1.1.2.8.2 Erstmenge

Die aufgenommene Erstmenge Kolostrum schwankte bei den einzelnen Kälbern zwischen 0,5 und 4 l. Im Durchschnitt erhielten Kälber, die gesund blieben, 1,9 l Kolostrum bei der ersten Tränkung. Kälber hingegen, die in den ersten zwei Lebenswochen Durchfall entwickelten, nur durchschnittlich 1,6 l. Im Mann-Whitney-U-Test ergibt sich eine Signifikanz zwischen aufgenommener Kolostrumerstmenge und Durchfallinzidenz ($p = 0,027$). Beim Vergleich der beiden Gruppen zeigte sich eine Zunahme der Durchfallinzidenz bei Kälbern, die weniger als zwei Liter Kolostrum bei der ersten Tränkung erhielten (Abbildung 16).

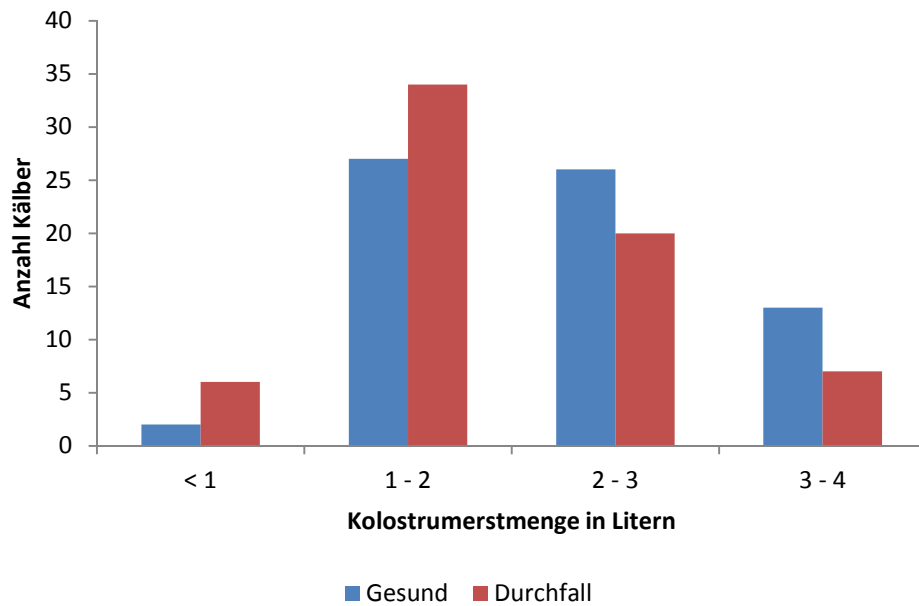


Abbildung 16: Vergleich der von gesunden und durchfallkranken Kälbern aufgenommenen Kolostrumerstmenge

1.1.2.9 Anzahl der Laktationen des Muttertieres

Von 126 Kälbern ist die Laktationszahl des Muttertieres bekannt. Davon stammten 41 Kälber von primiparen Muttertieren. Beim Vergleich der gesunden und durchfallkranken Kälber wiesen Jungtiere von Erstgebärenden, im Vergleich zu jenen von Kühen mit zwei und mehr Laktationen, eine höhere Durchfallinzidenz auf (58,5 % vs. 44,7 %) (Abbildung 17). Im Chi-Quadrat-Test ergibt sich für Kälber primiparer Muttertiere eine signifikant höhere Durchfallinzidenz als für Kälber pluriparer Muttertiere ($p = 0,002$).

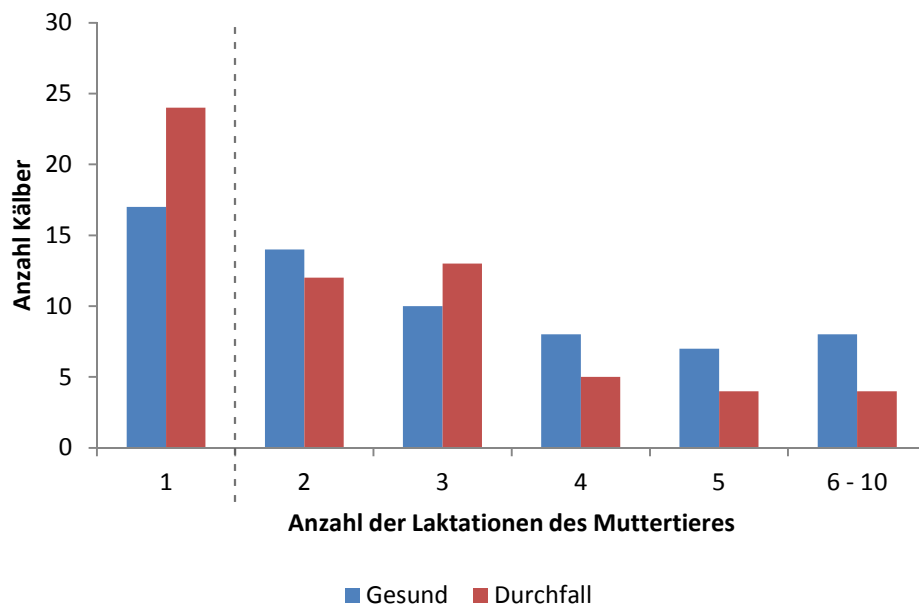


Abbildung 17: Anzahl der Laktationen der Muttertiere von gesunden und durchfallkranken Kälbern

1.1.2.10 Muttertierimpfung

In sechs Betrieben wurde eine Muttertierimpfung gegen Rotaviren, Coronaviren und *E. coli* F5 (K99) durchgeführt. Die Betriebe 1 und 4 verwendeten den Impfstoff Scourguard[®] 3, die Betriebe 3, 6 und 10 den Impfstoff Rotavec[®] Corona und der Betrieb 7 den Impfstoff Bovilis[®] Lactovac C. Bei zwei Betrieben war der Impfstatus unklar, sie wurden daher für diese Auswertung nicht berücksichtigt. Tabelle 22 gibt einen Überblick über den Impfstatus und die Durchfallinzidenz der einzelnen Betriebe. Insgesamt wurden 75 Kälber aus „Impfbetrieben“ untersucht, von denen 30 an Durchfall erkrankten (Inzidenz = 40,0 %). Die Durchfallinzidenz der Kälber (n = 59) aus „Nicht-Impfbetrieben“ lag dagegen bei 59,3 %. Im Chi-Quadrat-Test ergibt sich ein inverser Zusammenhang zwischen Durchfallinzidenz und Muttertierimpfung (p = 0,026).

Tabelle 22: Muttertierimpfung und Durchfallinzidenz einzelner Betriebe

Betrieb	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Muttertierimpfung	ja	nein	ja	ja	nein	ja	ja	nein	n.b.	ja	nein	nein	n.b.
Durchfallinzidenz in %	37,5	33,3	38,5	46,2	92,3	46,7	66,7	50,0	100,0	7,1	44,4	75,0	8,3

n.b. = nicht bekannt

1.1.3 Nachweis von Enteropathogenen in Durchfallproben

Für den Erregernachweis mittels ELISA (Rotaviren, Coronaviren, *E. coli* F5 und *Cryptosporidium parvum*) wurden nur Kotproben von Kälbern verwendet, die während des Beprobungszeitraumes Durchfall entwickelten ($n = 57$). Am häufigsten ließen sich mittels ELISA insgesamt in jeweils 29,8 % ($n = 17$) der Kälber mit Durchfall in der ersten Lebenswoche entweder keine Erreger oder eine *Cryptosporidien*monoinfektion nachweisen. In 17,5 % ($n = 10$) der untersuchten Proben konnte eine Rotavirus-, in 12,3 % ($n = 7$) eine Coronavirusmonoinfektion nachgewiesen werden. Bei 10,5 % ($n = 6$) der Durchfallkälber zeigte sich eine Mischinfektion mit Rotaviren und *Cryptosporidium parvum*. Zudem traten die Erreger bestandsweise gehäuft auf (Abbildung 18). *Cryptosporidium parvum* ließ sich in acht der 13 Betriebe nachweisen. Bei vier dieser Betriebe konnten zudem Rotaviren in Kombination mit *Cryptosporidium parvum* nachgewiesen werden. Keiner der untersuchten Betriebe wies mehr als zwei verschiedene Durchfallerreger auf. Alle positiven Coronavirusbefunde ließen sich auf zwei Betriebe zurückführen (Betrieb 10 und 12), genauso wie alleinige Rotavirusnachweise (Betrieb 7 und 11). Der am häufigsten mittels ELISA nachgewiesenen Erreger war *Cryptosporidium parvum* in 40,4 % der untersuchten Kotproben ($n = 23$). Da in Betrieb 8 alle Durchfallerkrankungen erst in der zweiten Lebenswoche auftraten, gingen von diesem Betrieb keine Kälber in die ELISA-Untersuchung ein.

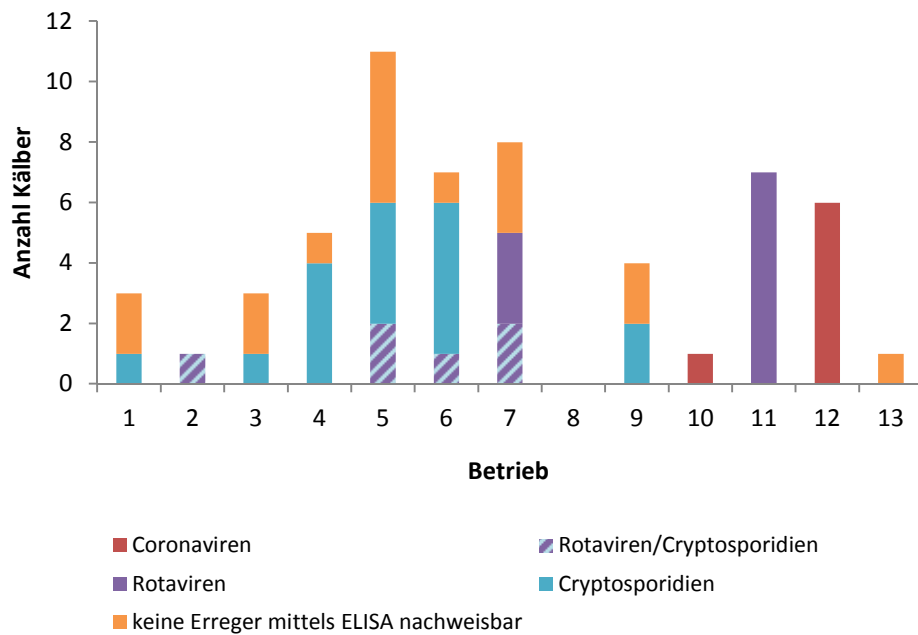


Abbildung 18: Mittels ELISA nachweisbare Durchfallerreger innerhalb einzelner Betriebe

Bei Betrachtung der Erregerhäufigkeit in einzelnen Betrieben fällt auf, dass virale Erreger zu 70,0 % ($n = 23$) in Kotproben aus „Nicht-Impfbetrieben“ nachgewiesen wurden. Im Gegensatz dazu wurde *Cryptosporidium parvum* häufiger in „Impfbetrieben“ (= Muttertierimpfung gegen Rotaviren, Coronaviren und *E. coli* F5 (K99)) detektiert (66,7 %; $n = 21$) (Abbildung 19). Im Falle des Virusnachweises ergibt sich im Chi-Quadrat-Test ein signifikanter Unterschied zwischen „Impfbetrieben“ und „Nicht-Impfbetrieben“ ($p = 0,006$), im Falle des Cryptosporidiennachweises sind die Unterschiede jedoch nicht signifikant ($p = 0,080$).

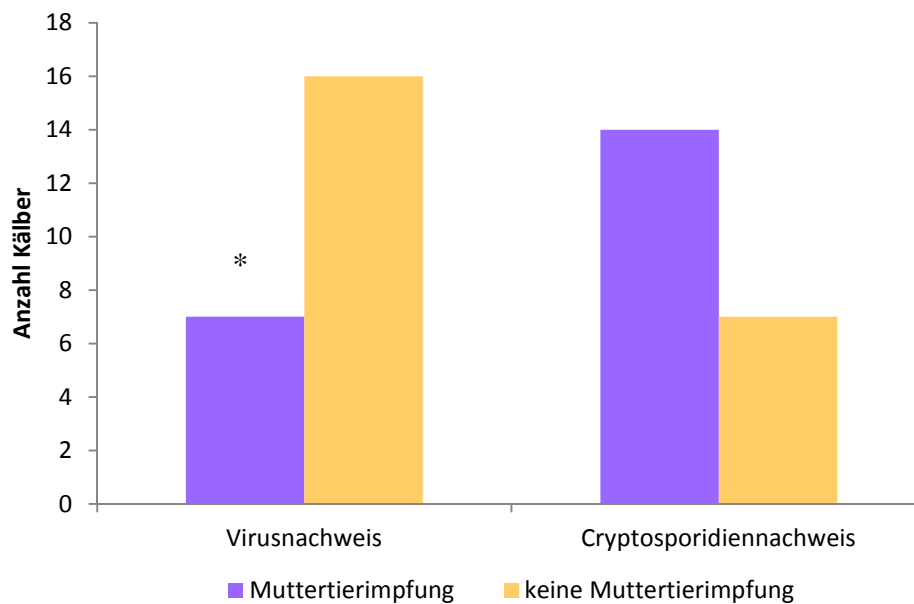


Abbildung 19: Zusammenhang zwischen Erregernachweis und Muttertierimpfung. * kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$).

Je nach Zeitpunkt des Durchfallbeginns zeichnet sich zudem eine Häufung bestimmter Erreger in den Durchfallproben ab (Abbildung 20). So können in den ersten zwei Tagen nach der Geburt, abgesehen von einem Coronavirusnachweis, entweder keine Durchfallerreger oder aber Cryptosporidien nachgewiesen werden. Ab dem 3. Tag nach der Geburt häufen sich die viralen Durchfallerreger und es treten auch Mischinfektionen von Rotaviren und *Cryptosporidium parvum* auf. Am 6. und 7. Tag nach der Geburt sind in allen Durchfallproben entweder *Cryptosporidium parvum*, virale Erreger oder eine Rotavirus-Cryptosporidien-Mischinfektion nachzuweisen.

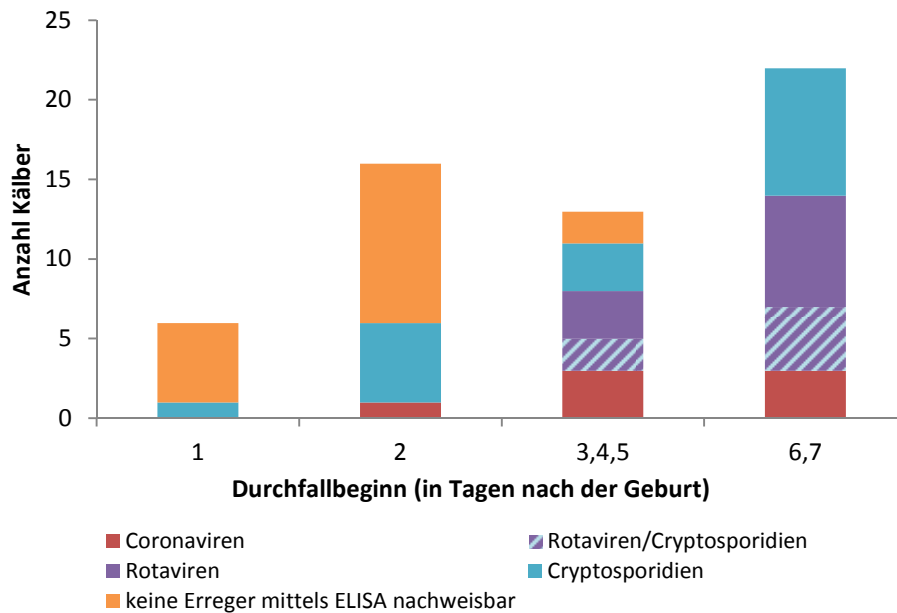


Abbildung 20: Mittels ELISA nachweisbare Durchfallerreger im Zusammenhang mit dem Durchfallbeginn

1.2 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota

Für die Analyse der Darmflora-Entwicklung neugeborener Kälber wurden insgesamt 150 Kälber in die Untersuchung einbezogen. Dafür wurden 1038 Kotproben untersucht und 8146 Einzelkeime von den verschiedenen Agarplatten isoliert. Zunächst wurden die klinischen und mikrobiologischen Befunde der Kälber erhoben und anschließend zwei Gruppen gebildet: Kälber, die während des Versuchszeitraumes gesund blieben ($n = 80$) und Kälber, bei denen ein Durchfallgeschehen beobachtet werden konnte ($n = 70$) wurden jeweils einer Gruppe zugeordnet.

1.2.1 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota gesunder Kälber

Die Daten zur Entwicklung der physiologischen Darmflora basieren auf der bakteriologischen Untersuchung von Kotproben, die von insgesamt 80 Kälbern jeweils im Lebensalter von 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 3 d und 7 d gewonnen wurden. Die Angabe der koloniebildenden Einheiten (KBE) erfolgt, wie bei der kulturellen Kotuntersuchung allgemein gebräuchlich (Hascoët et al., 2011), in \log_{10} KBE/g Kot. Keimgehalte unterhalb der Nachweisgrenze ($< 10^2$ KBE/g Kot) wurden auf 0 KBE/g Kot gesetzt.

1.2.1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl

Die bakteriologische Untersuchung der Kotproben ergab aerobe mesophile Gesamtkeimzahlen (GKZ) zwischen minimal $< 1 \cdot 10^2$ und maximal $1,6 \cdot 10^{11}$ KBE/g. In allen Mekoniumproben wurden Bakterien detektiert (minimal $2 \cdot 10^2$ KBE/g Kot), wohingegen drei 6-h-Proben und eine 12-h-Probe unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Der Maximalwert einer Mekoniumprobe betrug $4,2 \cdot 10^7$ KBE/g auf. Signifikante Erhöhungen der Keimzahlen waren zwischen 6 h und 12 h sowie zwischen 12 h und 24 h anzutreffen. Nach Erreichen eines Peaks bei 48 h sank die Keimzahl zwischen Tag 3 und 7 wieder signifikant ab. Ab 24 h waren die Quartilsabstände im Vergleich zu den ersten drei Probenahmezeitpunkten deutlich verringert (Abbildung 21).

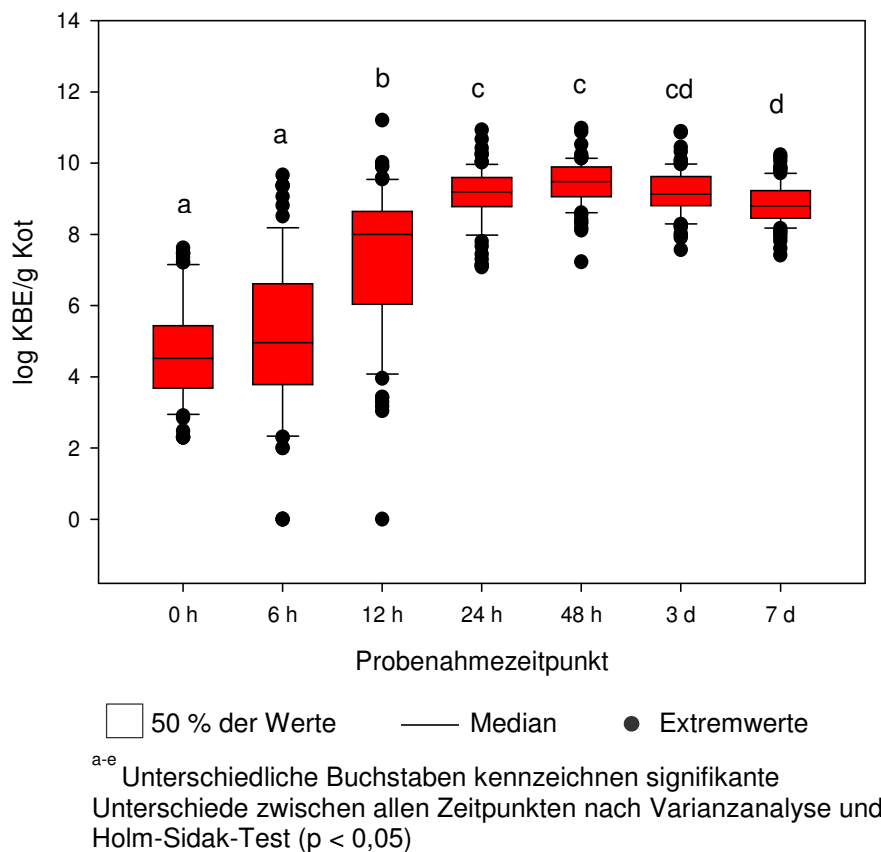


Abbildung 21: Entwicklung der aeroben GKZ in Faecesproben gesunder Kälber (n = 80)

1.2.1.2 Anaerobe Gesamtkeimzahl

Bei der Bestimmung der anaeroben GKZ lagen fünf Mekoniumproben und drei 6-h-Proben unterhalb der Nachweisgrenze; eine Mekoniumprobe wies eine

anaerobe GKZ von $7,8 \cdot 10^7$ KBE/g auf. Der Maximalwert betrug $3,8 \cdot 10^{11}$ KBE/g in einer Probe, gewonnen am 7. Lebenstag eines Kalbes. Wie auch bei der aeroben GKZ verringerten sich die Quartilsabstände ab der 24-h-Probe. Allerdings stieg im Gegensatz dazu die anaerobe GKZ bis zum 7. Lebenstag kontinuierlich an (Abbildung 22).

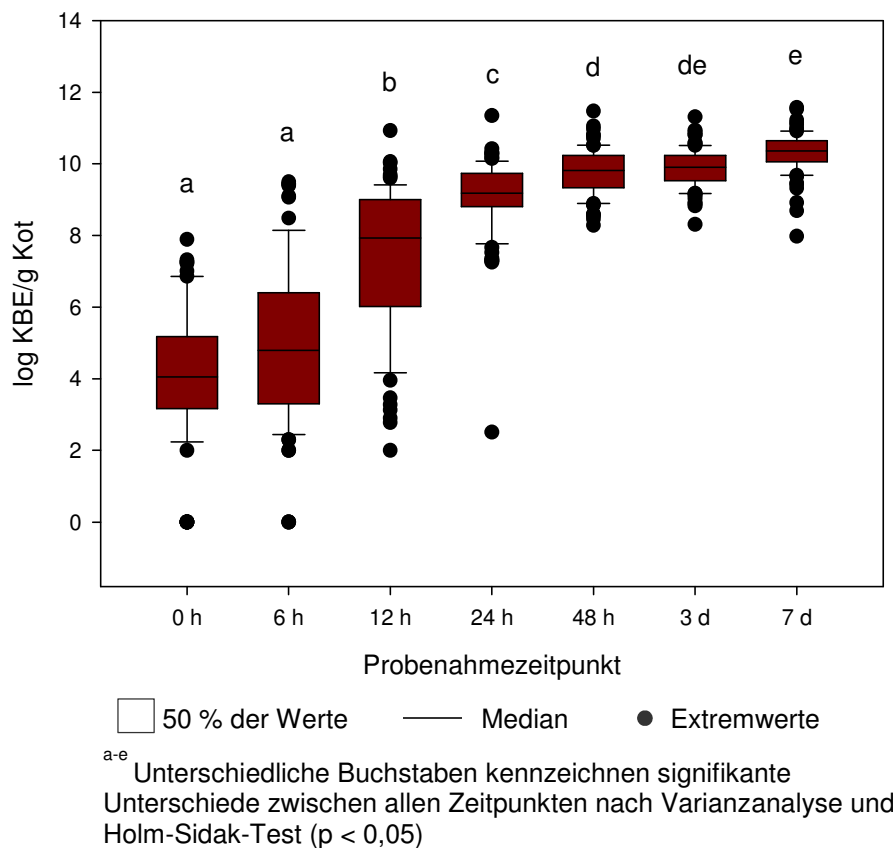


Abbildung 22: Entwicklung der anaeroben GKZ in Faecesproben gesunder Kälber (n = 80)

Untersuchung auf Clostridien

Unter den Anaerobiern wurden diejenigen Keime selektiert und isoliert, die aufgrund der in III.2.1.1.2.2 aufgeführten Kriterien als *Clostridium* spp. eingestuft wurden. Da die Isolierung von Einzelkeimen im Betrieb Nummer 13 aus technischen Gründen nicht erfolgte, wurden für diese Auswertung nur die Daten von 69 gesunden Kälbern verwendet. Zum Zeitpunkt 0 h konnten lediglich bei einem Kalb Clostriden nachgewiesen werden. Der Anteil Clostridien-positiver Kälber stieg bis zum Zeitpunkt 48 h auf 53,6 % (n = 37) an, um schließlich bis zum Tag 7 wieder auf einen Anteil von 18,8 % (n = 13) abzusinken.

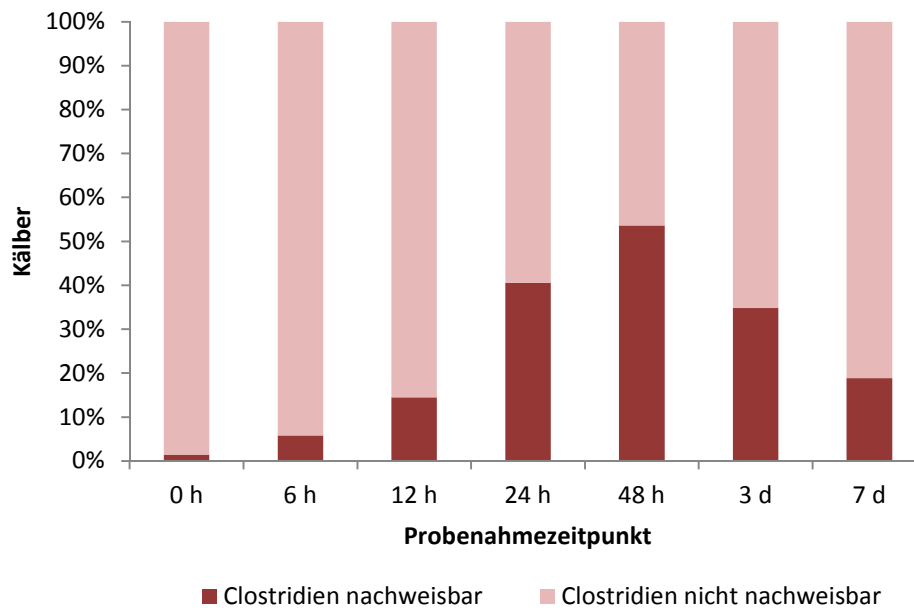


Abbildung 23: Clostridiennachweis aus Faecesproben gesunder Kälber (n = 69)

1.2.1.3 Enterobacteriaceae

In 19 % (n = 15) der Mekoniumproben konnten keine Enterobakterien nachgewiesen werden; in 18 % der 6-h-Proben sowie in 4 % der 12-h-Proben (n = 14/3) waren ebenfalls keine Enterobakterien detektierbar. Die höchste Enterobakterienzahl wurde mit $8,9 \cdot 10^{10}$ KBE/g in einer nach 48 h gewonnenen Probe ermittelt. Insgesamt stellte sich der Verlauf der Enterobacteriaceae ähnlich zu dem der aeroben GKZ dar: Nach Erreichen eines Peaks zum Zeitpunkt 48 h nach der Geburt sank die Keimzahl zum Tag 7 wieder signifikant ab (Abbildung 24).

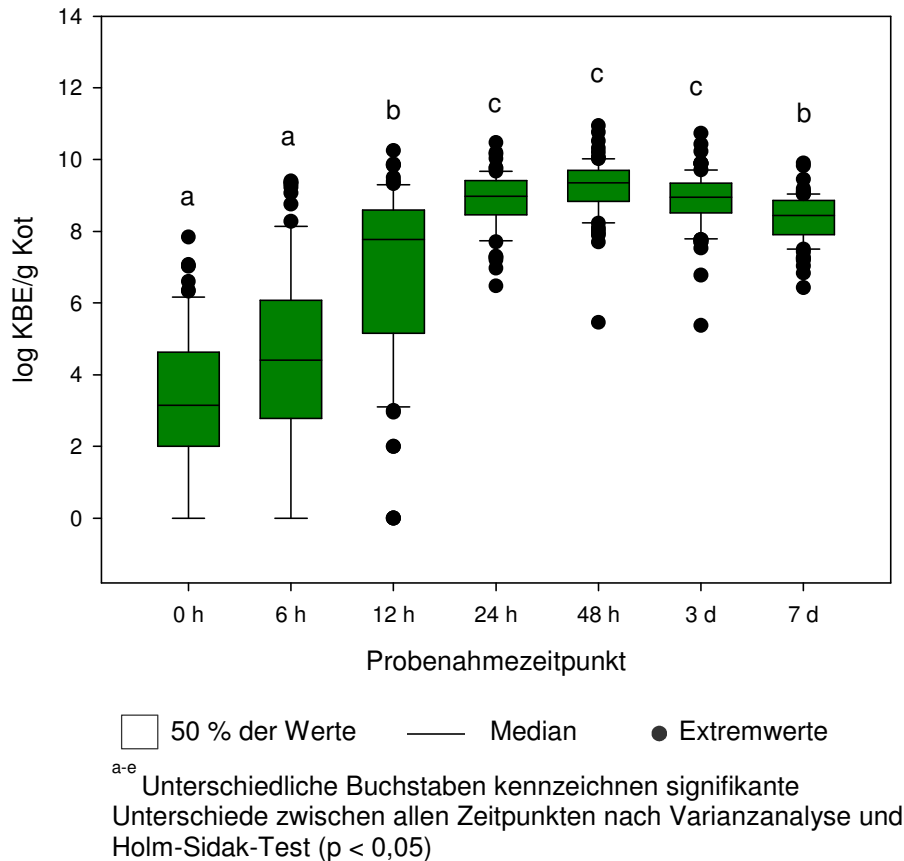


Abbildung 24: Entwicklung der Enterobacteriaceae in Faecesproben gesunder Kälber (n = 80)

Spezifizierung isolierter Einzelkeime

Wurden die Enterobakterien hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Laktose zu verwerten, unterschieden, so fiel auf, dass unmittelbar nach der Geburt die laktosenegativen Keime überwogen, aber bereits nach sechs Stunden nur noch einen Anteil von unter 20 % ausmachten, um beim 48 h alten Kalb einen Tiefstwert (0,2 %) zu erreichen (Abbildung 25). Differentialdiagnostisch müssen bei einem Nachweis laktosenegativer Kolonien auf Gassner-Agar stets Salmonellen in Betracht gezogen werden, vor allem im Hinblick auf die Tatsache, dass die Rindersalmonellose aufgrund der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen (TierSeuchAnzV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 der Anzeigepflicht unterliegt. Bei der biochemischen und serologischen Differenzierung aller laktosenegativen Isolate konnte der Verdacht *Salmonella* spp. jedoch in keinem Fall bestätigt werden. Insgesamt war die absolute Anzahl laktosenegativer Bakterien relativ gering (durchschnittlich 10^2 KBE/g). Isolate, die aus Kotproben der frühen Probenahmezeitpunkte gewonnen wurden, wiesen

nach Subkultivierung auf Platecount-Agar sehr häufig eine gelbe Pigmentierung auf. Stichprobenhafte Untersuchungen mittels API-Testsystem wiesen hierbei *Pantoea* spp. nach. Weitere mittels API ermittelte laktosenegative Spezies waren beispielsweise *Pseudomonas* spp., *Hafnia* spp. und *Serratia* spp. Zum siebten Tag stieg der Anteil laktosenegativer Isolate absolut und relativ wieder leicht an (Abbildung 25). Diese konnten aufgrund des Schwärmverhaltens bzw. aufgrund bestimmter biochemischer Eigenschaften (Schwaiger et al., 2008) und durch stichprobenhafte Untersuchung mittels API-Testsystem überwiegend als *Proteus* spp. bzw. laktosenegative *E. coli* identifiziert werden.

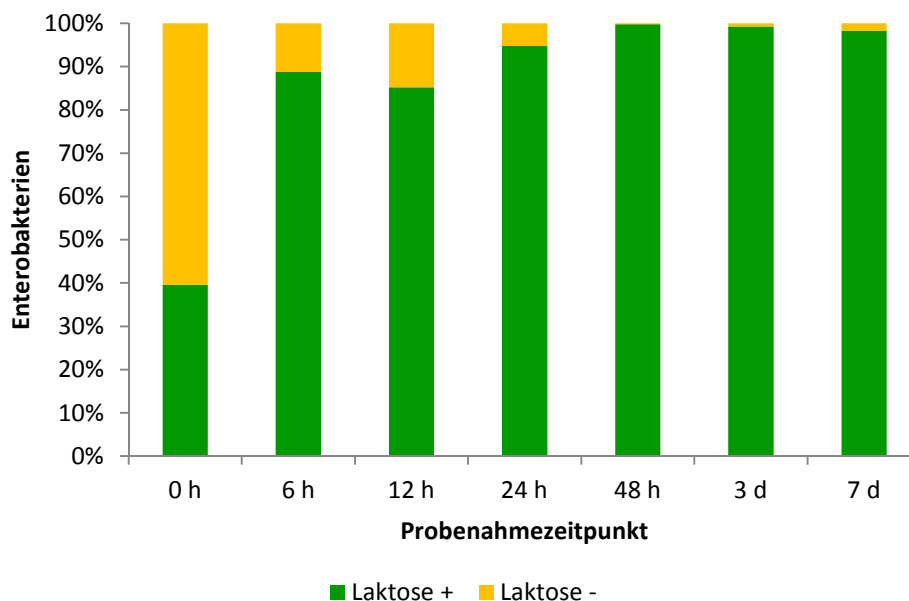


Abbildung 25: Relation laktosepositiver und laktosenegativer Enterobacteriaceae in Faecesproben gesunder Kälber (n = 69)

Alle laktose- und indolpositiven, sowie oxidasenegativen Keime, die auf Fluorocult-Agar eine Fluoreszenz aufwiesen, wurden als *E. coli* eingestuft. Auch alle laktosenegativen Bakterien, die ansonsten oben genannte Kriterien erfüllten, wurden mittels API-Testsystem als *E. coli* identifiziert. Die serologische Überprüfung von fluoreszenznegativen Bakterien auf EHEC erwies sich in allen Fällen als negativ. Abbildung 26 zeigt den Anteil von *E. coli* an der Enterobakteriengesamtzahl. Während der Anteil von *E. coli* zum Zeitpunkt 0 h bei nur 33 % liegt, steigt er bereits nach 6 h auf 74 % an, um ab 48 h schließlich über 90 % der Enterobakteriengesamtzahl auszumachen. Stichprobenhaft durchgeführte Untersuchungen mittels API wiesen neben *E. coli* und den bereits

genannten, laktosenegativen Bakterien, noch weitere Spezies, wie *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp, und *Escherichia fergusonii* nach.

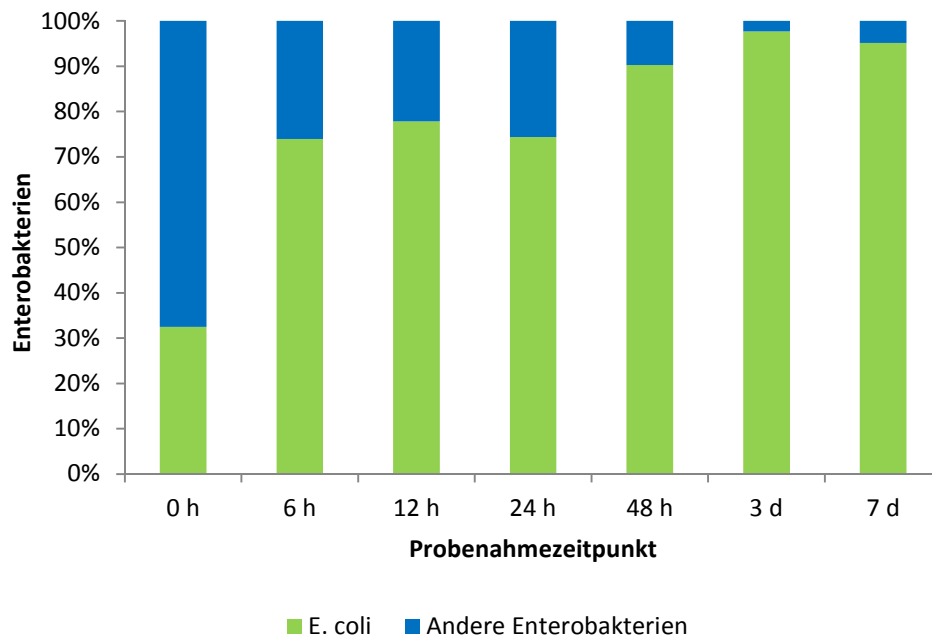


Abbildung 26: Anteil von *E. coli* an der Enterobakteriengesamtzahl

1.2.1.4 Enterokokken

Enterokokken konnten ähnlich wie Enterobakterien nicht immer von Anfang an detektiert werden; 57/36/9 % der Proben ($n = 46/29/7$), gewonnen zu den Zeitpunkten 0/6/12 h lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Der höchste Wert ($6,1 \cdot 10^{10}$ KBE/g) wurde in einer Probe gemessen, die 24 h nach der Geburt eines Kalbes gewonnen wurde. Der Verlauf der Enterokokken stellte sich ähnlich wie der Verlauf der aeroben GKZ dar (Abbildung 27).

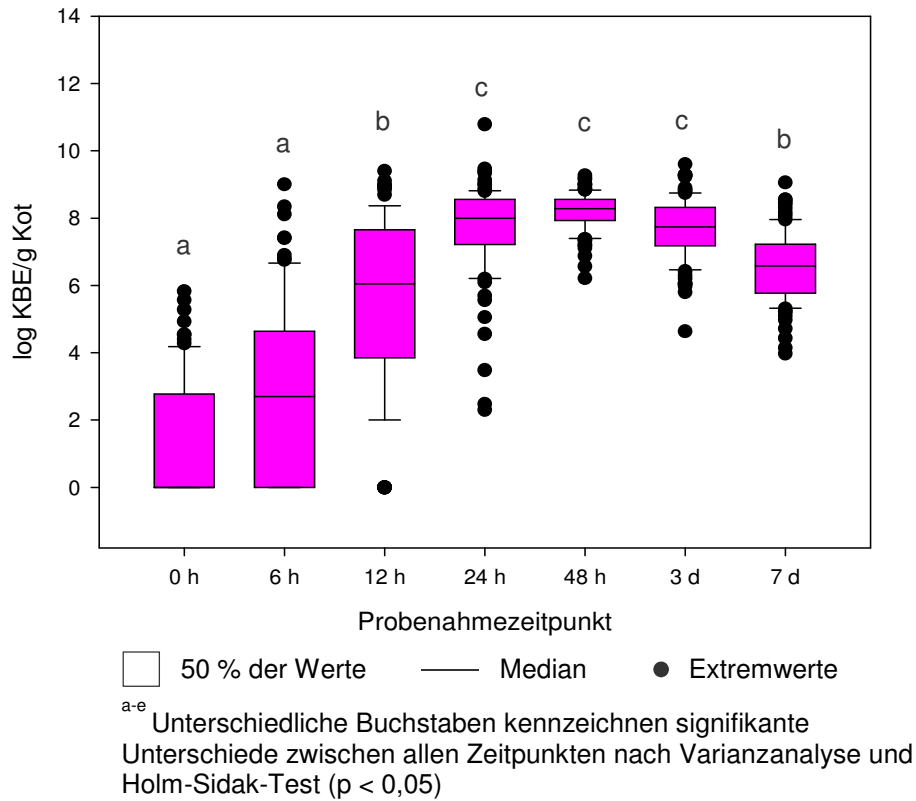


Abbildung 27: Entwicklung der Enterokokken in Faecesproben gesunder Kälber (n = 80)

Spezifizierung isolierter Einzelkeime

Basierend auf ihrem Zuckerstoffwechselverhalten wurden die Enterokokken weiter in die Gruppen *Ent. faecium*, *Ent. faecalis* und *Ent. nonfaecalis/nonfaecium* unterteilt. Dabei fiel auf, dass sich der Verlauf der *Ent.-faecalis*- und der *Ent.-nonfaecalis/nonfaecium*-Gruppe, sowohl zueinander als auch im Vergleich zur Enterokokken-Gesamtzahl, relativ ähnlich darstellte. Lediglich am 7. Tag nach der Geburt ist die *Ent. nonfaecalis/nonfaecium*-Gruppe mit durchschnittlich $1,5 \cdot 10^6$ KBE/g Kot deutlich stärker vertreten als *Ent. faecalis* (durchschnittlich $2,9 \cdot 10^4$ KBE/g Kot). *Ent. faecium* hingegen konnte in den Kotproben sehr häufig nicht detektiert werden und lag durchschnittlich unter 10^2 KBE/g Kot (Abbildung 28).

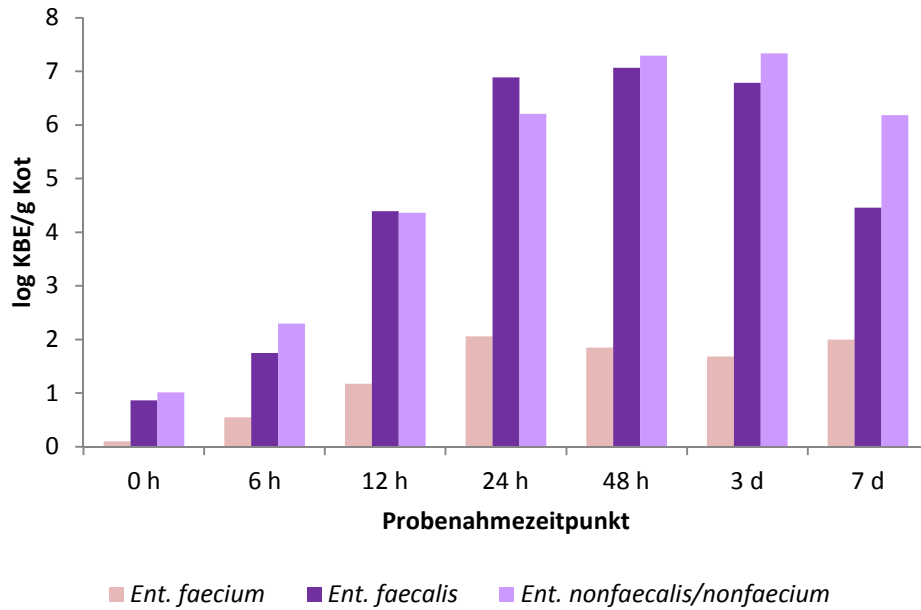


Abbildung 28: Entwicklung verschiedener Enterokokken-Gruppen in Faecesproben gesunder Kälber (n = 69)

1.2.1.5 Laktobazillen

Die Laktobazillen entwickelten sich tendenziell langsamer als die anderen untersuchten Keimgruppen: Sowohl bei den Mekoniumproben als auch bei den 6-h-Proben war in 66 % (n = 53) kein Wachstum auf LAMVAB-Agar zu verzeichnen. 36 % der 12-h-Proben, 9 % der 24-h-Proben (n = 29/7) und eine 48-h-Probe waren hinsichtlich der Laktobazillenzahlen unterhalb der Nachweisgrenze. Ein signifikanter Anstieg der Keimzahlen war zudem erst zwischen 12 h und 24 h sowie zwischen 24 h und 48 h zu verzeichnen. Auch der Quartilsabstand verringerte sich erst deutlich ab 48 h. Ähnlich wie die Anaerobier zeigten auch die Laktobazillen bis zum 7. Lebenstag einen kontinuierlichen, wenn auch nicht signifikanten Anstieg der Keimzahlen. Das Maximum von $1,1 \cdot 10^{10}$ KBE/g wurde in einer 7-d-Probe gemessen (Abbildung 29).

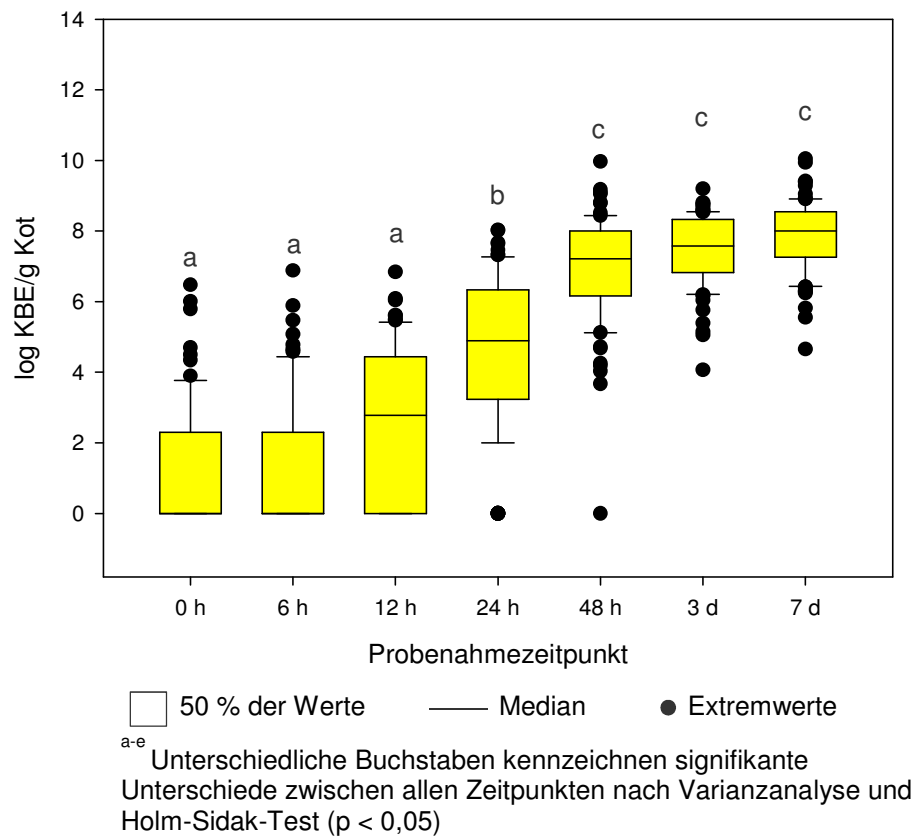


Abbildung 29: Entwicklung der Laktobazillen in Faecesproben gesunder Kälber (n = 80)

Spezifizierung isolierter Einzelkeime

Insgesamt wurde bei 2338 von LAMVAB-Agar selektierten Isolaten eine Untersuchung mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie durchgeführt. Tabelle 23 führt die identifizierten Spezies und die Anzahl der entsprechenden Isolate auf.

Tabelle 23: Speziesidentifikation der von LAMVAB-Agar isolierten Einzelkeime mittels MALDI-TOF-MS

Spezies	Anzahl der Isolate
<i>Lactobacillus reuteri</i>	476
<i>Lactobacillus paracasei</i>	401
<i>Lactobacillus murinus</i>	240
<i>Lactobacillus salivarius</i>	206
<i>Lactobacillus fermentum</i>	150
<i>Lactobacillus mucosae</i>	116
<i>Lactobacillus plantarum</i>	115
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	98
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	96
<i>Lactobacillus brevis</i>	38
<i>Pediococcus acidilactici</i>	22
<i>Lactobacillus saerimneri</i>	20
<i>Lactobacillus buchneri</i>	14
<i>Lactobacillus curvatus</i>	10
<i>Lactobacillus agilis</i>	8
<i>Lactobacillus ingluviei</i>	8
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	8
<i>Lactobacillus casei</i>	6
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	6
<i>Lactobacillus oris</i>	6
<i>Lactobacillus kefir</i>	5
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	3
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	3
<i>Lactobacillus pentosus</i>	3
<i>Lactobacillus farciminis</i>	2
<i>Lactobacillus nantensis</i>	2
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	2
<i>Leuconostoc lactis</i>	2
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	2
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	1
<i>Lactobacillus kimchii</i>	1
<i>Lactobacillus manihotivorans</i>	1
<i>Lactobacillus perolens</i>	1
<i>Lactobacillus ruminis</i>	1
<i>Lactococcus garviae</i>	1
<i>Lactococcus lactis</i>	1

In Tabelle 24 sind die zehn am häufigsten detektierten *Lactobacillus*-Spezies und ihre zugehörigen Keimzahlen in \log_{10} KBE/g Kot dargestellt. Während der ersten Probenahmezeitpunkte ließen sich häufig keine Laktobazillen nachweisen (s. o.). *L. plantarum* und *L. brevis* konnten zu 0 h und 6 h am häufigsten detektiert werden, stiegen jedoch im weiteren Verlauf der Untersuchung nicht weiter an bzw. verschwanden vollständig. *L. paracasei* dominierte zum Zeitpunkt 12 h und 24 h, sank dann jedoch bis zum 7. Tag nach der Geburt wieder ab. Ab 48 h überwog *L. reuteri* unter der Laktobazillenpopulation gesunder Kälber und stieg auch bis zum 7. Tag kontinuierlich auf zuletzt 5,4 \log KBE/g Kot an. Neben *L. reuteri* zeigten auch *L. mucosae* und *L. rhamnosus* einen kontinuierlichen, wenn auch deutlich geringeren Anstieg bis zum 7. Tag (2,2 bzw. 1,5 \log KBE/g Kot). Die übrigen *Lactobacillus*-Spezies zeigten nach Erreichen eines Peaks zwischen 24 h und 3 d einen Abfall der Keimzahlen bis zum 7. Tag.

Tabelle 24: Vorkommen dominanter *Lactobacillus* spp. [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben gesunder Kälber (n = 69)

Spezies	Probenahmezeitpunkt						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
<i>L. brevis</i>	0,15	0,20	0,15	0,36	0,00	0,00	0,00
<i>L. fermentum</i>	0,00	0,00	0,00	0,62	1,74	1,71	1,30
<i>L. mucosae</i>	0,00	0,13	0,08	0,46	1,04	1,22	2,21
<i>L. murinus</i>	0,00	0,00	0,19	1,18	2,99	3,00	0,53
<i>L. parabuchneri</i>	0,00	0,07	0,15	0,84	1,14	0,76	0,48
<i>L. paracasei</i>	0,00	0,15	1,13	2,59	2,51	2,36	1,13
<i>L. plantarum</i>	0,53	0,43	0,49	0,64	0,44	0,54	0,34
<i>L. reuteri</i>	0,04	0,03	0,15	0,25	3,09	4,00	5,43
<i>L. rhamnosus</i>	0,03	0,00	0,08	0,44	1,10	1,23	1,46
<i>L. salivarius</i>	0,00	0,08	0,43	0,97	1,90	1,59	1,40

1.2.2 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota durchfallkranker Kälber im Vergleich zu „darmgesunden“

Von den insgesamt 150 untersuchten Kälbern erkrankten 70 während der ersten beiden Lebenswochen an Durchfall. Dreizehn Kälber entwickelten den Durchfall erst nach dem Beprobungszeitraum, also während der zweiten Lebenswoche. Sie unterschieden sich in der Entwicklung der Keimzahlen nur wenig von den

gesunden Kälbern. Für die nähere Betrachtung wurden daher die 57 Kälber, welche innerhalb des Beprobungszeitraumes Durchfall entwickelten, ausgewählt.

1.2.2.1 Aerobe Gesamtkeimzahl

Bei den Durchfallkälbern waren im Vergleich zu den gesunden Kälbern die Mittelwerte der aeroben GKZ bei den ersten beiden Probenahmezeitpunkten (0 h und 6 h) leicht erniedrigt. Ab dem 3. Probenahmezeitpunkt (12 h) drehte sich dieses Verhältnis und die Keimzahlen der Durchfallkälber stiegen über das Niveau der gesunden Kälber an (Abbildung 30). Der Unterschied der aeroben GKZ zum Zeitpunkt 3 d nach der Geburt war signifikant (laut t-Test; $p = 0,011$).

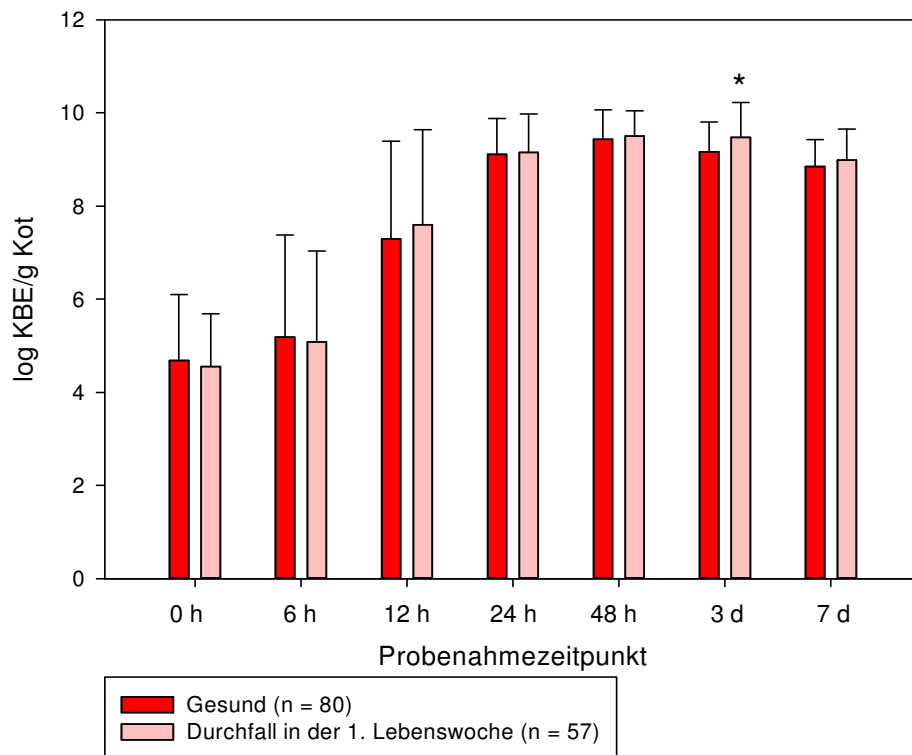


Abbildung 30: Vergleich der aeroben GKZ in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test; $p < 0,05$)

1.2.2.2 Anaerobe Gesamtkeimzahl

Die anaerobe GKZ verlief bei beiden Gruppen zunächst nahezu parallel, stieg aber am 7. Tag nach der Geburt bei den gesunden Kälbern schließlich signifikant stärker an (laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,002$; Abbildung 31).

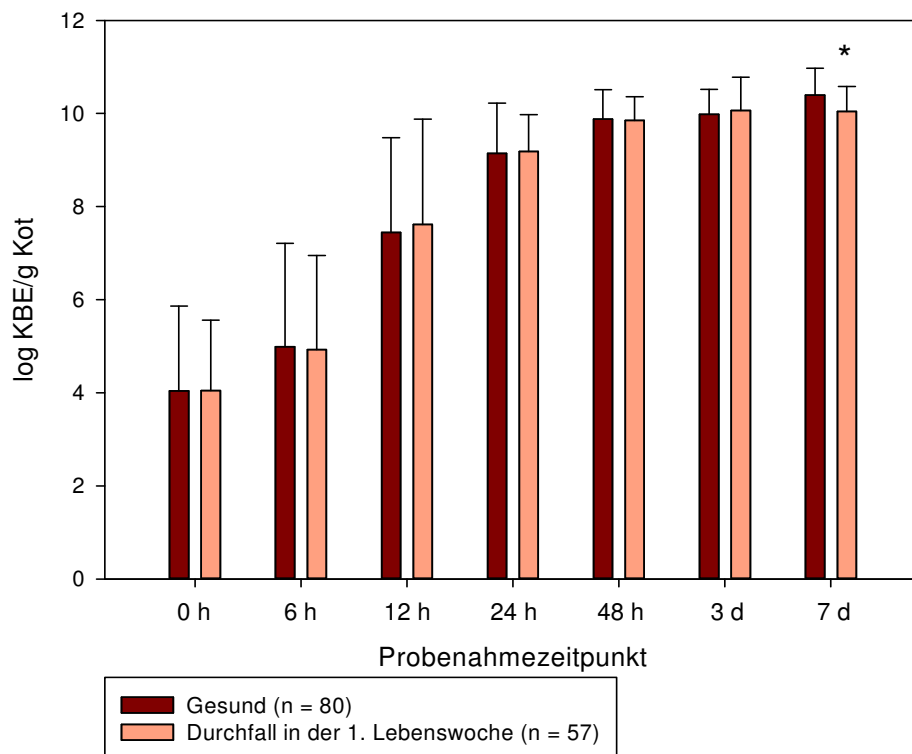


Abbildung 31: Vergleich der anaeroben GKZ in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)

Clostridien

Da von Betrieb 13 keine Einzelkeime isoliert wurden, gingen in diese Untersuchung 69 gesunde und 56 durchfallkranke Kälber ein. Sowohl bei den gesunden Kälbern, als auch bei jenen, die innerhalb der ersten Lebenswoche Durchfall entwickelten, konnten nicht bei allen Tieren Clostridien nachgewiesen werden. Unter 24 h ist der Anteil Clostridien-positiver Kotproben in beiden Gruppen sehr niedrig. Der Vergleich zeigt jedoch auf, dass bei der Gruppe der gesunden Kälber ab der 24-h-Probe der Anteil Clostridien-positiver Kälber deutlich höher ist (Abbildung 32). An Tag 3 nach der Geburt ist dieser Unterschied signifikant (laut Chi-Quadrat-Test; $p = 0,009$). Am 7. Tag nach der Geburt liegen die Anteile Clostridien-positiver Kälber bei beiden Gruppen unter 20 %.

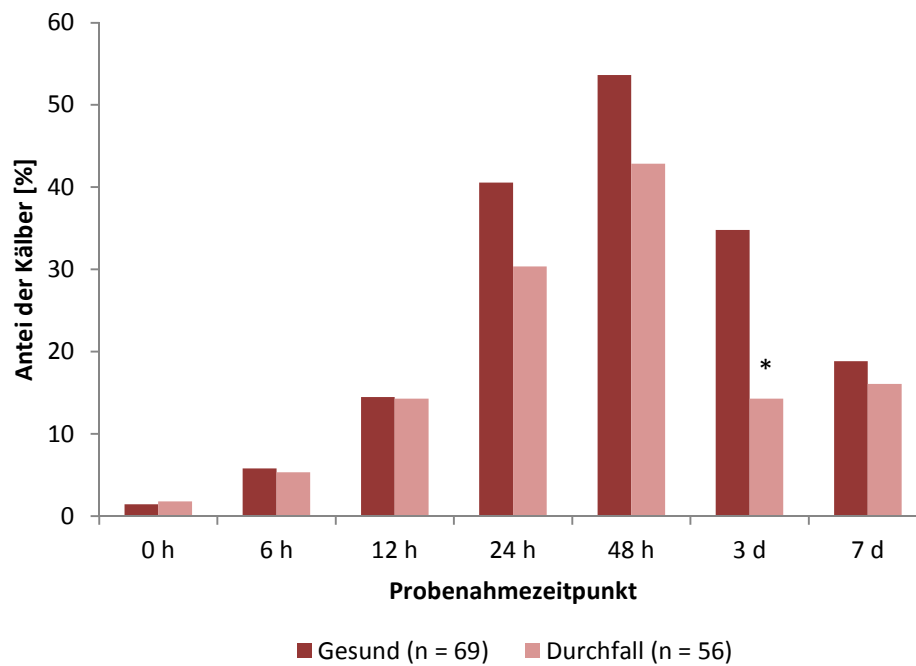


Abbildung 32: Nachweis von Clostridien in Faecesproben gesunder und in der 1. Lebenswoche an Durchfall erkrankter Kälber. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; $p < 0,05$)

1.2.2.3 Enterobacteriaceae

Die Entwicklung der Enterobacteriaceae verhielt sich ähnlich wie die der aeroben GKZ. Während zu den ersten beiden Probenahmezeitpunkten (0 h und 6 h) die Enterobakterien der Durchfallkälber leicht erniedrigt waren, stiegen diese ab 12 h nach der Geburt über das Niveau der gesunden Kälber an. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen war jedoch zu keinem Zeitpunkt feststellbar (Abbildung 33).

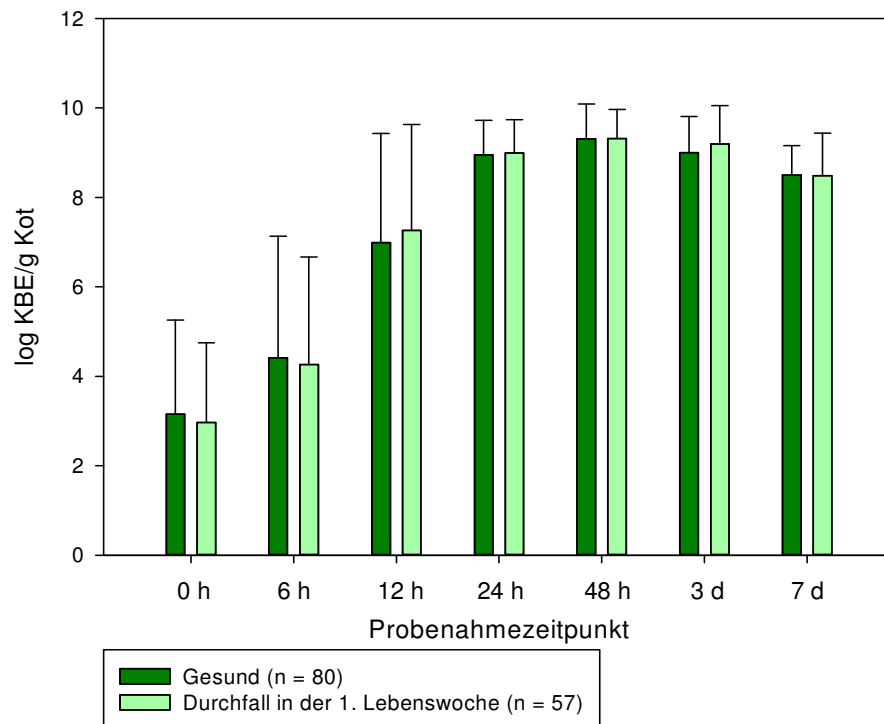


Abbildung 33: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche

Wurden hingegen die kranken Kälber hinsichtlich des Durchfallzeitpunktes eingeteilt, fiel im direkten Vergleich mit den gesunden Kälbern ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen auf. Frühdurchfallkälber (Durchfall mit 24 h (n = 6) bzw. 48 h (n = 16)) zeigten am Tag des Durchfalls bzw. am Tag darauf signifikant erhöhte Enterobakterienzahlen (laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,012/0,003$; Abbildung 34). Zu späteren Durchfallzeitpunkten war dieser Unterschied nicht mehr erkennbar.

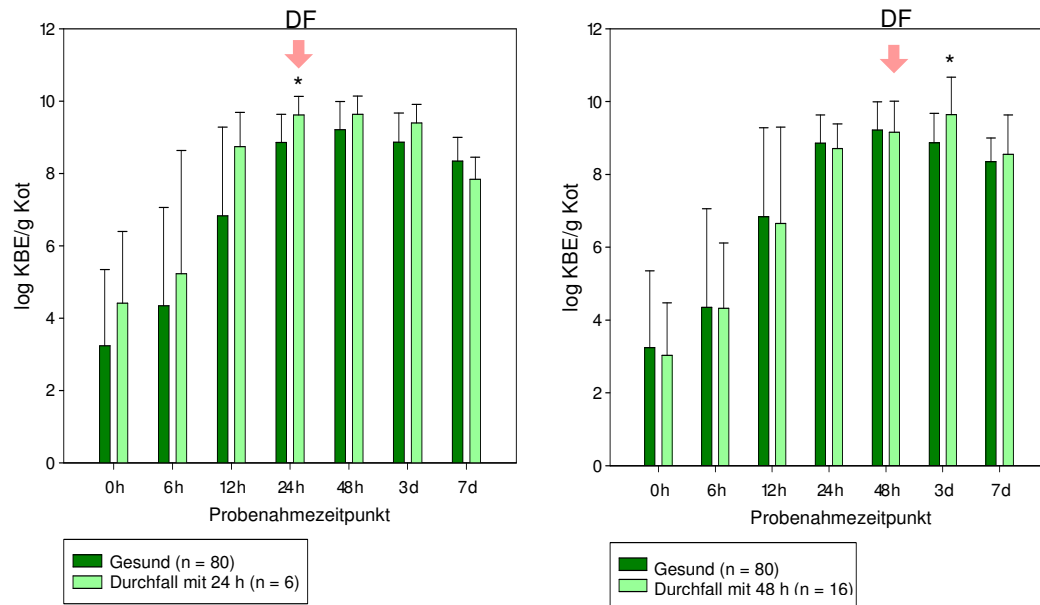


Abbildung 34: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 24 h (links) bzw. 48 h (rechts). * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)

1.2.2.4 Enterokokken

Wie in Abbildung 35 dargestellt, lagen die Enterokokkenzahlen der Durchfallkälber, abgesehen von der 12-h-Probe, über den gesamten Beprobungszeitraum hinweg unterhalb der Keimzahlen gesunder Kälber. Dieser Unterschied war am 7. Tag nach der Geburt statistisch signifikant (laut t-Test; $p < 0,001$).

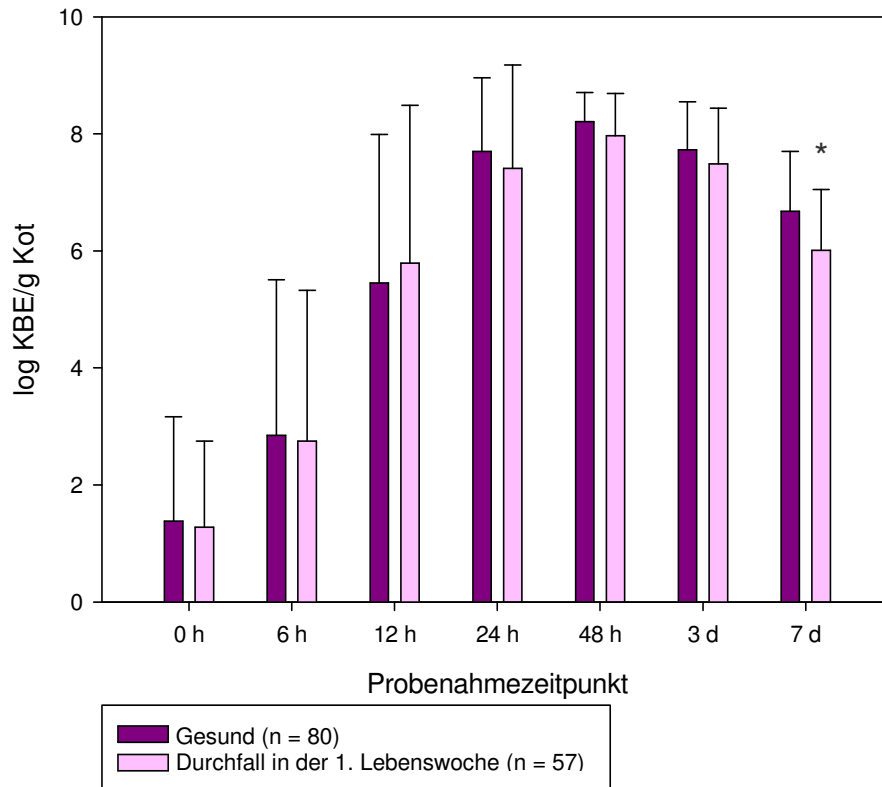


Abbildung 35: Vergleich des Vorkommens von Enterokokken in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test; $p < 0,05$)

Wurden die Enterokokkenzahlen hinsichtlich des Durchfalltages betrachtet, konnten bei Kälbern mit Durchfall zum Zeitpunkt 48 h zum Teil signifikante Unterschiede zwischen gesunden und kranken Kälbern beobachtet werden. Abgesehen von der Mekoniumprobe lagen die Enterokokkenzahlen aller nachfolgenden Proben bei den Durchfallkälbern ($n = 16$) unterhalb der Zahlen gesunder Kälber (Abbildung 36). Zum Zeitpunkt des Durchfalls (48 h) waren die Werte mit durchschnittlich $5,5 \cdot 10^7$ KBE/g Kot im Vergleich zu $1,7 \cdot 10^8$ KBE/g Kot signifikant erniedrigt (laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,012$). Auch am darauffolgenden Tag lagen die Werte mit $1,6 \cdot 10^7$ KBE/g Kot signifikant unter den Werten der gesunden Kälber ($6,1 \cdot 10^7$ KBE/g Kot; laut t-Test; $p = 0,030$). Weiterhin zeigten die Enterokokken von Kälbern, bei denen am 6. und 7. Tag nach der Geburt Durchfall auftrat, signifikante erniedrigte Werte in der 7-d-Probe ($1,0 \cdot 10^6/4,6 \cdot 10^5$ KBE/g Kot versus $5,4 \cdot 10^6$ KBE/g Kot; laut t-Test; $p = 0,032/0,008$).

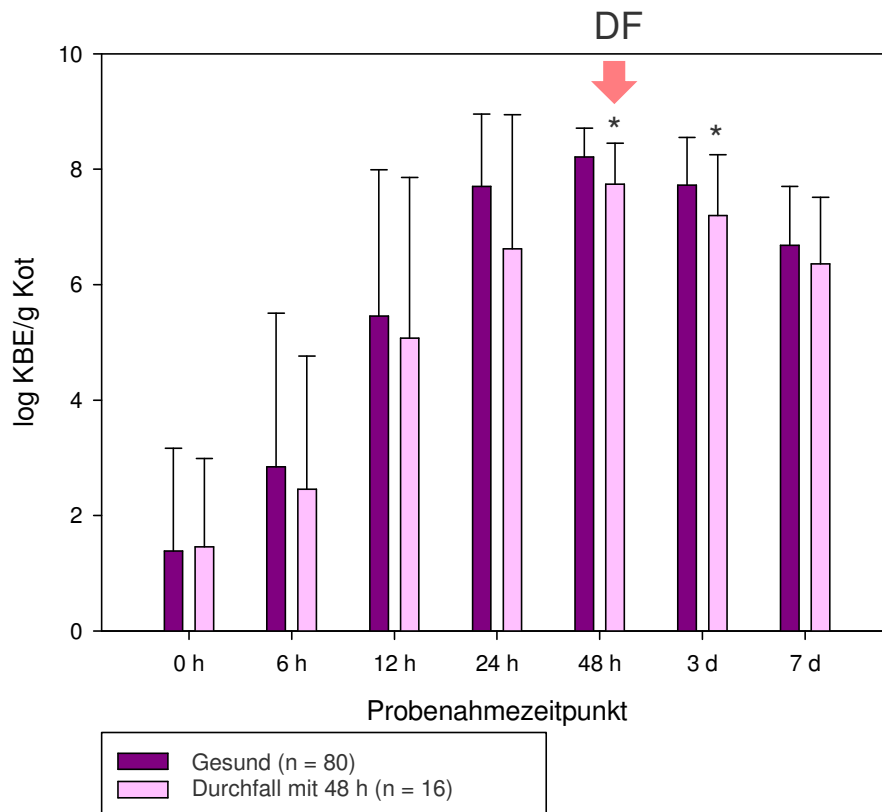


Abbildung 36: Vergleich des Vorkommens von Enterokokken in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 48 h. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test und Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)

1.2.2.5 Laktobazillen

Die Laktobazillen-Zahlen der Durchfallkälber lagen nach 6 h leicht oberhalb derjenigen gesunder Kälber und stiegen schließlich bis 48 h parallel an. Nach 48 h kam es im Vergleich zu den gesunden Kälbern zu einer signifikant veränderten Entwicklung der Laktobazillen der Durchfallkälber. Während die Laktobazillen gesunder Kälber zum Tag 3 deutlich anstiegen, stagnierten die Laktobazillenzahlen der Durchfallkälber. Dieser Unterschied war statistisch signifikant (laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,038$). Bis zum Tag 7 glichen sich die Laktobazillen der Durchfallkälber schließlich wieder dem Niveau der gesunden Kälber an (Abbildung 37).

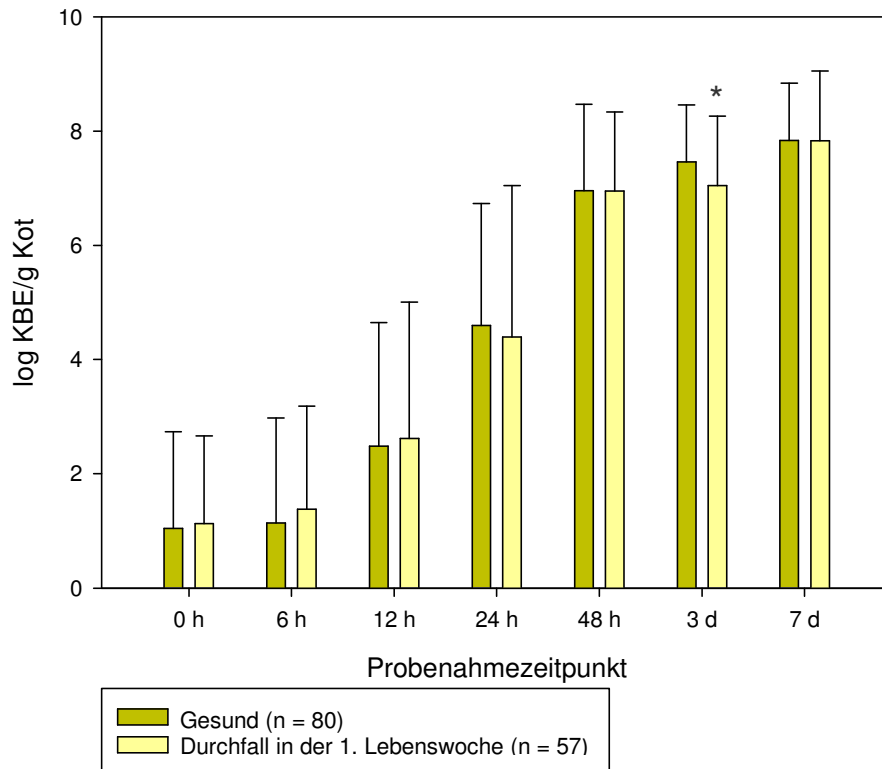


Abbildung 37: Vergleich des Vorkommens von Laktobazillen in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)

Bei der Betrachtung der Laktobazillen hinsichtlich des Durchfalltages fiel bei Kälbern mit Durchfall zum Zeitpunkt 48 h ($n = 16$) auf, dass die Keimzahlen bereits 24 h nach der Geburt, also noch vor der Entstehung von Symptomen signifikant erniedrigt waren ($1,2 \cdot 10^3$ versus $3,6 \cdot 10^4$ KBE/g Kot; laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,022$). Auch zu den Zeitpunkten 48 h und 3 d nach der Geburt lagen die Laktobazillenzahlen deutlich unterhalb derjenigen gesunder Kälber (laut Mann-Whitney-U-Test; $p = 0,002/0,002$). Erst am 7. Tag nach der Geburt glichen sich die Keimzahlen beider Gruppen wieder dem gleichen Niveau an.

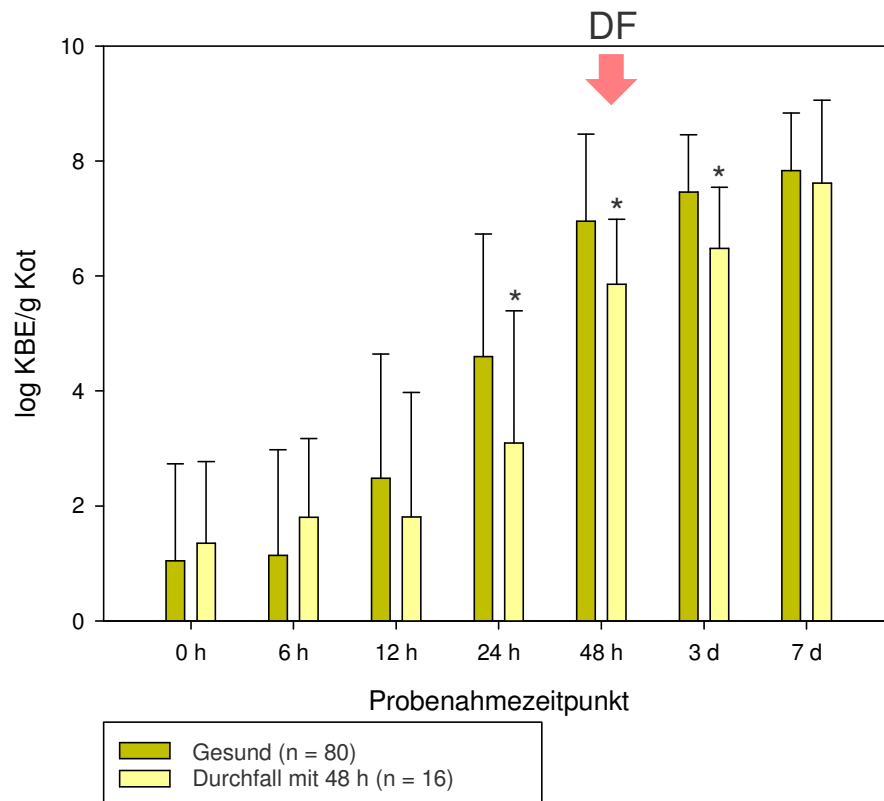


Abbildung 38: Vergleich des Vorkommens von Laktobazillen in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 48 h. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)

Die Keimzahlen der häufigsten mittels MALDI-TOF detektierten *Lactobacillus*-Spezies in Faecesproben von Kälbern, die innerhalb der ersten zwei Lebenswochen an Durchfall erkrankten, sind in Tabelle 25 aufgeführt.

Tabelle 25: Vorkommen dominanter *Lactobacillus* spp. [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben durchfallkranker Kälber (n = 69)

Spezies	Probenahmezeitpunkt						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
<i>L. brevis</i>	0,25	0,16	0,14	0,10	0,00	0,12	0,00
<i>L. fermentum</i>	0,00	0,00	0,08	0,54	1,39	1,65	1,14
<i>L. mucosae</i>	0,00	0,00	0,06	0,18	1,14	1,29	0,75
<i>L. murinus</i>	0,04	0,08	0,68	1,52	3,23	1,91	1,34
<i>L. parabuchneri</i>	0,00	0,03	0,12	0,70	1,06	0,44	0,39
<i>L. paracasei</i>	0,07	0,19	0,88	2,25	2,27	1,84	0,86
<i>L. plantarum</i>	0,31	0,45	0,78	0,70	0,50	0,37	0,35
<i>L. reuteri</i>	0,09	0,06	0,10	0,11	1,52	3,94	5,20
<i>L. rhamnosus</i>	0,00	0,00	0,19	0,28	0,53	0,74	0,49
<i>L. salivarius</i>	0,00	0,04	0,19	0,77	2,17	1,39	1,43

Wurden die 10 häufigsten *Lactobacillus*-Spezies von gesunden und innerhalb der ersten zwei Lebenswochen an Durchfall erkrankten Kälber mittels logistischer Regressionsanalyse, bei der der Betrieb als Faktor berücksichtigt wurde, miteinander verglichen, fielen teilweise deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen auf. So zeigte *L. reuteri* eine um 24 h verzögerte Entwicklung im Vergleich zu gesunden Kälbern; zum Zeitpunkt 48 h lagen die *L.-reuteri*-Werte gesunder Kälber bei $1,2 \cdot 10^3$ KBE/g Kot im Vergleich zu $3,3 \cdot 10^1$ KBE/g Kot bei Durchfallkälbern ($p = 0,036$). An Tag 3 hatten sich die Werte beider Gruppen wieder angenähert. *L. mucosae* zeigte bis zum 3. Tag nach der Geburt einen ähnlichen, leicht ansteigenden Verlauf beider Gruppen. An Tag 7 unterschied sich der Verlauf der Keimzahlen jedoch signifikant; während sich die *L.-mucosae*-Werte gesunder Kälber weiterhin im Anstieg befanden und zuletzt einen Wert von durchschnittlich $1,6 \cdot 10^2$ KBE/g Kot erreichten, kam es bei den Durchfallkälbern zu einem Abfall der Keimzahlen auf $5,6 \cdot 10^0$ KBE/g Kot ($p = 0,013$; Abbildung 39).

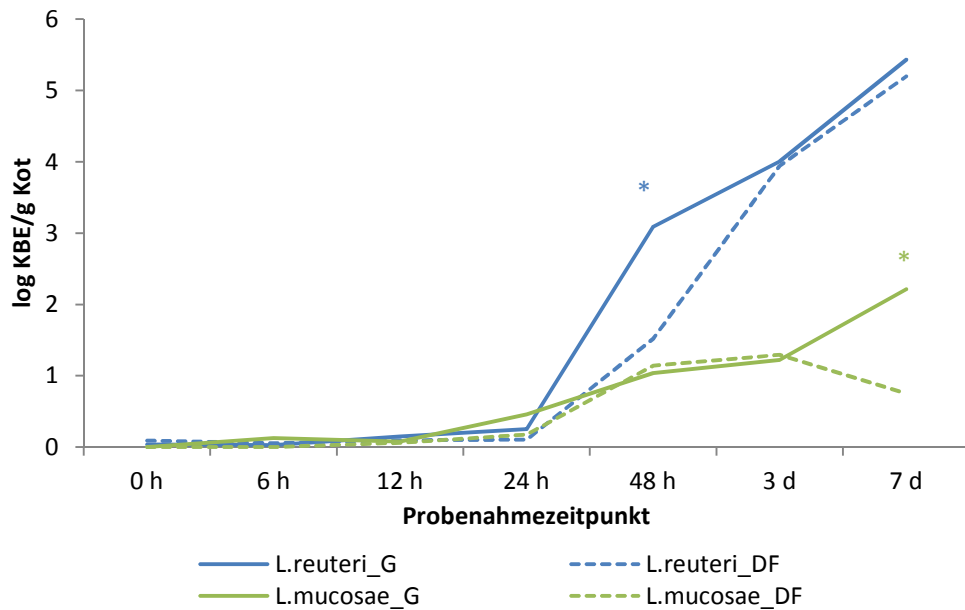


Abbildung 39: Vergleich von *L. reuteri* und *L. mucosae* gesunder und durchfallkranker Kälber. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (logistische Regressionsanalyse; $p < 0,05$)

1.3 Auswahl der Kandidatenkeime

Zusammenfassend können folgende Aussagen getroffen werden: Laktobazillen sind bei Kälbern, die mit 48 h Durchfall entwickelten, bereits *vor* dem Auftreten von Symptomen signifikant erniedrigt. *L. reuteri* ist die quantitativ und ab 48 h auch qualitativ am häufigsten ermittelte *Lactobacillus*-Spezies gesunder Kälber. Bei Durchfallkälbern hingegen sind die *L.-reuteri*-Werte zum Zeitpunkt 48 h, dem Zeitpunkt mit der höchsten Durchfallinzidenz, signifikant verringert und erreichen erst 24 h später das Niveau der gesunden Kälber. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurde daher *L. reuteri* als Zielkeim für die Entwicklung eines oralen Substitutionsprophylaktikums ausgewählt.

2 2. Teil: Auswahl geeigneter Isolate für ein Diarrhoe-Prophylaktikum

Da die *L.-reuteri*-Zahlen bei Durchfallkälbern im Vergleich zu gesunden Kälbern zum Zeitpunkt 48 h nach der Geburt signifikant verringert waren, wurden für die weiterführende Prüfung auf ihre Eignung als Diarrhoe-Prophylaktikum *L.-reuteri*-Isolate, die jeweils aus einer 48-h-Probe gewonnen wurden, ausgewählt. Von jeder 48-h-Probe, bei der mittels MALDI-TOF-MS *L. reuteri* nachweisbar war, wurden mindestens ein Isolat, höchstens jedoch zwei Isolate der Spezies weiter untersucht. Insgesamt ergab sich daher eine Gesamtzahl von 57 untersuchten *L.-reuteri*-Isolaten.

2.1 Speziesspezifische PCR

Wie in Abbildung 40 dargestellt, wiesen bei der speziesspezifischen PCR 4 der 57 getesteten *L.-reuteri*-Isolate neben der speziesspezifischen Bande bei 1000 bp eine zusätzlich Bande im Bereich von 100 bp und zwei davon eine weitere bei ca. 400 bp auf (5-1-5 Lac 2, 6-6-5 Lac 5, 6-12-5 Lac 4, 10-9-5 Lac 2). Da eine korrekte Identifikation der Isolate somit nicht gewährleistet war, wurden diese von den weiteren Untersuchungen (außer RAPD-PCR) ausgeschlossen.

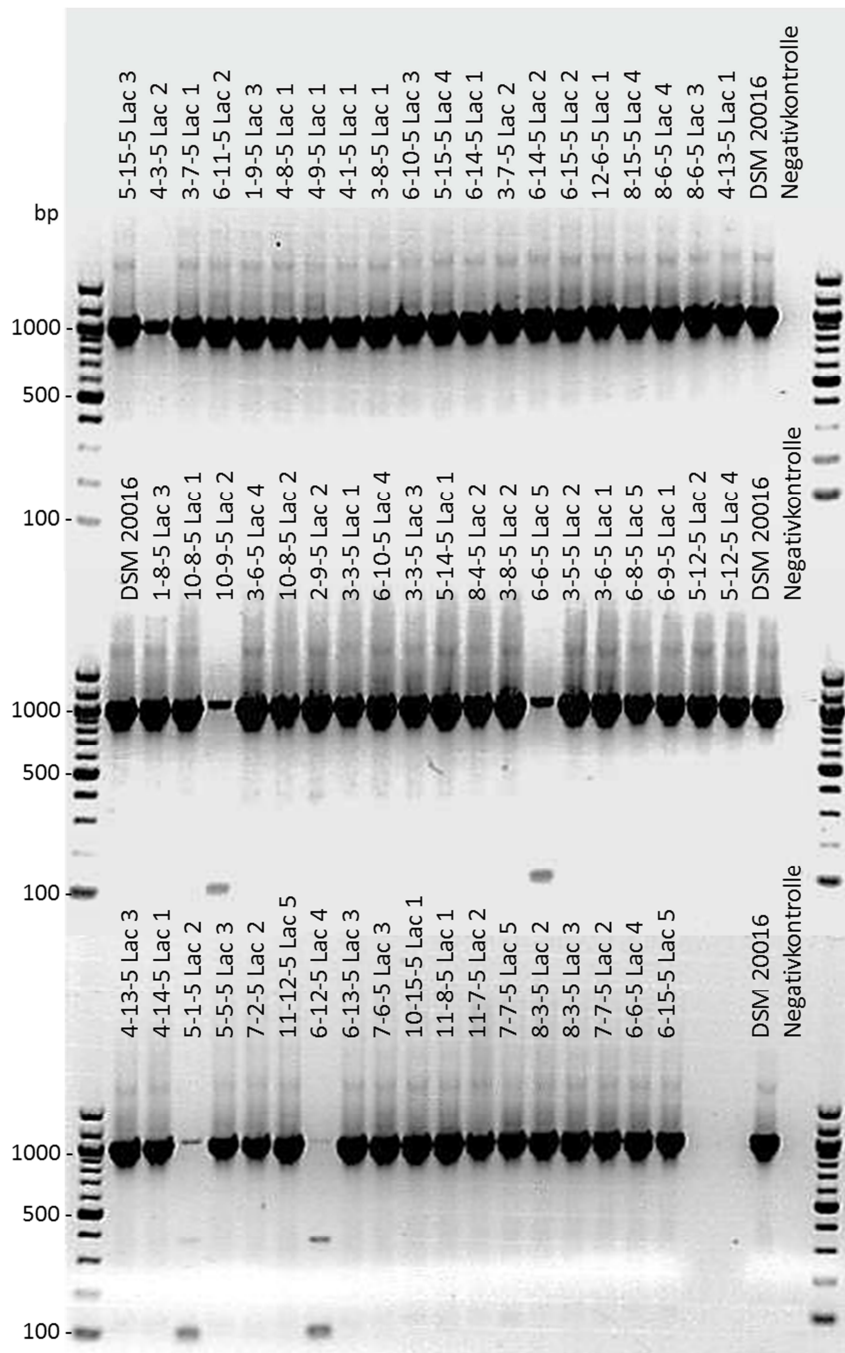


Abbildung 40: Überprüfung der als *L. reuteri* identifizierten (MALDI-TOF) Isolate mittels speziespezifischer PCR (n = 57)

2.2 RAPD-PCR

Für die weitere Stammeinteilung der bereits oben beschriebenen *L. reuteri*-Isolate (n = 57) wurden diese anhand ihrer mittels RAPD-PCR bestimmten Bandenprofile in Gruppen eingeteilt (Abbildung 41).

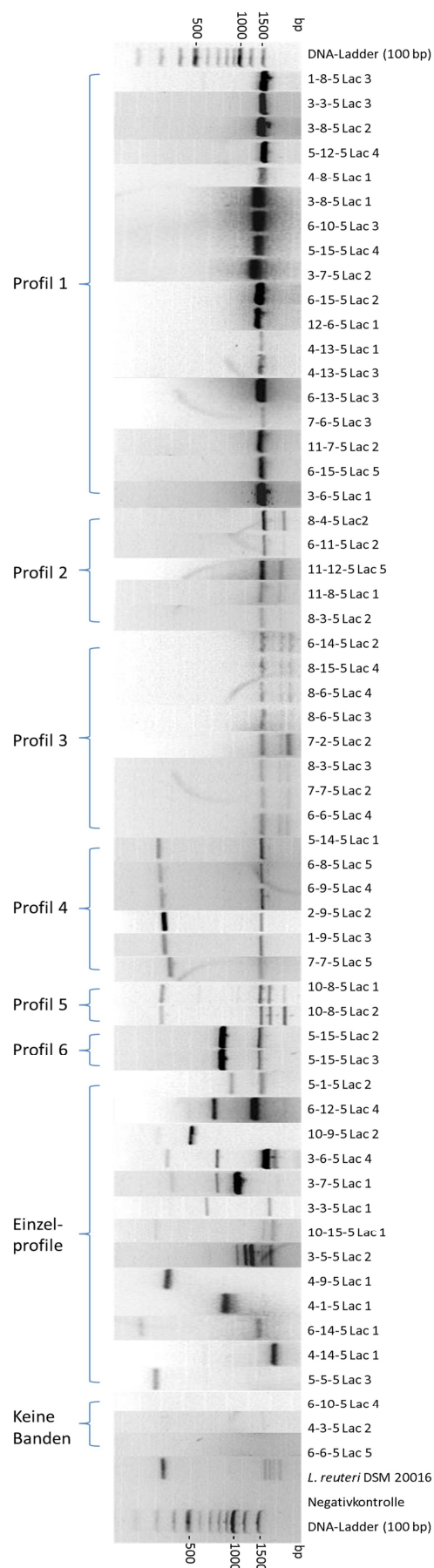


Abbildung 41: RAPD-Bandenprofile ausgewählter *L.-reuteri*-Isolate (n = 57)

Die visuelle Einteilung der mittels RAPD-PCR bestimmten Bandenmuster ergab sechs verschiedene Profiltypen mit jeweils mindestens zwei Isolaten, 13 Einzelprofile und drei Isolate, bei denen keine Banden auftraten. Um die drei bei gesunden Kälbern am häufigsten vorkommenden Stämme für das Substitutionsprophylaktikum zu selektieren wurden nur Bandenprofile ausgewählt, die bei mindestens 5 gesunden Kälbern auftraten. In Tabelle 26 ist die Einteilung der untersuchten *L.-reuteri*-Isolate aufgeführt. Anhand dieser Ergebnisse wurden 18 Isolate gesunder Kälber, die den Bandenprofilen 1, 2 und 3 zugeordnet wurden, für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

Tabelle 26: Einteilung der mittels RAPD-PCR untersuchten *L.-reuteri*-Isolate (n = 57)

Bandenprofil	Isolate gesunder Kälber	Isolate von Durchfallkälbern
Profil 1	1-8-5 Lac 3* 3-3-5 Lac 3 3-6-5 Lac 1 3-7-5 Lac 2 6-10-5 Lac 3 6-15-5 Lac 2 + Lac 5 12-6-5 Lac 1 7-6-5 Lac 3 11-7-5 Lac 2	3-8-5 Lac 1 + Lac 2 4-8-5 Lac 1 4-13-5 Lac 1 + Lac 3 5-12-5 Lac 4 5-15-5 Lac 4 6-13-5 Lac 3
Profil 2	6-11-5 Lac 2 8-3-5 Lac 2 8-4-5 Lac 2 11-8-5 Lac 1 11-12-5 Lac 5	
Profil 3	6-6-5 Lac 4 6-14-5 Lac 2 7-7-5 Lac 2 8-3-5 Lac 3 8-15-5 Lac 4	7-2-5 Lac 2 8-6-5 Lac 3 + Lac 4
Profil 4	1-9-5 Lac 3 2-9-5 Lac 2 6-14-5 Lac 1	5-14-5 Lac 1 6-8-5 Lac 5 6-9-5 Lac 1
Profil 5	10-8-5 Lac 1 + 2	
Profil 6		5-15-5 Lac 2 + Lac 3
Einzelprofile	6-12-5 Lac 4 10-9-5 Lac 2 3-6-5 Lac 4 3-7-5 Lac 1 3-3-5 Lac 1 10-15-5 Lac 1 3-5-5 Lac 2 4-1-5 Lac 1 6-14-5 Lac 1	4-9-5 Lac 1 4-14-5 Lac 1 5-1-5 Lac 2 5-5-5 Lac 3
Keine Banden	6-10-5 Lac 4 4-3-5 Lac 2 6-6-5 Lac 5	

*Für weitere Untersuchungen ausgewählte Isolate in Fettdruck dargestellt.

2.3 Antibiotikaresistenz

In Tabelle 27 sind die Ergebnisse der Untersuchung auf Antibiotikaresistenzen zusammenfassend dargestellt. Für die 18 oben aufgeführten Isolate und den Referenzstamm *L. reuteri* DSM 20016 wurden die MHK-Werte für Amoxicillin, Clindamycin, Doxycyclin (stellvertretend für Tetracyclin), Erythromycin, Gentamicin, Kanamycin und Vancomycin bestimmt. Alle Isolate wiesen eine Resistenz gegenüber Vancomycin auf. Da die Resistenz gegenüber Vancomycin für heterofermentative Laktobazillen als intrinsisch angesehen wird (Tynkkynen et al., 1998; Klein et al., 2000), stellt dies jedoch laut EFSA (2012a) kein Ausschlusskriterium dar. Wiesen Isolate zusätzliche Resistenzen auf, wurden sie von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen. Von 4 verbleibenden Isolaten wurden anschließend die MHK-Werte für Ampicillin und Chloramphenicol bestimmt. Davon wies kein Isolat eine Resistenz gegenüber Chloramphenicol auf, jedoch zeigten sich nur 2 Isolate (6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1) sensibel gegenüber Ampicillin. Da diese ebenfalls keine Resistenz gegenüber Streptomycin aufwiesen, wurden sie für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

Tabelle 27: MHK-Werte ausgewählter *L.-reuteri*-Isolate (n = 19)

Wirkstoff	Breakpoint [mg/L] (Quelle)	Anzahl Isolate	MHK [mg/L]											
			<0,06	0,13	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Amoxicillin ^a	8 (EUCAST)	19				2	1	4	3	2	7			
Ampicillin	2 (FEEDAP)	4					1	1	1	1				
Chloramphenicol	4 (FEEDAP)	4						2	2					
Clindamycin	1 (FEEDAP)	19	9	2	1	1	2				4			
Doxycyclin	16 (FEEDAP)	19						2	5	5	3	4		
Erythromycin	1 (FEEDAP)	19			1	9	6	3						
Gentamicin	8 (FEEDAP)	19					3	10	2	2	1	1		
Kanamycin	64 (FEEDAP)	19									2	11	6	
Streptomycin	64 (FEEDAP)	2							1	1				
Vancomycin	2 ^b (FEEDAP)	19												19

Untersuchter Konzentrationsbereich grau hinterlegt. Resistente Isolate durch Fettdruck hervorgehoben.

^a mit Clavulansäure [2 mg/L]

^b Breakpoint für homofermentative Laktobazillen. Für *L. reuteri* Untersuchung nicht erforderlich.

2.4 MTT-Test

Der Effekt der Kulturüberstände ausgewählter Laktobazillen auf die Enzymaktivität von Verozellen wurde mit Hilfe des MTT-Tests evaluiert. Für den Fall, dass das Wachstumsmedium (MRS-Bouillon) per se zytotoxische

Eigenschaften aufweist, wurde auch der Einfluss des Wachstumsmediums auf die MTT-Spaltungsaktivität bestimmt.

Für den ersten Versuch wurden dafür die Überstände der Testkeime mittels NaOH auf den pH-Wert der MRS-Bouillon (6,5) eingestellt. In unverdünntem Zustand (100 % v/v) liegen die Spaltungsaktivitäten aller Testsubstanzen unterhalb von 20 % (Abbildung 42). Der IC_{50} -Wert des Überstandes von 11-8-5 Lac 1 liegt bei 50 % (Verdünnung 1:2), die IC_{50} -Werte des Überstandes von 6-15-5 Lac 2 und der MRS-Bouillon liegen bei 25 % (Verdünnung 1:4). Die MRS-Bouillon weist bei allen Verdünnungsstufen eine MTT-Spaltungsaktivität unterhalb derjenigen der Überstände auf.

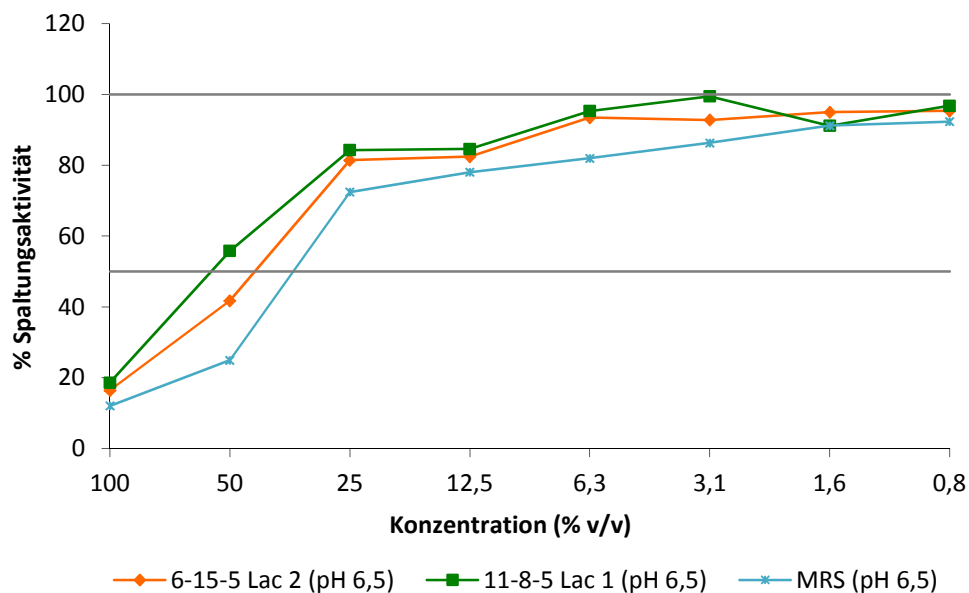


Abbildung 42: Einfluss von Kulturüberständen der *L.-reuteri*-Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 auf die MTT-Spaltungsaktivität von Verozellen (pH-Wert: 6,5; entspricht dem des MRS-Mediums)

Für den zweiten Versuch wurden die pH-Werte der Überstände gemessen und anschließend die MRS-Bouillon mittels Milchsäure auf den entsprechenden pH-Wert (4,3) eingestellt. Die MTT-Spaltungsaktivität liegt bei den ersten drei Verdünnungsstufen (Konzentrationen: 100 %, 50 %, 25 % v/v) unterhalb von 20 %. Der IC_{50} -Wert aller Testsubstanzen liegt bei 12,5 % v/v. Ab einer Konzentration von 6,3 % (Verdünnung 1:8) war die Spaltungsaktivität der Testsubstanzen vergleichbar mit derjenigen aus dem ersten Versuch. Die

Spaltungsaktivitäten der Überstände zeigen sowohl untereinander, als auch im Vergleich zu der mit Milchsäure adjustierten MRS-Bouillon kaum Unterschiede.

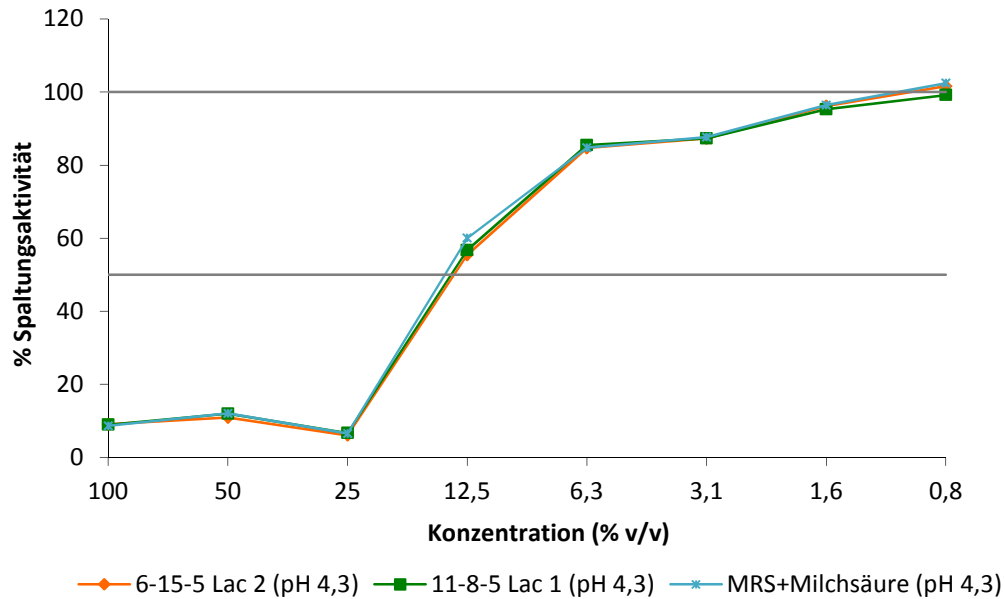


Abbildung 43: Einfluss von Kulturüberständen der *L.-reuteri*-Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 auf die MTT-Spaltungsaktivität von Verozellen (pH-Wert: 4,3; pH-Wert des MRS-Mediums entsprechend dem der Kulturüberstände korrigiert)

2.5 pH- und Gallesalzstabilität

Aufgrund ihres Antibiotikaresistenz-Verhaltens, welches die von EFSA (2012a) vorgegebenen Normen erfüllte, wurden die *L.-reuteri*-Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 für die Überprüfung der pH- und Gallesalzstabilität ausgewählt.

Die Untersuchung von Isolat 6-15-5 Lac 2 ergab das in Abbildung 44 dargestellte Ergebnis: Die Ausgangswerte liegen bei allen fünf untersuchten Lösungen mit Werten zwischen $2,5 \cdot 10^8$ KBE/ml und $4,3 \cdot 10^8$ KBE/ml relativ dicht beieinander. Über den Beobachtungszeitraum von 4 h erwies sich das Isolat äußerst stabil gegenüber Gallensalzextrakt. In beiden getesteten Konzentrationen konnte eine leichte Erhöhung der Zellzahl von $3,2 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $4,5 \cdot 10^8$ KBE/ml (0,5 % Gallensalzextrakt) bzw. von $3,1 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $5,5 \cdot 10^8$ KBE/ml (1,5 % Gallensalzextrakt) festgestellt werden. Auch gegenüber einem pH-Wert von 3 zeigte sich das Isolat relativ stabil. Nach 4 h konnte lediglich ein leichter Abfall der Zellzahl von $2,5 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $9,3 \cdot 10^7$ KBE/ml verzeichnet werden. Wurde das Isolat hingegen einem pH-Wert von 2 ausgesetzt,

fiel die Zellzahl kontinuierlich binnen 4 h von $4,3 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $4,7 \cdot 10^5$ KBE/ml ab.

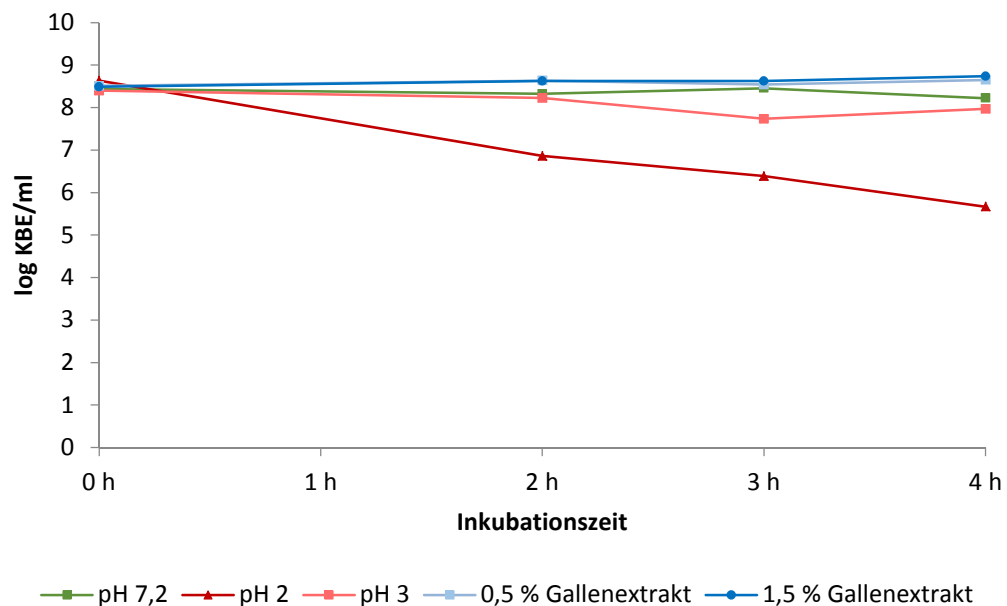


Abbildung 44: pH- und Gallensalzstabilität von *L.-reuteri*-Isolat 6-15-5 Lac 2

Auch das Isolat 11-8-5 Lac 1 erwies sich als relativ stabil gegenüber 0,5 % Gallensalzextrakt. 1,5 % Gallensalzextrakt führte zu einer geringen Reduzierung der Zellzahl von $1,6 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $6,5 \cdot 10^7$ KBE/ml. Bei einem pH-Wert von 3 kam es innerhalb des Beobachtungszeitraumes sogar zu einem leichten Anstieg von $4,1 \cdot 10^7$ KBE/ml auf $7,1 \cdot 10^7$ KBE/ml. 11-8-5 Lac 1 reagierte jedoch noch deutlich empfindlicher als 6-15-5 Lac 2 auf einen pH-Wert von 2. Während innerhalb der ersten 2 h nur ein relativ geringer Abfall der Zellzahl von $1,1 \cdot 10^8$ KBE/ml auf $3,0 \cdot 10^7$ KBE/ml feststellbar war, sank die Zellzahl nach 4-stündiger Inkubation auf einen Wert von $1 \cdot 10^2$ KBE/ml ab (Abbildung 45).

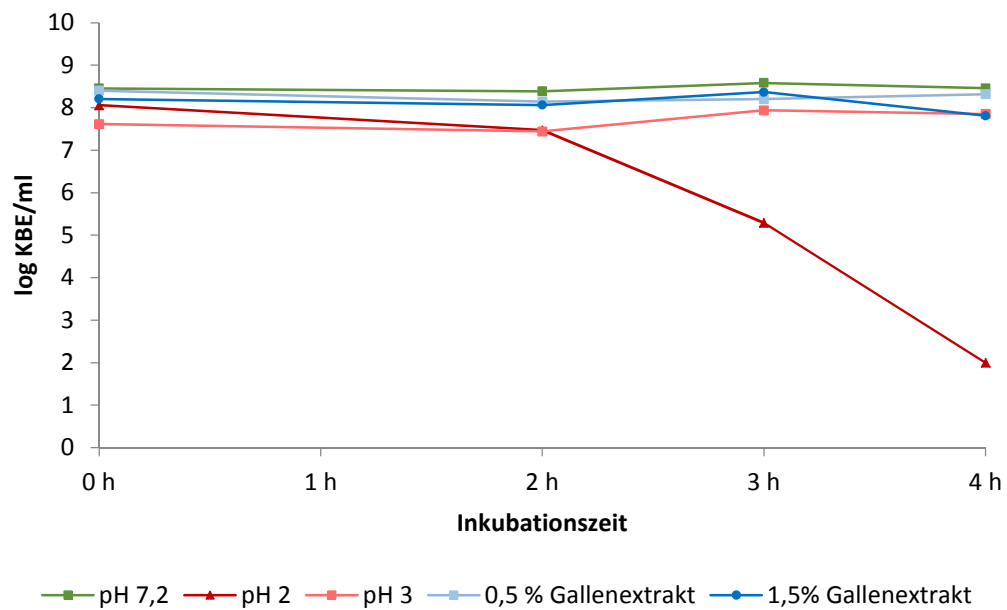


Abbildung 45: pH- und Gallensalzstabilität von *L.-reuteri*-Isolat 11-8-5 Lac 1

2.6 Antimikrobielle Aktivität gegen Pathogene

Die Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität gegen häufig vorkommende Darmpathogene beim Kalb ergab für beide getestete *L.-reuteri*-Isolate einen leichten Inhibitionseffekt auf das Wachstum von Pathogenen. Die in Tabelle 28 aufgeführten Inhibitionszonen spiegeln ein stark gehemmtes, jedoch nicht vollständig unterdrücktes Wachstum der Pathogene wider. Lediglich der unveränderte Überstand (pH-Wert: 4,4) führte zu dieser Inhibition des Wachstums. Der auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellte Überstand erzeugte keinen Effekt, ebenso wenig wie die auf den pH-Wert 4,4 eingestellte MRS-Bouillon. Eine Zugabe von Glycerol führte zu keiner Steigerung der antimikrobiellen Wirkung.

Tabelle 28: Ergebnisse der Untersuchung zur antimikrobiellen Aktivität

Getestetes Pathogen	MRS-Bouillon (pH 6,5)	MRS-Bouillon (pH 4,4)	6-15-5 Lac 2 Überstand (pH 4,4)		6-15-5 Lac 2 Überstand (pH 6,5)		11-8-5 Lac 1 Überstand (pH 4,4)		11-8-5 Lac 1 Überstand (pH 6,5)	
<i>Escherichia coli</i>										
MRS-Bouillon	0*	0	3	3	0	0	4	4	0	0
MRS-Glycerol-Bouillon	0	0	4	4	0	0	2	2	0	0
<i>Salmonella</i> Typhimurium										
MRS-Bouillon	0	0	4	3	0	0	2	2	0	0
MRS-Glycerol-Bouillon	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0
<i>Clostridium perfringens</i>										
MRS-Bouillon	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
MRS-Glycerol-Bouillon	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0

* Inhibitionszone in mm

2.7 Sequenzierung

Die beiden Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 wurden für die Sequenzierung ausgewählt. Dafür wurde für die Isolate sowohl eine speziesspezifische PCR mit einem Produkt von ca. 1000 bp, als auch eine 16S rRNA-PCR mit Universalprimern mit einem Produkt von ca. 400 bp durchgeführt. Als Positivkontrolle diente *L. reuteri* DSM 20016. Im Agarosegel wurde die korrekte Position der Banden überprüft (Abbildung 46).

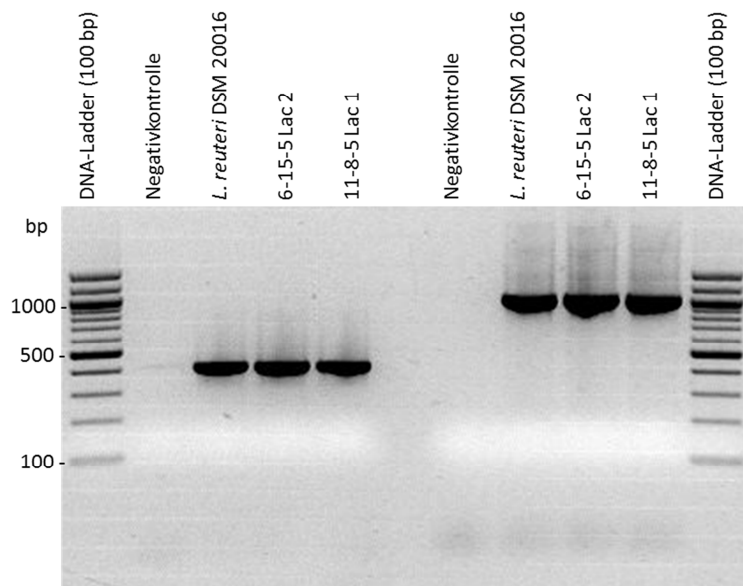


Abbildung 46: Visualisierung der PCR-Produkte aus 16S rRNA-PCR mit Universalprimern (links) und speziesspezifischer PCR (rechts)

Die von Sequiserve ermittelten Nukleotidsequenzen (Tabelle 48, Anhang) wurden anschließend mit Hilfe des BLAST Algorithmus mit Sequenzen der GenBank verglichen. Alle PCR-Produkte (Sequenzlänge 409 bzw. 999 Basen) lieferten eine 99 %ige Übereinstimmung mit der Spezies *Lactobacillus reuteri*.

3 3. Teil: In vivo Untersuchungen zur prophylaktischen Wirksamkeit der entwickelten Laktobazillensuspension

3.1 Auswirkungen auf das Durchfallgeschehen

Insgesamt wurden 170 Kälber von 10 Betrieben (17 Kälber pro Betrieb) in die Versuchsdurchführung eingeschlossen. Die applizierte Menge des Diarrhoe-Prophylaktikums entsprach einer Konzentration von $6 - 8 \cdot 10^8$ KBE/ml. Von den insgesamt 170 getesteten Kälbern zeigten 4 bereits 24 h nach der Geburt, noch vor Verabreichung der Laktobazillensuspension bzw. des Placebos, Durchfall. Sie wurden daher von der nachfolgenden statistischen Auswertung ausgeschlossen. Somit wurden für die Auswertung Daten von 166 Kälbern, davon 83 Versuchskälber und 83 Kontrollkälber, berücksichtigt.

3.1.1 Trockenmasse der Kotproben

Bei der Analyse der Trockenmassegehalte der Kotproben ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen der subjektiven Beurteilung der Kotkonsistenz und dem Ergebnis der Analyse. Als Durchfallprobe wurden in Anlehnung an Bellosa et al. (2011) alle Proben mit einem Trockenmassegehalt von 16,3 % und weniger gewertet. Insgesamt wurde von 465 Kotproben die Trockenmasse bestimmt. Davon lagen 62 Proben bei einem Trockenmassegehalt von 16,3 % und weniger. Der höchste mittlere Trockenmassegehalt ergab sich für die 48-h-Probe der Kontrollgruppe mit 32,1 % (n = 80). Die Versuchsgruppe zeigte hier einen mittleren Trockenmassegehalt von 30,4 % (n = 79). Während der mittlere Trockenmassegehalt in der 3-d-Probe der Kontrollgruppe auf 30,9 % (n = 78) absank, stieg der Gehalt der Versuchsgruppe auf 31,5 % (n = 74) an. In der 7-d-Probe fielen die Werte beider Gruppen stark ab. Für die Kontrollgruppe ergab sich ein mittlerer Trockenmassegehalt von 21,5 % (n = 75), für die Versuchsgruppe ein Gehalt von durchschnittlich 22,9 % (n = 79). Der Vergleich der Trockenmassegehalte beider Gruppen ergab laut Mann-Whitney-U-Test zu keinem Probenahmezeitpunkt einen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$).

3.1.2 Durchfallinzidenz

Während die Kontrollgruppe eine Durchfallinzidenz von 42,2 % in der ersten Lebenswoche aufwies, ergab sich für die Versuchsgruppe eine Inzidenz von lediglich 27,7 %. Dies entspricht einer signifikanten Reduktion des

Durchfallrisikos in der ersten Lebenswoche um knapp 35 % (Relatives Risiko: 0,648 [95 % Konfidenzintervall: 0,427 – 0,984]; $p = 0,037$). In der zweiten Lebenswoche ergab sich für beide Gruppen eine deutlich niedrigere Durchfallinzidenz von 10,8 % für die Kontrollgruppe und 9,6 % für die Versuchsgruppe. In der zweiten Lebenswoche konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden ($p = 0,442$; Abbildung 47).

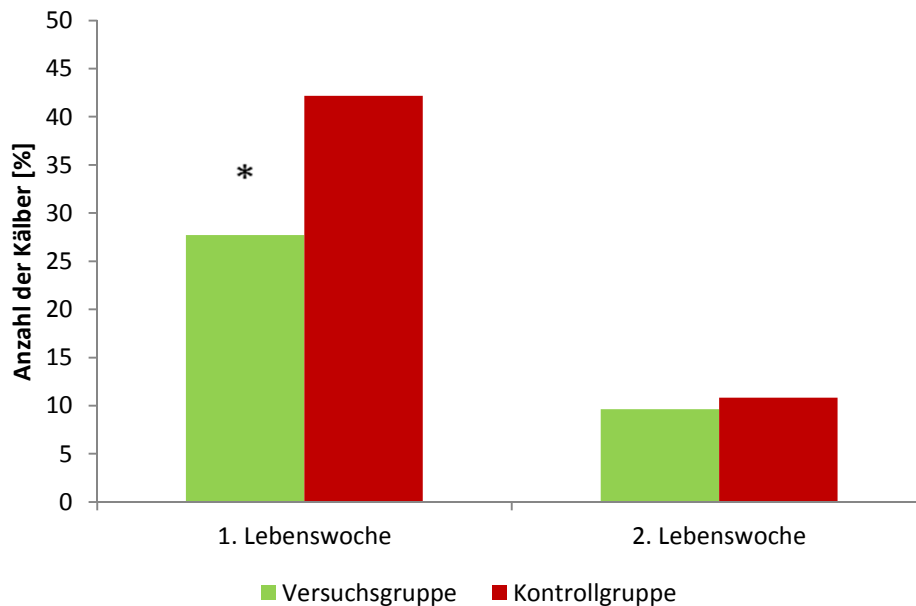


Abbildung 47: Durchfallinzidenz der Versuchs- und Kontrollgruppe.
 * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; $p < 0,05$)

Bei genauerer Betrachtung der Durchfallinzidenz innerhalb der ersten Lebenswoche fällt auf, dass zwei und fünf Tage nach der Geburt die Durchfallinzidenz der Versuchsgruppe über derjenigen der Kontrollgruppe lag, während an den Tagen 3, 4, 6 und 7 die Kontrollgruppe eine höhere Inzidenz aufweist (Abbildung 48). Der auffälligste Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zeigte sich an Tag 7 nach der Geburt (10,8 % [$n = 9$] vs. 4,8 % [$n = 4$]). Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind jedoch an keinem der Tage signifikant ($p > 0,05$).

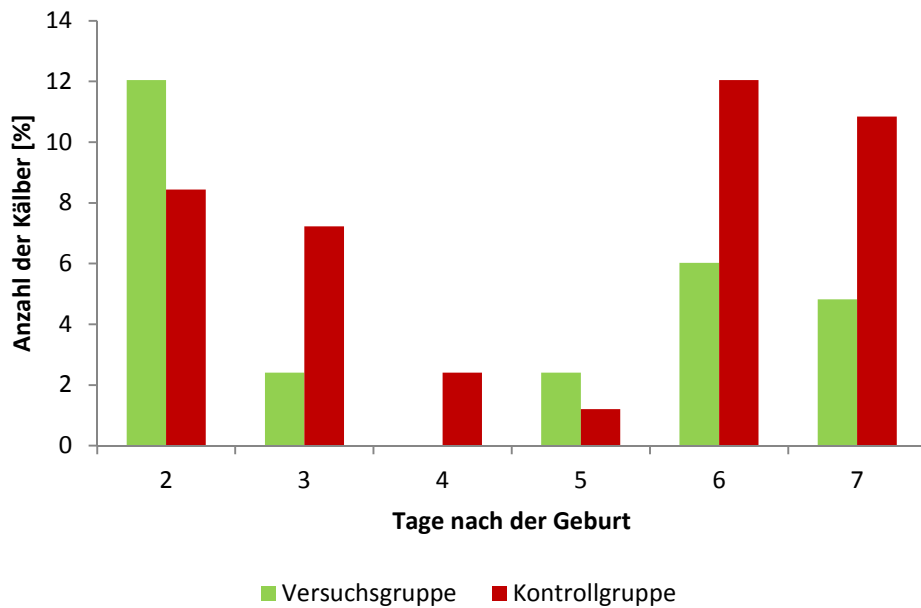


Abbildung 48: Durchfallinzidenz der Versuchs- und Kontrollgruppe innerhalb der 1. Lebenswoche

3.1.3 Nachweis von Enteropathogenen in Durchfallproben

Wurden die Durchfallproben der Versuchs- und Kontrollgruppe hinsichtlich der mittels ELISA detektierten Pathogene miteinander verglichen, so fiel in der Versuchsgruppe eine signifikante Reduktion der Durchfälle mit Rotavirusbeteiligung von 12,0 % auf 3,6 % auf (Relatives Risiko: 0,267 [95 % Konfidenzintervall: 0,078 – 0,916]; $p = 0,021$). Auch im Falle der nachgewiesenen Cryptosporidien konnte eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Reduktion von 18,1 % auf 10,8 % verzeichnet werden ($p = 0,086$). Lediglich unspezifische Durchfälle, bei denen keine Erreger nachweisbar waren, ließen sich mit der Laktobazillensuspension nur minimal beeinflussen (18,1 % vs. 15,7%; $p = 0,319$; Abbildung 49). Ein Kalb der Versuchsgruppe verstarb am 12. Lebenstag aufgrund einer Durchfallerkrankung. In der am 3. Lebenstag des Kalbes gewonnenen Kotprobe konnten mittels ELISA keine Enteropathogene nachgewiesen werden.

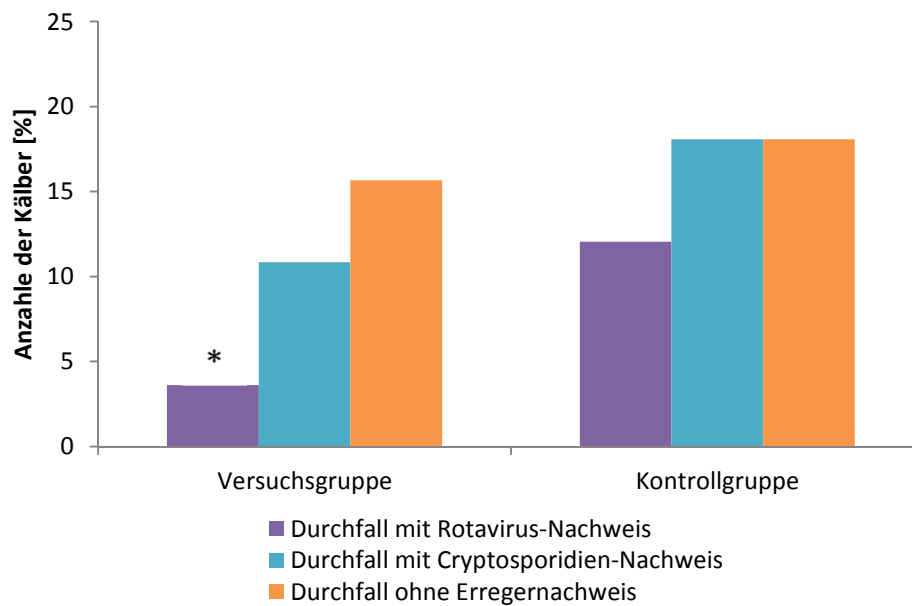


Abbildung 49: Erregernachweis mittels ELISA in Durchfallproben der Versuchs- und Kontrollgruppe. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; $p < 0,05$)

3.2 Auswirkungen auf die Keimzahlen

Die Versuchs- und Kontrollgruppe unterschieden sich hinsichtlich der anaeroben GKZ und der Zahl der Enterobakterien nur geringfügig. Die mittleren Enterokokkenzahlen waren hingegen in der Kontrollgruppe an Tag 3 und 7 nach der Geburt etwas höher als in der Versuchsgruppe. Der Unterschied zwischen den Gruppen war jedoch nicht signifikant (laut Mann-Whitney-U-Test; $p > 0,05$). Im Gegensatz dazu waren in der Versuchsgruppe die mittleren Laktobazillenzahlen nach Verabreichung der Laktobazillensuspension (nach 24 h) gegenüber der Kontrollgruppe leicht erhöht. Auch hier ließ sich jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied feststellen (laut t-Test und Mann-Whitney-U-Test; $p > 0,05$; Abbildung 50).

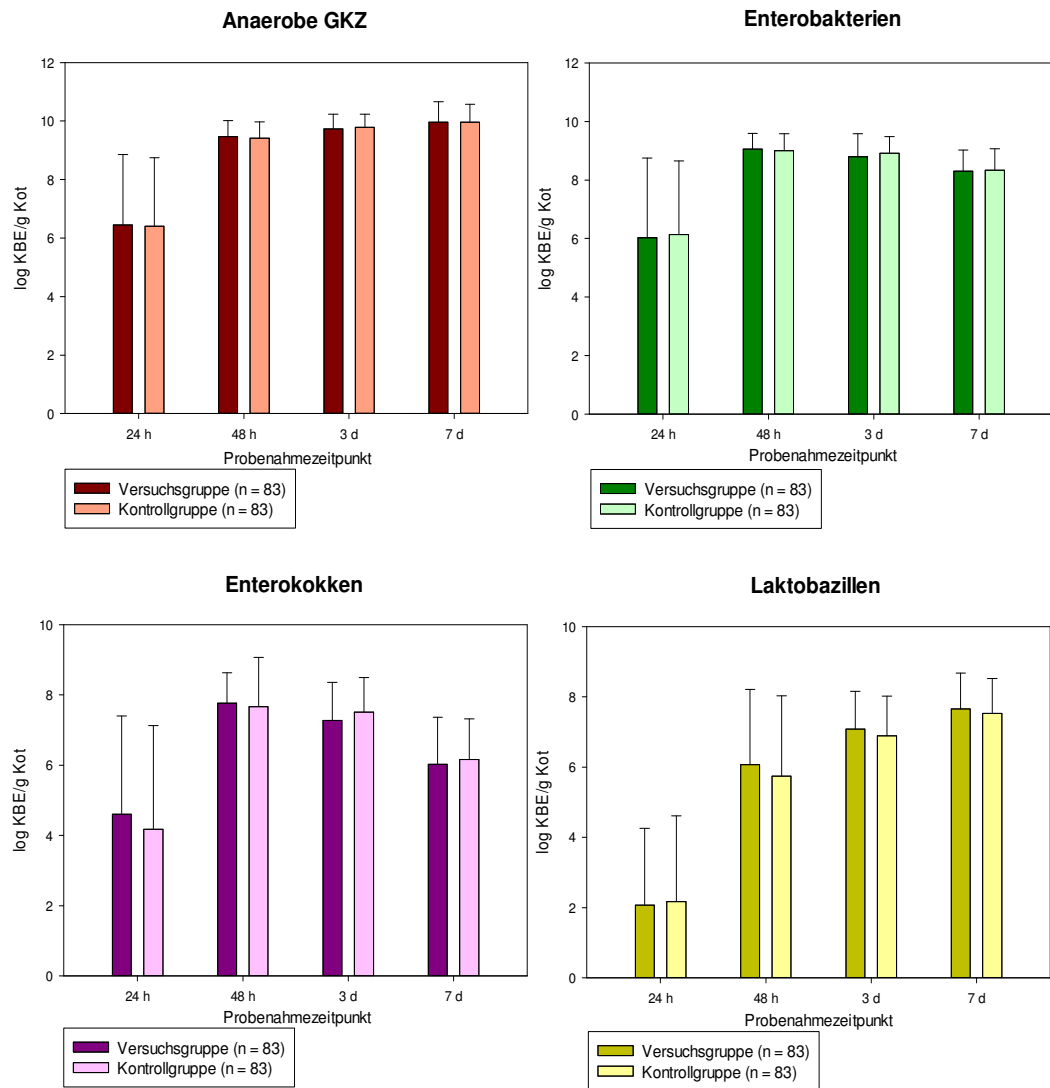


Abbildung 50: Keimgehalte in Faecesproben von Kälbern der Versuchs- und Kontrollgruppe im Vergleich

V DISKUSSION

1 Methodendiskussion

1.1 Untersuchungsmaterial

Die für die Analyse der Keimzahlen und die Beurteilung der Kotkonsistenz verwendeten Faecesproben wurden nach vorheriger Reinigung und Desinfektion der Analregion direkt aus dem Rektum des Kalbes entnommen. Kontaminationen des Probenmaterials wurden somit weitgehend vermieden. Dennoch kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass trotz sorgfältiger Probenentnahme Keime der Haut bzw. aus der unmittelbaren Umgebung des Kalbes in die Probe gelangten. Insbesondere zum Zeitpunkt der Geburt kommt das Kalb häufig mit Kot des Muttertieres in Berührung und liegt bei der Probennahme oftmals noch in der Einstreu, wodurch sich die Möglichkeit einer Kontamination des Probenmaterials erhöht.

Als Untersuchungsmaterial wurden Faeces gewählt. Diese sind leicht und weitgehend ohne Beeinträchtigung der Tiere zu gewinnen. Faecesproben spiegeln allerdings nur die Zusammensetzung der Mikrobiota des distalen Dickdarmbereichs wider, können jedoch keine Aufschlüsse über die Diversität der Bakterienflora proximaler Darmabschnitte geben, da es zwischen den einzelnen Darmabschnitten erhebliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterien gibt (Holzapfel et al., 1998; Marteau et al., 2001a; Zoetendal et al., 2002; Collado und Sanz, 2007; Malmuthuge et al., 2012; Malmuthuge et al., 2014). Klein et al. (2004) konnten jedoch bei Kälbern eine weitgehende Übereinstimmung der Keimgehalte von Caecum, Colon und Faeces feststellen. Sie halten bei Kälbern eine Untersuchung von Faeces daher für die Darstellung der Dickdarmflora für aussagekräftig (Klein et al., 2004). Eine weitere Einschränkung bei der alleinigen Kotuntersuchung ergibt sich daraus, dass sich die Bakteriengehalte von Darmmukosa und Darminhalt unterscheiden. Diese Unterschiede treten jedoch erst bei älteren Kälbern zu Tage, während sie bei Kälbern im Alter von drei Wochen noch nicht zu finden sind (Malmuthuge et al., 2012).

1.2 Tierzahlen

Die untersuchte Kälberanzahl ist mit 150 Tieren im 1. Teil und 170 Tieren im 3. Teil der Arbeit im Vergleich zu anderen Untersuchungen auf diesem Themengebiet als sehr hoch einzustufen. Bei der Analyse der Keimzahlentwicklung fallen jedoch, insbesondere bei den ersten drei Probenahmezeitpunkten (0 h, 6 h, 12 h), teilweise hohe Standardabweichungen auf. In diesem ersten Zeitraum, in dem sich die Entwicklung der Keimzahlen der einzelnen Kälber noch sehr stark voneinander unterscheidet, könnten daher Unterschiede zwischen den Gruppen aufgrund der starken Streuung der Ergebnisse nicht erkannt worden sein. Die Untersuchung weiterer Kälber war jedoch aus Gründen des Arbeitsumfangs nicht möglich.

1.3 Durchfallinzidenz

Für die Evaluierung verschiedener Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz flossen sowohl Daten aus einem Fragebogen als auch Ergebnisse eigener Untersuchungen in die Auswertung mit ein. Die Daten aus den Fragebögen sind abhängig von der Gewissenhaftigkeit des betreffenden Landwirts und somit nicht mit absoluter Sicherheit in allen Fällen richtig. Auch sind einige Beurteilungen subjektiv, wie beispielsweise die Einschätzung des Geburtsgewichts oder die Beurteilung von Durchfall. Um hier möglichst einheitliche Bewertungskriterien zu erreichen, wurde den Landwirten vor Versuchsbeginn das Beurteilungsverfahren erläutert. Dennoch wurden häufiger Kälber, welche in der eigenen Untersuchung als Durchfallkalb eingestuft wurden, vom Landwirt nicht als solches vermerkt. Da nicht jeden Tag der Kot der Kälber untersucht wurde, könnten Durchfallerkrankungen, welche außerhalb des Beprobungszeitraumes (zwischen Tag 4 - 6 nach der Geburt und in der 2. Lebenswoche) auftraten, übersehen worden sein und die Durchfallinzidenz somit tatsächlich höher liegen.

Auch die Beurteilung der Kotproben durch die Untersucherin anhand der Kotkonsistenz (Tabelle 10) unterliegt einer subjektiven Bewertung. Im 3. Teil der vorliegenden Arbeit wurde daher noch zusätzlich die Trockenmasse der Proben bestimmt und nach Bellosa et al. (2011) eingeteilt. Es stellte sich heraus, dass die Ergebnisse beider Beurteilungsmethoden in 97 % der Fälle übereinstimmten und somit auch im 1. Teil des Versuches eine weitestgehend einheitliche Beurteilung angenommen werden kann.

1.4 Kulturelle Keimzahlanalyse

Die Entwicklung der intestinalen Keimzahlen wurde mittels kultureller Methoden evaluiert. Die kulturelle Anzucht bietet den Vorteil, dass die Bakterien in lebender Form vorliegen und ihre entsprechenden Eigenschaften, z. B. Resistenzen gegenüber Antibiotika, direkt geprüft werden können. Insbesondere für die vorliegende Studie, bei der Bakterien ausgewählt werden sollten, die sich als geeignet für den Einsatz als Diarrhoe-Prophylaktikum erweisen, war die Isolierung lebender, kultivierbarer Bakterienspezies ein entscheidendes Kriterium für die Wahl der Methode. Der Vergleich von kulturellen mit molekularbiologischen Verfahren zeigt jedoch den Nachteil auf, dass mittels Kultur mehr als 50 % der Darmbakterien nicht detektierbar sind (Suau et al., 1999; Zoetendal und Mackie, 2005). Umso wichtiger ist daher die sorgfältige Auswahl geeigneter Nährmedien zur Anzucht verschiedener Bakterienspezies. Die Analyse der aeroben und anaeroben GKZ erfolgte auf nicht selektiven Nährmedien (Blut- bzw. Schaedler-Agar), wohingegen die Zahl der Enterobakterien, Enterokokken und Laktobazillen mit Hilfe selektiver Nährböden bestimmt wurde (Gassner-, CATC- und LAMVAB-Agar). Blut-Agar eignet sich für die Anzucht anspruchsvoller Keime und ermöglicht durch den Zusatz von Schafblut eine Beurteilung des Hämolyseverhaltens subkultivierter Bakterien (Messelhäußer, 2010). Neben der Bestimmung der aeroben GKZ, diente der Blut-Agar auch zur Subkultivierung von Enterokokken. Für die Anzucht anaerober Keime wurde Schaedler-Agar verwendet. Zu beachten ist jedoch, dass darauf bei anaerober Bebrütung auch fakultative Anaerobier wachsen, weshalb bei der Untersuchung auf Clostridien zusätzlich eine aerobe Bebrütung des Isolates auf Blut-Agar erfolgte (Hammann, 2009). Der selektive Gassner-Agar unterdrückt mit Hilfe von Metachromgelb das Wachstum grampositiver Bakterien und ermöglicht durch Zugabe des Indikators Wasserblau die Unterscheidung von Enterobacteriaceae in laktosepositiv (z. B. *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.) und laktosenegativ (*Salmonella* spp., *Proteus* spp.) (Selbitz, 2007). Für den Nachweis der Enterokokken wurde Citrat-Azid-Tween-Carbonat-Agar eingesetzt. Während Enterokokken durch Bildung von Formazan als rote Kolonien in Erscheinung treten, bleibt die Begleitflora (z. B. Streptokokken) farblos und bildet nur sehr kleine Kolonien. Mit Hilfe des CATC-Agars lassen sich Kolonien von *Ent. faecalis* und *Ent. faecium* bereits morphologisch gut voneinander unterscheiden (Reuter, 1992). Zur Verifizierung wurde das

Zuckerstoffwechselverhalten der einzelnen Isolate überprüft (Bejuk et al., 2000). Die Isolierung der Laktobazillen erfolgte mit dem Vancomycin-haltigen LAMVAB-Agar nach Hartemink et al. (1997). Dieser hochselektive Agar unterdrückt aufgrund des niedrigen pH-Werts und durch Zugabe von Vancomycin weitgehend die Konkurrenzflora, birgt jedoch die Gefahr, dass Vancomycin-sensible Laktobazillen (z. B. *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*) nicht erfasst werden (Hamilton-Miller und Shah, 1998). Dennoch wurde bewusst dieses Nährmedium gewählt, da die Verwendung eines weniger selektiven Agars, wie beispielsweise des MRS-Agars nach de Man et al. (1960), aufgrund des Wachstums anderer Bakteriengattungen (z. B. Enterokokken) zu einer verzerrten Darstellung der Laktobazillenzahlen führen würde (Hartemink und Rombouts, 1999). In der vorliegenden Arbeit konnte allerdings auch auf LAMVAB-Agar vereinzelt das Wachstum von Hefen und grampositiven Kokken festgestellt werden.

Trotz des Einsatzes selektiver Nährböden, wird aufgrund unzureichender anaerober Kultivierungsmethoden und Unkenntnis genauer Nährstoffansprüche die Mehrzahl der Darmbakterien mittels kultureller Methoden nicht detektiert (Maccaferri et al., 2011). Der Einsatz molekularbiologischer Technologien zur Evaluierung des Mikrobioms erlangt daher einen immer größeren Stellenwert. Dabei werden insbesondere Techniken angewendet, die auf der Extraktion und anschließenden Analyse der 16S rRNA basieren. Mit Hilfe sog. Fingerprint-Verfahren, wie beispielsweise T-RFLP (Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism) oder PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), kann die Diversität komplexer Bakteriengemeinschaften erfasst werden. Beim Vergleich von Kultur und T-RFLP ergeben sich jedoch auch Einschränkungen. Zwar konnten in einer Untersuchung zur Diversität der Darmbakterien von Kindern mittels T-RFLP über doppelt so viele verschiedene Taxa nachgewiesen werden, hierunter insbesondere strikte Anaerobier, jedoch zeigte sich die Kultur sensitiver bei der Identifizierung bestimmter Bakteriengattungen, z. B. Bifidobakterien, und bei der Detektion von Bakterien, die nur in geringen Keimzahlen vertreten waren (Sjöberg et al., 2013). Auch kann mit Hilfe dieser Methoden lediglich eine semiquantitative bzw. vergleichende Bestimmung des Vorkommens verschiedener Bakteriengattungen erfolgen (Maccaferri et al., 2011). Im Gegensatz dazu können molekularbiologische Analyseverfahren, bei denen auch quantitative Aussagen

getroffen werden können, wie beispielsweise Real-time PCR und FISH (Fluorescence in Situ Hybridization), lediglich bekannte Bakterienspezies detektieren. Eine neue Technologie, welche die Vorteile verschiedener molekularbiologischer Methoden vereint, also sowohl eine quantitative als auch eine qualitative Evaluierung der mikrobiellen Gemeinschaft ermöglicht, stellt das Next-Generation Sequencing (NGS) dar (Maccaferri et al., 2011). Eine ergänzende Untersuchung der gewonnenen Kälberfaeces mit Hilfe von modernen molekularbiologischen Verfahren könnte sicherlich noch weitaus mehr Informationen über die Biodiversität des Mikrobioms neugeborener Kälber liefern. Insbesondere der Vergleich von gesunden und kranken Individuen könnte möglicherweise noch weitere Unterschiede in der bakteriellen Zusammensetzung aufzeigen. Dies gelang bereits bei einigen Erkrankungen des Menschen, wie beispielsweise bei Diabetes oder IBD (Inflammatory Bowel Disease) (Larsen et al., 2010; Kinross et al., 2011).

Mit Hilfe von kulturellen Methoden konnten in der vorliegenden Arbeit die Keimzahlen der Enterobacteriaceae, Enterokokken, Laktobazillen und Clostridien evaluiert werden. Weiterführende Speziesuntersuchungen wurden für *E. coli*, *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* mit Hilfe biochemischer Verfahren durchgeführt. Laktobazillen wurden mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie auf Speziesebene identifiziert.

Die Auswahl der subkultivierten und weiter differenzierten Isolate beruhte auf morphologischen Unterschieden, biochemischen Reaktionen und Gramfärbung. Eine Identifikation von Laktobazillen allein anhand der Koloniemorphologie ist nicht möglich, jedoch kann hiermit bereits ein Überblick über die Diversität der in einer Probe vorhandenen Laktobazillen gewonnen werden, die anschließend mit Hilfe anderer Methoden identifiziert werden können (Herbel et al., 2013). Die Identifizierung von Laktobazillen auf Grundlage biochemischer Eigenschaften, beispielsweise mittels API 50 CHL (Biomérieux), kann erste Hinweise auf die vorliegende Spezies geben, sollte jedoch aufgrund der hohen biochemischen Variabilität von Laktobazillen nicht als alleinige Identifizierungsmethode verwendet werden (Herbel et al., 2013; Bujnakova et al., 2014). Als Identifizierungsmethode wurde daher in der vorliegenden Untersuchung die MALDI-TOF-Massenspektrometrie gewählt. Diese Methode vereint eine hohe Reproduzierbarkeit und hohe Identifizierungsraten mit relativ niedrigen Kosten

für Verbrauchsmaterialien und wenig Zeitaufwand (Sauer und Kliem, 2010). Die Bakteriendiagnostik mittels MALDI-TOF-MS beruht auf der Analyse ribosomaler Proteine im Messbereich von 2 - 12 kDa, der besonders stabile und aussagekräftige Spektren aufweist (Schubert und Wieser, 2010). Die gewonnenen Spektren werden anschließend softwarebasiert mit bereits bekannten Spezies in der Datenbank verglichen. Jedoch können verschiedene Anzuchtbedingungen oder Extraktionsmethoden bei einer Spezies zu unterschiedlichen Spektren führen, weshalb eine standardisierte Vorbereitung der Proben für eine korrekte Identifizierung unerlässlich ist (Sauer und Kliem, 2010; Carbonnelle et al., 2011). Falsche oder nicht mögliche Identifizierungen von Proben lassen sich zumeist auf unzureichende Datenbank-Einträge zurückführen (Wieser et al., 2012; Bujnakova et al., 2014). Zwar besteht die Möglichkeit, die Datenbank selbst mit Spektren neuer Spezies zu ergänzen, jedoch sind hierfür parallel durchzuführende Genanalysen erforderlich. Eine Einschränkung ergibt sich jedoch bei der Identifizierung nahe verwandter Spezies wie beispielsweise *L. casei* und *L. paracasei*, die mittels MALDI-TOF-MS nur schwer unterschieden werden können (Angelakis et al., 2011; Sato et al., 2012). Für die Differenzierung nahe verwandter Spezies empfehlen sich daher andere Methoden wie z. B. die 16S rRNA Sequenzierung (Herbel et al., 2013).

1.5 Auswahl der Kandidatenkeime für ein Substitutionsprophylaktikum

Untersuchungen zeigen deutliche stammspezifische Unterschiede bei den probiotischen Eigenschaften verschiedener *Lactobacillus*-Spezies (Gilliland et al., 1980; Gilliland et al., 1984; Ramos et al., 2013). In der Annahme, dass sich bei gesunden Kälbern häufig vorkommende Stämme als besonders gut angepasst an den Intestinaltrakt neugeborener Kälber erweisen, wurden ausgewählte *L.-reuteri*-Isolate zunächst mittels RAPD-PCR in unterschiedliche Profile eingeteilt und anschließend die 3 häufigsten Stämme von *L. reuteri* für die weiteren Untersuchungen selektiert. Die RAPD-PCR stellt eine relativ günstige und schnelle Analysemethode dar, die es ermöglicht, zwischen Stämmen der gleichen Bakterienspezies zu unterscheiden (Ivanova et al., 2014). Mittels kurzen, unspezifischen Primern, die an mehreren Stellen der DNA binden können, werden typische Bandenmuster erzeugt, mit deren Hilfe Bakterienstämme differenziert werden können (Williams et al., 1990; Reineke, 2004). Ein großer Vorteil hierbei

ist, dass es auch ohne vorherige Kenntnis spezifischer Sequenzen möglich ist, Bakterien zu charakterisieren (Herbel et al., 2013). Beim Vergleich von RAPD und PFGE (Pulse-Field-Gel-Electrophoresis) ergeben sich jedoch leichte Nachteile für RAPD. Beispielsweise zeigte sich für RAPD eine geringere Differenzierungsrate und eine schlechtere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (Herbel et al., 2013). Auch die FAO/WHO (2002) sieht die PFGE-Methode als Goldstandard bei der Stammdifferenzierung von Laktobazillen für den Einsatz in Nahrungsmitteln an, hält jedoch auch die RAPD-PCR für eine adäquate Analyse-methode.

Die in der Untersuchung verwendeten in vitro-Selektionsmethoden orientieren sich an Verfahren, die bereits in zahlreichen Publikationen zur Auswahl möglicher probiotischer Bakterien verwendet wurden (Rodriguez et al., 2003; Draksler et al., 2004; Lee et al., 2009; Thirabunyanon et al., 2009; Vlkova et al., 2009; Maldonado et al., 2012; Bujnakova et al., 2014). Zwar werden diese in vitro-Methoden als probates Mittel bei der Vorauswahl von Bakterien und der Evaluierung der untersuchten Eigenschaften angesehen, jedoch können damit nicht zwangsläufig Vorhersagen für das Verhalten in vivo getroffen werden (Holzapfel et al., 1998; Morelli, 2000; Dunne et al., 2001). Beispielsweise kann die isoliert stattfindende Überprüfung der pH-Wert- und Gallensalzstabilität nicht die komplexen physiologischen Gegebenheiten, die im Magen und Darm herrschen, darstellen (Holzapfel et al., 1998). So zeigten z. B. manche Laktobazillen eine besonders gute in vivo Kolonisierung, die sich in vitro eher empfindlich gegenüber niedrigen pH-Werten darstellten (Morelli, 2000). Hingegen führte eine höhere Resistenz gegenüber Gallensäuren zu einer Verbesserung der probiotischen Aktivität von *L. acidophilus* in Kälbern (Gilliland et al., 1984). Auch bei der Evaluierung antimikrobieller Aktivität gegen Pathogene können im vorliegenden Versuchsansatz keine Interaktionen zwischen den Bakterien, wie sie in dem komplexen Ökosystem des Intestinaltrakts stattfinden, dargestellt werden. Somit können die Ergebnisse aus den in-vitro-Studien zwar Hinweise auf die Eignung der ausgewählten Mikroorganismen für den prophylaktischen Einsatz beim Tier liefern, müssen bezüglich der Aussagekraft einer Wirksamkeit in vivo jedoch kritisch betrachtet werden.

1.6 Untersuchung zur Wirksamkeit des Substitutionsprophylaktikums

Zwei der insgesamt 57 ausgewählten *L.-reuteri*-Isolate erfüllten alle untersuchten, für den probiotischen Gebrauch erforderlichen Kriterien und wurden daher als geeignet für den Einsatz als Diarrhoe-Prophylaktikum erachtet. Die ausgewählten Testkeime wurden mittels einer Suspension alle 24 h oral an Kälber im Alter von 1 - 4 Tagen verabreicht. Die Suspension enthielt die beiden Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 in einer Gesamtkonzentration von $6 - 8 \cdot 10^8$ KBE/ml. Die zumeist empfohlene Dosis von $10^8 - 10^9$ KBE täglich (Ouweland et al., 2002; Vrese und Schrezenmeir, 2008) wurde durch die Verabreichung von 10 ml Suspension somit erreicht. Die Wirksamkeitskontrolle erfolgte durch Evaluierung klinischer Effekte, wobei die Wirksamkeit im Sinne einer Diarrhoe-Prävention definiert wurde. Das Auftreten von Durchfall in der Versuchs- und Kontrollgruppe wurde durch Bestimmung der Trockenmasse der Kotproben unter Berücksichtigung der Angaben des Landwirtes überprüft. Zudem wurde, wie von Klein et al. (2004) empfohlen, zusätzlich die Beeinflussung der Darmflora durch die Verabreichung des Prophylaktikums evaluiert. Wie schon im ersten Versuchsabschnitt ergibt sich auch beim vorliegenden Fütterungsversuch die Problematik, dass es sich um einen Feldversuch unter nicht standardisierten Bedingungen handelt. Fütterung, Management und vorherrschende Enteropathogene unterscheiden sich von Betrieb zu Betrieb. Um diese individuellen Faktoren zu mindern, wurden auf allen Betrieben die Kälber abwechselnd der Versuchs- bzw. Kontrollgruppe zugeordnet. Da die Verabreichung des Prophylaktikums vom entsprechenden Landwirt selbst vorgenommen wurde, können auch Fehler bei der Applikation nicht völlig ausgeschlossen werden. Als weitere Einschränkung stellen sich, wie bereits im ersten Versuchsabschnitt, die nicht lückenlos bis zum Ende der zweiten Lebenswoche durchgeführten Kotuntersuchungen dar, wodurch mögliche Durchfallerkrankungen übersehen worden sein könnten.

2 Ergebnisdiskussion

2.1 Durchfallinzidenz

Die Durchfallinzidenz betrug für die 150 im ersten Teil der vorliegenden Arbeit untersuchten Kälber 46,7 %. Dieser Wert stimmt mit anderen Untersuchungen, die in Oberbayern durchgeführt wurden, weitgehend überein. So ermittelte Girnus (2004) eine Durchfallinzidenz von 47,8 %, Reski-Weide (2013) sogar eine Inzidenz von 53,7 %. Bei diesen Studien wurden die Kälber regelmäßig von Tierärzten untersucht. Wurde die Beurteilung des Durchfallgeschehens hingegen mittels eines Fragebogens erhoben und somit von den Landwirten selbst vorgenommen, lag die Durchfallinzidenz deutlich darunter (15 % - 28 %) (Kataridis, 2000; Biewer, 2001; Walker et al., 2012). Diese Beobachtung deckt sich mit der vorliegenden Untersuchung, in der Durchfallerkrankungen häufiger von den Landwirten nicht erkannt wurden bzw. nicht als solche eingestuft wurden. Auch die deutlich höhere Inzidenz in der ersten Lebenswoche (81,4 %) im Vergleich zur zweiten Lebenswoche ist in Übereinstimmung mit der Untersuchung von Girnus (2004), bei der 77,6 % der Durchfallkälber in der ersten Lebenswoche an Durchfall erkrankten. Zudem können Bendali et al. (1999a), ähnlich wie in der vorliegenden Studie, zwei Peaks für das Risiko einer Durchfallerkrankung um den 3. und 8. Lebenstag (entspricht dem 2. und 7. Tag nach der Geburt) feststellen. Die Letalität liegt mit 1,4 % deutlich unterhalb derjenigen von vergleichbaren Untersuchungen (Kataridis, 2000; Biewer, 2001; Girnus, 2004; Reski-Weide, 2013). Grund hierfür könnte die im Rahmen der Studie erfolgte Sensibilisierung der Landwirte für das Thema Kälberdurchfall sein und die dafür regelmäßig erforderliche Evaluierung der Kälbergesundheit. Die meisten an Durchfall erkrankten Kälber wurden unverzüglich mit oralen Elektrolytlösungen behandelt. Bei 18 Kälbern wurden Antibiotika zur Behandlung des Durchfalls eingesetzt.

2.1.1 Einflussfaktoren auf die Durchfallinzidenz

Der Neugeborenenendurchfall der Kälber ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei dessen Entstehung eine Vielzahl von Einflüssen eine Rolle spielt. Verschiedene Erreger können, insbesondere im Zusammenspiel mit weiteren prädisponierenden Faktoren, eine Erkrankung begünstigen (Doll et al., 1995; Kaske et al., 2008). Das alleinige Vorhandensein eines Erregers bedingt jedoch nicht zwangsläufig eine

Durchfallerkrankung (Naciri et al., 1999; Luginbühl et al., 2005; Kaske et al., 2008). Andererseits können Durchfallerkrankungen auch nichtinfektiöse Ursachen, wie beispielsweise Fütterungsfehler, zugrunde liegen (Kaske et al., 2008). In der vorliegenden Untersuchung werden die verschiedenen Einflussfaktoren getrennt voneinander betrachtet.

2.1.1.1 Betrieb

Die Durchfallinzidenz der einzelnen Betriebe reicht von 7,1 % bis 100 %. Von dem Betrieb mit 100 % Durchfallinzidenz gingen jedoch nur vier Kälber in die Untersuchung ein, da der Landwirt die Teilnahme am Projekt bereits in der ersten Phase abbrach. Diese gravierenden Unterschiede zwischen den einzelnen Betrieben werden auch von anderen Untersuchern beobachtet (Kataridis, 2000; Biewer, 2001; Girnus, 2004; Reski-Weide, 2013). Welche Ursachen für diese beträchtlichen Unterschiede zwischen den Betrieben im Einzelnen zugrunde liegen, wurde in der vorliegenden Studie nicht näher untersucht. Eine Abhängigkeit von der Betriebsgröße bzw. der Anzahl der eingestellten Rinder kann in Übereinstimmung mit Bendali et al. (1999) und Kataridis (2000) nicht festgestellt werden. Im Gegensatz dazu findet Girnus (2004) einen Zusammenhang zwischen der Gesamtrinderzahl und der Durchfallinzidenz eines Betriebes. Girnus untersuchte jedoch deutlich kleinere Betriebe mit einer maximalen Rinderanzahl von 132, wohingegen in der vorliegenden Untersuchung die Gesamtrinderzahl deutlich höher zwischen 140 bis 338 liegt. Bei generell hohen Tierzahlen scheinen Unterschiede in der Betriebsgröße keinen Einfluss mehr auf die Durchfallinzidenz zu haben. Auch Unterschiede aufgrund der Rasse dürften in der vorliegenden Studie keine Rolle gespielt haben, da es sich bei den untersuchten Kälbern fast ausschließlich um Kälber der Rasse FL handelte. Neben den untersuchten Parametern wie Muttertierimpfung und Kolostrumversorgung könnten die Ursachen für die Unterschiede in der Durchfallinzidenz zwischen den Betrieben auch im Zusammenhang mit dem Hygienemanagement bei der Haltung und Fütterung der Kälber zu sehen sein (Kaske et al., 2009).

2.1.1.2 Jahreszeit

Beim Vergleich der Durchfallhäufigkeiten in Abhängigkeit von der Jahreszeit zeigte sich im Herbst eine signifikant höhere Durchfallinzidenz. Schulte-Märter (2000) kann in ihren Untersuchungen zu Kälberkrankheiten an einer

Hochschulklinik im Verlauf von 16 Jahren zusammengefasst im Herbst und Winter eine höhere Diarrhoeinzidenz als in den Frühjahrs- und Sommermonaten feststellen. Katikaridis (2000) und Gulliksen et al. (2009a) fanden hingegen nur im Winter eine Erhöhung der Durchfallinzidenz, während Svensson et al. (2003) ein erhöhtes Risiko für schwere Durchfälle im Sommer feststellten. Untersuchungen zur Mortalität von Kälbern zeigen ein erhöhtes Risiko in den Wintermonaten auf (Svensson et al., 2006; Gulliksen et al., 2009b; Bleul, 2011). Da in der vorliegenden Untersuchung nicht jeder Betrieb über die Dauer eines Jahres beobachtet wurde, sondern maximal zwei bis drei Betriebe parallel beprobt wurden, sind die jahreszeitlichen Unterschiede jedoch stark von den in den jeweiligen Monaten beprobten Betrieben abhängig (Tabelle 4).

2.1.1.3 Geschlecht

In manchen Untersuchungen konnte ein erhöhtes Mortalitätsrisiko für männliche Kälber festgestellt werden (Perez et al., 1990; Azzam et al., 1993; Nix et al., 1998), in anderen spielte das Geschlecht keine Rolle (Gulliksen et al., 2009b). Bezüglich der Durchfallinzidenz gibt es in der vorliegenden Studie jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Kälbern. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Girnus (2004), Höfle (2006) und Reski-Weide (2013).

2.1.1.4 Zwillinge

Das Mortalitätsrisiko von Zwillingskälbern ist gegenüber einzeln geborenen Kälbern deutlich erhöht (Wells et al., 1996; Silva del Rio et al., 2007; Gulliksen et al., 2009b). In Bezug auf die Durchfallinzidenz ergeben sich jedoch unterschiedliche Resultate. Während Bendali et al. (1999) keinen Zusammenhang feststellen, weisen in den Studien von Girnus (2004) und Reski-Weide (2013) Zwillingskälber eine höhere Diarrhoeinzidenz als einzeln geborene Kälber auf. Geringere Tragzeiten und niedrige Geburtsgewichte, wie sie bei Zwillingskälbern häufig vorkommen, hatten in der Studie von Girnus (2004) jedoch keinen Effekt auf die Durchfallinzidenz. Waldner und Rosengren (2009) konnten bei Zwillingskälbern jedoch eine niedrigere Serum-IgG-Konzentration als bei einzeln geborenen Kälbern finden. In der vorliegenden Untersuchung zeigen Zwillingskälber zwar ebenfalls eine höhere Diarrhoeinzidenz, der Unterschied zu einzeln geborenen Kälbern ist aber nicht signifikant. Interessant ist die

Beobachtung, dass entweder beide Zwillingskälber gesund blieben oder aber erkrankten. Dies könnte daran liegen, dass Zwillingskälber in der identischen Umgebung geboren werden und zudem häufig zusammen aufgestellt werden. Jedoch könnten auch genetische Einflüsse eine Rolle spielen. So wird die Adhäsion von Bakterien an die Darmmukosa beispielsweise durch Expression verschiedener Kohlenhydrate auf dem Darmepithel genetisch gesteuert (Bourlioux et al., 2003). Zudem konnten Mayer et al. (2012) eine signifikant höhere Übereinstimmung in der Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota von Zwillingskälbern untereinander als zu deren Stallnachbarn feststellen. Starke Übereinstimmungen in der Zusammensetzung der Darmbakterien könnten anschließend zu einer ähnlichen Reaktion beider Zwillinge auf Durchfallerreger oder andere durchfallbeeinflussende Faktoren führen.

2.1.1.5 Geburtsgewicht

In dieser Untersuchung waren Kälber mit leichtem Geburtsgewicht tendenziell häufiger an Durchfall erkrankt als Kälber mit mittleren bis schweren Geburtsgewichten. Dies könnte damit zusammenhängen, dass leichtere Kälber häufiger frühgeboren sind und noch keine adäquaten Kolostrummengen aufnehmen können (Pare et al., 1993). Jedoch war der Unterschied zwischen den Gruppen nicht signifikant. Girnus (2004) kann ebenfalls eine tendenziell höhere Inzidenz für Kälber mit leichtem Geburtsgewicht feststellen, jedoch weisen bei ihr auch Kälber mit schwerem Gewicht eine höhere Durchfallinzidenz auf. Singh et al. (2009) finden eine Abnahme der Kälbermortalität mit zunehmendem Geburtsgewicht.

2.1.1.6 Geburtsverlauf

In der vorliegenden Studie ist die Durchfallinzidenz von Kälbern, welche mit Zughilfe geboren wurden, im Vergleich zu alleine geborenen Kälbern erhöht (56,1 % vs. 45,0 %), jedoch nicht signifikant. Girnus (2004) kann hier ähnliche Tendenzen feststellen. In anderen Studien hatte eine Zughilfe sogar signifikante Auswirkungen auf die Inzidenz der Kälberdiarrhoe (Wells et al., 1996; Bendali et al., 1999b; Katikaridis, 2000). Ein Grund hierfür könnte, im Falle ungenügender Hygiene, das Einbringen von Keimen aus der Umgebung in den Geburtskanal sein und eine daraus resultierende stärkere Besiedelung mit pathogenen Bakterien zum Zeitpunkt der Geburt (Baier et al., 1967; Kaske und Kunz, 2003).

2.1.1.7 Kolostrumversorgung

Die Kolostrumversorgung der Kälber wirkte sich signifikant auf deren Durchfallinzidenz aus. Dabei beeinflussten sowohl der Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe als auch die verabreichte Kolostrummerstmenge das Auftreten einer Durchfallerkrankung. Kälber, die zwei oder mehr Stunden nach der Geburt Kolostrum erhielten, wiesen eine höhere Durchfallinzidenz als früher getränkte Kälber auf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Biewer (2001). Auch in der Untersuchung von Katikaridis (2000) war die Durchfallinzidenz der Kälber umso niedriger, je früher sie innerhalb der ersten Stunden p. n. getränkt wurden. Ebenso kann Katikaridis (2000) einen Zusammenhang zwischen der innerhalb der ersten zwölf Stunden p.n. verfütterten Kolostrummenge und der Durchfallinzidenz feststellen. In der vorliegenden Untersuchung konnte eine Beziehung zwischen Durchfallinzidenz und getrunkenen Erstkolostrummenge hergestellt werden. Bei zwei Litern oder mehr getrunkenes Erstkolostrum drehte sich das Verhältnis der gesunden und an Durchfall erkrankten Kälber zugunsten der gesunden Kälber. Dies lässt sich mit der Untersuchung von Stott et al. (1979) erklären. Sie fanden eine steigende Absorptionsrate der Immunglobuline aus dem Darm in das Serum von Kälbern, abhängig von der verfütterten Erstmenge Kolostrum. Bei zwei Litern Kolostrum innerhalb der ersten vier Lebensstunden wurde die maximale Absorptionsrate erreicht (Stott et al., 1979). Welche zentrale Bedeutung eine ausreichende und frühzeitige Kolostrumversorgung für die Gesundheit und die Überlebenschancen neugeborener Kälber hat, wurde bereits in zahlreichen anderen Untersuchungen belegt (Fallon und Harte, 1983; Donovan et al., 1998a; Tyler et al., 1998; Godden, 2008; Waldner und Rosengren, 2009; Stilwell und Carvalho, 2011; Priestley et al., 2013).

2.1.1.8 Anzahl der Laktationen des Muttertieres

In dieser Untersuchung wiesen Kälber primiparer Muttertiere eine signifikant höhere Durchfallinzidenz auf als Kälber von Muttertieren mit zwei oder mehr Laktationen. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Perez et al. (1990) und Svensson et al. (2003) überein. Auch die Mortalitätsrate von Kälbern erstlaktierender Kühe ist in anderen Untersuchungen im Vergleich zu Kälbern pluriparer Kühe signifikant erhöht (Nix et al., 1998; Gulliksen et al., 2009b). Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die Immunglobulinkonzentration im Kolostrum primiparer Kühe unter derjenigen von pluriparen Kühen liegt (Shearer

et al., 1992; Gutzwiller, 2002) bzw. die IgG-Konzentration im Serum von Kälbern primiparer Muttertiere niedriger ist (Waldner und Rosengren, 2009). Da ältere Kühe zumeist mit deutlich mehr Pathogenen konfrontiert waren als junge Tiere, weist das Kolostrum pluriparer Kühe zudem häufig ein breiteres Antikörperspektrum auf (Kaske und Kunz, 2003). Darüber hinaus könnte auch die höhere Schwereburten-Rate primiparer Kühe eine Rolle spielen (Steinbock et al., 2003). Bendali et al. (1999) und Girnus (2004) finden hingegen keinen Zusammenhang zwischen Durchfallinzidenz des Kalbes und Laktationszahl des Muttertieres. Auffällig hierbei ist jedoch, dass in beiden Studien, im Gegensatz zu zahlreichen anderen Studien, gleichzeitig auch kein Zusammenhang zwischen Kolostrumversorgung und Durchfallinzidenz gefunden wurde. Bendali et al. (1999) erklären dies mit einer allgemein guten Fütterungspraxis in den untersuchten Betrieben und einer daraus resultierenden ausreichenden Serum-Protein-Konzentration bei der Mehrzahl der Kälber. Hierbei ist jedoch zu bemerken, dass Bendali et al. (1999) andere Parameter als in der vorliegenden Studie zur Bewertung der Kolostrumversorgung heranziehen.

2.1.1.9 Muttertierimpfung

In Betrieben, welche eine Impfung der Muttertiere gegen Rotaviren, Coronaviren und *E. coli* F5 (K99) durchführten, erkrankten signifikant weniger Kälber an Durchfall als in Betrieben ohne Muttertiervakzine (40,0 % vs. 59,3 %). Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen zahlreicher anderer Studien überein (Bendali et al., 1999b; Katikaridis, 2000; Le Rousic et al., 2000; Jayappa et al., 2008; Razzaque et al., 2009). Die Muttertiervakzine zeigt sich jedoch nur wirksam, wenn die Ursache der Durchfallerkrankung auch bei den Erregern zu suchen ist, gegen welche geimpft wurde. So können bei Kälbern aus „Nicht-Impfbetrieben“ signifikant häufiger Rota- oder Coronaviren nachgewiesen werden, dagegen jedoch seltener Cryptosporidien. Dies könnte auch jene Fälle erklären, in denen eine Impfung keinen Erfolg bei der Minimierung der Durchfallinzidenz zeigte (Kohara et al., 1997; Girnus, 2004). So können Kohara et al. (1997) beispielsweise auch in den Kontrollkälbern kaum Erreger nachweisen, gegen welche geimpft wurde. Girnus (2004) führt keine Untersuchungen zu den beteiligten Pathogenen durch, gibt jedoch an, dass die beiden untersuchten „Impfbetriebe“ bereits vor Einführung der Impfung massive Durchfallprobleme hatten, die sich trotz Impfung nicht besserten. Die Beobachtung einer vermehrten

Ausscheidung von Cryptosporidien-Oozysten können Trotz-Williams et al. (2007 und 2008b) in ihren Untersuchungen bestätigen. Auch sie erklären dies mit der Durchfallproblematik der entsprechenden Betriebe und der anschließend, ohne Kenntnis der Durchfallursache, durchgeführten Impfmaßnahme.

2.1.2 Nachweis von Enteropathogenen

Für den Nachweis von Enteropathogenen aus Durchfallproben wurde, wie auch in anderen Studien, ein kommerzieller ELISA-Testkit (Bio-X Diagnostics, Belgien) verwendet (Erhard et al., 2000; Höfle, 2006; Gulliksen et al., 2009a). Von den mittels ELISA nachweisbaren Durchfallerregern ließ sich *Cryptosporidium parvum* mit 40,4 % am häufigsten in den untersuchten Durchfallproben nachweisen. Rotaviren konnten in insgesamt 28,1 %, Coronaviren in 12,3 % der Proben von Kälbern mit Durchfall in der ersten Lebenswoche detektiert werden. In keiner Probe wurde *E. coli* F5 (K99) nachgewiesen. Insgesamt waren 29,8 % der Proben bezüglich der vier untersuchten Pathogene negativ. Die Beobachtung, dass Cryptosporidien und Rotaviren die am häufigsten nachgewiesenen Enteropathogene in Durchfallproben sind, *E. coli* F5 (K99) jedoch kaum eine Rolle spielen, stimmt mit zahlreichen anderen europäischen Studien überein (Snodgrass et al., 1986; La Fuente et al., 1999; Erhard et al., 2000; Björkman et al., 2003; Luginbühl et al., 2005; Kaske et al., 2008; Lanz Uhde et al., 2008; Gulliksen et al., 2009a; Reski-Weide, 2013). Ebenso trat bei Mischinfektionen die Kombination von Rotaviren und Cryptosporidien am häufigsten auf (Snodgrass et al., 1986; La Fuente et al., 1999; Garcia et al., 2000; Joachim et al., 2003; Kaske et al., 2008; Lanz Uhde et al., 2008; Reski-Weide, 2013). Zudem deckt sich die Beobachtung, dass in über 40 % der Kälber mit Durchfall in der ersten Lebenswoche Cryptosporidien nachweisbar sind, mit den Studien von La Fuente et al. (1999) und Bartels et al. (2010). Da auch bei gesunden Kälbern Enteropathogene nachgewiesen werden können, kann der Nachweis eines Erregers nicht zwangsläufig als Ursache für das Auftreten von Durchfall angenommen werden. Reynolds et al. (1986) und Reski-Weide (2013) können jedoch eine Abhängigkeit zwischen dem Nachweis der drei Enteropathogene (Rotaviren, Coronaviren und Cryptosporidien) und einer Durchfallerkrankung feststellen. Insbesondere bei Cryptosporidien wurde eine signifikante Assoziation zwischen Cryptosporidiennachweis und einer Erkrankung beobachtet (Naciri et al., 1999; O'Handley et al., 1999; Joachim et al., 2003; Trotz-Williams et al.,

2005; Gulliksen et al., 2009a). Bei Kälbern, die *Cryptosporidien*-Oozysten ausscheiden, ist das Risiko an Durchfall zu erkranken, im Vergleich zu nicht infizierten Kälbern dreifach erhöht (Trotz-Williams et al., 2005). Trotz-Williams et al. (2005) konnten in ihrer Untersuchung zudem zeigen, dass auch die Intensität der Ausscheidung von *Cryptosporidium*-Oozysten signifikant mit Diarrhoe assoziiert war. Höfle (2006) kann einen signifikanten Zusammenhang zwischen Durchfallerkrankung und Pathogenausscheidung nur für Rotaviren finden, nicht jedoch für *Cryptosporidien*. Erklären lässt sich diese Beobachtung damit, dass sie Kälber bis zum Alter von vier Monaten untersuchte. Da *Cryptosporidien* jedoch nur bei Kälbern unter einem Monat zu Erkrankungen führen (Harp et al., 1990; Uga et al., 2000), von älteren Kälbern jedoch oftmals symptomlos ausgeschieden werden (Anderson, 1981; Faubert und Litvinsky, 2000), könnte dies in ihrer Untersuchung einen Zusammenhang zwischen der *Cryptosporidien*ausscheidung und einer Durchfallerkrankung bei jungen Kälbern verschleiern haben.

Im Hinblick auf die mögliche Durchfallursache zeichnet sich in Übereinstimmung mit Kaske und Kunz (2003) je nach Zeitpunkt des Durchfallbeginns eine Häufung bestimmter Erreger ab (Abbildung 3). Der vermehrte Nachweis sowohl von Rota- und Coronaviren, als auch von *Cryptosporidien* in der zweiten Hälfte der ersten Lebenswoche deckt sich auch mit den Ergebnissen anderer Untersucher (Snodgrass et al., 1986; Bendali et al., 1999a). *Cryptosporidien* können in der vorliegenden Studie bereits einen Tag nach der Geburt detektiert werden. Dies ist im Vergleich zu anderen Untersuchungen sehr früh (Anderson, 1981; Faubert und Litvinsky, 2000; Uga et al., 2000; Castro-Hermida et al., 2002). Hierzu muss jedoch angemerkt werden, dass bei zwei der sechs frühen *Cryptosporidiennachweise* aufgrund von zu wenig Probenmaterial bei der Durchfallprobe erst die 7-d-Probe untersucht werden konnte. Dennoch konnten *Cryptosporidien* in einer 24-h-Probe und drei 48-h-Proben nachgewiesen werden. Dies deckt sich auch mit den Beobachtungen von Bendali et al. (1999a), die bereits bei Kälbern im Alter von ein bis zwei Tagen vereinzelte *Cryptosporidenfälle* finden konnten, dann aber erst wieder ab Tag 5. Die Präpatenzzeit von natürlich oder experimentell mit *Cryptosporidien* infizierten Kälbern beträgt jedoch in der Regel drei bis fünf Tage (Fayer et al., 1998; Faubert und Litvinsky, 2000; Uga et al., 2000; Castro-Hermida et al., 2002; Zambriski et al., 2013). Eine mögliche Erklärung für die Nachweise an Tag 1 und 2 nach der

Geburt könnte eine Kontamination der Proben sein. Kühe scheiden während der Geburt signifikant mehr Oozysten aus als in der prä- oder postpartalen Phase (Faubert und Litvinsky, 2000). Dies führt zu einer massiven Kontamination der unmittelbaren Umgebung (Boden, Wände, Staub), in welche das Kalb hineingeboren wird. Kälber von Cryptosporidien-positiven Müttern werden somit vermutlich direkt zum Zeitpunkt der Geburt infiziert (Faubert und Litvinsky, 2000). Durch hohe Oozystenkonzentrationen in der Umgebung des Kalbes, insbesondere auch im Staub, könnten Kotproben somit eventuell kontaminiert worden sein. Eine weitere mögliche Erklärung sind falsch positive Ergebnisse im ELISA. Höfle (2006) hat in ihren Untersuchungen Cryptosporiden sowohl mit dem auch in der vorliegenden Studie verwendeten ELISA, als auch ergänzend mittels Phasenkontrastmikroskopie nachgewiesen. Sie zieht jedoch keinen Vergleich der beiden Methoden bezüglich Sensitivität und Spezifität. La Fuente et al. (1998) verglichen einen kommerziellen ELISA (von einer anderen Firma) mit mikroskopischen Nachweismethoden. Dabei ergaben sich für den ELISA-Nachweis eine Sensitivität von 84 % und eine Spezifität von 99 %. Falsch positive Ergebnisse kamen in dieser Studie also sehr selten vor. Möglicherweise handelt es sich bei den detektierten Oozysten aber auch um Passanten, die bei der Geburt oral aufgenommen wurden, jedoch nicht exzystiert sind. Die Exzystierung von Cryptosporidien erfordert spezielle Stimuli aus dem Magen-Darm-Trakt, darunter initial niedrige pH-Werte, Gallensalze, Proteaseaktivität und Kontakt mit bestimmten Oberflächenrezeptoren von Enterozyten (Choudhry et al., 2008). Da bei Neugeborenen allerdings direkt nach der Geburt bestimmte Verdauungsfunktionen noch nicht vollständig ausgebildet sind und beispielsweise der pH-Wert des Magens vergleichsweise hoch, die Gallensalzkonzentration jedoch sehr niedrig sind (Agunod et al., 1969; Miclat et al., 1978; Boehm et al., 1997), könnte hier möglicherweise der Stimulus zur Exzystierung gefehlt haben, wodurch es zu einer frühen Ausscheidung von Oozysten kam.

Bei 29,8 % der Durchfallkälber konnten mittels ELISA keine Enteropathogene detektiert werden. Dabei handelte es sich ausschließlich um Durchfallerkrankungen, die zwischen dem 1. und 4. Tag nach der Geburt auftraten. Frühdurchfälle bis zu diesem Alter werden in anderen Untersuchungen häufig mit einer *E.-coli*-Infektion in Verbindung gebracht (Sherwood et al., 1983; Snodgrass et al., 1986; Bendali et al., 1999a). In der vorliegenden Studie konnte

jedoch kein Fall von *E. coli* F5 (K99) nachgewiesen werden. Möglich sind hier jedoch falsch negative Ergebnisse, da die ELISA-Methode in einer vergleichenden Untersuchung nur eine Sensitivität von weniger als 29 % aufwies (La Fuente et al., 1998). Neben *E. coli* F5 könnten aber auch andere *E.-coli*-Typen an den Durchfallerkrankungen ohne Erregernachweis beteiligt gewesen sein. So kommen beispielsweise auch andere Fimbrientypen (v. a. F41) bei Kälberdurchfall vor (Morris et al., 1980; Andrade et al., 2012). Zudem können Virulenzfaktoren von EHEC (Intimin, Enterohämolysin) mit Durchfall bei neugeborenen Kälbern assoziiert werden (Wieler et al., 2007). Das klassische EHEC-Serovar O 157:H 7 wurde in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen, kann jedoch auch in anderen Untersuchungen vor allem erst bei älteren Tieren gefunden werden (Hancock et al., 1994; Zhao et al., 1995). Interessant ist allerdings die Beobachtung, dass Kälber mit Durchfall in den ersten zwei Tagen nach der Geburt während der Durchfallerkrankung signifikant höhere Enterobacteriaceae-Werte als gesunde Kälber aufweisen (Abbildung 33). Dies lässt eine Infektion mit *E. coli* oder anderen Enterobakterien bei Frühdurchfällen vermuten. Auch die Enterobakterienzahlen von Durchfallkälbern, bei denen mittels ELISA keine Enteropathogene detektiert werden konnten, sind gegenüber denjenigen gesunder Kälber am 3. Tag nach der Geburt signifikant erhöht (Abbildung 51).

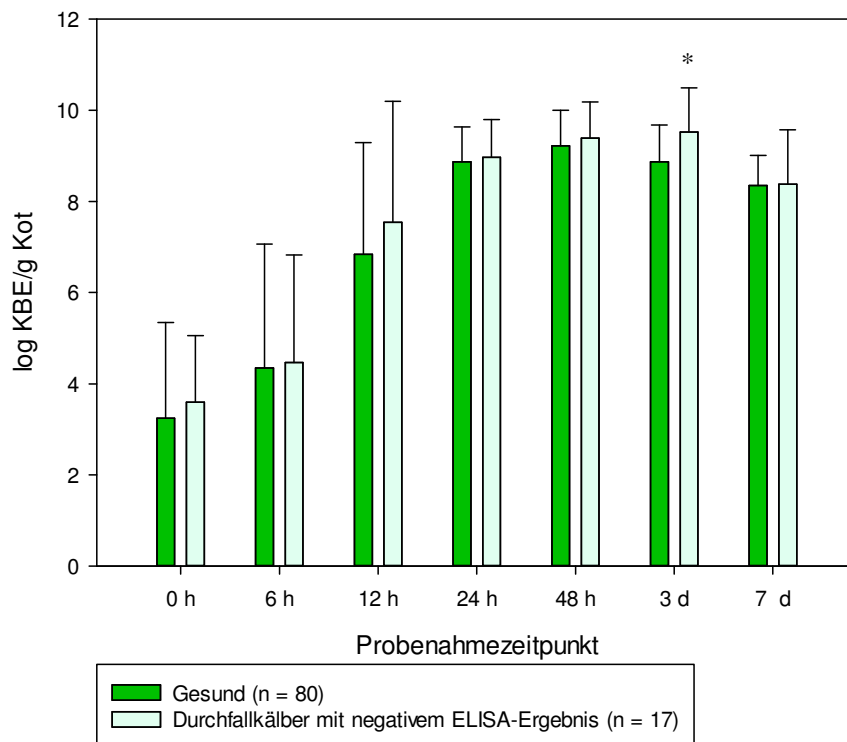


Abbildung 51: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Durchfallkälbern mit negativem ELISA-Ergebnis

Bei Enterobakteriennachweisen muss im Zusammenhang mit Durchfall auch immer eine Infektion mit Salmonellen in Betracht gezogen werden. Die Rindersalmonellose unterliegt aufgrund der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen (TierSeuchAnzV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 der Anzeigepflicht und ist aufgrund der Zoonosegefahr auch für den Menschen von Bedeutung. Es konnten jedoch sowohl bei durchfallkranken als auch bei gesunden Kälbern in keinem Fall Salmonellen nachgewiesen werden. Auch andere Untersucher messen Salmonellen nur eine geringe Bedeutung im Zusammenhang mit der neonatalen Diarrhoe des Kalbes bei (Snodgrass et al., 1986; La Fuente et al., 1998; Garcia et al., 2000; Höfle, 2006). Als bakterielle Diarrhoe-Erreger kommen schließlich auch noch Clostridien in Frage, wobei vor allem die Spezies *Clostridium perfringens*, aber auch *Clostridium difficile* eine Rolle spielen (Selbitz, 2007; Hammitt et al., 2008). Ferrarezi et al. (2008) untersuchten das Vorkommen von *Clostridium perfringens* und damit assoziierten Toxinen in gesunden und durchfallkranken Kälbern. Weder für den Erregernachweis, noch in Bezug auf den Toxintyp, ergaben sich Unterschiede

zwischen gesunden und kranken Kälbern. In einer weiteren Studie konnte zudem kein Zusammenhang zwischen intestinalen Clostridienzahlen und einer Enterotoxämie bei jungen Kälbern festgestellt werden (Valgaeren et al., 2013). Auch in der vorliegenden Untersuchung war zumindest der alleinige Nachweis von Clostridien nicht mit Durchfall assoziiert. Im Gegenteil gelang der Nachweis sogar häufiger in gesunden als in kranken Kälbern. Neben den oben genannten enteropathogenen Clostridien verfügen andere Spezies sogar über probiotische Eigenschaften. So konnte beispielsweise *Clostridium butyricum* zur Prävention und Therapie von EHEC-Infektionen bei Mäusen eingesetzt werden (Takahashi et al., 2004). Eine Speziesidentifizierung der nachgewiesenen Clostridien oder ein Toxinnachweis wurden in der vorliegenden Studie jedoch nicht durchgeführt, weshalb nur begrenzt Aussagen zu deren Bedeutung für das Durchfallgeschehen getroffen werden können. Selbstverständlich könnten für die Diarrhoe-Fälle ohne Erregernachweis auch Infektionen mit nicht untersuchten Enteropathogenen, wie beispielsweise Toroviren (Liebler et al., 1992; Haschek et al., 2006), oder nicht infektiöse Ursachen, wie Fütterungsfehler, verantwortlich sein (Kaske et al., 2008).

2.2 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota gesunder Kälber

Um die Entwicklung der Keimzahlen innerhalb der ersten Lebenswoche zu evaluieren, erfolgte eine engmaschige Probennahme zu sieben exakt festgelegten Zeitpunkten (Tabelle 29). Die Bakteriengattungen *Escherichia*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* und *Bacteroides* gelten als die wichtigsten Besiedeler des Intestinaltrakts junger Kälber (Smith, 1965), so dass deren Entwicklung (mit Ausnahme von *Bacteroides*) in der vorliegenden Studie genauer untersucht wurde.

Die aeroben und anaeroben Bakterienzahlen stiegen zunächst weitgehend parallel an und erreichten Maximalwerte von 10^{11} KBE/g Kot. Malmuthuge et al. (2012) wiesen via qPCR im Coloninhalt von Kälbern im Alter von drei Wochen ebenfalls eine Gesamtkeimzahl von 10^{11} KBE/g nach. Auch in Faecesproben ausgewachsener Kühe ermittelten Dowd et al. (2008) mit Hilfe von bTEFAP (16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing) Keimzahlen von bis zu 10^{11} KBE/g. Dabei übertrifft die Anzahl der strikten Anaerobier (z. B. *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp.) diejenige fakultativer Anaerobier (z. B. Enterobacteriaceae) um das 100-fache (Guarner, 2006; Dowd et al., 2008). Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie: Während

die Anaerobier bis zum 7. Tag nach der Geburt kontinuierlich auf Werte von durchschnittlich 10^{10} KBE/g Kot anstiegen, sanken sowohl die aeroben Bakterien, als auch die Enterobakterien nach Erreichen eines Peaks bei 48 h wieder auf unter 10^9 KBE/g Kot ab (Tabelle 29). Dies spiegelt die Tatsache wider, dass die Erstbesiedelung mit aeroben Keimen zur Schaffung eines anaeroben Milieus beiträgt, welches schließlich zur Etablierung der obligaten Anaerobier im Darmtrakt führt (Mackie et al., 1999; Favier et al., 2003). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind auch in Übereinstimmung mit der Aussage von Ducluzeau (1983), nach der die Darmflora des neugeborenen Säugetieres bereits 24 bis 48 h nach der Geburt Maximalwerte erreicht. Im Einklang mit den Beobachtungen von Smith (1965) zur Entwicklung der Magen-Darm-Mikrobiota neugeborener Kälber unterliegen auch in der vorliegenden Studie die Keimzahlen der untersuchten Keimgruppen einer kontinuierlichen Veränderung bis zum 7. Tag nach der Geburt. Molekularbiologische Untersuchungen lassen darauf schließen, dass sich die Bakterienzusammensetzung von Kälbern in den ersten drei Monaten nach der Geburt kontinuierlich verändert (Uyeno et al., 2010). Im Hinblick auf die Heterogenität in der Entwicklung der Keimzahlen zwischen den Kälbern konnte jedoch folgende Beobachtung gemacht werden: Während es an den ersten drei Probenahmezeitpunkten (0 h, 6 h, 12 h) noch erhebliche Unterschiede bei den GKZ der einzelnen Kälbern gab, verringerte sich nach 24 h der Quartilsabstand deutlich. Lediglich bei den Laktobazillen war diese einheitlichere interindividuelle Entwicklung der Keimzahlen erst nach 48 h zu sehen.

Tabelle 29: Keimzahlen [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten

	Probenahmezeitpunkt						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
Aerobe GKZ							
Mittelwert	4,68	5,19	7,30	9,11	9,43	9,17	8,84
Standardabweichung	1,41	2,19	2,10	0,77	0,63	0,64	0,58
Anaerobe GKZ							
Mittelwert	4,11	4,99	7,36	9,10	9,79	9,89	10,31
Standardabweichung	1,82	2,23	2,03	1,08	0,63	0,53	0,57
Enterobakterien							
Mittelwert	3,24	4,35	6,84	8,86	9,22	8,87	8,35
Standardabweichung	2,11	2,72	2,45	0,77	0,78	0,81	0,65
Enterokokken							
Mittelwert	1,38	2,85	5,45	7,70	8,21	7,73	6,68
Standardabweichung	1,78	2,66	2,54	1,25	0,50	0,82	1,02
Laktobazillen							
Mittelwert	1,04	1,14	2,48	4,60	6,96	7,46	7,83
Standardabweichung	1,69	1,84	2,16	2,14	1,51	1,00	1,00

In allen Mekoniumproben konnten mit Werten zwischen $2 \cdot 10^2$ KBE/g Kot und $4,2 \cdot 10^7$ KBE/g Kot aerobe Bakterien nachgewiesen werden, wohingegen die Anaerobier in sechs 0-h-Proben unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Der Maximalwert der Anaerobier lag bei $7,8 \cdot 10^7$ KBE/g Kot. Diese Beobachtung deckt sich mit den Untersuchungen von Ducluzeau (1983), der in humanen Mekoniumproben Keimzahlen sowohl unterhalb der Nachweisgrenze, als auch bis zu 10^8 KBE/g Kot nachweisen konnte. Während früher davon ausgegangen wurde, dass der Gastrointestinaltrakt von Säugetierfeten zum Zeitpunkt der Geburt steril ist (Mackie et al., 1999), gibt es mittlerweile neuere Erkenntnisse, die darauf hinweisen, dass bereits pränatal eine Übertragung von Bakterien der Mutter auf den Fetus stattfindet (Jiménez et al., 2005; Jiménez et al., 2008; Satokari et al., 2009; Mshvildadze et al., 2010). Jiménez et al. (2005 und 2008) konnten im Mekonium von mittels Kaiserschnitt geborenen Mäusen verschiedene Bakterien, insbesondere der Gattungen *Enterococcus* und *Staphylococcus*, nachweisen. In einem weiteren Versuch konnten sie einen oral an trächtige Mäuse verabreichten *Ent.-faecium*-Stamm ebenfalls in Mekonium und Nabelschnurblut der Neugeborenen detektieren. Sie gehen daher von einer bereits pränatal einsetzenden Besiedelung des Fetus aus. Auch Satokari et al. (2009) wiesen in humanen Plazentas von Kaiserschnittgeburten Laktobazillen- und

Bifidobakterien-DNA nach und vermuten eine horizontale Übertragung der Bakterien auf den Fetus. Da jedoch Menschen, Mäuse und Wiederkäuer verschiedene Plazentationsverhältnisse aufweisen, könnte somit auch eine pränatale Keimübertragung (falls möglich) unterschiedlich vonstattengehen. Zudem wurde keines der untersuchten Kälber per Kaiserschnitt geboren, so dass eine perinatale Keimbesiedelung des Neonaten (Baier et al., 1967) bzw. eine Kontamination der Proben nicht ausgeschlossen werden kann. Obwohl die Kotproben unmittelbar nach der Entnahme gekühlt gelagert wurden, könnte es im Zeitraum bis zur Untersuchung (max. 48 h) zudem zu einem Wachstum von Bakterien gekommen sein.

Enterobakterien, mit *E. coli* als häufigstem Vertreter, und Enterokokken erreichen bereits innerhalb der ersten 24 h nach der Geburt hohe Keimzahlen, die jedoch nach einem Peak bei 48 h wieder abfallen. Die Laktobazillen hingegen entwickeln sich langsamer, steigen aber bis zum 7. Tag nach der Geburt kontinuierlich an und übertreffen in ihrer Anzahl schließlich die Enterokokken (Tabelle 29). Die beobachteten Bakterienzahlen und Keimzahlverläufe der vorliegenden Untersuchung stimmen mit denen anderer Autoren weitgehend überein (Smith und Crabb, 1961; Smith, 1965; Vlková et al., 2008). Diese einheitliche Entwicklung der unterschiedlichen Bakteriengattungen könnte damit zusammenhängen, dass die pH-Werte des Mageninhalts kurz nach der Geburt noch relativ hoch sind und es somit innerhalb kürzester Zeit zu einer exponentiellen Vermehrung der Bakterien, insbesondere der in der Umgebung des Kalbes häufig vorkommenden *E. coli* und *Enterococcus* spp., kommt, die schließlich auch in hohen Mengen Dünn- und Dickdarm besiedeln (Smith, 1965). Mit der Senkung des Magen-pH-Wertes (etwa am 2. Lebenstag) gewinnen schließlich die Laktobazillen einen Selektionsvorteil, da sie bei deutlich niedrigeren pH-Werten wachsen können. Diese werden daraufhin zu den dominanten Vertretern der Magen- und Dünndarm-Mikrobiota, siedeln sich aber auch im Dickdarm an (Smith, 1965). Im Alter von 20 Wochen repräsentieren die Laktobazillen schließlich in allen Darmkompartimenten, einschließlich Caecum und Colon, die dominante Bakteriengattung (Vlkova et al., 2006).

Es wurden in dieser Untersuchung jedoch nicht nur die Keimzahlen ausgewählter Bakteriengruppen bestimmt, sondern auch Einzelkeime von den verschiedenen

Nährböden isoliert und anschließend mittels biochemischen bzw. massenspektrometrischen Methoden näher identifiziert.

Clostridien konnten individuell verschieden v. a. nach 24 bis 48 h nachgewiesen werden, was mit den Beobachtungen von Mayer et al. (2012) übereinstimmt. Smith (1965) ermittelte *Clostridium perfringens* als dominanten Erstbesiedeler des Darmtrakts von Kälbern, während Rada et al. (2006) mittels FISH überhaupt keine Clostridien bei Kälbern im Alter von 3 bis 39 Tagen nachweisen konnten (Rada et al., 2006). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie können keine der beiden Beobachtungen bestätigen, da zwar bei einigen Kälbern Clostridien nachgewiesen werden konnten, 48 h nach der Geburt sogar bei über 50 %, jedoch insbesondere am ersten Tag kaum Clostridien isoliert werden konnten und insgesamt bei relativ vielen Kälbern keine Clostridien detektierbar waren. Dazu muss allerdings angemerkt werden, dass die Clostridien von dem unselektiven Schaedler-Agar isoliert wurden und nicht auf einem Selektivagar angezüchtet wurden. Durch Überwucherung der Clostridien mit anderen anaeroben Bakterien konnten daher eventuell keine Clostridien isoliert werden und somit zu falsch negativen Ergebnissen geführt haben.

Bei der näheren Betrachtung der Enterobakterien fiel auf, dass der Anteil der laktosepositiven Keime zum Zeitpunkt der Geburt noch unter 40 % lag, jedoch bereits nach 6 h auf über 80 % der Gesamtenterobakterienzahl anstieg. Ein ähnlicher Verlauf ergibt sich beim Vergleich von *E. coli*, welche in der vorliegenden Untersuchung den Hauptanteil der laktosepositiven Enterobacteriaceae repräsentieren, mit anderen Enterobakterien.

Bei den während der ersten Probenahmezeitpunkte nachgewiesenen laktosenegativen Enterobakterien handelte es sich zumeist um Keime der Gattungen *Pantoea*, *Hafnia* und *Serratia*. Diese werden bisweilen als Kontaminanten in Milch und Milchprodukten, nicht aber in Faeces von Rindern, gefunden (Kagkli et al., 2007; Giannino et al., 2009). Die Autoren vermuten hierbei vornehmlich eine Kontamination der Milchprodukte aus der Umwelt. Insbesondere bei Neugeborenen können häufig allochthone Bakterienspezies nachgewiesen werden, die normalerweise in anderen Habitaten als dem Gastrointestinaltrakt vorkommen (Mackie et al., 1999). Auch bei den neugeborenen Kälbern könnte es sich somit bei den ermittelten laktosenegativen Enterobakterien lediglich um Darmpassanten handeln. Aufgrund des ungeeigneten

Wachstumsmilieus im Magen-Darm-Trakt werden diese dann jedoch innerhalb kurzer Zeit von gut angepassten Darmbewohnern, wie beispielsweise *E. coli*, verdrängt.

Bei der Speziesidentifizierung der Enterokokken fiel auf, dass sowohl *Enterococcus faecalis* als auch Vertreter der *Enterococcus nonfaecalis/nonfaecium*-Gruppe regelmäßig und in hohen Keimzahlen in den Faeces gesunder Kälber nachgewiesen werden konnten. *Enterococcus faecium* konnte hingegen nur infrequent und mit geringen Keimzahlen gefunden werden. Auch Devriese et al. (1992) wiesen bei Kälbern *Ent. faecalis*, *Ent. faecium* und weitere Enterokokkenspezies (*Ent. avium*, *Ent. cecorum*, *Ent. durans*, *Ent. hirae*) nach. Dabei war *Ent. faecalis* die am häufigsten detektierte Spezies. Bei ausgewachsenen Kühen wurden jedoch nur noch *Ent. hirae*, *Ent. faecalis* und *Ent. casseliflavus* in sehr geringer Anzahl gefunden (Devriese et al., 1992).

Die Analyse der von LAMVAB-Agar isolierten Kolonien ergab insgesamt einen Nachweis von 36 verschiedenen Spezies. Die überwiegende Anzahl der Isolate konnte als *Lactobacillus* spp. identifiziert werden. Übereinstimmend mit der Gramfärbung war jedoch auf LAMVAB-Agar auch ein Wachstum von Kokken zu verzeichnen, die sich in der MALDI-TOF-MS-Untersuchung als *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. und *Pediococcus* spp. herausstellten (Tabelle 23). Besonders häufig ließen sich Isolate der frühen Probenahmezeitpunkte keiner Spezies zuordnen, vermutlich deshalb, weil in der Datenbank des MALDI-TOF-MS-Geräts noch kein entsprechender Eintrag vorlag. Gerade im Hinblick auf die Frage, welche Bakterien als Erstbesiedeler eine zentrale Rolle spielen, wäre hier eine weiterführende Speziesanalyse, insbesondere mit molekularbiologischen Methoden, äußerst interessant. Die Entwicklung der einzelnen *Lactobacillus*-Spezies unterliegt noch erheblichen Schwankungen. Zum Zeitpunkt 0 h und 6 h wurde *L. plantarum*, allerdings mit sehr geringen Keimzahlen, am häufigsten nachgewiesen, jedoch bereits ab 12 h von anderen Spezies zahlenmäßig übertroffen. Ähnlich wie bei den laktosenegativen Enterobakterien ist es hier vermutlich ebenfalls zu einer Passage, nicht jedoch zu einer Vermehrung des natürlicherweise in der Umwelt vorkommenden Bakteriums gekommen (Goffin et al., 2010). Zum Zeitpunkt 12 h und 24 h dominiert *L. paracasei*, wird jedoch ab 48 h von *L. murinus* und *L. reuteri* abgelöst. Am 7. Tag nach der Geburt schließlich übertrifft die Anzahl von *L. reuteri* die Zahl aller anderen detektierten

Laktobazillenspezies um das 1000fache. Auch bei neugeborenen Ferkeln konnte mit Hilfe von Plasmid-Profiling die Beobachtung gemacht werden, dass sich die Laktobazillenpopulation in kontinuierlicher Veränderung befindet und sich der dominante *Lactobacillus*-Typ innerhalb der ersten Lebenswoche der Ferkel verändert (Tannock et al., 1990). Studien zu Laktobazillenpopulationen von Kälbern gibt es nur wenige. Soto et al. (2010) wiesen in ihrer Untersuchung an sechs jungen Kälbern (ohne konkrete Altersangabe) mittels ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) und anschließender Sequenzierung *L. salivarius* als dominante Spezies nach, Busconi et al. (2008) ermittelten hingegen mittels AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) in zwei Kälbern (65 d alt) *L. mucosae* als dominante Spezies. Auch in der vorliegenden Untersuchung können *L. salivarius* und *L. mucosae* bei Kälbern innerhalb der ersten Lebenswoche relativ häufig nachgewiesen werden (Tabelle 24). Abgesehen von *L. reuteri* stellt *L. mucosae* am 7. Tag nach der Geburt die quantitativ häufigste Laktobazillen-Spezies dar und tritt bei gesunden Kälbern im Vergleich zu Kälbern mit Durchfall in signifikant höheren Keimzahlen auf. In beiden Studien wurde jedoch im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung nur eine sehr kleine Anzahl von Tieren untersucht, wodurch die Aussagekraft relativ gering ist.

2.3 Entwicklung der intestinalen Mikrobiota durchfallkranker Kälber

Die Entwicklung der Darmflora durchfallkranker Kälber unterscheidet sich zum Teil erheblich von derjenigen gesunder Kälber. Bei allen Keimgruppen lassen sich bei durchfallkranken Kälbern Veränderungen in der Entwicklung der intestinalen Bakterien im Vergleich zu gesunden Kälbern finden. Während die Aerobier und Enterobakterien beim durchfallkranken Kalb tendenziell erhöht sind, zeigen sich Anaerobier, Enterokokken und Laktobazillen zu bestimmten Zeitpunkten unterrepräsentiert. Enterobakterien waren nur bei Kälbern mit Frühdurchfall erhöht. Dies hängt vermutlich mit der Tatsache zusammen, dass manche zu den Enterobacteriaceae zählenden Keime, insbesondere *E. coli*, als bakterielle Verursacher von Kälberdurchfällen in den ersten Lebenstagen eine wichtige Rolle spielen (Constable, 2004; Foster und Smith, 2009). Hingegen sind die als protektiv geltenden *Lactobacillus* spp. und *Enterococcus* spp. (Guarner, 2006) im Vergleich zu Enterobacteriaceae und anderen im aeroben Keimspektrum vorhandenen Gattungen nicht nur relativ, sondern auch absolut unterrepräsentiert, wenn ein Kalb Durchfall entwickelt.

Zur Entwicklung der Keimzahlen durchfallkranker Kälber im Vergleich zu Kälbern ohne Durchfall existieren bisher keine Untersuchungen. Lediglich Youanes und Herdt (1987) verglichen Enterobakterienzahlen und die Gesamtbakterienzahlen von gesunden und an Durchfall erkrankten Kälbern im Alter zwischen 5 und 21 Tagen. Bei den Diarrhoe-Kälbern konnten sie erhöhte Gesamtkeimzahlen im Ileum und erhöhte Enterobakterienzahlen in allen Dünndarmsegmenten finden. Im Colon waren die Werte jedoch nahezu gleich (Youanes und Herdt, 1987). Dagegen gibt es zur Kolonisierung des Darmtraktes von Ferkeln eine wissenschaftliche Studie: Schulze et al. (1980) beobachteten bei Versuchen mit primären SPF-Ferkeln im Vergleich zu konventionellen Ferkeln eine deutlich höhere Durchfallinzidenz, oftmals im Zusammenhang mit einer *E.-coli*-Septikämie. In ihren Untersuchungen zur Entwicklung der Magen-Darm-Flora stellten sie fest, dass bei konventionell aufgezogenen Ferkeln die Laktobazillen bereits nach drei Tagen zur dominanten Keimgruppe des Gastrointestinaltrakts wurden. Bei den durch Hysterektomie gewonnenen und mutterlos aufgezogenen Ferkeln verzögerte sich die Besiedelung mit Laktobazillen stark und hatte selbst bei 14 Tage alten primären SPF-Ferkeln noch nicht das Niveau der konventionellen Ferkel erreicht. Schulze et al. (1980) verabreichten daraufhin undifferenzierte Laktobazillen aus dem Darmtrakt eines gesunden Läuferschweines unmittelbar nach der Geburt an die SPF-Ferkel. Die Applikation der Laktobazillen beeinflusste jedoch weder die Häufigkeit der Durchfälle noch die Mortalitätsrate. Dies könnte möglicherweise daran liegen, dass die verabreichten Laktobazillen im Gegensatz zur vorliegenden Studie nur zufällig aus dem Darmtrakt eines Schweines isoliert wurden und nicht anhand potentiell protektiver Eigenschaften ausgewählt wurden.

Wie auch in anderen Untersuchungen an zunächst keimfrei aufgezogenen Tieren demonstriert werden konnte, zeigen diese eine deutlich erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen (Collins und Carter, 1978; Fuller, 1978; Cebra, 1999). Ein Grund hierfür ist, dass die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota eine entscheidende Rolle bei der Reifung des Immunsystems spielt (Guarner und Malagelada, 2003). Zudem wirken Milchsäurebakterien wie Laktobazillen und Enterokokken aufgrund ihrer nutzbringenden Eigenschaften (Bildung antimikrobiell wirksamer Substanzen, Konkurrenz um Adhäsionsrezeptoren, Konkurrenz um Nährstoffe) protektiv gegenüber pathogenen Bakterien (Gilliland,

1990; Fuller, 1992; Nousiainen et al., 2004). Aus diesen Gründen werden sie häufig sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch als Probiotika eingesetzt (Fuller, 1992; Holzapfel et al., 1998; Marteau et al., 2001b).

Auch beim neugeborenen Kalb spielen diese verschiedenen Einflüsse der intestinalen Besiedelung augenscheinlich eine wichtige Rolle für die Gesundheit des Wirtes. Insbesondere den Laktobazillen kommt hierbei anscheinend eine herausragende Bedeutung zu. Wie bereits dargestellt, entwickeln die Kälber zu unterschiedlichen Zeitpunkten innerhalb der ersten beiden Wochen Durchfall. Gerade im Hinblick darauf, möglicherweise protektiv wirkende Keimgruppen zu erkennen, die sich schon vor Einsetzen des Durchfalls als unterrepräsentiert erweisen, wurden die Kälber je nach Beginn des Durchfalls in Gruppen unterteilt. Dabei fällt insbesondere bei den Kälbern mit Durchfall zum Zeitpunkt 48 h ($n = 16$) auf, dass sowohl die Enterokokken als auch die Laktobazillen der Durchfallkälber stark verringert sind. Während ein signifikanter Unterschied bei den Enterokokken erst in der 48-Stunden-Probe zu verzeichnen ist, ist die Laktobazillenzahl der Durchfallkälber bereits in der 24-Stunden-Probe, also einen Tag vor Auftreten des Durchfalls, signifikant verringert. Es besteht also ein deutlicher Zusammenhang zwischen einer erniedrigten Laktobazillenzahl und der nachfolgenden Entstehung von Durchfall. Im Umkehrschluss liegt daher die Vermutung nahe, dass sich eine hohe Anzahl von Laktobazillen als protektiv in Bezug auf Durchfall erweisen könnte. Dies sollte im zweiten, experimentellen Teilabschnitt des Projekts überprüft werden.

Um dafür die geeignete *Lactobacillus*-Spezies auszuwählen wurden mittels logistischer Regressionsanalyse die Keimzahlen der 10 am häufigsten nachgewiesenen Spezies von gesunden und durchfallkranken Kälbern verglichen. Dabei erwiesen sich *L. reuteri* zum Zeitpunkt 48 h und *L. mucosae* zum Zeitpunkt 7 d nach der Geburt als signifikant ($p < 0,05$) unterrepräsentiert. Da der Durchfall in den meisten Fällen bereits vor dem Zeitpunkt 7 auftritt (Abbildung 10), ist ein Eingreifen mit protektiven Keimen zu einem besonders frühen Zeitpunkt anzuraten. Da sich *L. reuteri* schon nach 48 h bei Durchfallkälbern als signifikant verringert zeigte und zudem die dominante *Lactobacillus*-Spezies gesunder Kälber darstellte, wurden Stämme dieser Spezies für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

2.4 Auswahl geeigneter Isolate für die Laktobazillensuspension

2.4.1 Antibiotika-Resistenzen von *L. reuteri*

Aufgrund der Gefahr der Resistenzgenübertragung schreibt die EFSA (European Food Safety Authority) eine Prüfung der Antibiotika-Resistenz von Bakterienstämmen vor, die als Zusatzstoffe in der Tierernährung Anwendung finden (EFSA, 2012a). Zu unterscheiden ist hierbei die sog. intrinsische Resistenz gegenüber einer erworbenen Resistenz. Die intrinsische Resistenz ist typisch für die entsprechende Bakteriengattung und birgt kaum die Gefahr der Übertragung. Im Gegensatz dazu sind bei der erworbenen Resistenz lediglich einzelne Stämme einer normalerweise sensiblen Spezies resistent. Die erworbene Resistenz kann einerseits durch Aufnahme exogener DNA oder andererseits durch Mutation wirtseigener DNA erfolgen (Ammor et al., 2007; van Reenen und Dicks, 2011). Während die Mutation eine untergeordnete Rolle für die Resistenzübertragung spielt, tragen zusätzlich erworbene Resistenzgene aufgrund horizontalen Gentransfers zwischen Bakterien in hohem Maße zur Verbreitung von Resistenzen bei (Devirgiliis et al., 2011; van Reenen und Dicks, 2011).

Ein Beispiel intrinsischer Resistenzen von Milchsäurebakterien ist die Resistenz heterofermentativer Laktobazillen gegenüber Vancomycin (Tynkkynen et al., 1998; Klein et al., 2000). Die Resistenz beruht dabei auf einer Veränderung in der Peptidoglykanstruktur der Zellwand heterofermentativer Laktobazillen, wodurch Vancomycin nicht mehr binden kann (Salminen et al., 1998; Tynkkynen et al., 1998). Auch in der vorliegenden Untersuchung wiesen alle 19 untersuchten Isolate eine Resistenz gegen Vancomycin auf. Gegenüber Ampicillin wiesen die Hälfte (2 von 4) der getesteten Stämme eine Resistenz auf, gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure über ein Drittel (7 von 19). Dies stimmt nicht mit der Annahme überein, dass Laktobazillen grundsätzlich sensibel auf Penicilline und Ampicilline reagieren (Danielsen und Wind, 2003; Hummel et al., 2007). Im Gegensatz dazu konnten Egervärn et al. (2007) Ampicillinresistenzen bei einigen *Lactobacillus-reuteri*-Stämmen nachweisen (Egervärn et al., 2007). *L. reuteri* mit Resistenz gegen Ampicillin wiesen in der Untersuchung von Rosander et al. (2008) chromosomale Punktmutation in Genen, welche für das Penicillin-Binding-Protein kodieren, auf. Da sich diese Gene nicht auf Plasmiden befinden, werden sie als nicht übertragbar erachtet (Rosander et al., 2008). Die Ergebnisse für Chloramphenicol, dessen MHK-Werte bei 2 - 4 mg/L lagen, sind in

Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Egervärn et al. (2007), die bei 49 untersuchten *L.-reuteri*-Isolaten lediglich ein Isolat mit abweichenden Werten und einer Resistenz gegenüber Chloramphenicol fanden. Im Gegensatz dazu zeigten sich fast alle *L.-reuteri*-Isolate aus Faeces von Ferkeln resistent gegen Chloramphenicol (Korhonen et al., 2007). Zwar ist die Anwendung von Chloramphenicol bei Nutztieren EU-weit untersagt, jedoch kann die Anwendung des für Schweine und Rinder zugelassenen Florfenicols zu Kreuzresistenzen gegen Chloramphenicol führen (Werckenthin und Schwarz, 2003). Während alle untersuchten Laktobazillen in der Studie von Korhonen et al. (2007) sensibel auf Clindamycin und Erythromycin reagierten, traten sowohl in der Untersuchung von Egervärn et al. (2007) als auch in der vorliegenden Studie Resistenzen gegenüber diesen Antibiotika auf. Egervärn et al. (2009) konnten in diesem Zusammenhang verschiedene Plasmid-kodierte Gene (*erm*(B), *erm*(C), *erm*(T)) nachweisen (Egervärn et al., 2009). Auch gegenüber Doxycyclin (ein Tetracyclin-Derivat) zeigten sich vier von 19 untersuchten Isolaten resistent. Dies deckt sich mit den Untersuchungen von Egervärn et al. (2007) und Korhonen et al. (2007), bei denen sogar ein größerer Anteil der untersuchten Isolate eine Resistenz gegenüber Tetracyclin aufwies. Egervärn et al. (2009) konnten dafür das Gen *tet*(W), welches in den meisten Fällen auf Plasmiden zu finden war, verantwortlich machen.

Insgesamt verfügte die Mehrzahl der untersuchten *L.-reuteri*-Isolate über mindestens eine Resistenz, welche sie, aufgrund der Gefahr einer Resistenzübertragung, für den Gebrauch als Futtermittelzusatzstoff für Tiere ausschloss (EFSA, 2012a). Aufgrund der aktuellen Resistenzproblematik in der Tierhaltung ist eine Prüfung der Antibiotika-Resistenzen von *L. reuteri* als äußerst wichtiges Kriterium bei der Auswahl geeigneter Isolate für ein Probiotikum einzustufen.

2.4.2 Evaluierung der Zytotoxizität

Aufgrund ihres traditionsreichen und weit verbreiteten Einsatzes als Probiotika werden Laktobazillen im Allgemeinen als nicht toxisch oder schädlich eingestuft und besitzen GRAS-Status (generally recognized as safe) (Salminen et al., 1998; Ouwehand et al., 2002; Borriello et al., 2003). Dennoch gibt es einige wenige Fälle, bei denen Laktobazillen, speziell *Lactobacillus rhamnosus* GG, bei Menschen im Zusammenhang mit opportunistischen Infektionen eine Rolle

spielten. Die meisten dieser Fälle traten jedoch bei Personen auf, die bereits an anderen schwerwiegenden Erkrankungen litten (Saxelin et al., 1996; Husni et al., 1997). Über eine *L.-reuteri*-assoziierte Krankheit existiert hingegen noch kein Bericht.

Um dennoch mögliche zellschädigende Einflüsse der ausgewählten *L.-reuteri*-Stämme zu untersuchen, wurde der MTT-Test angewendet. Die Zytotoxizität des Wachstumsmediums auf Verozellen wurde zur Kontrolle ebenfalls überprüft. Beide Isolate wiesen bei einem pH-Wert von 6,5 eine geringere Zytotoxizität als das alleinige Wachstumsmedium auf, wobei der Überstand von Isolat 11-8-5 Lac 1 die geringste Zytotoxizität aufwies. Auch im Vergleich zu dem mittels Milchsäure auf einen pH-Wert entsprechend der Überstände eingestellten Medium wiesen die Teststämme keine höhere Toxizität auf. Die Ergebnisse des MTT-Test stimmen mit vergleichbaren Untersuchungen zur Zytotoxizität von Laktobazillen weitgehend überein (Motevaseli et al., 2013). Die erhöhte Zytotoxizität bei niedrigeren pH-Werten beruht somit vermutlich ausschließlich auf der von den Teststämmen gebildeten Säure, deren Produktion jedoch als protektive Eigenschaft probiotischer Bakterien angesehen wird (O'Hara und Shanahan, 2007). Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurden beide Isolate als nicht toxisch für Verozellen eingestuft.

2.4.3 Überlebensfähigkeit ausgewählter Isolate während der Magen-Darm-Passage

Eines der zunächst wichtigsten Kriterien für die spätere Funktionalität eines Probiotikums ist die Überlebensfähigkeit während der Magen-Darm-Passage. Dabei wirken sich insbesondere folgende Faktoren auf die Überlebensfähigkeit einer Bakteriums aus: Der pH-Wert der Magensäure, die Verweildauer im Magen, die Konzentration der Gallensalze im Dünndarm und die Dauer der Aussetzung gegenüber Gallensalzen (Bezkorovainy, 2001). In vitro werden dafür insbesondere die Stabilität gegenüber niedrigen, der Magensäure entsprechenden pH-Werten und gegenüber Gallensalzen in physiologischer Konzentration geprüft (Saarela et al., 2000; FAO/WHO, 2002). Gallensalze wirken vor allem durch Lyse der Zellmembranen antibakteriell. Die von verschiedenen Bakterien gebildete Gallensalzhydrolase (bile salt hydrolase, BSH) katalysiert die Dekonjugation von Gallensalzen (Begley et al., 2005; Begley et al., 2006). Die Aktivität der BSH wird als ein Faktor angesehen, der Bakterien vor der Toxizität konjugierter

Gallensäuren schützen kann (Smet et al., 1995). Zudem verfügen einige Laktobazillen, darunter *L. reuteri*, über genetisch kodierte Resistenzmechanismen, die durch Veränderung der Zelloberfläche zu einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegenüber Säure und Gallensalzen führen (Whitehead et al., 2008; Sengupta et al., 2013).

Die beiden untersuchten *L.-reuteri*-Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 erwiesen sich insgesamt als relativ stabil gegenüber Gallensalzen in hohen Konzentrationen von 1,5 % (physiologische Konzentration: ca. 0,3 %; Morelli, 2000). Auch ein pH-Wert von 3 beeinträchtigte die Überlebensrate der untersuchten Isolate nicht. Erst pH-Werte ab 2 führten zu einer stärkeren Abnahme der Zellzahlen innerhalb von 4 h. Dabei erwies sich das Isolat 11-8-5 Lac 1 als sensibler gegenüber niedrigen pH-Werten, jedoch erst ab einer Behandlungsdauer von über 2 h. Auch Conway et al. (1987) können in ihren Untersuchungen spezifische Stammunterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber niedrigen pH-Werten und Magensaft finden. Generell zeigten sich die intestinalen Isolate (*L. acidophilus*) jedoch deutlich stabiler als Joghurtkulturen (*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus*). Beim Vergleich der Zellzahlen mit der vorliegenden Untersuchung zeigten sich die in der vorliegenden Studie untersuchten *L.-reuteri*-Isolate deutlich stabiler gegenüber niedrigen pH-Werten als *L. acidophilus* humanen Ursprungs (Conway et al., 1987). Die hohe Resistenz beider Stämme gegenüber Gallensalzen lässt sich in Bezug auf die Verwendung als Probiotikum positiv beurteilen, da dieses Kriterium auch in vivo Effekte auslöst. So konnten Gilliland et al. (1984) in einem Fütterungsversuch an Kälbern zeigen, dass sich die Verabreichung eines galleresistenteren Stammes stärker auf die Laktobazillenzahlen im Dünndarm auswirkt als die Verabreichung eines sensibleren Stammes (Gilliland et al., 1984).

Wird ein Kalb zweimal täglich getränkt, liegt der durchschnittliche pH-Wert im Magen bei etwa 3,4. Bei einem nüchternen Kalb kann der pH-Wert unter 2 fallen. Unmittelbar nach der Tränkung steigt der pH-Wert jedoch in wenigen Minuten auf Werte von 5 - 6 an, um postprandial innerhalb von 6 - 8 Stunden kontinuierlich auf den Ausgangswert abzusinken (Ahmed et al., 2002). Da sich beide Isolate gegenüber einem pH-Wert von 3 als relativ stabil erwiesen und auch die Exposition gegenüber Gallensäuren zu keiner starken Abnahme der Zellzahlen führte, wurden beide Isolate als geeignet für den Einsatz als

Substitutionsprophylaktikum eingestuft. Die höhere Empfindlichkeit gegenüber einem pH-Wert von 2 bei einer längeren Aussetzungsdauer konnte vernachlässigt werden, da für den anschließenden Fütterungsversuch eine Verabreichung des Gebrauchsmusters unmittelbar vor der Fütterung vorgesehen war und die Isolate somit nur sehr kurze Zeit diesen niedrigen pH-Werten ausgesetzt wären. In vitro Versuche zeigen zudem eine Verlängerung der Überlebensdauer von Laktobazillen durch eine Zugabe von Milch (Conway et al., 1987).

2.4.4 Antimikrobielle Aktivität gegen Pathogene

Beide Isolate zeigten eine leichte antimikrobielle Aktivität gegenüber häufigen pathogenen Durchfallerregern beim Kalb. Tendenziell waren die Inhibitionszonen von 6-15-5 Lac 2 etwas größer, jedoch nicht in allen Fällen. Die antimikrobielle Wirkung zeigte sich lediglich bei den unveränderten Überständen der Isolate (pH = 4,4), wohingegen die neutralisierten Überstände keinerlei Wachstumshemmung hervorriefen. Die Hemmwirkung auf die Pathogene wurde jedoch offenbar nicht (ausschließlich) durch den niedrigen pH-Wert des Überstandes erzeugt, da die auf den gleichen pH-Wert eingestellte Bouillon zu keiner Hemmung des Wachstums führte. Diese Beobachtung könnte möglicherweise damit zu erklären sein, dass die gebildeten Substanzen nur in saurem Milieu aktiv sind. Auch zeigen schwache Säuren, wie beispielsweise Milchsäure, bekanntermaßen eine stärkere antimikrobielle Wirkung bei niedrigeren pH-Werten (Ouwehand und Vesterlund, 2004). Ein weiterer Grund könnte jedoch auch sein, dass Milchsäure die Zellwand von Bakterien permeabel werden lässt und damit die Wirkung anderer antimikrobieller Substanzen potenziert (Alakomi et al., 2000). Im Versuchsansatz mit neutralisiertem Überstand waren mögliche gebildete Bakteriozine somit eventuell wirkungslos. Zudem ist anzumerken, dass die antimikrobielle Sensitivität von Bakterien auf Bakteriozine auch von deren Wachstumsbedingungen (z. B. Salzkonzentration, pH-Wert) und zahlreichen weiteren Faktoren beeinflusst wird (Rea et al., 2011). Mit der Zugabe von Glycerol, aus welchem von *L. reuteri* die antimikrobielle Substanz Reuterin gebildet wird, konnte insgesamt keine Steigerung der antimikrobiellen Wirkung hervorgerufen werden. Dies könnte daran liegen, dass die Produktion von Reuterin erst durch die direkte Interaktion von *L. reuteri* mit anderen Mikroorganismen stimuliert wird (Chung et al., 1989; Schaefer et al., 2010). Im vorliegenden Versuchsansatz wurden jedoch lediglich die Überstände

und keine lebenden Zellen zu den Pathogenen gegeben. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurden beide Isolate als geeignet für die Verwendung in dem Gebrauchsmuster eingestuft.

2.5 Wirksamkeit der entwickelten Laktobazillensuspension

Die entwickelte Laktobazillensuspension erwies sich als wirksam für die Prophylaxe von Durchfallerkrankungen von Kälbern in der 1. Lebenswoche und führte zu einer signifikanten Reduktion der Durchfallinzidenz um knapp 35 %. Als zentrale Mechanismen, die den gesundheitsfördernden Wirkungen von Probiotika zugrunde liegen, werden die Inhibition von Pathogenen und Aufrechterhaltung der mikrobiologischen Homöostase durch direkte Wechselwirkungen der Darmbakterien, die Verbesserung der Barrierefunktion des Darmepithels und die Regulierung der Immunantwort angesehen (Fuller, 1992; Lebeer et al., 2008). Auch in der vorliegenden Untersuchung könnten die genannten Mechanismen für die Reduktion der Durchfallinzidenz neugeborener Kälber eine wichtige Rolle gespielt haben. Zum einen könnten sich eine direkte antimikrobielle Wirkung und eine Stärkung der Schleimhautbarriere hemmend auf die Vermehrung und Invasion von Enteropathogenen ausgewirkt haben. Zum anderen ist eine frühestmögliche Entwicklung des Immunsystems, insbesondere beim neugeborenen Kalb, welches ohne schützende Antikörper geboren wird (Schnorr und Kressin, 2011), als wichtiges Kriterium beim Schutz vor Infektionen anzusehen.

Die Effektivität der entwickelten Laktobazillensuspension in der Diarrhoe-Prävention im Vergleich zu bisher getesteten Probiotika beim Kalb wird vermutlich von verschiedenen Faktoren beeinflusst, die sich gegenseitig in ihrer Wirkung ergänzen:

Ein wichtiger Aspekt könnte die Verabreichung von speziell an das Kalb adaptierten Stämmen sein. Diese könnten die Wirksamkeit des Probiotikums positiv beeinflusst haben, da sich eine wirtsspezifische Mikrobiota als deutlich stabiler als eine nicht angepasste Mikrobiota erweist (Bernbom et al., 2006). Auch die Reifung des intestinalen Immunsystems wird von der Anwesenheit einer wirtsspezifischen, nicht jedoch artfremden, Mikrobiota beeinflusst (Chung et al., 2012). Gerade im Fall von *L. reuteri* gibt es eine große genetische Variabilität zwischen Stämmen unterschiedlicher Wirtsspezies. Diese wirtsspezifische

Evolution erlaubte die Entwicklung speziell an den Wirt angepasster symbiotischer Mikroorganismen (Oh et al., 2010; Frese et al., 2011). Auch die Verabreichung von aktiven Zellen mittels Suspension könnte im vorliegenden Versuch die durchfallprophylaktische Wirkung des Gebrauchsmusters verbessert haben. Die meisten Probiotika werden dagegen in gefriergetrockneter oder sprühgetrockneter Form verabreicht. Jedoch kann dieser Trocknungsprozess zum Absterben der Zellen oder zu einer verminderten Aktivität führen (Anal und Singh, 2007). Des Weiteren konnten durch den Vergleich zwischen gesunden Kälbern und Durchfall-Kälbern, insbesondere noch vor der Entstehung des Durchfalls, mögliche protektive Spezies erkannt werden. Erst dieser Vergleich ermöglichte die Auswahl von der in Durchfallkälbern unterrepräsentierten Spezies *L. reuteri* für das Probiotikum. Diese Vorgehensweise unterscheidet sich von allen bisherigen Versuchen, bei denen potentielle Kandidatenkeime entweder zufällig selektiert wurden oder nur anhand von in-vitro-Testergebnissen ausgewählt wurden.

L. reuteri konnte sowohl bei Menschen als auch bei zahlreichen Tierarten, darunter auch Rinder, als zentraler Bestandteil der natürlichen Laktobazillenpopulation identifiziert werden (Mitsuoka, 1992). Studien an hospitalisierten und gesunden Kindern, gesunden Erwachsenen und HIV-Patienten belegen, dass die Verabreichung von *L. reuteri* gesundheitlich unbedenklich ist und keine negativen Effekte nach sich zieht (Ruiz-Palacios et al., 1992; Wolf et al., 1995; Shornikova et al., 1997a; Wolf et al., 1998). Im Gegenteil wird *L. reuteri* eine Vielzahl positiver Eigenschaften zugeschrieben. So wird beispielsweise ausschließlich von *L. reuteri* aus Glycerol eine antimikrobielle Substanz, genannt Reuterin, gebildet, welche gramnegative Bakterien (darunter *E. coli* und Salmonellen), grampositive Bakterien, Hefen, Schimmelpilze und Protozoen in ihrem Wachstum hemmt (Axelsson et al., 1989; Talarico und Dobrogosz, 1989). In vitro zeigte *L. reuteri* außerdem eine antivirale Aktivität gegen porcine Rotaviren (Seo et al., 2010). Die genauen Mechanismen, die zu einem Schutz der Enterozyten vor Virusinfektionen führen, sind bisher noch nicht vollständig geklärt. Es wird jedoch angenommen, dass die Ausschüttung von Zytokinen (Interleukin 6 und 12, Interferon γ) dabei eine wichtige Rolle spielt (Maragkoudakis et al., 2010). Versuche mit Mäusen und Ferkeln geben zudem Hinweise, dass *L. reuteri* auch bei experimenteller Infektion mit *Cryptosporidium*

parvum, der in der Studie am häufigsten nachgewiesene Durchfallerreger bei Kälbern, die intestinale Kolonisierung hemmt und durchfallprotektive Eigenschaften aufweist (Waters et al., 1999; Casas und Dobrogosz, 2000). Waters et al. (1999) vermuten, dass die protektive Wirkung auf die Sekretion einer noch unbekannten, antimikrobiellen Substanz zurückzuführen ist. Studien an Kindern konnten zudem zeigen, dass *L. reuteri* sowohl in der Behandlung von (Rotavirus-induzierter) Diarrhoe (Shornikova et al., 1997a; Shornikova et al., 1997b; Francavilla et al., 2012) als auch in der Prävention von Durchfall (Ruiz-Palacios et al., 1996) erfolgreich eingesetzt werden kann. Die Beobachtungen aus dem vorliegenden Projekt scheinen die Ergebnisse aus vorangegangenen Studien zu stützen, da auch hier positive Effekte von *L. reuteri* sowohl in der Prävention von Durchfall im Allgemeinen als auch in der Reduktion von Rotavirus- und Cryptosporidien-induziertem Durchfall im Speziellen feststellbar waren.

Die Wirksamkeit des Substitutionsprophylaktikums erstreckte sich nur über die erste Lebenswoche der Kälber. Da die Laktobazillensuspension jedoch nur in den ersten vier Lebenstagen verabreicht wurde, könnte eine Wirkung über die erste Woche hinaus eventuell durch eine längere Verabreichung des Probiotikums erreicht werden. Andererseits konnten auch sehr frühe Durchfälle, die bei Kälbern im Alter von zwei Tagen auftraten, mit Hilfe des Prophylaktikums nicht verringert werden. Wie der Vergleich mit den Ergebnissen des ersten Versuchsabschnittes verdeutlicht, sind Durchfälle ohne Beteiligung von Rotaviren, Coronaviren, *E. coli* F5 oder *Cryptosporidium parvum* vor allem in den ersten Lebenstagen verbreitet. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen konnten auch im Fütterungsversuch bei der großen Mehrheit der Kälber, die am 2. Tag nach der Geburt Durchfall entwickelten, keine derartigen Erreger mittels ELISA nachgewiesen werden. Die scheinbare Wirkungslosigkeit der *L.-reuteri*-Suspension bei Durchfällen ohne Beteiligung der häufigsten bekannten Erreger könnte daher möglicherweise eher auf die noch nicht einsetzende Wirkung am 2. Tag nach der Geburt zurückzuführen sein. Laktobazillen zeigen auch im ersten Versuchsabschnitt der Studie eine im Vergleich zu anderen Bakteriengattungen verzögerte Entwicklung. Dadurch wäre es denkbar, dass auch die entsprechende Wirkung erst ca. 48 h nach der Verabreichung der Laktobazillensuspension eintritt. Da die Suspension den Kälbern erst ca. 24 h nach der Geburt verabreicht wurde, ließe sich die Wirksamkeit gegenüber diesen unspezifischen

Frühdurchfällen möglicherweise durch eine hochdosierte Gabe unmittelbar nach der Geburt erreichen. Auch Fuller (1992) stellt fest, dass Neugeborene besonders gut auf die Gabe eines Probiotikums ansprechen. Er empfiehlt daher eine frühestmögliche Verabreichung. Zur Klärung dieser Fragestellungen wären jedoch weiterführende Studien erforderlich.

Bei der Betrachtung der Keimzahlen waren zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe während des Untersuchungszeitraumes keine signifikanten Unterschiede bei den untersuchten Keimgruppen (Anaerobier, Enterobacteriaceae, Enterokokken, Laktobazillen) feststellbar. Tendenziell war jedoch ein leichter Anstieg der Laktobazillen in der Versuchsgruppe zu verzeichnen. Auch andere Autoren konnten bei der Fütterung von Laktobazillen an Kälber eine Erhöhung der Laktobazillenzahlen feststellen (Gilliland et al., 1980; Gilliland et al., 1984; Frizzo et al., 2011). Die Applikation kälberspezifischer *L.-acidophilus*-Stämme führte in den Untersuchungen von Gilliland et al. (1980 und 1984) zu signifikant höheren Laktobazillenzahlen im Dünndarm; wie in der vorliegenden Studie waren die Veränderungen in den Faecesproben jedoch nicht signifikant. Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen konnte in manchen Untersuchungen zum Einfluss einer Verabreichung von Probiotika eine Verminderung der Enterobakterienzahlen beobachtet werden (Ellinger et al., 1980; Timmerman et al., 2005). Bei genauerer Betrachtung der genannten Studien fällt jedoch auf, dass die Veränderungen auf die Mikroökologie des Darmes deutlich später als in dem hier betrachteten Zeitraum auftraten. Bednorz (2013) kann bei der Verabreichung eines probiotischen *Ent.-faecium*-Stammes an gesunde Ferkel zwar keine Veränderung der fäkalen *E.-coli*-Zahlen feststellen, hingegen jedoch eine Reduktion pathogener *E.-coli*-Stämme (Bednorz et al., 2013). Da jedoch im Fütterungsversuch keine Isolierung und Differenzierung von Einzelkeimen vorgenommen wurde, lässt sich diese Beobachtung in der vorliegenden Studie nicht überprüfen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es mit Hilfe dieses neuen Versuchsansatzes, bei dem die Zusammensetzung der Darmflora die Grundlage für die Selektion probiotischer Bakterien bildete, gelungen ist, Diarrhoe-Erkrankungen neugeborener Kälber in der ersten kritischen Lebenswoche signifikant zu reduzieren.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Die Entwicklung der intestinalen Mikrobiota neugeborener Kälber ist noch weitgehend unerforscht. Wissenschaftliche Untersuchungen an anderen Tierarten zeigen jedoch eine herausragende Bedeutung der perinatalen mikrobiellen Besiedelung des Intestinaltraktes bei der Prävention von Infektionserkrankungen auf. Insbesondere in der Prophylaxe von Neugeborenendiarrhoe, der häufigsten und wirtschaftlich bedeutsamsten Erkrankung in der Kälberaufzucht, wird bestimmten Bakteriengruppen, wie beispielsweise Milchsäurebakterien, eine wichtige Rolle beigemessen. In der vorliegenden Arbeit wurde im Rahmen von zwei konsekutiven Studien überprüft, inwieweit der perinatale Status der Darm-Mikrobiota Einfluss auf die Entwicklung von Durchfallerkrankungen hat und ob dieses Geschehen durch prophylaktische Substitutionsmaßnahmen positiv beeinflusst werden kann.

In der ersten, „beobachtenden“ Studie wurden hierfür Kotproben von 150 Kälbern unmittelbar nach der Geburt und zu den Zeitpunkten 6 h/12 h/24 h/48 h/72 h/7 d nach der Geburt gewonnen. Anschließend wurde mit kulturellen (Selektivnährböden; aerob/anaerob) und molekularbiologischen Verfahren (MALDI-TOF MS; RAPD-PCR) die Entwicklung der bakteriellen Darm-Mikrobiota (aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl, sowie Enterobacteriaceae, Laktobazillen und Enterokokken) in qualitativer und quantitativer Hinsicht erfasst. Parallel dazu erfolgte die Protokollierung des Gesundheitsstatus der Tiere. Zudem wurden verschiedene infektiöse und prädisponierende Faktoren erfasst, die an der Entstehung von Neugeborenendiarrhoe bei Kälbern beteiligt sind. Dafür wurde zu jedem Kalb ein Datenblatt erstellt, welches Informationen zur Identität des Kalbes, Geschlecht, Rasse, Geburtsdatum, Geburtsgewicht, Geburtsverlauf, Gesundheitszustand nach der Geburt, Muttertier, Kolostrumaufnahme sowie Auftreten von Durchfall und Medikamentengaben enthielt. Des Weiteren wurden Kotproben von an Durchfall erkrankten Kälbern mittels ELISA auf das Vorhandensein von Rotaviren, Coronaviren, *E. coli* F5 und *Cryptosporidium parvum* untersucht.

Sowohl die aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl, als auch die Keimzahlen der Enterobacteriaceae und Enterokokken stiegen bei gesunden Kälbern zwischen 6 h

und 24 h signifikant an. Abgesehen von den Anaerobiern, den vorherrschenden Keimen der intestinalen Mikrobiota ausgewachsener Rinder, sanken die Keimzahlen nach Erreichen eines Plateaus bei 48 h wieder ab. Die Laktobazillen entwickelten sich langsamer (signifikanter Anstieg erst nach 12 h) und stiegen bis zum 7. Tag nach der Geburt kontinuierlich auf einen Mittelwert von zuletzt $6,8 \cdot 10^7$ KBE/g an. Die Auswertung der bakteriologischen Ergebnisse unter Berücksichtigung des Gesundheitsverlaufs (gesunde Kälber versus Diarrhoe-Kälber) ermöglichte es, bakterielle Dysbiosen, insbesondere das Fehlen bestimmter (protektiver) Mikroorganismen, bei der Entwicklung der Bakterienpopulationen von Diarrhoe-Kälbern zu erkennen. Ein statistisch basierter Vergleich gesunder und erkrankter Kälber gab Auskunft darüber, in welcher Weise sich die Entwicklung der Darmbakterien beider Gruppen unterscheidet. Dabei war festzustellen, dass bei an Durchfall erkrankten Kälbern Anaerobier, Enterokokken und Laktobazillen zu bestimmten Zeitpunkten nach der Geburt signifikant erniedrigt waren, wohingegen die Zahl der Aerobier teilweise erhöht war. Enterobacteriaceae traten bei Kälbern mit Frühdurchfall in signifikant höheren Keimzahlen auf. Von besonderem Interesse war jedoch, dass bereits vor dem Auftreten erster klinischer Symptome Abweichungen in der Zusammensetzung der Mikroorganismengemeinschaft (Unterrepräsentation der Laktobazillen) auftraten. Beim Vergleich auf Speziesebene konnten ebenfalls signifikante Unterschiede im Auftreten einzelner *Lactobacillus*-Spezies festgestellt werden.

Von insgesamt 150 untersuchten Kälbern erkrankten 46,7 % innerhalb der ersten beiden Lebenswochen an Durchfall. Dabei wurde die Durchfallinzidenz von mehreren Faktoren statistisch signifikant beeinflusst: Kälber primiparer Muttertiere, Kälber, die im Herbst geboren wurden und Kälber, deren Mütter nicht geimpft wurden, erkrankten signifikant häufiger an Diarrhoe. Außerdem war eine inadäquate Kolostrumversorgung (weniger als 2 l und später als 2 h p. n.) mit der Entwicklung einer Durchfallerkrankung assoziiert. Mittels ELISA konnte bei insgesamt 40,4 % der an Diarrhoe erkrankten Kälber als häufigstes Enteropathogen *Cryptosporidium parvum* nachgewiesen werden. Auch Rotaviren konnten relativ häufig, bei 28,1 % der Diarrhoe-Kälber, detektiert werden. Dagegen traten Coronaviren seltener (12,3 %), jedoch betriebsweise gehäuft auf.

Alle untersuchten Kotproben ergaben einen negativen Befund bezüglich *E. coli* F5.

Mit Hilfe der Erkenntnisse aus der bakteriologischen Untersuchung wurde als potentiell protektiver Kandidatenkeim *Lactobacillus reuteri* ermittelt, da diese Spezies bei gesunden Kälbern im Vergleich zu durchfallkranken Kälbern signifikant häufiger und in signifikant höheren Keimzahlen vorkam. Nach Prüfung verschiedener Parameter in vitro (phänotypische Antibiotikaresistenz, pH- und Galle-salzstabilität, Zytotoxizität, antimikrobielle Aktivität gegen Pathogene) wurden in der zweiten, „experimentellen“ Studie zwei verschiedene aus gesunden Kälbern der vorhergehenden Studie isolierte *L.-reuteri*-Stämme oral an Kälber verabreicht, um festzustellen, inwieweit dadurch Kälber speziell in den ersten beiden kritischen Lebenswochen vor Durchfall wirksam geschützt werden können. Die verabreichte Laktobazillensuspension erwies sich in der placebokontrollierten Studie mit insgesamt 170 Kälbern als vielversprechendes Diarrhoe-Prophylaktikum, da sie in der Lage war, die Durchfallinzidenz in der 1. Lebenswoche signifikant um 35 % zu verringern ($p < 0,05$). Während in der Placebogruppe 42,2 % der Kälber in der 1. Lebenswoche eine Durchfallerkrankung entwickelten, erkrankten in der Versuchsgruppe lediglich 27,7 % der Kälber. Insbesondere Diarrhoe-Erkrankungen mit Rotavirus-Beteiligung konnten mit Hilfe der *L.-reuteri*-Suspension signifikant von 12,0 % auf 3,6 % reduziert werden.

VII SUMMARY

The development of the intestinal microbiota of newborn calves is largely unexplored. However, scientific research in other animal species shows that perinatal microbial colonization of the intestinal tract is extremely important in the prevention of infectious diseases. In particular, certain bacterial groups, such as lactic acid bacteria, play a major role in the prophylaxis of neonatal diarrhea, the most common and economically most significant disease in calf-rearing. In two consecutive studies, this project examines the extent to which the perinatal status of the gut microbiota affects the development of diarrhea and whether this event can be influenced by prophylactic substitution measures.

In the first study (observational), feces samples were collected from 150 calves immediately after birth and at 6, 12, 24, 48, 72 hours and 7 days after birth. Subsequently, the development of the bacterial gut microbiota (aerobes, anaerobes, Enterobacteriaceae, lactobacilli and enterococci) was analyzed using cultural (selective culture medium; aerobe/anaerobe) and molecular-biological (MALDI-TOF MS; RAPD-PCR) methods. Concurrently, the health status of the animals was recorded. In addition, various infectious and predisposing factors that are involved in neonatal calf diarrhea were investigated. For this purpose, a data sheet was created for each calf on which to record information on calf identity, sex, breed, date of birth, birth weight, parturition, health at birth, dam, colostrum intake, occurrence of diarrhea and drug administration. In addition, feces samples from calves that contracted diarrhea were examined by ELISA for the presence of rotaviruses, coronaviruses, *E. coli* F5 and *Cryptosporidium parvum*.

The aerobe, anaerobe, Enterobacteriaceae and enterococcus counts of healthy calves increased significantly between 6 and 24 hours. Apart from the anaerobes, the predominant germs in the intestinal microbiota of adult cattle, bacterial counts decreased after reaching a plateau at 48 hours. Lactobacilli developed at a slower rate (no significant increase before 12 hours) and increased continuously until day 7 after birth to a mean value of 6.8×10^7 CFU/g. The analysis of the bacteriological findings with consideration of health status (healthy calves versus calves with diarrhea) showed intestinal dysbiosis, in particular the absence of certain (protective) microbes, in the development of bacterial populations of

calves with diarrhea. A statistically based comparison of healthy and diseased calves revealed how the development of gut bacteria differs between the two groups. It could be shown that anaerobe, enterococcus and lactobacillus counts of scouring calves were significantly lower at certain time points after birth while aerobes were partially elevated. Enterobacteriaceae counts were significantly higher in calves with early diarrhea. Of special interest was the finding that changes in the composition of intestinal microbiota (underrepresentation of lactobacilli) occurred even *before* clinical signs appeared. Comparison on species level also revealed significant differences in the occurrence of different *Lactobacillus* species.

Of the 150 calves examined in total, 46.7% developed diarrhea in the first two weeks of life. The incidence of diarrhea was significantly affected by several factors: calves of primiparous cows, calves born in autumn and calves from non-vaccinated dams diseased significantly more frequently. Furthermore, development of diarrhea was associated with inadequate colostrum intake (less than 2 l and later than 2 h p.n.). The most common pathogen was *Cryptosporidium parvum*, which was detected via ELISA in 40.4% of the scouring calves. Rotaviruses were also relatively common and were detected in 28.1% of scouring calves. In contrast, coronaviruses occurred overall less frequently (in 12.3%), but with increased frequency on certain farms. All of the investigated feces samples were negative for *E. coli* F5.

The results of the bacteriological analysis showed *Lactobacillus reuteri* to be a potentially protective candidate germ, since this species appeared significantly more frequently and in significantly higher bacterial counts in healthy than in scouring calves. After screening various parameters in vitro (phenotypical antibiotic resistance, pH and bile-salt stability, cytotoxicity, antimicrobial activity against pathogens), two different *L. reuteri* strains that were isolated from healthy calves in the first study were administered orally to calves in the second study (experimental) in order to ascertain the extent to which calves could be protected from diarrhea in their first two weeks of life. In the placebo-controlled study, the lactobacillus suspension administered to 170 calves was revealed to be a promising diarrhea prophylactic, since it was able to reduce diarrhea incidence in the first week of life significantly by 35% ($p < 0.05$). In the placebo group 42.2% of calves developed diarrhea in the first week of life, whereas only 27.7% of

calves of the experimental group became diseased. In particular, cases of diarrhea with rotavirus involvement were reduced significantly from 12.0% to 3.6% due to the application of the *L. reuteri* suspension.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

- Abe F, Ishibashi N, Shimamura S (1995):** Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J Dairy Sci* 78: 2838–2846.
- Abu-Tarboush HM, Al-Saiady MY, Keir El-Din AH (1996):** Evaluation of diet containing Lactobacilli on performance, fecal Coliform, and Lactobacilli of young dairy calves. *Anim Feed Sci Technol* 57: 39–49.
- Acres S (1985):** Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in newborn calves: A review. *J Dairy Sci* 68: 229–256.
- Aguirre M, Collins MD (1993):** Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol* 75: 95–107.
- Agunod M, Yamaguchi N, Lopez R, Luhby AL, Glass GB (1969):** Correlative study of hydrochloric acid, pepsin, and intrinsic factor secretion in newborns and infants. *Am J Dig Dis* 14 (6): 400–414.
- Ahmed AF, Constable PD, Misk NA (2002):** Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *J Dairy Sci* 85: 1502–1508.
- Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, Helander IM (2000):** Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl Environ Microbiol* 66: 2001–2005.
- Alam M, Midtvedt T, Uribe A (1994):** Differential cell kinetics in the ileum and colon of germfree rats. *Scandinavian journal of gastroenterology* 29: 445–451.
- Ammor MS, Florez AB, Mayo B (2007):** Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiol* 24: 559–570.
- Anal AK, Singh H (2007):** Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Tech* 18: 240–251.
- Anderson BC (1981):** Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *J Am Vet Med Assoc* 178: 982–984.
- Andrade GI, Coura FM, Santos EL, Ferreira MG, Galinari GC, Facury F, de C, Lage AP, Heinemann MB (2012):** Identification of virulence factors by multiplex PCR in *Escherichia coli* isolated from calves in Minas Gerais, Brazil. *Trop Anim Health Prod* 44: 1783–1790.
- Angelakis E, Million M, Henry M, Raoult D (2011):** Rapid and accurate bacterial identification in probiotics and yoghurts by MALDI-TOF mass spectrometry. *J Food Sci* 76: M568–72.
- Argenzio RA (1985):** Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1: 461–469.
- Argenzio RA, Liacos JA, Levy ML, Meuten DJ, Lecce JG, Powell DW (1990):** Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology* 98: 1129–1140.

Axelsson LT, Chung TC, Dobrogosz WJ, Lindgren SE (1989): Production of a Broad Spectrum Antimicrobial Substance by *Lactobacillus reuteri*. Microb Ecol Health Dis 2: 131–136.

Azzam SM, Kinder JE, Nielsen MK, Werth LA, Gregory KE, Cundiff LV, Koch RM (1993): Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. J Anim Sci 71: 282–290.

Baier W, Walser K, Rüsse I (1967): Über die bakterielle Kontamination des Kalbes während der Geburt und in den ersten Lebensstunden. Tierärztl Umschau 22: 118–124.

Barrow PA, Fuller R, Newport MJ (1977): Changes in the microflora and physiology of the anterior intestinal tract of pigs weaned at 2 days, with special reference to the pathogenesis of diarrhea. Infect Immun 18: 586–595.

Bartels CJM, Holzhauer M, Jorritsma R, Swart WAJM, Lam TJGM (2010): Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. Prev Vet Med 93: 162–169.

Baruzzi F, Poltronieri P, Quero GM, Morea M, Morelli L (2011): An in vitro protocol for direct isolation of potential probiotic lactobacilli from raw bovine milk and traditional fermented milks. Appl Microbiol Technol 90: 331–342

Bauer K (1986): Experiences with local administration of herd-specific vaccines. Tierärztl Prax 14: 51–54.

Bednorz C, Guenther S, Oelgeschlager K, Kinnemann B, Pieper R, Hartmann S, Tedin K, Semmler T, Neumann K, Schierack P, Bethe A, Wieler LH (2013): Feeding the probiotic *Enterococcus faecium* strain NCIMB 10415 to piglets specifically reduces the number of *Escherichia coli* pathotypes that adhere to the gut mucosa. Appl Environ Microbiol 79: 7896–7904.

Begley M, Gahan CG, Hill C (2005): The interaction between bacteria and bile. FEMS Microbiology Reviews 29: 625–651.

Begley M, Hill C, Gahan CGM (2006): Bile salt hydrolase activity in probiotics. Appl Environ Microbiol 72: 1729–1738.

Bejuk D, Begovac J, Gamberger D, Kucisec-Tepes N (2000): Evaluation of phenotypic characteristics for differentiation of enterococcal species using an example based algorithm. Diagn Microbiol Infect Dis 38: 201–205.

Bellosa ML, Nydam DV, Liotta JL, Zambriski JA, Linden TC, Bowman DD (2011): A comparison of fecal percent dry matter and number of *Cryptosporidium parvum* oocysts shed to observational fecal consistency scoring in dairy calves. J Parasitol 97: 349–351.

Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sanaa M (1999a): Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. Vet Res 30: 61–74.

Bendali F, Sanaa M, Bichet H, Schelcher F (1999b): Risk factors associated with diarrhoea in newborn calves. Vet Res 30: 509–522.

Bennett R, Gorbach S, Goldin B, Chang T, Laughon B, Greenough W, Bartlett J (1996): Treatment of relapsing *Clostridium difficile* diarrhea with *Lactobacillus* GG. Nutr Today 31: S35–S38.

Benson AK, Kelly SA, Legge R, Ma F, Low SJ, Kim J, Zhang M, Oh PL, Nehrenberg D, Hua K, Kachman SD, Moriyama EN, Walter J, Peterson DA,

Pomp D (2010): Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *P Natl Acad Sci USA* 107: 18933–18938.

Berge A, Besser T, Moore D, Sischo W (2009a): Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves. *J Dairy Sci* 92: 286–295.

Berge ACB, Moore DA, Besser TE, Sischo WM (2009b): Targeting therapy to minimize antimicrobial use in preweaned calves: effects on health, growth, and treatment costs. *J Dairy Sci* 92: 4707–4714.

Bernbom N, Norrung B, Saadbye P, Molbak L, Vogensen F, Licht T (2006): Comparison of methods and animal models commonly used for investigation of fecal microbiota: effects of time, host and gender. *J Microbiol Methods* 66: 87–95.

Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL (1994): *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 35: 483–489.

Berridge MV, Herst PM, Tan AS (2005): Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnol Annu Rev* 11: 127–152.

Bezkorovainy A (2001): Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr* 73: 399S–405S.

Biewer C (2001): Epidemiologische Erhebungen in einem Praxisgebiet in Franken zu nicht-infektiösen Faktoren mit Einfluss auf Inzidenz und/oder Letalität des akuten Durchfalls junger Kälber. München, LMU, Vet. Med. Diss.

Björkman C, Svensson C, Christensson B, Verdier K de (2003): *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Vet Scand* 44: 145–152.

Bleul U (2011): Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland. *Livestock Science* 135: 257–264.

Blood D, Radostits O (1989): Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 7. Aufl., Baillière Tindall, London.

Boehm G, Braun W, Moro G, Minoli I (1997): Bile acid concentrations in serum and duodenal aspirates of healthy preterm infants: effects of gestational and postnatal age. *Biol Neonate* 71: 207–214.

Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V (2003): Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis* 36: 775–780.

Bothmer G von, Budde H (1992): Kälberaufzucht für Milch und Mast. 3. Aufl., DLG-Verl., Frankfurt.

Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V (2003): The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine," held in Paris, June 14, 2002. *Am J Clin Nutr* 78: 675–683.

Brändle S (2006): Bildungs- und Wissenszentrum Aulendorf. Hohe Kälberverluste - ein Stück verschenkte Zukunft. <http://www.landwirtschaft->

mlr.baden-

wuerttemberg.de/servlet/PB/show/1191025/LAZBWrh_Wirtschaftliche%20Einbu
%C3%9Fen%20durch%20K%C3%A4lberverluste.pdf (18.08.2011).

Bujnakova D, Strakova E, Kmet V (2014): In vitro evaluation of the safety and probiotic properties of *Lactobacilli* isolated from chicken and calves. *Anaerobe* 29: 118–127.

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2014):

Bekanntmachung von Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern vom 7. Juli 2014. BAnz AT 01.08.2014 B1: 1-17.

Busconi M, Reggi S, Fogher C (2008): Evaluation of biodiversity of lactic acid bacteria microbiota in the calf intestinal tracts. *Antonie Van Leeuwenhoek* 94: 145–155.

Butler JE, Sun J, Weber P, Navarro P, Francis D (2000): Antibody repertoire development in fetal and newborn piglets, III. Colonization of the gastrointestinal tract selectively diversifies the preimmune repertoire in mucosal lymphoid tissues. *Immunology* 100: 119–130.

Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Beretti J, Ferroni A, Gutmann L, Nassif X (2011): MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clin Biochem* 44: 104–109.

Casas IA, Dobrogosz WJ (2000): Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microb Ecol Health Dis*: 247–285.

Castro-Hermida JA, Gonzalez-Losada YA, Mezo-Menendez M, Ares-Mazas E (2002): A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Vet Parasitol* 106: 11–17.

Cebra JJ (1999): Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 69: 1046S-1051S.

Chagnaud P, Machinis K, Coutte LA, Marecat A, Mercenier A (2001): Rapid PCR-based procedure to identify lactic acid bacteria: application to six common *Lactobacillus* species. *J Microbiol Methods* 44: 139–148.

Choudhry N, Bajaj-Elliott M, McDonald V (2008): The terminal sialic acid of glycoconjugates on the surface of intestinal epithelial cells activates excystation of *Cryptosporidium parvum*. *Infect Immun* 76: 3735–3741.

Chung H, Pamp SJ, Hill JA, Surana NK, Edelman SM, Troy EB, Reading NC, Villablanca EJ, Wang S, Mora JR, Umesaki Y, Mathis D, Benoist C, Relman DA, Kasper DL (2012): Gut Immune Maturation Depends on Colonization with a Host-Specific Microbiota. *Cell* 149: 1578–1593.

Chung TC, Axelsson LT, Lindgren SE, Dobrogosz WJ (1989): *In Vitro* Studies on Reuterin Synthesis by *Lactobacillus reuteri*. *Microb Ecol Health Dis*: 137–144.

Cintas LM, Herranz C, Hernández PE (2011): Natural and heterologous production of bacteriocins. In: Drider D, Rebuffat S (Hrsg.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*. Springer, 115–146.

Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, Duboux M, Le Blay G (2007): Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiol* 7: 101.

- Coconnier MH, Bernet MF, Kerneis S, Chauviere G, Fourniat J, Servin AL (1993):** Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by *Lactobacillus acidophilus* strain LB decreases bacterial invasion. FEMS Microbiol Lett 110: 299–305.
- Collado M, Sanz Y (2007):** Quantification of mucosa-adhered microbiota of lambs and calves by the use of culture methods and fluorescent in situ hybridization coupled with flow cytometry techniques. Vet Microbiol 121: 299–306.
- Collins FM, Carter PB (1978):** Growth of salmonellae in orally infected germfree mice. Infect Immun 21: 41–47.
- Conly J, Stein K, Worobetz L, Rutledge-Harding S. (1994):** The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. A J Gastroenterol 89: 915–923.
- Constable PD (2004):** Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. J Vet Intern Med 18: 8–17.
- Constable PD, Walker PG, Morin DE, Foreman JH (1998):** Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. J Am Vet Med Assoc 212: 991–996.
- Conway P, Gorbach S, Goldin B (1987):** Survival of Lactic Acid Bacteria in the Human Stomach and Adhesion to Intestinal Cells. J Dairy Sci 70: 1–12.
- Crouch CF, Oliver S, Francis MJ (2001):** Serological, colostral and milk responses of cows vaccinated with a single dose of a combined vaccine against rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* F5 (K99). The Veterinary record 149: 105–108.
- Cruywagen CW, Jordaan I, Venter L (1996):** Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. J Dairy Sci 79: 483–486.
- Curtis C, Scarlett J, Erb H.N, White M (1988):** Path model of individual-calf risk factors for calfhoo morbidity and mortality in New York Holstein herds. Prev Vet Med: 43–62.
- Danielsen M, Wind A (2003):** Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int J Food Microbiol 82: 1–11.
- Davis CL, Drackley JK (1998):** The development, nutrition, and management of the young calf. Iowa State University Press, 1. Aufl., Ames.
- De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960):** A medium for the cultivation of lactobacilli. J Appl Bacteriol 23: 130–135.
- Dellaglio F, Felis G (2005):** Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. In: Tannock G (Hrsg.), Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects. Caister Academic Press, Norfolk, U.K., 25–39.
- Devirgiliis C, Barile S, Perozzi G (2011):** Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota. Genes Nutr 6: 275–284.
- Devriese LA, Laurier L, Herdt P de, Haesebrouck F (1992):** Enterococcal and streptococcal species isolated from faeces of calves, young cattle and dairy cows. J Appl Bacteriol 72: 29–31.

Devriese L, Pot B (1995): The genus *Enterococcus*. In: Wood B, Holzapfel H.W. (Hrsg.), The lactic acid bacteria. Vol. 2. The Genera of Lactic Acid Bacteria. Blackie Academic, London, 327–367.

Doll K (2006): Neugeborenendiarrhoe. In: Dirksen G, Gründer H, Stöber M (Hrsg.), Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Parey 5. Aufl., Stuttgart, 561–571.

Doll K, Weirather P, Küchle H (1995): Kälberdurchfall als Bestandsproblem: Betriebsinterne Faktoren und häufige Behandlungsfehler. Der praktische Tierarzt: 995–1004.

Donovan DC, Franklin ST, Chase CC, Hippen AR (2002): Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard. J Dairy Sci 85: 947–950.

Donovan GA, Dohoo IR, Montgomery DM, Bennett FL (1998a): Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. Prev Vet Med 34: 31–46.

Donovan GA, Dohoo IR, Montgomery DM, Bennett FL (1998b): Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. Prev Vet Med 33: 1–10.

Dowd S, Callaway T, Wolcott R, Sun Y, McKeethan T, Hagevoort R, Edrington T (2008): Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). BMC Microbiol 8: 125.

Draksler D, Gonzáles S, Oliver G (2004): Preliminary assays for the development of a probiotic for goats. Reprod. Nutr. Dev 44: 397–405.

Dreyfus LA, Jaso-Friedmann L, Robertson DC (1984): Characterization of the mechanism of action of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. Infect Immun 44 (2): 493–501.

Du Toit M, Knöpfel p, Skowronek F, Specht I, Böckeler W, Holzapfel W (1998): A modified continuous flow culture system for studying microbial interactions related to the gastro-intestinal tract: Application of the probiotic organism *Enterococcus faecium* SF68. Biosci Microflora: 41–47.

Ducluzeau R (1983): Implantation and development of the gut flora in the newborn animal. Ann Rech Vet 14: 354–359.

Dunne C, O'Mahony L, Murphy L, Thornton G, Morrissey D, O'Halloran S, Feeney M, Flynn S, Fitzgerald G, Daly C, Kiely B, O'Sullivan GC, Shanahan F, Collins JK (2001): In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. Am J Clin Nutr 73: 386S-392S.

Durso LM, Harhay GP, Smith TPL, Bono JL, DeSantis TZ, Harhay DM, Andersen GL, Keen JE, Laegreid WW, Clawson ML (2010): Animal-to-Animal Variation in Fecal Microbial Diversity among Beef Cattle. . Appl Environ Microbiol 76: 4858–4862.

EFSA (2010): Scientific Opinion on the efficacy of Biosaf Sc 47 (*Saccharomyces cerevisiae*) for calves for rearing. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 8 (4): 1576.

EFSA (2012a): Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. EFSA Panel on Additives and

Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 10 (6): 2740.

EFSA (2012b): Scientific Opinion on Lactiferm® (*Enterococcus faecium*) as a feed additive for weaned piglets and calves. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 10 (2): 2574.

EFSA (2013a): Scientific Opinion on Cylactin® (*Enterococcus faecium*) for calves, lambs and kids for rearing and for fattening. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 11 (2): 3097.

EFSA (2013b): Scientific Opinion on the safety and efficacy of Provita LE (*Enterococcus faecium* and *Lactobacillus rhamnosus*) as a feed additive for calves for rearing. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). EFSA Journal 11 (4): 3175.

Egervärn M, Danielsen M, Roos S, Lindmark H, Lindgren S (2007): Antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum*. J Food Prot 70: 412–418.

Egervärn M, Roos S, Lindmark H (2009): Identification and characterization of antibiotic resistance genes in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. J Appl Microbiol 107: 1658–1668.

Ellinger DK, Muller LD, Glantz PJ (1980): Influence of feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of dairy calves. J Dairy Sci 63: 478–482.

Ellis RJ, Bruce KD, Jenkins C, Stothard JR, Ajarova L, Mugisha L, Viney ME, Ravel J (2013): Comparison of the distal gut microbiota from people and animals in Africa. PLoS ONE 8: e54783.

Elze K, Scharfe S, Oppermann C, Gruhle J, Herzog E (1994): Herdendiagnostische Aspekte bei der neonatalen Kälberdiarrhoe in einer 400er Milchviehanlage. Der praktische Tierarzt 1: 48–56.

Erhard MH, Leuzinger K, Stangassinger M (2000): Untersuchungen zur prophylaktischen Wirkung der Verfütterung eines Probiotikums und von erregerspezifischen Kolostrum- und Dotterantikörpern bei neugeborenen Kälbern. J Anim Physiol Anim Nutr 84: 85–94.

Ewaschuk J, Naylor J, Chirino-Trejo M, Zello G (2004): *Lactobacillus rhamnosus* strain GG is a potential probiotic for calves. Can J Vet Res 68: 249–253.

Ewaschuk J, Zello G, Naylor J (2006): *Lactobacillus* GG does not affect D-lactic acidosis in diarrheic calves, in a clinical setting. J Vet Intern Med 20: 614–619.

Fagan JG, Dwyer PJ, Quinlan JG (1995): Factors that may affect the occurrence of enteropathogens in the faeces of diarrhoeic calves in Ireland. Ir Vet J 48 (1): 17–21.

Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI (1998): Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. Microbiol Mol Biol Rev 62: 1157–1170.

Fallon RJ, Harte FJ (1983): The occurrence of diarrhoea in calves under different management systems. *Ann Rech Vet* 14: 473–478.

FAO/WHO (2001): Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation. Cordoba, Argentina.

FAO/WHO (2002): Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food; London Ontario, Canada

Faubert GM, Litvinsky Y (2000): Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J Parasitol* 86: 495–500.

Favier C, de V, Akkermans A (2003): Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe* 9: 219–229.

Fayer R, Gasbarre L, Pasquali P, Canals A, Almeria S, Zarlenga D (1998): *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int J Parasitol* 28: 49–56.

Fecteau G, van Metre DC, Pare J, Smith BP, Higgins R, Holmberg CA, Jang S, Guterbock W (1997): Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. *Can Vet J* 38: 95–100.

Fernandez L, Langa S, Martin V, Maldonado A, Jiménez E, Martin R, Rodriguez JM (2013): The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* 69: 1–10.

Ferrarezi MC, Cardoso TC, Dutra IS (2008): Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from calves with neonatal diarrhea. *Anaerobe* 14: 328–331.

Field M, Semrad CE (1993): Toxigenic diarrheas, congenital diarrheas, and cystic fibrosis: disorders of intestinal ion transport. *Annu. Rev. Physiol.* 55: 631–655.

Fleige S, Preissinger W, Meyer HH, Pfaffl MW (2009): The immunomodulatory effect of lactulose on *Enterococcus faecium* fed preruminant calves. *J Anim Sci* 87: 1731–1738.

Forestier C, Champs C de, Vatoux C, Joly B (2001): Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res Microbiol* 152: 167–173.

Foster DM, Smith GW (2009): Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 25: 13–36.

Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, Vuyst L de (2006): The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol* 106: 1–24.

Francavilla R, Lionetti E, Castellaneta S, Ciruzzi F, Indrio F, Masciale A, Fontana C, La Rosa MM, Cavallo L, Francavilla A (2012): Randomised clinical trial: *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 vs. placebo in children with acute diarrhoea - a double-blind study. *Aliment Pharmacol Ther* 36: 363–369.

Franz CM, Huch M, Abriouel H, Holzapfel W, Gálvez A (2011): Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int J Food Microbiol* 151: 125–140.

Frese SA, Benson AK, Tannock GW, Loach DM, Kim J, Zhang M, Oh PL, Heng NCK, Patil PB, Juge N, MacKenzie DA, Pearson BM, Lapidus A, Dalin E, Tice H, Goltsman E, Land M, Hauser L, Ivanova N, Kyrpides NC, Walter J, Guttman DS (2011): The evolution of host specialization in the vertebrate gut symbiont *Lactobacillus reuteri*. PLoS Genet 7: e1001314.

Frick J, Autenrieth I (2009): Wechselwirkung zwischen Darmflora und intestinalem Immunsystem. In: Bischoff S (Hrsg.), Probiotika, Präbiotika und Synbiotika. Thieme, Stuttgart, 33–44.

Friedrich A, Grude T, Klee W, Lorenz I, Matthies K, Metzner M, Rademacher G, Wendel H (2011): Klinische Propädeutik am Rind (Innere Medizin). Skript zur Vorlesung und Anleitung zu den praktischen Übungen. Klinik für Wiederkäuer. <http://www.rinderskript.net/skripten/propaesk.pdf> (13.05.2014).

Frizzo L, Soto L, Zbrun M, Bertozzi E, Sequeira G, Armesto RR, Rosmini M (2010): Lactic acid bacteria to improve growth performance in young calves fed milk replacer and spray-dried whey powder. Anim Feed Sci Tech 157: 159–167.

Frizzo L, Soto L, Zbrun M, Signorini M, Bertozzi E, Sequeira G, Armesto RR, Rosmini M (2011): Effect of lactic acid bacteria and lactose on growth performance and intestinal microbial balance of artificially reared calves. Livestock Science 140: 246–252.

Frizzo LS, Zbrun MV, Soto LP, Bertozzi E, Sequeira GJ, Marti LE, Signorini ML, Armesto RR, Rosmini MR (2012): Pathogen translocation and histopathological lesions in an experimental model of *Salmonella* Dublin infection in calves receiving lactic acid bacteria and lactose supplements. J Vet Sci 13: 261–270.

Fröhner A, Reiter K (2005): Ursachen von Kälberverlusten bei Milchvieh und Möglichkeiten zur Reduzierung. Literaturstudie für ein Forschungsprojekt. LfL (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft).

Fuller R (1973): Differences in the microfloras of the intestine and the bursa of Fabricius as illustrated by the coliform-Lactobacillus ratio in the two sites. Br Poult Sci 14: 221–224.

Fuller R (1978): Epithelial Attachment and Other Factors Controlling the Colonization of the Intestine of the Gnotobiotic Chicken by Lactobacilli. J Appl Bacteriol 45: 389–395.

Fuller R (1989): Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 66: 365–378.

Fuller R (1992): The effect of probiotics on the gut micro-ecology of farm animals. In: Wood BJB (Hrsg.), The lactic acid bacteria. Vol. 1. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Applied Science, New York, 171–192.

Fuller R (1997): Introduction. In: Fuller R (Hrsg.), Probiotics 2. Applications and practical aspects. Springer Netherlands; Imprint; Springer, Dordrecht, 1–9.

Galvao K, Santos J, Coscioni A, Villasenor M, Sischo W, Berge A (2005): Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli*. Reprod Nutr Dev 45: 427–440.

Gänzle MG (2004): Reutericyclin: biological activity, mode of action, and potential applications. Appl Microbiol Biotechnol 64: 326–332.

Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gomez-Bautista M, La Fuente R de (2000): Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 23: 175–183.

Gareis M (2006): Diagnostischer Zellkulturtest (MTT-Test) für den Nachweis von zytotoxischen Kontaminanten und Rückständen. *J. Verbr. Lebensm.* 1: 354–363.

Gedek B (1974): Möglichkeiten und Grenzen der mikrobiologischen Futtermittelkontrolle. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 81: 37-40 und 65-69.

Giannino ML, Marzotto M, Dellaglio F, Feligini M (2009): Study of microbial diversity in raw milk and fresh curd used for Fontina cheese production by culture-independent methods. *Int J Food Microbiol* 130: 188–195.

Gilliland S, Bruce B, Bush L, Staley T (1980): Comparisons of Two Strains of *Lactobacillus acidophilus* as Dietary Adjuncts for Young Calves. *J Dairy Sci* 63: 964–972.

Gilliland SE (1990): Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 87: 175–188.

Gilliland SE, Staley TE, Bush LJ (1984): Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J Dairy Sci* 67: 3045–3051.

Girnus D (2004): Inzidenz und Verlauf von Neugeborenenendurchfall bei Kälbern in einem Praxisgebiet in Oberbayern. München, LMU, Vet. Med. Diss.

Godden S (2008): Colostrum management for dairy calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 24: 19–39.

Goffin P, van de Bunt B, Giovane M, Leveau JHJ, Hoppener-Ogawa S, Teusink B, Hugenholtz J (2010): Understanding the physiology of *Lactobacillus plantarum* at zero growth. *Mol Syst Biol* 6: 413.

Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA (2002): Host responses to *Cryptosporidium* infection. *J Vet Intern Med* 16: 12–21.

Gordon JI, Hooper LV, McNevin MS, Wong M, Bry L (1997): Epithelial cell growth and differentiation. III. Promoting diversity in the intestine: conversations between the microflora, epithelium, and diffuse GALT. *Am J Physiol* 273: G565–70.

Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P (1999): Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 28: 19–25.

Guarner F (2006): Enteric flora in health and disease. *Digestion* 73 Suppl 1: 5–12.

Guarner F, Malagelada J (2003): Gut flora in health and disease. *Lancet* 361: 512–519.

Gulliksen S, Jor E, Lie K, Hamnes I, Løken T, Åkerstedt J, Østerås O (2009a): Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J Dairy Sci* 92: 5057–5066.

Gulliksen S, Lie K, Løken T, Østerås O (2009b): Calf mortality in Norwegian dairy herds. *J Dairy Sci* 92: 2782–2795.

- Gusils C, González SN, Oliver G (1999):** Some probiotic properties of chicken lactobacilli. *Can J Microbiol* 45 (12): 981-987.
- Gutzwiller A (2002):** Effect of colostrum intake on diarrhoea incidence in new-born calves. *Schweiz Arch Tierheilkd* 144: 59-64.
- Gutzwiller A, Morel I (2003):** Igluhaltung von neugeborenen Kälbern im Winter. *Argrarforschung* 10: 70-74.
- Hamilton-Miller JM, Shah S (1998):** Vancomycin susceptibility as an aid to the identification of lactobacilli. *Lett Appl Microbiol* 26: 153-154.
- Hammann R (2009):** Verarbeitung des Materials und Anlage von Primärkulturen zum Nachweis von Anaerobiern. In: Neumeister B, Geiss H, Braun R (Hrsg.), *Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie*. Thieme, 176-177.
- Hammes W, Vogel R (1995):** The genus *Lactobacillus*. In: Wood B, Holzapfel HW (Hrsg.), *The lactic acid bacteria. Vol. 2. The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic, London, 19-54.
- Hammitt MC, Bueschel DM, Keel MK, Glock RD, Cuneo P, DeYoung DW, Reggiardo C, Trinh HT, Songer JG (2008):** A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis. *Vet Microbiol* 127: 343-352.
- Hancock DD, Besser TE, Kinsel ML, Tarr PI, Rice DH, Paros MG (1994):** The prevalence of *Escherichia coli* O157.H7 in dairy and beef cattle in Washington State. *Epidemiol Infect* 113: 199-207.
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW (2000):** Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 30: 61-67.
- Harp JA, Goff JP (1998):** Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *J Dairy Sci* 81: 289-294.
- Harp JA, Woodmansee DB, Moon HW (1990):** Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. *Infect Immun* 58: 2237-2240.
- Hartemink R, Domenech V, Rombouts F (1997):** LAMVAB—A new selective medium for the isolation of lactobacilli from faeces. *J Microbiol Methods* 29: 77-84.
- Hartemink R, Rombouts FM (1999):** Comparison of media for the detection of bifidobacteria, lactobacilli and total anaerobes from faecal samples. *J Microbiol Methods* 36: 181-192.
- Hartman PA, Morrill JL, Jacobson NL (1966):** Influence of diet and age on bacterial counts of ileal digesta and feces obtained from young calves. *Appl Microbiol* 14: 70-73.
- Haschek B, Klein D, Benetka V, Herrera C, Sommerfeld-Stur I, Vilcek S, Moestl K, Baumgartner W (2006):** Detection of bovine torovirus in neonatal calf diarrhoea in Lower Austria and Styria (Austria). *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 53: 160-165.

- Hascoët J, Hubert C, Rochat F, Legagneur H, Gaga S, Emady-Azar S, Steenhout PG (2011):** Effect of formula composition on the development of infant gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 52: 756–762.
- Heath SE, Naylor JM, Guedo BL, Petrie L, Rousseaux CG, Radostits OM (1989):** The effects of feeding milk to diarrheic calves supplemented with oral electrolytes. *Can J Vet Res* 53: 477–485.
- Hebestreit, JP (2004):** Untersuchungen zum Synergismus von Saponinen und Toxinen bei in vitro kultivierten Säugetierzellen. Berlin, Humboldt-Universität, Diss. Rer. Nat.
- Heine J, Pohlenz JF, Moon HW, Woode GN (1984):** Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *J Infect Dis* 150: 768–775.
- Herbel SR, Vahjen W, Wieler LH, Guenther S (2013):** Timely approaches to identify probiotic species of the genus *Lactobacillus*. *Gut Pathog* 5: 27.
- Hill MJ (1997):** Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur J Cancer Prev* 6 Suppl 1: S43-5.
- Hinrichs B (1992):** Epidemiologische Untersuchungen über Abort-, Krankheits- und Todesursachen bei Sektionskälbern bis zu einem Alter von 6 Monaten im Weser-Ems-Gebiet. Hannover, TiHo, Vet. Med. Diss.
- Höfle A (2006):** Querschnittsstudie zum Vorkommen von *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, Salmonellen, Rotaviren und Kryptosporidium parvum in Milchviehbetrieben mit Kälberdurchfallproblemen des nördlichen Baden-Württemberg. Mensch-und-Buch-Verl., Berlin.
- Hofmann W (2005):** Rinderkrankheiten: Innere und chirurgische Erkrankungen. Eugen Ulmer, 2. Aufl., Stuttgart.
- Holland RE (1990):** Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin Microbiol Rev* 3: 345–375.
- Höltzel A, Gänzle M, Nicholson G, Hammes W, Jung G (2000):** The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin, a New Tetramic Acid. *Angew Chem Int Ed Engl* 39: 2766–2768.
- Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in 't Veld JH (1998):** Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 41: 85–101.
- Hölzel CS (2006):** Antibiotikaresistente Bakterien und Resistenzgene in Schweinegülle. München, LMU, Diss. Med. Vet.
- Hölzel CS, Harms KS, Küchenhoff H, Kunz A, Müller C, Meyer K, Schwaiger K, Bauer J (2010):** Phenotypic and genotypic bacterial antimicrobial resistance in liquid pig manure is variously associated with contents of tetracyclines and sulfonamides. *J Appl Microbiol* 108: 1642–1656.
- Hooper LV, Gordon JI (2001):** Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 292: 1115–1118.
- Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI (2002):** How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 22: 283–307.

- Hooper LV, Xu J, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI (1999):** A molecular sensor that allows a gut commensal to control its nutrient foundation in a competitive ecosystem. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 9833–9838.
- Hummel AS, Hertel C, Holzapfel WH, Franz CMAP (2007):** Antibiotic Resistances of Starter and Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 730–739.
- Husni RN, Gordon SM, Washington JA, Longworth DL (1997):** Lactobacillus Bacteremia and Endocarditis: Review of 45 Cases. *Clin Infect Dis* 25: 1048–1054.
- Isik K (2004):** Untersuchungen zur präbiotischen Wirkung von Lactulose auf die Mikroflora des Magen-Darm-Trakts von Sauen im peripartalen Zeitraum. Leipzig, Universität Leipzig, Diss. Med. Vet.
- Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukea P, Koivula T (1991):** A human Lactobacillus strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 88: 90–97.
- Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H (1993):** *Lactobacillus casei* strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology* 105: 1643–1650.
- Ivanova P, Peykov S, Dimitrova A, Dimov S (2014):** Molecular typing by genus-specific PCR and RAPD profiling of diverse *Lactobacillus delbrueckii* strains isolated from cow, sheep and buffalo yoghurts. *Biotechnol Biores* 22: 748–753.
- Jayappa H, Davis R, Dierks L, Sweeney D, Wasmoe T (2008):** Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at 3 months of gestation. *Vet Ther* 9: 283–289.
- Jiménez E, Fernandez L, Marin ML, Martin R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, Narbad A, Olivares M, Xaus J, Rodriguez JM (2005):** Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol* 51: 270–274.
- Jiménez E, Marin M, Martin R, Odriozola J, Olivares M, Xaus J, Fernandez L, Rodriguez J (2008):** Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 159: 187–193.
- Joachim A, Krull T, Schwarzkopf J, Dauschies A (2003):** Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet Parasitol* 112: 277–288.
- Jochims K, Kaup FJ, Drommer W, Pickel M (1994):** An immunoelectron microscopic investigation of colostral IgG absorption across the intestine of newborn calves. *Res Vet Sci* 57: 75–80.
- Kagkli DM, Vancanneyt M, Vandamme P, Hill C, Cogan TM (2007):** Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. *J Appl Microbiol* 103: 1393–1405.
- Karney T, Johnson M, Ray B (1986):** Changes in the lactobacilli and coliform populations in the intestinal tract of calves from birth to weaning. *J Anim Sci*: 446–447.
- Kaske M, Kunz H (2003):** Handbuch Durchfallerkrankungen der Kälber. Kamlage, Osnabrück.

- Kaske M, Leister T, Smolka K, Andresen U, Kunz H, Kehler W, Schuberth H, Koch A (2009):** Die neonatale Diarrhoe des Kalbes. IV. Mitteilung: Kälberdurchfall als Bestandsproblem: Die Bedeutung der Kolostrumversorgung. Der praktische Tierarzt: 756–767.
- Kaske M, Smolka K, Andresen U (2008):** Die neonatale Diarrhoe des Kalbes. I. Mitteilung: Ätiologie und Pathophysiologie. Der praktische Tierarzt: 852–859.
- Katikaridis M (2000):** Epidemiologische Erhebungen zur Kälberdiarrhoe in einem Praxisgebiet in Oberbayern. München, LMU, Vet. Med. Diss.
- Kinross JM, Darzi AW, Nicholson JK (2011):** Gut microbiome-host interactions in health and disease. Genome Med 3: 14.
- Klee W (1989):** Aspekte der Behandlung neugeborener Kälber mit akutem Durchfall. Vet Clin North Am Food Anim Pract 5: 6–17.
- Klein G, Hallmann C, Casas IA, Abad J, Louwers J, Reuter G (2000):** Exclusion of *vanA*, *vanB* and *vanC* type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. J Appl Microbiol: 815–824.
- Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G (1998):** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol 41: 103–125.
- Klein G, Reuter G, Hafez M (2004):** [Test schemes for evaluation of the effect of a probiotic feed additive on the gut microflora of young calves and newly hatched turkeys]. Versuchsanstellungen zur Überprüfung der Wirkung eines Probiotikums als Futtermittelzusatzstoff auf die Darmflora junger Aufzuchtälber und Putenküken. Dtsch Tierärztl Wochenschr 111: 201–204.
- Klein P (2008):** Preventive and therapeutic efficacy of halofuginone-lactate against *Cryptosporidium parvum* in spontaneously infected calves: a centralised, randomised, double-blind, placebo-controlled study. Vet J 177: 429–431.
- Koch A, Andresen U, Smolka K, Kaske M (2009):** Die neonatale Diarrhoe des Kalbes. II. Mitteilung: Pathophysiologische Konsequenzen, Klinik und Intensivtherapie. Der praktische Tierarzt: 46–57.
- Kohara J, Hirai T, Mori K, Ishizaki H, Tsunemitsu H (1997):** Enhancement of passive immunity with maternal vaccine against newborn calf diarrhea. J Vet Med Sci 59: 1023–1025.
- Korhonen JM, Scriver Y, Wright A von (2007):** Characterization of dominant cultivable lactobacilli and their antibiotic resistance profiles from faecal samples of weaning piglets. J Appl Microbiol 103: 2496–2503.
- Korthals M, Ege MJ, Tebbe CC, Mutius E von, Bauer J (2008):** Application of PCR-SSCP for molecular epidemiological studies on the exposure of farm children to bacteria in environmental dust. J Microbiol Methods 73: 49–56.
- Kowalski ZM, Górka P, Schlagheck A, Jagusiak W, Micek P, Strzetelski J (2009):** Performance of Holstein calves fed milk-replacer and starter mixture supplemented with probiotic feed additive. J Anim Feed Sci 18: 399–411.
- Kwon O (2000):** Characterization of isolated *Lactobacillus* spp. and classification by RAPD-PCR analysis. J Microbiol 38: 137–144.

La Fuente R de, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzon M, Cid D, Garcia S, Orden JA, Gomez-Bautista M (1998): Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med* 36: 145–152.

La Fuente R de, Luzon M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Garcia A, Cid D, Orden JA, Garcia S, Sanz R, Gomez-Bautista M (1999): *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet Parasitol* 80: 179–185.

Lanz Uhde F, Kaufmann T, Sager H, Albini S, Zanoni R, Schelling E, Meylan M (2008): Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Veterinary Record* 163: 362–366.

Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sorensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M (2010): Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS ONE* 5: e9085.

Le Rousic L, Klein N, Houghton S, Charleston B (2000): Use of colostrum from rotavirus-immunised cows as a single feed to prevent rotavirus-induced diarrhoea in calves. *Vet Rec* 147: 160–161.

Lebeer S, Vanderleyden J, Keersmaecker SCJ de (2008): Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev* 72: 728–64.

Lee DY, Seo Y, Rayamajhi N, Kang ML, Lee SI, Yoo HS (2009): Isolation, characterization, and evaluation of wild isolates of *Lactobacillus reuteri* from pig feces. *J Microbiol* 47: 663–672.

Lee Y, Puong K, Ouwehand AC, Salminen S (2003): Displacement of bacterial pathogens from mucus and Caco-2 cell surface by lactobacilli. *J Med Microbiol* 52: 925–930.

Liebler EM, Kluver S, Pohlenz J, Koopmans M (1992): The significance of bredavirus as a diarrhea agent in calf herds in Lower Saxony. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 99: 195–200.

Lievin V, Peiffer I, Hudault S, Rochat F, Brassart D, Neeser JR, Servin AL (2000): Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 47: 646–652.

Lindgren SE, Dobrogosz WJ (1990): Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol Rev* 7: 149–163.

LKV Bayern (Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V.) (2012): Milchleistungsprüfung in Bayern 2012. http://www.lkv.bayern.de/media/mlp_jahresbericht2012.pdf (22.04.2014).

Lofstedt J, Dohoo IR, Duizer G (1999): Model to predict septicemia in diarrheic calves. *J Vet Intern Med* 13: 81–88.

Lorenz I (2004a): Influence of D-lactate on metabolic acidosis and on prognosis in neonatal calves with diarrhoea. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 51: 425–428.

Lorenz I (2004b): Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis. *Vet J* 168: 323–327.

Lorenz I (2006): Diarrhoea of the young calf: an update. World Buiatrics Congress - Nice, France.
http://www.ivilis.org/proceedings/wbc/wbc2006/lorenz.pdf?origin=publication_detail (22.04.2014).

Lorenz I (2009): D-Lactic acidosis in calves. *Vet J* 179: 197–203.

Lorrot M, Vasseur M (2007): How do the rotavirus NSP4 and bacterial enterotoxins lead differently to diarrhea? *Virol J* 4: 31.

Luginbühl A, Reitt K, Metzler A, Kollbrunner M, Corboz L, Deplazes P (2005): Feldstudie zu Prävalenz und Diagnostik von Durchfallerregern beim neonatalen Kalb im Einzugsgebiet einer schweizerischen Nutztierpraxis. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 147: 245–252.

Lukas F, Koppova I, Kudrna V, Kopečný J (2007): Postnatal development of bacterial population in the gastrointestinal tract of calves. *Folia Microbiol (Praha)* 52: 99–104.

Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P (2011): Metagenomics: key to human gut microbiota. *Dig Dis* 29: 525–530.

Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR (1999): Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 69: 1035S–1045S.

Magalhaes VJ, Susca F, Lima FS, Branco AF, Yoon I, Santos JE (2008): Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. *J Dairy Sci* 91: 1497–1509.

Maldonado NC, Ruiz CS de, Otero MC, Sesma F, Nader-Macias ME (2012): Lactic acid bacteria isolated from young calves--characterization and potential as probiotics. *Res Vet Sci* 92: 342–349.

Malik R, Bandla S (2010): Effect of source and dose of probiotics and exogenous fibrolytic enzymes (EFE) on intake, feed efficiency, and growth of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Trop Anim Health Prod* 42: 1263–1269.

Malmuthuge N, Griebel PJ, Le Guan L (2014): Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tracts of preweaned calves. *Appl Environ Microbiol* 80: 2021–2028.

Malmuthuge N, Li M, Chen Y, Fries P, Griebel PJ, Baurhoo B, Zhao X, Le Guan L (2012): Distinct commensal bacteria associated with ingesta and mucosal epithelium in the gastrointestinal tracts of calves and chickens. *FEMS Microbiol Ecol* 79: 337–347.

Malmuthuge N, Li M, Goonewardene LA, Oba M, Guan L (2013): Effect of calf starter feeding on gut microbial diversity and expression of genes involved in host immune responses and tight junctions in dairy calves during weaning transition. *Journal of Dairy Science* 96: 3189–3200.

Mansfeld S, Rademacher G, Martin R, Mansfeld R (2005): Kälberdurchfall - Vorbeugen ist besser als behandeln. Informationsblatt Nr. 16 der Fachgruppe Bestandsbetreuung Rind im Bundesverband Praktizierender Tierärzte e.V.
<http://www.tierarztpraxis-emsbueren.de/site/bilder/kaelberdurchfall.pdf> (18.08.2011).

Maragkoudakis PA, Chingwaru W, Gradisnik L, Tsakalidou E, Cencic A (2010): Lactic acid bacteria efficiently protect human and animal intestinal

epithelial and immune cells from enteric virus infection. *Int J Food Microbiol* 141 Suppl 1: S91-7.

Marteau P, Pochart P, Dore J, Bera-Maillet C, Bernalier A, Corthier G (2001a): Comparative Study of Bacterial Groups within the Human Cecal and Fecal Microbiota. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 4939–4942.

Marteau P, Vrese M de, Cellier C, Schrezenmeir J (2001b): Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 73 (suppl): 430–436.

Martin R, Delgado S, Maldonado A, Jiménez E, Olivares M, Fernandez L, Sobrino OJ, Rodriguez JM (2009): Isolation of lactobacilli from sow milk and evaluation of their probiotic potential. *J Dairy Res* 76: 418–425.

Martin R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marin ML, Xaus J, Fernandez L, Rodriguez JM (2003): Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 143: 754–758.

Mateu E, Martin M (2001): Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 48: 569–581.

Mättö J, Malinen E, Suihko M, Alander M, Palva A, Saarela M (2004): Genetic heterogeneity and functional properties of intestinal bifidobacteria. *J Appl Microbiol* 97: 459–470.

Mayer M, Abenthum A, Matthes JM, Kleeberger D, Ege MJ, Hölzel C, Bauer J, Schwaiger K (2012): Development and genetic influence of the rectal bacterial flora of newborn calves. *Vet Microbiol* 161: 179–185.

Mayr A (2007): Grundlagen der allgemeinen medizinischen Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. In: Rolle M, Mayr A (Hrsg.), *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Enke, Stuttgart, 1–59.

Mayr A, Kaaden O (2007): Viruskrankheiten der Tiere. In: Rolle M, Mayr A (Hrsg.), *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Enke, Stuttgart, 136–343.

Messelhäußer U (2010): Kultivierungsverfahren für Bakterien. In: Busch U (Hrsg.), *Molekularbiologische Methoden in Der Lebensmittelanalytik: Grundlegende Methoden Und Anwendungen*. Springer, 5–18.

Metchnikoff E (1907): Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction, The Prolongation of Life: Optimistic Studies. Heinemann, London, 161–183.

Miclat NN, Hodgkinson R, Marx GF (1978): Neonatal gastric pH. *Anesth Analg* 57: 98–101.

Mitsuoka T (1992): The human gastrointestinal tract. In: Wood BJB (Hrsg.), *The lactic acid bacteria*. Vol. 1. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Applied Science, New York, 69–114.

Miyazawa E, Iwabuchi A, Yoshida T (1996): Phytate breakdown and apparent absorption of phosphorus, calcium and magnesium in germfree and conventionalized rats. *Nutrition Research* 16: 603–613.

Mokhber-Dezfouli MR, Tajik P, Bolourchi M, Mahmoudzadeh H (2007): Effects of probiotics supplementation in daily milk intake of newborn calves on body weight gain, body height, diarrhea occurrence and health condition. *Pak J Biol Sci* 10: 3136–3140.

- Moles L, Gomez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, Vos W de, Fernandez L, Rodriguez JM, Jiménez E (2013):** Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS ONE* 8: e66986.
- Moran J (2002):** Calf rearing. A practical guide. Landlinks Press, 2. Aufl., Collingwood, Vic.
- Morelli L (2000):** In vitro selection of probiotic lactobacilli: a critical appraisal. *Curr Issues Intest Microbiol* 1: 59–67.
- Morelli L (2008):** Postnatal development of intestinal microflora as influenced by infant nutrition. *J Nutr* 138: 1791S–1795S.
- Morris JA, Thorns CJ, Sojka WJ (1980):** Evidence for two adhesive antigens on the K99 reference strain *Escherichia coli* B41. *J Gen Microbiol* 118: 107–113.
- Mosmann T (1983):** Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55–63.
- Motevaseli E, Shirzad M, Akrami SM, Mousavi A, Mirsalehian A, Modarressi MH (2013):** Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate. *Journal of Medical Microbiology* 62: 1065–1072.
- Moughan P, Birtles M, Cranwell P, Smith W, Pedraza M. (1992):** The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants. *World review of nutrition and dietetics*: 40–113.
- Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V (2010):** Intestinal Microbial Ecology in Premature Infants Assessed with Non–Culture-Based Techniques. *J Pediatr* 156: 20–25.
- Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R (1999):** Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol* 85: 245–257.
- Nader-Macias M, Otero M, Espeche M, Maldonado N (2008):** Advances in the design of probiotic products for the prevention of major diseases in dairy cattle. *J Ind Microbiol Biotechnol* 35: 1387–1395.
- Neeser JR, Granato D, Rouvet M, Servin A, Teneberg S, Karlsson KA (2000):** *Lactobacillus johnsonii* La1 shares carbohydrate-binding specificities with several enteropathogenic bacteria. *Glycobiology* 10: 1193–1199.
- Nix JM, Spitzer JC, Grimes LW, Burns GL, Plyler BB (1998):** A retrospective analysis of factors contributing to calf mortality and dystocia in beef cattle. *Theriogenology* 49: 1515–1523.
- Nousiainen J, Päivi J, Setälä J, Wright A von (2004):** Lactic acid bacteria as animal probiotics. In: Salminen S, Wright A von, Ouwehand A (Hrsg.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Dekker 3. Aufl., New York; Basel.
- O'Handley RM, Cockwill C, McAllister TA, Jelinski M, Morck DW, Olson ME (1999):** Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *J Am Vet Med Assoc* 214: 391–396.

O'Hara AM, Shanahan F (2006): The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 7: 688–693.

O'Hara AM, Shanahan F (2007): Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases. *Scientific World Journal* 7: 31–46.

Oh PL, Benson AK, Peterson DA, Patil PB, Moriyama EN, Roos S, Walter J (2010): Diversification of the gut symbiont *Lactobacillus reuteri* as a result of host-driven evolution. *ISME J* 4: 377–387.

Ohya T, Marubashi T, Ito H (2000): Significance of fecal volatile fatty acids in shedding of *Escherichia coli* O157 from calves: experimental infection and preliminary use of a probiotic product. *J Vet Med Sci* 62: 1151–1155.

Oikonomou G, Teixeira AGV, Foditsch C, Bicalho ML, Machado VS, Bicalho RC, Balcazar JL (2013): Fecal Microbial Diversity in Pre-Weaned Dairy Calves as Described by Pyrosequencing of Metagenomic 16S rDNA. Associations of *Faecalibacterium* Species with Health and Growth. *PLoS ONE* 8: e63157.

Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E (2002): Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek* 82: 279–289.

Ouwehand AC, Vesterlund S (2004): Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen S, Wright A von, Ouwehand A (Hrsg.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Dekker 3. Aufl., New York; Basel.

Ozutsumi Y, Hayashi H, Sakamoto M, Itabashi H, Benno Y (2005): Culture-independent analysis of fecal microbiota in cattle. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 1793–1797.

Panciera RJ, Thomassen RW, Garner FM (1971): Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol* 8: 479–484.

Pare J, Thurmond MC, Gardner IA, Picanso JP (1993): Effect of birthweight, total protein, serum IgG and packed cell volume on risk of neonatal diarrhea in calves on two California dairies. *Can J Vet Res* 57: 241–246.

Patel RM, Lin PW (2010): Developmental biology of gut-probiotic interaction. *Gut Microbes* 1: 186–195.

Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE (2006): Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 118: 511–521.

Perez E, Noordhuizen J, van Wuijkhuise L, Stassen E (1990): Management factors related to calf morbidity and mortality rates. *Livest. Prod. Science*: 79–93.

Pohlenz J, Moon HW, Cheville NF, Bemrick WJ (1978): Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *J Am Vet Med Assoc* 172: 452–457.

Priestley D, Bittar JH, Ibarbia L, Risco CA, Galvao KN (2013): Effect of feeding maternal colostrum or plasma-derived or colostrum-derived colostrum replacer on passive transfer of immunity, health, and performance of preweaning heifer calves. *J Dairy Sci* 96: 3247–3256.

Rada V, Vlkov E, Nevoral J, Trojanov I (2006): Comparison of bacterial flora and enzymatic activity in faeces of infants and calves. *FEMS Microbiology Letters* 258: 25–28.

Rademacher G (2007): Kälberkrankheiten. Ursachen und Früherkennung ; neue Wege für Vorbeugung und Behandlung. Ulmer, 3. Aufl., Stuttgart (Hohenheim).

Rademacher G, Lorch A, Lorenz I (2011): Die neonatale Diarrhö bei Kalb und Saugferkel. Hygiene- und Prophylaxemaßnahmen bei der neonatalen Diarrhö des Kalbes. *Der praktische Tierarzt* 92 (Suppl. 6): 12–19.

Rademacher G, Lorenz I, Klee W (2002): Tränkung und Behandlung von Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. *Tierärztliche Umschau* 57: 177–189.

Ramos CL, Thorsen L, Schwan RF, Jespersen L (2013): Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. *Food Microbiol* 36: 22–29.

Razzaque M, Al-Mutawa T, Abbas S, Bedair M (2009): Performance of Pre-Weaned Dairy Calves under Hot Arid Environment: Effects of Immunoglobulins and Age on Diseases and Mortality. *American J Appl Sci* 6: 1885–1891.

Rea MC, Ross RP, Cotter PD, Hill C (2011): Classification of bacteriocins from gram-positive bacteria. In: Drider D, Rebuffat S (Hrsg.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*. Springer, 29–54.

Reineke A (2004): Gentechnik: Grundlagen, Methoden und Anwendungen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.

Reski-Weide B (2013): Inzidenz der Neugeborenenendiarrhoe bei Kälbern in Abhängigkeit von exogenen Faktoren – eine Praxisstudie. München, LMU, Diss. Med. Vet.

Reuter G (1992): Culture media for enterococci and group D-streptococci. *Int J Food Microbiol* 17: 101–111.

Reynolds DJ, Morgan JH, Chanter N, Jones PW, Bridger JC, Debney TG, Bunch KJ (1986): Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. *Vet Rec* 119: 34–39.

Richtlinie 70/524/EWG (1970): Richtlinie 70/524/EWG des Rates vom 23. November 1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung. *ABl. Nr. L 270* vom 14.12.1970: 1.

Rieznichenko LS, Hruzina TH, Vember VV, Skrynnik LM, Ul'berh ZR (2008): [Veterinary probiotic preparation influence on the biochemical blood indices of young farm animals]. *Ukr Biokhim Zh* 80: 110–117.

Riley MA (2011): Bacteriocin-mediated competitive interactions of bacterial populations and communities. In: Drider D, Rebuffat S (Hrsg.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*. Springer, New York.

Rodriguez E, Arques JL, Rodriguez R, Nunez M, Medina M (2003): Reuterin production by lactobacilli isolated from pig faeces and evaluation of probiotic traits. *Lett Appl Microbiol* 37: 259–263.

Rosander A, Connolly E, Roos S (2008): Removal of antibiotic resistance gene-carrying plasmids from *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and characterization

of the resulting daughter strain, *L. reuteri* DSM 17938. Appl Environ Microbiol 74: 6032–6040.

Roy D, Ward P, Vincent D, Mondou F (2000): Molecular identification of potentially probiotic lactobacilli. Curr Microbiol 40: 40–46.

Roy J (1990): The Calf. Butterworths, London.

Rubin HE (1978): Toxicological model for a two-acid system. Appl Environ Microbiol 36: 623–624.

Ruiz-Palacios G, Guerrero ML, Hilty M, Dohnalek M, Newton P, Calva JJ, Costigan T, Tuz F, Arteaga F (1996): Feeding of a probiotic for the prevention of community-acquired diarrhea in young Mexican children. Pediatric Research: 189(Abst.).

Ruiz-Palacios G, Tuz F, Arteaga F, Guerrero ML, Dohnalek M, Hilty M (1992): Tolerance and fecal colonization with *Lactobacillus reuteri* in children fed a beverage with a mixture of *Lactobacillus spp.* Pediatric Research: 1090(Abst.).

Saarela M, Hallamaa K, Mattila-Sandholm T, Mättö J (2003): The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. Int Dairy J 13: 291–302.

Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T (2000): Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. J Biotechnol 84: 197–215.

Saif LJ, Redman DR, Smith KL, Theil KW (1983): Passive Immunity to bovine rotavirus in newborn calves fed colostrum supplements from immunized or nonimmunized cows. Infect Immun 41: 1118–1131.

Salminen S, Wright A von, Morelli L, Marteau P, Brassart D, Vos WM de, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T (1998): Demonstration of safety of probiotics - a review. Int J Food Microbiol 44: 93–106.

Santin M, Trout JM, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R (2004): Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. Vet Parasitol 122: 103–117.

Sato H, Torimura M, Kitahara M, Ohkuma M, Hotta Y, Tamura H (2012): Characterization of the *Lactobacillus casei* group based on the profiling of ribosomal proteins coded in S10-spc-alpha operons as observed by MALDI-TOF MS. Syst Appl Microbiol 35: 447–454.

Satokari R, Grönroos T, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E (2009): Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Lett Appl Microbiol 48: 8–12.

Sauer S, Freiwald A, Maier T, Kube M, Reinhardt R, Kostrzewa M, Geider K (2008): Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis. PLoS ONE 3: e2843.

Sauer S, Kliem M (2010): Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. Nat Rev Microb 8: 74–82.

Sawant AA, Sordillo LM, Jayarao BM (2005): A survey on antibiotic usage in dairy herds in Pennsylvania. *J Dairy Sci* 88: 2991–2999.

Saxelin M, Chuang N, Chassy B, Rautelin H, Makela PH, Salminen S, Gorbach SL (1996): Lactobacilli and Bacteremia in Southern Finland, 1989–1992. *Clin Infect Dis* 22: 564–566.

Schaedler RW, Dubos R, Costello R (1965): The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. *J Exp Med* 122: 59–66.

Schaefer L, Auchtung TA, Hermans KE, Whitehead D, Borhan B, Britton RA (2010): The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology* 156: 1589–1599.

Schamberger G, Phillips R, Jacobs J, Diez-Gonzalez F (2004): Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 populations in cattle by addition of colicin E7-producing *E. coli* to feed. *Appl Environ Microbiol* 70: 6053–6060.

Schillinger U, Lücke FK (1989): Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl Environ Microbiol* 55: 1901–1906.

Schillinger U, Yousif NMK, Sesar L, Franz CMAP (2003): Use of group-specific and RAPD-PCR analyses for rapid differentiation of *Lactobacillus* strains from probiotic yogurts. *Curr Microbiol* 47: 453–456.

Schnorr B, Kressin M (2011): Embryologie der Haustiere. 6. Aufl., Enke Verlag, Stuttgart.

Schubert S, Wieser A (2010): MALDI-TOF-MS in der mikrobiologischen Diagnostik. *Biospektrum*: 760–762.

Schulte-Märter F (2000): Kälberkrankheiten im Verlauf von 16 Jahren (Erhebungen an einer Hochschulklinik von 1980 bis 1995). Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Vet. Med. Diss.

Schulze F, Bocklisch H, Kielenstein PSD, Sattler H (1980): Zur quantitativen Zusammensetzung der Magen-Darm-Flora bei Ferkeln in den ersten zwei Lebenswochen. 2. Mitteilung: Zur Entwicklung der Magen-Darm-Flora bei primären SPF-Ferkeln. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin* 34: 235–245.

Schwaiger K, Schmied EV, Bauer J (2008): Comparative analysis of antibiotic resistance characteristics of gram-negative bacteria isolated from laying hens and eggs in conventional and organic keeping systems in Bavaria, Germany. *Zoonoses Public Health* 55: 331–341.

Schwieger F, Tebbe CC (1998): A new approach to utilize PCR-single-strand-conformation polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis. *Appl Environ Microbiol* 64: 4870–4876.

Selbitz H (2007): Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: Rolle M, Mayr A (Hrsg.), Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke, Stuttgart, 393–558.

Sengupta R, Altermann E, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Roy NC (2013): The role of cell surface architecture of Lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators Inflamm* 2013: 1–16.

- Seo BJ, Mun MR, J RKV, Kim C, Lee I, Chang Y, Park Y (2010):** Bile tolerant *Lactobacillus reuteri* isolated from pig feces inhibits enteric bacterial pathogens and porcine rotavirus. *Vet Res Commun* 34: 323–333.
- Servin AL (2004):** Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* 28: 405–440.
- Shanahan F (1994):** The intestinal immune system. In: Johnson LR (Hrsg.), *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press 3. Aufl., New York.
- Shearer J, Mohammed HO, Brennenman JS, Tran TQ (1992):** Factors associated with concentrations of immunoglobulins in colostrum at the first milking post-calving. *Prev Vet Med* 14: 143–154.
- Sherwood D, Snodgrass DR, Lawson GH (1983):** Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. *Vet Rec* 113: 208–212.
- Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkanen H, Vesikari T (1997a):** *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 24: 399–404.
- Shornikova AV, Casas IA, Mykkanen H, Salo E, Vesikari T (1997b):** Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J* 16: 1103–1107.
- Silva del Rio N, Stewart S, Rapnicki P, Chang YM, Fricke PM (2007):** An observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 90: 1255–1264.
- Singh DD, Kumar M, Choudhary PK, Singh HN (2009):** Neonatal calf mortality - An Overview. *Intas Polivet* 10: 165–169.
- Sjöberg F, Nowrouzian F, Rangel I, Hannoun C, Moore E, Adlerberth I, Wold AE (2013):** Comparison between terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and quantitative culture for analysis of infants' gut microbiota. *J Microbiol Methods* 94: 37–46.
- Smet I de, van Hoorde L, Vande Woestyne M, Christiaens H, Verstraete W (1995):** Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *J Appl Bacteriol* 79: 292–301.
- Smith HW (1965):** The development of the flora of the alimentary tract in young animals. *J Pathol Bacteriol* 90: 495–513.
- Smith HW, Crabb WE (1961):** The faecal bacterial flora of animals and man: Its development in the young. *J. Pathol.* 82: 53–66.
- Snodgrass D, Terzolo H, Sherwood D, Campbell I, Menzies J, Synge B (1986):** Aetiology of diarrhoea in young calves. *Veterinary Record* 119: 31–34.
- Songer JG (2010):** Enteric Clostridia. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO (Hrsg.), *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. Wiley-Blackwell 4. Aufl., Ames, Iowa, 211–230.
- Soto LP, Frizzo LS, Bertozzi E, Avataneo E, Sequeira GJ, Rosmini MR (2010):** Molecular microbial analysis of lactobacillus strains isolated from the gut of calves for potential probiotic use. *Vet Med Int* 2010: 274987.
- Stark PL, Lee A (1982):** The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. *J Med Microbiol* 15: 189–203.

- Steinbock L, Näsholm A, Berglund B, Johansson K, Philipsson J (2003):** Genetic effects on stillbirth and calving difficulty in Swedish Holsteins at first and second calving. *J Dairy Sci* 86: 2228–2235.
- Stilwell G, Carvalho RC (2011):** Clinical outcome of calves with failure of passive transfer as diagnosed by a commercially available IgG quick test kit. *Can Vet J* 52: 524–526.
- Stott GH, Marx DB, Menefee BE, Nightengale GT (1979):** Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. *J Dairy Sci* 62: 1766–1773.
- Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, Dore J (1999):** Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 65: 4799–4807.
- Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y (1997):** The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 159: 1739–1745.
- Svensson C, Linder A, Olsson S (2006):** Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. *J Dairy Sci* 89: 4769–4777.
- Svensson C, Lundborg K, Emanuelson U, Olsson S (2003):** Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Prev Vet Med* 58: 179–197.
- Tagg JR, Dajani AS, Wannamaker LW (1976):** Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriol Rev* 40: 722–756.
- Takahashi M, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Komatsu A, Kamiya S (2004):** The effect of probiotic treatment with *Clostridium butyricum* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 41: 219–226.
- Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ (1988):** Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 1854–1858.
- Talarico TL, Dobrogosz WJ (1989):** Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 674–679.
- Tannock GW (2001):** Molecular assessment of intestinal microflora. *Am J Clin Nutr* 73: 410S–414S.
- Tannock GW, Fuller R, Pedersen K (1990):** Lactobacillus succession in the piglet digestive tract demonstrated by plasmid profiling. *Appl Environ Microbiol* 56 (5): 1310–1316.
- Tenter AM (2006):** Protozoeninfektionen der Wiederkäuer. In: Schnieder T (Hrsg.), *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey, 119–165.
- Thirabunyanon M, Boonprasom P, Niamsup P (2009):** Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from fermented dairy milks on antiproliferation of colon cancer cells. *Biotechnol Lett* 31: 571–576.

Thompson CL, Wang B, Holmes AJ (2008): The immediate environment during postnatal development has long-term impact on gut community structure in pigs. *ISME J* 2: 739–748.

Thompson GR, Trexler PC (1971): Gastrointestinal structure and function in germ-free or gnotobiotic animals. *Gut* 12: 230–235.

TierSchNutztV (2014): Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. August 2006 (BGBl. I S. 2043), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 5. Februar 2014 (BGBl. I S. 94) geändert worden ist.

TierSeuchAnzV (2013): Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (BGBl. I S. 1404), die durch Artikel 1 der Verordnung vom 12. Juni 2013 (BGBl. I S. 1576) geändert worden ist.

Timmerman HM, Mulder L, Everts H, van E, van d, Klaassen G, Rouwers SM, Hartemink R, Rombouts FM, Beynen AC (2005): Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J Dairy Sci* 88: 2154–2165.

Tkalcic S, Zhao T, Harmon B, Doyle M, Brown C, Zhao P (2003): Fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in weaned calves following treatment with probiotic *Escherichia coli*. *J Food Prot* 66: 1184–1189.

Trilk J, Münch K (2004): Untersuchungen zum Einfluss der Tiergesundheit und des Aufzuchtverhaltens von Kälbern auf die spätere Leistungsfähigkeit der Milchkühe. In: Landesamt für Verbraucherschutz (Hrsg.), Landwirtschaft und Gartenbau. Jahresbericht 2003. Schriftenreihe des LVLF, Abteilung Landwirtschaft und Gartenbau.

Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Martin SW, Leslie KE, Peregrine AS (2005): Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can Vet J* 46: 349–351.

Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Peregrine AS, Duffield TF, Leslie KE (2011): Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in dairy calves. *Vet Rec* 168: 509.

Trotz-Williams LA, Leslie KE, Peregrine AS (2008a): Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J Dairy Sci* 91: 3840–3849.

Trotz-Williams LA, Martin SW, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS (2008b): Association between management practices and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. *Prev Vet Med* 83: 11–23.

Trotz-Williams LA, Wayne Martin S, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS (2007): Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev Vet Med* 82: 12–28.

Tyler JW, Hancock DD, Wiksie SE, Holler SL, Gay JM, Gay CC (1998): Use of serum protein concentration to predict mortality in mixed-source dairy replacement heifers. *J Vet Intern Med* 12: 79–83.

Tynkkynen S, Singh KV, Varmanen P (1998): Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to enterococcal vancomycin resistance (van) genes. *Int J Food Microbiol* 41: 195–204.

Tzipori S (1985): The relative importance of enteric pathogens affecting neonates of domestic animals. *Adv Vet Sci Comp Med* 29: 103–206.

Tzipori S, Smith M, Halpin C, Makin T, Krautil F (1983): Intestinal changes associated with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in calves. *Vet Microbiol* 8: 35–43.

Uga S, Matsuo J, Kono E, Kimura K, Inoue M, Rai S, Ono K (2000): Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Veterinary Parasitology* 94: 27–32.

Umesaki Y, Okada Y, Matsumoto S, Imaoka A, Setoyama H (1995): Segmented filamentous bacteria are indigenous intestinal bacteria that activate intraepithelial lymphocytes and induce MHC class II molecules and fucosyl asialo GM1 glycolipids on the small intestinal epithelial cells in the ex-germ-free mouse. *Microbiol Immunol* 39: 555–562.

Underdahl NR, Torres-Medina A, Dosten AR (1982): Effect of *Streptococcus faecium* C-68 in control of *Escherichia coli*-induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *Am J Vet Res* 43: 2227–2232.

Uyeno Y, Sekiguchi Y, Kamagata Y (2010): rRNA-based analysis to monitor succession of faecal bacterial communities in Holstein calves. *Lett Appl Microbiol* 51: 570–577.

Valgaeren BR, Pardon B, Verherstraeten S, Goossens E, Timbermont L, Haesebrouck F, Ducatelle R, Deprez PR, van Immerseel F (2013): Intestinal clostridial counts have no diagnostic value in the diagnosis of enterotoxaemia in veal calves. *Vet Rec* 172: 237.

van Reenen CA, Dicks LMT (2011): Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. *Arch Microbiol* 193: 157–168.

Verordnung (EG) 1831/2003 (2003): Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung. *ABl. Nr. L 268* vom 18.10.2003: 29 – 43.

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

Viring S, Olsson SO, Alenius S, Emanuelsson U, Jacobsson SO, Larsson B, Linde N, Uggla A (1993): Studies of enteric pathogens and gamma-globulin levels of neonatal calves in Sweden. *Acta Vet Scand* 34: 271–279.

Virtala AM, Mechor GD, Grohn YT, Erb HN (1996a): Morbidity from nonrespiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three months of life. *J Am Vet Med Assoc* 208: 2043–2046.

Virtala AM, Mechor GD, Grohn YT, Erb HN (1996b): The effect of calthood diseases on growth of female dairy calves during the first 3 months of life in New York State. *J Dairy Sci* 79: 1040–1049.

Vlkova E, Grmanova M, Killer J, Mrazek J, Kopečný J, Bunesova V, Rada V (2010): Survival of bifidobacteria administered to calves. *Folia Microbiol (Praha)* 55: 390–392.

Vlkova E, Grmanova M, Rada V, Homutova I., Dubna S. (2009): Selection of probiotic bifidobacteria for lambs. *Czech J Anim Sci* 54: 552–565.

Vlková E, Rada V, Trojanová I, Killer J, Šmehilová M, Molatová Z (2008): Occurrence of bifidobacteria in faeces of calves fed milk or a combined diet. *Arch Anim Nutr* 62: 359–365.

Vlkova E, Trojanova I, Rada V (2006): Distribution of bifidobacteria in the gastrointestinal tract of calves. *Folia Microbiol (Praha)* 51: 325–328.

Vollenweider S, Lacroix C (2004): 3-Hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol* 64: 16–27.

Volzing K, Borrero J, Sadowsky MJ, Kaznessis YN (2013): Antimicrobial peptides targeting Gram-negative pathogens, produced and delivered by lactic acid bacteria. *ACS Synth Biol* 2: 643–650.

Vrese M de, Schrezenmeir J (2008): Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 111: 1–66.

Waele V de, Speybroeck N, Berkvens D, Mulcahy G, Murphy TM (2010): Control of cryptosporidiosis in neonatal calves: use of halofuginone lactate in two different calf rearing systems. *Prev Vet Med* 96: 143–151.

Waldner CL, Rosengren LB (2009): Factors associated with serum immunoglobulin levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and association between passive transfer and health outcomes. *Can Vet J* 50: 275–281.

Walker WL, Epperson WB, Wittum TE, Lord LK, Rajala-Schultz PJ, Lakritz J (2012): Characteristics of dairy calf ranches: Morbidity, mortality, antibiotic use practices, and biosecurity and biocontainment practices. *J Dairy Sci* 95: 2204–2214.

Wallace RJ, Newbold CJ (1992): Probiotics for ruminants. In: Fuller R (Hrsg.), *Probiotics: the scientific basis*. Chapman & Hall, London, 317–353.

Waltner-Toews D, Martin S, Meek A (1986): The Effect of Early Calthood Health Status on Survivorship and Age at First Calving. *Can J Vet Res* 50: 314–317.

Waters WR, Harp JA, Wannemuehler MJ, Carbajal NY, Casas IA (1999): Effects of *Lactobacillus reuteri* on *Cryptosporidium parvum* infection of gnotobiotic TCR-alpha-deficient mice. *J Eukaryot Microbiol* 46: 60S–61S.

Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE, Barrington GM (2000): Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J Vet Intern Med* 14: 569–577.

Wells SJ, Dargatz DA, Ott SL (1996): Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Prev Vet Med* 29: 9–19.

Werckenthin C, Schwarz S (2003): Kreuzresistenzen: Beurteilung von Antibiotogrammen, Auswahl von antimikrobiellen Wirkstoffen für die *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung und molekulare Grundlagen. 22. Arbeits- und

Fortbildungstagung des Arbeitskreises Veterinärmedizinischer
Infektionsdiagnostik, Staffelstein, 17.-19.09.2003

Whitehead K, Versalovic J, Roos S, Britton RA (2008): Genomic and genetic characterization of the bile stress response of probiotic *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. *Appl Environ Microbiol* 74: 1812 – 1819.

Wieler L, Ewers C, Selbitz H (2011): Gramnegative fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien. In: Selbitz H, Truyen U, Valentin-Weigand P (Hrsg.), *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Enke 9. Aufl., Stuttgart, Deutschland, 185–246.

Wieler LH, Sobjinski G, Schlapp T, Failing K, Weiss R, Menge C, Baljer G (2007): Longitudinal prevalence study of diarrheagenic *Escherichia coli* in dairy calves. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 120: 296–306.

Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S (2012): MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol* 93: 965–974.

Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531–6535.

Wilson KH, Blichington RB (1996): Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl Environ Microbiol* 62: 2273–2278.

Wolf BW, Garleb KA, Ataya DG, Casas IA (1995): Safety and tolerance of *Lactobacillus reuteri* in healthy adult male subjects. *Microb Ecol Health Dis*: 41–50.

Wolf BW, Wheeler KB, Ataya DG, Garleb KA (1998): Safety and tolerance of *Lactobacillus reuteri* supplementation to a population infected with the human immunodeficiency virus. *Food Chem Toxicol* 36: 1085–1094.

Yasuda K, Hashikawa S, Sakamoto H, Tomita Y, Shibata S, Fukata T (2007): A new synbiotic consisting of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* and dextran improves milk production in Holstein dairy cows. *J Vet Med Sci* 69: 205–208.

Youanes YD, Herdt TH (1987): Changes in small intestinal morphology and flora associated with decreased energy digestibility in calves with naturally occurring diarrhea. *Am J Vet Res* 48: 719–725.

Younes H, Coudray C, Bellanger J, Demigne C, Rayssiguier Y, Remesy C (2001): Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *Br J Nutr* 86: 479–485.

Zambriski JA, Nydam DV, Bowman DD, Bellosa ML, Burton AJ, Linden TC, Liotta JL, Ollivett TL, Tondello-Martins L, Mohammed HO (2013): Description of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in experimentally challenged dairy calves. *Parasitol Res* 112: 1247–1254.

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

Zhao T, Doyle MP, Shere J, Garber L (1995): Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Appl Environ Microbiol* 61: 1290–1293.

Zhao T, Tkalcic S, Doyle M, Harmon B, Brown C, Zhao P (2003): Pathogenicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in neonatal calves and evaluation of fecal shedding by treatment with probiotic *Escherichia coli*. J Food Prot 66: 924–930.

Zoetendal EG, Mackie RI (2005): Molecular methods in microbial ecology. In: Tannock G (Hrsg.), Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects. Caister Academic Press, Norfolk, U.K., 1–24.

Zoetendal EG, Wright A von, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans ADL, Vos WM de (2002): Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. Appl Environ Microbiol 68: 3401–3407.

IX ANHANG

Tabelle 30: Begleitdaten zu den im ersten Versuchsabschnitt untersuchten Kälbern – Teil 1

Kalb	Betrieb	Geburts- datum	Rasse*	Geschlecht	Zwilling	Mutter- schutz- Impfung	Geburts- verlauf	Geburts- gewicht
1-1	1	26.11.2010	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
1-2	1	02.12.2010	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
1-3	1	04.12.2010	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
1-4	1	11.12.2010	FL/SBT	w	nein	ja	alleine	leicht
1-6	1	19.01.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
1-7	1	20.01.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
1-8	1	20.01.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
1-9	1	25.01.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
2-4	2	09.12.2010	FL	w	ja	nein	alleine	mittel
2-5	2	09.12.2010	FL	m	ja	nein	alleine	mittel
2-6	2	09.12.2010	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
2-7	2	09.12.2010	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
2-8	2	10.12.2010	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
2-9	2	16.12.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
3-1	3	20.05.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
3-2	3	23.05.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
3-3	3	04.06.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
3-4	3	05.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-5	3	08.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-6	3	14.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-7	3	14.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-8	3	15.06.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
3-9	3	17.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-10	3	20.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-11	3	20.06.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
3-12	3	22.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
3-13	3	06.07.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
4-2	4	19.05.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
4-3	4	20.05.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
4-4	4	14.06.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
4-6	4	30.06.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
4-7	4	19.08.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
4-8	4	20.08.2011	FL	w	ja	ja	alleine	leicht
4-9	4	20.08.2011	FL	m	ja	ja	alleine	leicht
4-10	4	21.08.2011	FL	w	nein	ja	alleine	leicht
4-11	4	21.08.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
4-12	4	24.08.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
4-13	4	27.08.2011	FL	m	ja	ja	alleine	leicht
4-14	4	27.08.2011	FL	w	ja	ja	alleine	leicht
4-15	4	02.09.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
5-1	5	01.09.2011	FL	m	nein	nein	alleine	mittel

* FL = Fleckvieh; SBT = Holstein-Schwarzbunt

Kalb	Betrieb	Geburts- datum	Rasse*	Geschlecht	Zwilling	Mutter- schutz- Impfung	Geburts- verlauf	Geburts- gewicht
5-2	5	06.09.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel
5-3	5	21.09.2011	FL	w	ja	nein	Zughilfe	leicht
5-5	5	22.09.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
5-6	5	01.10.2011	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
5-7	5	01.10.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
5-9	5	21.10.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
5-10	5	14.11.2011	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
5-11	5	05.11.2011	FL	m	ja	nein	alleine	leicht
5-12	5	15.11.2011	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
5-13	5	17.11.2011	FL	m	nein	nein		schwer
5-14	5	20.11.2011	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
5-15	5	24.11.2011	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
6-1	6	16.09.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-2	6	29.09.2011	FL	w	ja	ja	Zughilfe	mittel
6-3	6	29.09.2011	FL	w	ja	ja	Zughilfe	leicht
6-4	6	02.10.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-5	6	02.10.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-6	6	04.10.2011	FL	w	nein	ja	alleine	schwer
6-7	6	04.10.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-8	6	06.10.2011	FL	m	nein	ja	alleine	schwer
6-9	6	07.10.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-10	6	08.10.2011	FL	w	nein	ja	alleine	schwer
6-11	6	14.10.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
6-12	6	25.10.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-13	6	30.10.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
6-14	6	01.11.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
6-15	6	03.11.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-1	7	25.10.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-2	7	11.11.2011	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-3	7	18.11.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
7-4	7	25.11.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
7-5	7	25.11.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-6	7	26.11.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
7-7	7	29.11.2011	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
7-8	7	01.12.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
7-9	7	04.12.2011	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
7-10	7	05.12.2011	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-15	7	17.01.2012	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
7-18	7	01.03.2012	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
8-1	8	25.10.2011	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
8-2	8	26.10.2011	FL	w	nein	nein	alleine	leicht
8-3	8	28.10.2011	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
8-4	8	28.10.2011	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
8-5	8	15.11.2011	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
8-6	8	16.11.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel
8-8	8	29.11.2011	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
8-9	8	06.01.2012	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
8-10	8	12.01.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel

* FL = Fleckvieh; SBT = Holstein-Schwarzbunt

Kalb	Betrieb	Geburts- datum	Rasse*	Geschlecht	Zwilling	Mutter- schutz- Impfung	Geburts- verlauf	Geburts- gewicht
8-11	8	13.01.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel
8-12	8	21.01.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
8-13	8	23.01.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
8-14	8	25.01.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
8-15	8	02.02.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
9-1	9	17.01.2012	FL	m	nein		alleine	schwer
9-2	9	18.01.2012	FL	m	nein		Zughilfe	schwer
9-4	9	24.01.2012	SBT	w	nein		Zughilfe	mittel
9-5	9	24.01.2012	FL	m	nein		Zughilfe	schwer
10-1	10	15.01.2012	FL	w	nein	ja	alleine	leicht
10-2	10	16.01.2012	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
10-3	10	30.01.2012	FL	w	nein	ja	alleine	mittel
10-4	10	07.02.2012	FL	m	ja	ja	Zughilfe	mittel
10-6	10	11.02.2012	FL	w	nein	ja	alleine	schwer
10-7	10	11.02.2012	FL	w	nein	ja	alleine	leicht
10-8	10	12.02.2012	FL	m	nein	ja	Zughilfe	schwer
10-9	10	17.02.2012	FL	w	nein	ja	Zughilfe	mittel
10-10	10	17.02.2012	FL	m	nein	ja	alleine	schwer
10-11	10	18.02.2012	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
10-12	10	20.02.2012	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
10-13	10	21.02.2012	FL	w	nein	ja	alleine	leicht
10-14	10	04.03.2012	FL	m	nein	ja	alleine	mittel
10-15	10	07.03.2012	FL	m	nein	ja	Zughilfe	mittel
11-1	11	18.03.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel
11-2	11	20.03.2012	FL	w	nein	nein	alleine	leicht
11-3	11	21.03.2012	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
11-4	11	24.03.2012	FL	m	nein	nein	alleine	schwer
11-5	11	09.04.2012	FL	m	nein	nein	alleine	schwer
11-6	11	16.04.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
11-7	11	25.04.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
11-8	11	26.04.2012	FL	m	ja	nein	alleine	leicht
11-9	11	27.04.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
11-10	11	29.04.2012	FL	w	ja	nein	alleine	mittel
11-11	11	29.04.2012	FL	m	ja	nein	alleine	mittel
11-12	11	12.05.2012	FL	w	nein	nein	Zughilfe	schwer
11-13	11	22.05.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
11-14	11	22.05.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
11-15	11	28.05.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
11-16	11	01.06.2012	FL	m	nein	nein	alleine	mittel
11-17	11	12.06.2012	FL	w	nein	nein	alleine	leicht
11-18	11	14.06.2012	FL	m	nein	nein	alleine	leicht
12-1	12	16.03.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
12-2	12	18.03.2012	FL	w	nein	nein	Zughilfe	mittel
12-3	12	18.03.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
12-4	12	23.03.2012	FL	m	nein	nein	alleine	leicht
12-5	12	23.03.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel
12-6	12	25.03.2012	FL	w	nein	nein	alleine	mittel
12-7	12	17.04.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	mittel

* FL = Fleckvieh; SBT = Holstein-Schwarzbunt

Kalb	Betrieb	Geburts- datum	Rasse*	Geschlecht	Zwilling	Mutter- schutz- Impfung	Geburts- verlauf	Geburts- gewicht
12-8	12	21.06.2012	FL	m	nein	nein	Zughilfe	schwer
13-1	13	25.02.2008		w	nein			mittel
13-2	13	02.03.2008		w	nein			mittel
13-3	13	06.03.2008		w	nein			leicht
13-4	13	12.03.2008		w	nein			schwer
13-5	13	16.03.2008		m	nein			schwer
13-6	13	30.03.2008		m	nein			mittel
13-7	13	05.04.2008		m	nein			schwer
13-8	13	06.04.2008		m	nein			mittel
13-9	13	07.04.2008		w	nein			mittel
13-10	13	11.04.2008		m	nein			mittel
13-11	13	12.04.2008		m	nein			schwer
13-12	13	15.04.2008		m	nein			mittel

* FL = Fleckvieh; SBT = Holstein-Schwarzbunt

Tabelle 31: Begleitdaten zu den im ersten Versuchsabschnitt untersuchten Kälbern – Teil 2

Kalb	Kolo- strum- Erstgabe ^a	Kolo- strum- Erstmenge ^b	Laktations- zahl der Mutter	Duchfall	Durch- fall- beginn ^c	Rota- virus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis
1-1			7	nein		n.u.	n.u.	n.u.
1-2	2		1	ja	1	nein	nein	nein
1-3	1	1,5	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
1-4	2	0,5		ja	2	nein	nein	nein
1-6	1	0,5	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
1-7	1,5	1,5	1	ja	6	nein	nein	ja
1-8	0,5	2,5	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
1-9	0,5	0,5	7	nein		n.u.	n.u.	n.u.
2-4	0	2		nein		n.u.	n.u.	n.u.
2-5	0	2		nein		n.u.	n.u.	n.u.
2-6	0	2		ja	7	ja	nein	ja
2-7	2	2		ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
2-8	0	2		nein		n.u.	n.u.	n.u.
2-9	0	2		nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-1	7	2	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-2	0	2	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-3	3	3	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-4	0	3	1	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
3-5	3	3	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-6	3	2	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-7	0	2	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-8	0,5	2	2	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
3-9	0,5	1,5	4	ja	2	nein	nein	nein
3-10	3	2	2	ja	3	nein	nein	ja
3-11	3	2	4	ja	1	nein	nein	nein
3-12	12	3	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
3-13	1	1	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-2	0,5	1,5	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-3	2	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-4	2	2	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-6	2	2	1	ja	6	nein	nein	ja
4-7	0,5	1,5	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-8	0,5	1,5	6	ja	2	nein	nein	ja
4-9	0	1,5	6	ja	2	nein	nein	ja
4-10	3	1	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-11	0,5	1	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-12	1,5	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
4-13	0,5	1,5	3	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
4-14	0,5	1,5	3	ja	1	nein	nein	nein
4-15	0,5	1	5	ja	6	nein	nein	ja
5-1	0	1,5	3	ja	7	nein	nein	ja
5-2	0	1	3	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
5-3	0,5	1	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.

a: in h nach der Geburt

b: in l

c: in d nach der Geburt

n.u. = nicht untersucht

Kalb	Kolo- strum- Erstgabe ^a	Kolo- strum- Erstmenge ^b	Laktations- zahl der Mutter	Duchfall	Durch- fall- beginn ^c	Rota- virus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis
5-5	12	0,5		ja	2	nein	nein	ja
5-6	0	1,5	1	ja	6	nein	nein	ja
5-7	0	2	2	ja	1	nein	nein	nein
5-9	1	1,5	4	ja	2	nein	nein	nein
5-10	6	1	1	ja	5	ja	nein	ja
5-11	0	0,5	5	ja	1	nein	nein	nein
5-12	0	0,5	1	ja	2	nein	nein	nein
5-13	2	0,5		ja	6	ja	nein	ja
5-14	0	1		ja	2	nein	nein	nein
5-15		1,5	3	ja	2	nein	nein	ja
6-1	0	1,5	2	ja	2	nein	nein	nein
6-2	0,5	1,5	10	ja	2	nein	nein	ja
6-3	0,5	1,5	10	ja	6	nein	nein	ja
6-4	1	3	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-5	0	2	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-6	0	3	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-7	0	2	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-8	0	3,5	2	ja	7	nein	nein	ja
6-9	1	2	1	ja	1	nein	nein	ja
6-10	0	2	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-11	1	1,5	2	ja	6	nein	nein	ja
6-12	0,5	2	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-13	0,5	1,5	2	ja	3	ja	nein	ja
6-14	0,5	2	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
6-15	0,5	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
7-1	6,5	1,5	1	ja	6	ja	nein	ja
7-2	3	1,5	1	ja	6	ja	nein	ja
7-3	2	1	3	ja	2	nein	nein	nein
7-4	3	1	3	ja	2	nein	nein	nein
7-5	3	1,5	3	ja	2	nein	nein	nein
7-6	1	2	8	nein		n.u.	n.u.	n.u.
7-7	2	2	6	nein		n.u.	n.u.	n.u.
7-8	0,5	1	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
7-9	0,5	2	2	ja	7	ja	nein	nein
7-10	2	1,5	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
7-15	1	2	5	ja	5	ja	nein	nein
7-18	11			ja	7	ja	nein	nein
8-1	0	2	5	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
8-2	4	2	2	ja	12	n.u.	n.u.	n.u.
8-3	0	2	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-4	0	2	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-5	0	2	7	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-6	0	3	2	ja	13	n.u.	n.u.	n.u.
8-8	0	1,5	7	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-9	0,5	1,5	1	ja	11	n.u.	n.u.	n.u.
8-10	2	2	1	ja	9	n.u.	n.u.	n.u.

a: in h nach der Geburt

b: in l

c: in d nach der Geburt

n.u. = nicht untersucht

Kalb	Kolo- strum- Erstgabe ^a	Kolo- strum- Erstmenge ^b	Laktations- zahl der Mutter	Duchfall	Durch- fall- beginn ^c	Rota- virus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis
8-11	0	1	1	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
8-12	0	2	4	ja	11	n.u.	n.u.	n.u.
8-13	0	2,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-14	0	4	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
8-15	1	2	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
9-1	2	1,5	3	ja	3	nein	nein	nein
9-2	2	1,5	3	ja	4	nein	nein	ja
9-4	3	1	1	ja	4	nein	nein	nein
9-5	5	1	3	ja	3	nein	nein	ja
10-1	4	1,5	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-2	0,5	1,5	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-3	1,5	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-4	0,5	1,5	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-6	11	1,5	6	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-7	1	1,5	1	ja	5	nein	ja	nein
10-8	1,5	1,5	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-9	1	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-10	0,5	2	7	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-11	2	1	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-12	1	1,5	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-13	1	1,5	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-14	1	2	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
10-15	1	1,5	4	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-1	0,5	1	1	ja	6	ja	nein	nein
11-2	3	2	1	ja	5	ja	nein	nein
11-3	6,5	2	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-4	0,5	1	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-5	0,5	1	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-6	2	3	2	ja	6	ja	nein	nein
11-7	3,5	3	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-8	1,5	3	5	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-9	0,5	3	3	ja	6	ja	nein	nein
11-10	1	2	3	ja	6	ja	nein	nein
11-11	2	2	4	ja	6	ja	nein	nein
11-12	1	3	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-13	2	3	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-14	0,5	1	2	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-15	0,5	0,5	1	ja	4	ja	nein	nein
11-16	2	2	3	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-17	7	3	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
11-18	5	2,5	2	ja	8	n.u.	n.u.	n.u.
12-1	1,5	3,5	1	ja	2	nein	ja	nein
12-2	2,5	1	1	ja	3	nein	ja	nein
12-3	2,5	3	1	ja	5	nein	ja	nein
12-4	2	2	1	ja	7	nein	ja	nein
12-5	2,5	2	1	ja	7	nein	ja	nein

a: in h nach der Geburt

b: in l

c: in d nach der Geburt

n.u. = nicht untersucht

Kalb	Kolo- strum- Erstgabe ^a	Kolo- strum- Erstmenge ^b	Laktations- zahl der Mutter	Duchfall	Durch- fall- beginn ^c	Rota- virus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis
12-6	3	3	1	nein		n.u.	n.u.	n.u.
12-7	3	1	1	ja	7	nein	ja	nein
12-8	1	3,5		nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-1				ja	2	nein	nein	nein
13-2				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-3				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-4				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-5				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-6				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-7				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-8				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-9				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-10				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-11				nein		n.u.	n.u.	n.u.
13-12				nein		n.u.	n.u.	n.u.

a: in h nach der Geburt

b: in l

c: in d nach der Geburt

n.u. = nicht untersucht

Tabelle 32: Aerobe GKZ [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	Aerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	4,88	5,52	4,66	10,03	9,90	9,35	9,13
1-2	3,51	4,24	8,24	9,77	9,75	9,04	9,45
1-3	3,28		3,30	9,60	9,15	9,60	8,85
1-4	4,88	3,80	5,51	8,49	8,95	10,14	8,81
1-6	3,83	4,70	7,18	9,58	10,18	8,02	7,81
1-7	2,30	0,00	4,30	8,90	9,32	9,00	9,40
1-8	4,60	4,60	5,81	9,32	9,51	7,57	8,48
1-9	4,11	3,86	3,95	7,80	8,18	8,92	8,06
2-4	3,89	5,27	9,04	8,95	9,22	9,15	8,48
2-5	3,11	5,56	8,70	9,29	9,85	7,96	8,85
2-6	5,07	7,36	9,02	8,35	7,93	8,30	8,98
2-7	5,57	8,80	9,10	9,23	9,30	8,26	8,40
2-8	3,86	6,65	7,98	8,70	8,11	8,28	8,00
2-9	5,39	8,15	9,54	8,45	9,46	8,58	8,68
3-1	4,05	7,70	9,08	9,56	9,93	9,48	10,16
3-2	5,03	6,45	8,10	9,03	10,02	10,06	8,31
3-3	3,04	2,34	7,43	9,32	9,43	9,36	9,73
3-4	2,90	3,26	8,89	9,32	9,26	9,41	9,84
3-5	4,71	5,41	9,06	9,28	9,24	9,95	9,45
3-6	5,08	9,37	9,54	9,41	9,24	9,22	10,23
3-7	5,28	6,24		8,89	9,42	10,45	9,85
3-8	3,32	4,56	9,18	9,11	9,57	9,26	9,06
3-9	5,06	4,71	8,74	9,81	9,04	9,76	9,98
3-10	4,15	4,28	8,34	9,98	9,28	10,32	9,67
3-11	4,08	3,23	10,10	9,80	9,04	9,66	8,95
3-12	7,35	9,35	11,20	10,42	9,40	8,24	8,96
3-13	6,03	4,58	9,27	9,06	9,63	9,63	9,16
4-2	2,95	3,10	6,16	8,17	9,94	9,09	9,30
4-3	3,73	4,05	7,09	9,13	9,40	10,89	8,80
4-4	3,32	3,40	9,40	9,68	9,64	9,73	8,70
4-6	3,69	3,60	4,24	9,18	9,67	9,53	8,41
4-7	6,60	6,72	8,54	7,98	10,16	10,32	9,32
4-8	5,94	7,11	9,29	9,28	9,75	9,72	9,20
4-9	3,53	4,04	5,09	8,95	10,19	9,48	8,78
4-10	7,22	4,91	7,96	9,29	10,14	9,81	9,10
4-11	5,03	9,37	9,89	9,80	10,11	9,81	9,30
4-12	3,34	5,13	8,14	9,04	9,69	9,86	8,83
4-13	4,37	5,12	5,59	9,15	9,58	9,15	11,24
4-14	3,70	5,53	7,63	10,07	10,43	9,76	8,80
4-15	5,38	5,79	9,14	10,12	9,82	9,36	8,27
5-1	3,28	3,68	9,26	9,72	9,19	9,07	7,84
5-2	3,98	4,15	9,20	8,94	9,68	8,71	9,14
5-3	4,08	4,57	5,36	7,14	9,15	8,92	9,59

Kalb	Aerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	4,60	5,06	5,88	9,19	9,77	10,47	8,75
5-6	6,10	6,62	9,61	8,64	9,28	9,10	8,54
5-7	5,54	8,28	9,29	9,81	9,13	8,92	8,44
5-9	5,06	7,51	6,99	8,21	9,56	8,94	9,13
5-10	4,61	4,40	8,84	10,45	10,25	10,52	9,07
5-11	6,40	7,59	8,14	8,74	9,34	9,16	
5-12	4,76	5,25	8,69	9,98	9,87	11,81	10,24
5-13	4,49	7,26	7,43	10,61	9,21	9,56	9,33
5-14	5,17	7,08	11,33	9,52	9,97	9,20	10,43
5-15	3,63	3,60	5,14	9,25	9,10	10,09	9,13
6-1	5,65	5,86	6,08	8,53	11,10	11,08	7,87
6-2	4,37	5,79	8,01	10,08	8,19	8,96	8,97
6-3	5,92	3,88	8,11	9,94	8,97	8,95	8,33
6-4	7,45	8,81	8,63	8,85	9,90	9,24	9,19
6-5	6,39	7,84	8,98	8,91	8,74	8,97	8,82
6-6	7,47	6,93	8,03	8,83	9,80	9,39	9,33
6-7	7,13	5,85	7,48	9,52	8,83	8,84	9,81
6-8	5,04	6,20	8,59	9,03	9,61	9,76	9,25
6-9	7,47	8,37	9,54	10,05	10,14	10,22	9,79
6-10	6,88	7,70	7,92	8,78	10,11	9,18	8,19
6-11	4,18	8,91	8,91	9,60	9,32	9,45	9,50
6-12	7,15	6,51	9,91	10,03	9,85	8,99	9,10
6-13	4,38	6,94	8,34	9,17	9,45	8,73	8,70
6-14	4,79	5,01	6,80	8,95	9,44	9,11	8,72
6-15	4,96	8,04	8,27	9,26	9,90	8,79	8,45
7-1	5,45	5,03	5,01	8,25	9,18	8,53	8,21
7-2	5,25	4,81	8,88	8,77	9,55	9,02	8,67
7-3	3,41	3,97	9,77	7,69	9,24	9,56	9,11
7-4	4,10	6,01	6,12	8,48	9,63	10,85	9,31
7-5	6,23	5,39	8,26	7,35	9,49	10,49	9,32
7-6	6,01	9,66	9,58	9,89	10,97	9,70	10,06
7-7	5,92	8,08	8,43	9,71	9,49	8,91	8,77
7-8	5,48	5,60	8,42	9,81	10,24	9,68	9,90
7-9	4,67	8,22	9,83	10,18	9,30	9,23	10,18
7-10	4,49	2,30	3,43	8,63	9,86	9,08	8,74
7-15				9,69	9,00	9,09	9,04
7-18	3,58	3,54	2,30	6,52		9,18	9,41
8-1	4,04	5,36	4,64	9,32	9,36	9,17	8,51
8-2	3,11	5,70	3,43	9,08	9,72	10,13	9,41
8-3	4,04	4,11	6,20	9,12	9,04	9,04	8,61
8-4	4,44	5,70	8,28	9,00	9,41	8,66	8,79
8-5	3,73	3,38	7,72	9,63	9,70	8,99	8,23
8-6	4,97	6,32	8,95	9,08	9,27	9,78	9,10
8-8	5,01	4,41	9,44	9,46	9,05	9,75	9,33
8-9	6,56	6,16	6,14	9,12	9,19	8,54	9,50
8-10	2,90	3,04	4,59	8,07	9,86	9,09	10,09

Kalb	Aerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	3,00	4,10	9,60	11,20	11,74	9,56	8,46
8-12	4,98	4,54	6,69	10,24	10,52	9,73	8,98
8-13	5,49	4,91	4,87	9,69	8,96	9,76	9,63
8-14	5,06	6,87	9,57	9,46	9,95	8,94	9,84
8-15	4,05	2,30	4,50	10,27	9,39	9,98	8,76
9-1	5,16	6,12	9,65	9,30	9,56	10,27	
9-2	3,46	3,11	8,50	8,81	9,22	8,96	10,06
9-4	3,11	3,04	9,21	10,31	10,30	9,53	9,54
9-5	4,55	4,26	9,45	9,88	10,06	7,62	9,38
10-1	4,38	0,00	8,04	10,93	9,62	9,98	8,92
10-2	4,64	3,41	0,00	9,38	9,43	8,41	8,26
10-3	4,50	4,62	3,41	8,67	8,35	9,25	8,55
10-4	4,54	4,67	6,39	8,30	8,74	8,84	8,74
10-6	2,85	3,38	9,16	9,39	9,10	9,54	8,20
10-7	3,04	0,00	4,70	8,37	9,28	9,68	8,33
10-8	5,42	5,45	5,03	9,97	10,05	9,18	8,32
10-9	4,93	6,22	9,11	9,63	8,55	8,88	8,34
10-10	2,30	0,00	4,75	7,30	9,72	9,68	8,63
10-11	4,12	4,25	5,58	8,58	9,13	9,19	8,09
10-12	3,65	4,06	8,42	9,68	8,31	9,37	8,54
10-13	3,69	2,00	3,18	8,79	8,97	8,37	8,21
10-14	4,25	4,41	8,39	8,83	8,72	9,43	9,23
10-15		6,21	8,08	7,44	10,14	10,09	7,60
11-1	2,60	5,00	6,40	9,74	9,10	9,11	8,70
11-2	0,00	3,00	8,94	9,31	9,80	9,22	9,91
11-3	2,30	2,85	9,55	9,58	9,76	9,21	9,13
11-4	2,30	2,00	8,49	9,76	9,97	9,09	8,53
11-5	2,48	3,41	4,09	9,19	9,71	8,92	8,90
11-6	3,15	3,20	3,15	9,03	9,83	8,38	9,41
11-7		3,58	7,20	8,95	9,72	9,57	9,20
11-8	2,90	3,26	4,46	7,08	10,04	9,26	8,42
11-9	2,30	2,00	8,65	9,23	9,28	9,17	8,49
11-10	3,08	3,54	6,00	9,35	9,67	8,80	7,69
11-11	4,04	2,70	4,35	9,10	9,99	9,31	8,59
11-12	3,26	7,90	8,23		9,70	9,03	8,95
11-13	3,68		7,84	9,48	9,72	9,64	8,56
11-14	2,30	3,76	7,07	8,58	9,64	8,96	9,27
11-15	3,98	5,65	4,46	7,45	9,29	8,46	9,36
11-16	2,95	4,01	7,67	9,70	9,56	8,91	8,94
11-17	4,08	0,00		9,06	9,20	8,63	9,55
11-18	4,01	3,43	4,22	8,89	9,52	9,65	8,48
12-1	6,73	4,77	7,53	8,75	9,62	10,41	9,32
12-2	4,85	2,30	8,67	9,39	9,71	9,12	8,96
12-3	4,38	4,26	8,21	8,34	10,35	10,28	7,15
12-4	4,79	7,51	8,47	9,19	9,23	10,23	9,40
12-5	6,56	6,11	7,71	8,17	8,49	8,51	8,24

Kalb	Aerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-6	4,08	5,09	10,02	10,23	10,88	9,57	8,96
12-7	5,44	7,79	7,23	8,62	10,02	9,35	8,45
12-8	7,49	8,51	8,50	9,53	10,52	10,86	9,01
13-1	4,04	5,43	3,30	8,45	9,03	9,58	7,85
13-2	5,38	5,51	7,67	8,66	9,43	9,09	9,47
13-3	4,05	4,26	3,04	7,13	8,42	8,26	8,75
13-4	3,48	3,79	5,00	7,67	8,60	8,66	8,64
13-5	3,66	2,78	4,72	8,60	9,50	8,57	9,01
13-6	7,21	5,85	6,12	10,67	9,13	8,20	8,68
13-7	5,65	6,60	6,58	9,06	8,63	8,48	7,41
13-8	5,02	4,42	8,03	8,44	7,23	7,90	8,57
13-9	4,88	4,49	8,53	9,10	8,67	8,74	8,23
13-10	6,74	7,91	8,48	8,87	8,95	9,25	8,17
13-11	4,90	5,85	6,80	9,26	9,03	8,60	7,91
13-12	7,62	9,06	8,63	9,41	9,18	8,47	8,24

Tabelle 33: Anaerobe GKZ [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	Anaerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	3,17	5,50	4,82	9,70	10,72	9,77	10,32
1-2	3,30	4,15	8,39	9,79	9,68	9,78	10,43
1-3	0,00		3,28	9,85	9,08	9,90	9,85
1-4	4,45	3,67	5,66	8,40	9,34	10,04	10,00
1-6	3,81	4,18	7,34	9,20	10,79	9,24	10,11
1-7	2,48	0,00	4,10	8,62	8,95	9,70	9,74
1-8	4,20	4,15	5,95	8,74	9,86	9,89	10,12
1-9	3,42	3,26	5,00	7,67	9,57	9,18	8,92
2-4	3,65	4,93	9,20	9,44	9,90	9,68	10,32
2-5	3,44	5,61	9,19	9,81	8,99	10,02	10,04
2-6	4,67	7,20	9,18	9,00	8,70	9,65	9,26
2-7	4,63	8,82	9,36	9,04	10,07	9,92	10,16
2-8	3,70	6,48	8,20	8,81	8,89	9,52	9,43
2-9	5,44	7,98	9,11	9,67	10,37	8,82	9,70
3-1	4,00	7,86	9,17	9,76	10,40	10,10	11,53
3-2	4,29	6,32	9,13	9,88	9,79	10,34	9,32
3-3	3,71	3,11	7,42	9,16	9,77	9,52	11,23
3-4	2,30	3,35	8,68	8,08	9,38	9,51	10,92
3-5	3,95	4,90	9,08	9,41	9,18	9,91	10,43
3-6	4,26	9,40	9,27	9,16	9,36	9,47	10,77
3-7	4,51	5,02		8,95	10,26	10,46	10,81
3-8	2,95	4,18	8,98	8,76	10,38	10,18	9,53
3-9	5,23	4,58	9,30	9,19	9,56	9,74	11,02
3-10	3,98	4,22	8,34	9,83	9,65	11,00	10,40
3-11	3,18	3,22	10,15	9,68	9,18	10,51	10,23
3-12	7,32	9,44	10,93	10,18	10,26	9,61	10,41
3-13	5,95	4,65	9,36	9,52	9,92	10,09	10,65
4-2	2,60	2,60	6,57	8,27	10,06	9,21	10,26
4-3	3,00	3,95	7,28	9,18	9,72	10,35	10,99
4-4	0,00	3,32	9,20	9,48	9,81	9,93	10,43
4-6	3,23	2,95	4,31	9,11	9,88	9,59	10,15
4-7	6,38	6,78	8,63	7,83	10,35	10,59	10,11
4-8	4,47	6,84	9,31	9,49	10,92	10,17	9,89
4-9	2,30	4,22	5,03	8,61	10,34	10,50	9,89
4-10	6,85	5,24	7,79	9,29	10,31	9,99	11,16
4-11	4,63	9,44	9,85	9,82	10,82	10,52	10,92
4-12			7,93	9,08	10,15	10,46	9,87
4-13	4,95	5,02	5,58	9,17	9,82	10,06	11,40
4-14	2,60	5,49	7,79	9,95	10,53	10,04	10,48
4-15	5,40	5,52	9,14	10,25	10,05	10,26	8,76
5-1	2,60	3,60	9,28	9,83	10,13	9,37	9,91
5-2	3,11	4,23	9,32	8,82	9,68	9,71	10,35
5-3	3,38	4,08	4,72	7,31	9,68	9,20	10,70

Kalb	Anaerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	4,57	4,73	5,57	9,37	9,97	10,50	9,92
5-6	5,75	5,62	9,12	8,58	9,54	9,70	10,31
5-7	5,41	8,54	9,40	9,83	9,54	9,15	9,73
5-9	5,03	7,83	7,29	8,25	9,66	9,10	9,39
5-10	3,11	4,28	8,85	10,15	10,28	10,98	9,46
5-11	5,29	7,68	7,85	8,72	9,58	10,12	
5-12	4,99	4,94	8,82	9,96	10,02	11,88	10,33
5-13	4,20	7,32	7,46	10,42	10,00	10,54	10,00
5-14	5,17	7,10	11,32	9,55	10,21	9,92	10,86
5-15	3,18	3,40	5,28	9,41	9,77	10,22	9,47
6-1	4,44	5,06	5,95	8,66	11,07	11,83	9,82
6-2	3,81	5,50	7,97	9,75	9,74	9,33	10,64
6-3	5,48	3,89	8,29	9,86	10,06	9,24	9,90
6-4	7,26	9,07	8,66	8,87	10,40	9,77	10,48
6-5	6,86	7,82	8,79	8,96	9,67	10,24	10,61
6-6	7,26	6,69	8,29	8,69	10,04	9,86	10,20
6-7	5,90	5,51	7,37	9,75	9,26	9,72	10,57
6-8	4,83	6,19	8,29	8,99	9,57	10,00	9,89
6-9	7,05	8,14	9,38	10,08	9,97	10,31	10,52
6-10	6,54	7,59	7,91	8,85	10,06	9,34	10,31
6-11	3,81	9,00	8,92	9,71	9,65	10,30	10,27
6-12	7,01	6,16	10,03	10,26	10,06	9,04	10,09
6-13	4,79	6,66	8,32	9,24	9,66	9,67	9,83
6-14	4,57	4,81	6,77	9,00	9,46	9,55	9,80
6-15	4,07	7,28	8,16	9,12	9,92	9,61	9,98
7-1	5,60	4,67	4,59	8,35	9,84	8,84	9,91
7-2	5,29	4,51	8,77	8,76	10,06	10,38	10,04
7-3	2,00	3,97	9,76	7,65	9,78	9,65	10,53
7-4	3,95	5,57	6,14	8,56	9,89	10,88	10,80
7-5	5,89	5,47	8,28	7,25	9,46	10,70	10,62
7-6	5,12	9,50	9,64	9,73	11,47	9,97	11,58
7-7	4,44	6,12	8,39	9,95	9,71	10,17	10,14
7-8	5,45	5,80	8,41	9,96	10,34	9,75	10,83
7-9	4,40	8,51	10,09	10,07	9,84	9,86	11,18
7-10	4,12	2,00	2,78	2,51	10,48	9,67	10,51
7-15				10,16	9,52	9,83	10,31
7-18	2,30	3,63	2,48	6,61		9,78	10,91
8-1	3,74	5,61	4,59	9,27	9,96	9,76	10,11
8-2	2,48	5,10	3,34	9,20	9,85	10,28	10,85
8-3	3,08	4,09	6,10	9,16	9,81	10,28	9,88
8-4	4,53	4,64	8,30	8,95	9,83	10,57	10,50
8-5	2,85	3,15	7,65	9,92	10,53	9,83	10,44
8-6	3,77	2,30	8,91	9,14	9,37	10,55	10,53
8-8	4,37	3,90	9,40	9,48	9,33	10,20	10,38
8-9	6,40	5,93	5,93	9,18	9,83	9,62	10,90
8-10	2,00	0,00	4,73	7,90	10,00	10,17	11,69

Kalb	Anaerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	2,90	4,09	9,76	11,24	11,84	9,81	9,75
8-12	3,38	4,36	6,62	9,54	10,72	10,97	10,52
8-13	5,47	4,92	4,70	9,80	9,19	9,91	10,89
8-14	4,94	6,93	9,61	9,62	9,95	8,88	10,70
8-15	3,37	3,08	3,96	10,31	9,56	10,89	10,49
9-1	5,14	5,00	9,68	9,47	9,53	10,45	
9-2	3,32	0,00	8,37	8,77	9,26	8,98	9,68
9-4	2,60	2,48	9,24	10,16	10,34	9,58	10,79
9-5	3,76	4,33	9,77	10,04	10,98	7,84	10,31
10-1	2,90	0,00	7,99	11,35	9,69	10,00	10,31
10-2	4,30	0,00	2,00	9,48	9,99	10,20	10,10
10-3	3,65	3,99	3,46	8,78	8,59	10,24	10,35
10-4	3,27	4,87	6,36	8,46	8,86	9,20	10,87
10-6	2,78	2,30	8,99	9,53	9,45	10,23	10,54
10-7	2,70	3,23	3,89	8,37	9,56	10,72	8,57
10-8	5,46	5,50	5,23	10,15	10,48	10,47	10,04
10-9	4,33	6,21	9,06	9,51	9,00	9,83	10,35
10-10	0,00	2,48	4,74	7,36	10,24	9,91	10,62
10-11	2,70	3,75	5,49	8,69	9,24	10,81	10,45
10-12	3,58	4,18	8,50	9,66	8,28	9,76	10,59
10-13	3,59	2,30	2,90	8,76	8,94	10,12	10,96
10-14	3,97	3,98	8,32	8,91	8,85	10,33	10,81
10-15		6,03	9,22	7,53	10,52	10,82	9,78
11-1	2,00	4,99	6,53	9,76	9,43	10,61	9,54
11-2	0,00	3,00	9,07	9,39	10,38	9,81	10,00
11-3	2,30	2,48	9,70	9,53	10,09	9,98	10,64
11-4	0,00	0,00	8,38	10,07	10,22	10,46	10,15
11-5	0,00	3,28	4,19	9,23	10,24	10,19	10,10
11-6	3,23	2,70	2,60	9,29	10,32	9,67	9,82
11-7		2,85	7,23	9,13	9,74	9,89	11,10
11-8	3,34	2,95	4,77	7,30	10,09	10,13	10,28
11-9	0,00	4,16	8,74	9,92	9,24	9,42	8,94
11-10	3,18	3,83	5,91	9,30	9,78	9,93	9,78
11-11	4,21	2,78	3,88	9,41	10,01	10,40	10,29
11-12	2,48	7,75	8,05		9,75	10,94	10,91
11-13	3,56		7,79	9,41	10,30	10,21	10,29
11-14	2,00	3,80	7,09	8,57	9,88	10,48	10,38
11-15	4,56	5,65	4,54	7,54	9,92	10,35	9,73
11-16	0,00	3,95	7,68	9,84	10,06	9,62	10,18
11-17	3,15	2,00		8,96	9,69	9,13	10,77
11-18	2,78	0,00	9,05	4,10	10,18	9,90	9,47
12-1	6,35	3,89	7,75	8,84	10,31	10,43	9,43
12-2	4,28	3,00	8,72	9,32	9,88	10,06	10,01
12-3	3,97	3,85	8,18	8,54	10,55	11,25	9,70
12-4	3,23	6,59	8,60	9,39	9,84	11,34	10,03
12-5	6,39	5,85	7,64	8,35	8,57	9,17	10,17

Kalb	Anaerobe GKZ						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-6	3,83	4,80	10,06	10,31	11,06	10,29	10,26
12-7	5,39	7,90	7,32	8,71	10,39	10,51	10,68
12-8	7,89	8,49	8,53	9,58	10,97	11,31	9,92
13-1	0,00	0,00	0,00	8,54	8,97	9,53	10,06
13-2	4,56	4,60	7,83	8,83	9,73	9,60	9,46
13-3	4,18	4,22	3,13	7,26	9,15	9,95	10,37
13-4	2,93	3,13	5,57	7,77	8,59	9,39	10,64
13-5	3,16	3,15	4,53	8,89	9,73	9,51	10,42
13-6	6,86	5,56	6,04	10,42	10,05	9,17	9,68
13-7	5,20	7,29	7,60	9,46	8,92	8,92	8,69
13-8	4,97	3,85	7,93	8,37	8,55	8,31	7,98
13-9	4,05	4,23	8,18	9,03	8,46	9,52	9,91
13-10	6,63	8,05	8,57	8,87	9,18	9,93	9,96
13-11	5,15	5,48	6,64	8,36	9,61	9,89	9,64
13-12	7,22	9,10	8,81	9,10	9,89	9,50	10,73

Tabelle 34: Gesamtzahl der Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	5,47	5,69	4,84	9,43	9,34	9,30	8,56
1-2	2,90	0,00	8,06	9,70	9,50	9,10	6,79
1-3	0,00		2,00	9,62	9,00	9,32	7,54
1-4	3,11	3,39	5,40	8,60	8,95	9,95	7,41
1-6	0,00	2,48	7,45	9,23	9,90	7,70	7,24
1-7	0,00	0,00	4,28	8,88	8,41	7,85	8,72
1-8	2,30	3,08	3,64	8,94	9,75	6,78	8,37
1-9	0,00	0,00	0,00	7,74	8,44	8,13	7,85
2-4	3,08	4,85	8,32	8,09	9,13	8,90	8,00
2-5	2,00	4,95	8,81	8,91	8,10	7,53	8,76
2-6	3,99	7,24	8,96	8,48	7,82	8,12	9,02
2-7	4,18	8,66	8,99	8,56	8,88	7,89	7,99
2-8	2,48	7,08	7,80	8,43	7,70	7,90	7,62
2-9	5,13	8,13	8,74	8,26	9,15	8,60	8,95
3-1	2,60	7,38	8,81	8,46	9,45	8,73	9,08
3-2	2,85	6,04	8,93	9,76	9,70	10,43	8,35
3-3	3,24	2,78	7,28	9,22	9,27	9,20	8,56
3-4	0,00	3,04	8,69	9,00	9,15	7,48	7,87
3-5	4,38	4,61	8,60	9,20	8,98	9,89	8,48
3-6	3,88	9,40	9,33	9,15	8,98	9,18	8,95
3-7	4,08	5,93		8,76	9,15	9,90	9,04
3-8	2,00	3,93	8,78	8,26	9,32	9,11	8,83
3-9	3,58	3,18	8,51	9,18	8,38	7,32	8,79
3-10	3,28	3,43	8,46	9,72	9,08	10,04	7,57
3-11	2,85	2,30	9,75	9,38	9,08	9,60	7,87
3-12	7,07	9,36	10,26	9,49	9,45	8,08	8,95
3-13	3,95	4,41	9,20	9,04	9,69	9,45	8,85
4-2	0,00	0,00	5,60	7,86	10,03	9,34	8,03
4-3	2,30	3,79	6,90	8,93	9,22	9,66	8,68
4-4	0,00	3,18	8,45	9,22	9,40	9,71	8,54
4-6	2,30	0,00	4,06	9,11	9,66	9,29	8,10
4-7	6,15	6,72	8,60	7,98	9,79	10,23	8,93
4-8	2,48	6,76	9,40	9,13	9,66	9,37	9,39
4-9	2,70	3,15	4,96	8,49	9,17	9,86	8,47
4-10	5,72	3,54	7,95	8,84	10,05	9,61	9,01
4-11	3,15	9,32	9,85	9,67	10,21	9,64	9,19
4-12	0,00	4,40	8,11	9,11	9,86	9,89	8,79
4-13	4,77	4,36	5,45	9,02	9,49	9,50	10,76
4-14	2,30	5,30	7,57	9,97	10,41	9,69	8,34
4-15	3,95	5,29	8,98	10,00	9,81	9,43	7,95
5-1	0,00	3,04	9,08	9,58	9,23	8,51	7,41
5-2	2,95	4,35	9,03	8,66	9,09	8,20	8,45
5-3	2,95	3,94	4,42	7,20	9,29	8,91	8,06

Kalb	Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	3,04	4,33	4,99	9,25	9,74	10,22	8,13
5-6	5,53	4,87	7,71	8,26	8,96	9,06	8,22
5-7	5,37	8,18	9,62	9,94	9,39	8,91	8,08
5-9	4,32	7,55	6,97	8,44	9,79	8,93	8,72
5-10	0,00	2,00	8,61	9,73	10,05	10,26	6,85
5-11	6,04	7,60	8,07	8,69	9,34	8,92	
5-12	2,60	4,67	8,59	9,70	9,73	11,65	9,62
5-13	3,90	7,09	7,49	9,98	9,02	8,94	8,19
5-14	3,96	6,13	10,84	9,32	8,85	9,15	10,21
5-15	0,00	2,30	5,34	8,93	8,81	9,98	8,08
6-1	4,69	4,74	5,84	8,54	11,08	11,13	7,75
6-2	2,00	5,07	7,70	9,66	7,72	8,39	8,42
6-3	3,66	3,23	7,73	9,72	8,79	8,91	8,31
6-4	6,14	9,07	8,32	8,74	9,76	9,18	8,91
6-5	5,54	7,73	8,08	8,93	8,71	8,61	8,67
6-6	7,02	6,44	7,90	8,82	9,78	9,26	7,74
6-7	7,04	4,87	7,29	9,19	8,74	8,76	8,88
6-8	4,03	6,03	8,45	9,03	9,65	9,84	9,31
6-9	7,05	8,01	9,40	10,04	10,10	10,19	8,12
6-10	5,98	7,41	7,69	8,55	10,08	9,10	8,27
6-11	3,10	8,90	8,82	9,59	9,12	8,79	9,45
6-12	6,33	6,04	9,84	10,03	9,69	8,51	7,50
6-13	2,60	6,69	8,23	9,10	9,27	8,74	8,57
6-14	4,11	4,75	6,73	8,79	9,26	9,08	8,58
6-15	4,08	6,02	8,29	8,71	9,56	8,74	8,31
7-1	5,00	4,07	4,37	8,09	8,83	8,49	7,78
7-2	5,21	4,33	8,88	8,70	9,24	8,98	8,67
7-3	2,70	3,90	9,44	7,65	9,02	9,65	9,03
7-4	3,75	5,53	0,00	8,51	9,65	9,57	9,22
7-5	5,52	5,51	7,99	6,99	9,47	10,42	9,10
7-6	5,49	9,23	9,40	9,27	10,95	9,58	9,83
7-7	5,61	7,73	8,33	9,60	9,37	8,87	7,88
7-8	4,04	5,25	8,20	9,60	10,32	9,39	9,91
7-9	3,18	8,08	9,10	9,07	8,94	8,92	8,80
7-10	0,00	0,00	2,95	8,86	9,81	9,03	8,83
7-15				9,69	9,00	8,89	9,27
7-18	0,00	3,42	0,00	6,57		9,16	9,43
8-1	0,00	2,81	3,54	8,41	9,24	8,08	7,10
8-2	0,00	5,18	2,00	9,04	9,04	9,52	8,54
8-3	3,10	3,04	5,98	9,05	8,93	8,89	8,61
8-4	4,09	4,50	7,98	8,96	9,16	8,74	8,70
8-5	0,00	0,00	7,66	9,41	9,61	8,85	8,32
8-6	3,18	2,48	8,68	8,95	9,23	9,64	8,33
8-8	4,24	4,01	8,80	9,36	9,10	9,30	9,03
8-9	6,26	5,32	5,34	8,83	8,91	8,57	9,47
8-10	0,00	0,00	2,95	7,82	9,66	9,08	9,55

Kalb	Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	2,00	4,00	9,60	10,46	11,45	9,55	8,41
8-12	4,08	4,26	6,70	10,25	10,43	9,35	8,36
8-13	5,00	4,87	4,65	9,56	8,74	9,60	9,45
8-14	3,41	6,36	9,50	9,15	9,46	8,00	8,77
8-15	2,30	0,00	3,36	10,15	9,38	9,26	8,13
9-1	5,06	5,88	9,62	9,33	9,50	10,15	
9-2	2,60	0,00	8,37	8,77	9,26	8,98	9,68
9-4	2,30	2,00	9,08	10,08	10,09	9,28	9,37
9-5	0,00	3,34	8,33	9,05	10,10	7,13	8,74
10-1	2,48	0,00	5,72	10,48	9,51	9,88	8,55
10-2	3,32	2,70	0,00	9,23	8,38	8,01	8,42
10-3	3,38	3,77	3,11	8,65	8,52	8,99	8,52
10-4	2,48	3,61	5,18	6,97	5,46	5,38	8,14
10-6	2,48	2,90	9,15	9,06	9,12	9,34	8,13
10-7	3,00	2,00	3,60	8,36	8,76	9,61	8,36
10-8	4,24	4,85	5,17	9,78	9,81	9,35	8,09
10-9	3,95	5,89	8,88	9,68	8,37	8,74	8,29
10-10	0,00	0,00	3,81	7,29	9,64	9,40	7,79
10-11	2,95	4,11	5,10	8,71	8,84	9,18	8,00
10-12	2,30	4,05	8,34	9,60	7,90	9,21	8,20
10-13	2,00	0,00	2,00	8,64	8,51	8,20	8,89
10-14	3,11	3,46	8,23	8,60	8,59	9,24	8,76
10-15		5,85	8,18	7,30	9,99	9,47	7,27
11-1	2,00	4,93	6,21	9,69	9,00	9,04	8,77
11-2	0,00	0,00	8,80	9,15	9,69	9,23	9,83
11-3	0,00	2,70	9,30	9,43	9,45	9,23	9,04
11-4	0,00	0,00	8,29	9,60	9,80	8,80	7,72
11-5	0,00	2,30	3,75	9,03	9,61	8,66	8,89
11-6	0,00	0,00	2,60	9,27	9,68	8,32	9,07
11-7		0,00	7,28	8,78	9,60	9,52	9,12
11-8	2,60	0,00	4,47	7,26	9,74	9,23	8,23
11-9	0,00	2,48	8,43	9,02	8,97	7,53	6,06
11-10	2,85	3,52	5,96	9,14	9,54	8,51	6,02
11-11	4,16	2,00	4,20	9,26	9,97	8,55	8,52
11-12	2,00	7,24	8,15		9,60	8,69	8,42
11-13	2,85		7,31	9,36	9,14	9,19	8,10
11-14	0,00	3,49	6,53	8,47	9,38	8,60	8,76
11-15	4,54	5,64	4,53	7,52	8,80	8,25	8,29
11-16	0,00	3,79	7,61	9,63	9,53	8,54	8,86
11-17	3,15	0,00		9,14	9,52	8,55	8,52
11-18	0,00	0,00	4,11	8,94	9,54	9,20	7,92
12-1	3,98	2,90	7,58	8,53	9,18	10,23	9,16
12-2	2,00	2,00	8,62	9,08	9,49	8,92	8,56
12-3	2,90	3,41	8,88	8,37	10,09	9,88	8,97
12-4	0,00	6,17	8,45	9,21	9,13	9,80	9,47
12-5	3,91	5,37	7,39	8,02	8,43	8,04	8,31

Kalb	Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-6	2,00	3,49	9,88	10,19	10,76	9,29	8,96
12-7	3,15	7,46	7,03	8,39	10,00	9,28	7,96
12-8	6,60	8,28	8,25	9,58	10,53	10,74	8,51
13-1	0,00	0,00	2,85	8,41	7,35	8,41	5,31
13-2	4,28	5,28	6,72	8,10	8,85	7,77	8,18
13-3	2,00	2,78	0,00	6,48	8,06	7,78	7,88
13-4	2,00	0,00	3,00	7,83	8,23	8,08	7,60
13-5	0,00	0,00	4,45	8,42	9,41	8,70	7,20
13-6	5,23	4,42	4,35	7,71	9,10	8,24	7,59
13-7	4,59	6,18	6,31	9,33	7,98	7,69	7,42
13-8	4,25	4,41	7,74	8,36	7,93	7,76	7,04
13-9	3,45	3,23	8,28	8,99	8,33	8,18	7,51
13-10	6,35	7,90	8,61	8,21	8,90	8,73	6,43
13-11	4,74	5,20	6,62	8,45	8,77	8,00	6,84
13-12	7,85	8,76	8,60	9,00	9,14	8,11	7,61

Tabelle 35: Keimzahlen der laktosepositiven und laktosenegativen Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	Laktosepositive Enterobacteriaceae							Laktosenegative Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	0,00	5,69	4,84	9,43	9,34	9,30	8,56	5,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-2	2,48	0,00	8,06	9,70	9,50	9,10	6,79	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00		2,00	9,62	9,00	9,32	7,52	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	6,30
1-4	2,85	3,37	5,40	8,60	8,95	9,95	7,40	2,78	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
1-6	0,00	0,00	7,45	9,23	9,90	7,70	7,24	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-7	0,00	0,00	4,28	8,88	8,41	7,85	8,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-8	0,00	2,00	3,40	8,94	9,75	6,78	8,37	2,30	3,04	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	7,74	8,44	8,13	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	0,00	4,81	8,30	8,09	9,13	8,90	8,00	3,08	3,70	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-5	0,00	4,30	8,81	8,91	8,10	7,53	8,67	2,00	4,85	7,00	0,00	0,00	0,00	8,00
2-6	3,76	7,23	8,96	8,48	7,82	8,12	9,02	3,60	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-7	0,00	8,66	8,99	8,54	8,88	7,89	7,99	4,18	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00
2-8	0,00	7,08	7,80	8,43	7,70	7,90	7,61	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
2-9	5,06	8,13	8,74	8,26	9,15	8,60	8,95	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	2,48	7,34	8,81	8,46	9,45	8,73	9,08	2,00	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-2	0,00	6,01	8,92	9,76	9,70	10,43	8,18	2,85	4,90	7,30	0,00	0,00	0,00	7,00
3-3	0,00	2,78	7,28	9,22	9,27	9,20	8,56	3,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-4	0,00	3,00	8,69	9,00	9,15	7,48	7,87	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-5	0,00	0,00	8,58	9,20	8,98	9,83	8,30	4,38	4,61	7,30	0,00	0,00	9,00	8,00
3-6	2,48	9,40	9,33	9,15	8,98	9,18	8,95	3,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-7	2,95	5,74		8,76	9,15	9,90	9,04	4,05	5,48		0,00	0,00	0,00	0,00
3-8	0,00	3,92	8,78	8,26	9,32	9,11	8,83	2,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-9	3,58	2,48	8,51	9,18	8,38	7,20	8,79	0,00	3,08	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
3-10	3,23	3,00	8,46	9,72	9,08	10,04	7,35	2,30	3,23	0,00	0,00	0,00	0,00	7,18
3-11	2,00	2,30	9,75	9,23	9,08	9,60	7,62	2,78	0,00	0,00	8,85	0,00	0,00	7,51
3-12	7,06	9,36	10,26	9,49	9,45	7,90	8,89	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	7,60	8,08
3-13	3,60	4,41	9,20	9,04	9,68	9,45	8,85	3,70	0,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00
4-2	0,00	0,00	5,60	0,00	10,03	9,34	8,00	0,00	0,00	0,00	7,86	0,00	0,00	7,00
4-3	2,30	3,79	6,90	8,93	9,22	9,66	8,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-4	0,00	3,11	8,45	9,22	9,40	9,71	8,40	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00
4-6	0,00	0,00	4,03	9,00	9,66	9,29	8,10	2,30	0,00	3,00	8,48	0,00	0,00	0,00
4-7	4,78	6,72	8,60	7,98	9,78	10,23	8,88	6,13	0,00	0,00	0,00	8,00	0,00	8,00
4-8	2,00	6,76	9,34	9,13	9,66	9,37	9,39	2,30	0,00	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00
4-9	0,00	3,15	4,96	8,49	9,17	9,86	8,47	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-10	4,00	3,30	7,95	8,84	10,05	9,61	9,01	5,71	3,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-11	2,78	9,08	9,49	9,15	10,21	9,64	9,19	2,90	8,95	9,60	9,52	0,00	0,00	0,00
4-12	0,00	4,34	8,10	9,11	9,86	9,89	8,79	0,00	3,48	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-13	3,00	4,26	5,45	8,92	9,49	9,50	10,76	4,70	3,30	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00
4-14	2,00	5,30	7,57	9,97	10,41	9,69	8,34	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-15	3,30	5,29	8,56	9,92	9,73	9,43	7,95	3,85	0,00	8,78	9,18	9,04	0,00	0,00
5-1	0,00	2,60	9,08	9,58	9,23	8,51	7,40	0,00	2,85	7,00	0,00	0,00	0,00	6,00
5-2	2,00	4,33	9,03	8,66	9,09	8,14	8,45	2,90	3,00	0,00	0,00	0,00	7,30	6,00

Kalb	Laktosepositive Enterobacteriaceae							Laktosenegative Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-3	0,00	3,92	4,30	7,20	9,29	8,91	8,06	2,95	2,70	3,81	5,30	0,00	0,00	0,00
5-5	2,95	4,29	4,98	9,25	9,74	10,22	8,13	2,30	3,30	3,60	0,00	0,00	0,00	6,00
5-6	4,48	4,87	7,71	8,26	8,96	9,06	8,22	5,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-7	0,00	8,17	9,62	9,94	9,39	8,91	8,08	5,37	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-9	4,11	7,55	6,93	8,30	9,79	8,93	8,72	3,90	0,00	5,85	7,86	0,00	0,00	0,00
5-10	0,00	0,00	8,61	9,70	10,05	10,26	6,85	0,00	2,00	0,00	8,60	0,00	8,48	0,00
5-11	0,00	7,60	8,07	8,64	9,34	8,92	7,43	6,04	0,00	0,00	7,70	0,00	7,00	6,30
5-12	0,00	4,61	8,59	9,67	9,73	11,65	9,62	2,60	3,78	0,00	8,48	0,00	9,30	0,00
5-13	3,90	7,09	7,49	9,98	9,02	8,94	8,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-14	3,96	6,11	10,84	9,30	8,85	9,15	10,21	0,00	4,60	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00
5-15	0,00	0,00	5,34	8,93	8,81	9,98	8,08	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-1	2,78	4,74	5,84	8,54	9,00	10,78	7,75	4,68	3,00	0,00	0,00	11,08	10,87	0,00
6-2	2,00	5,03	7,65	9,66	7,72	8,39	8,42	0,00	4,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00
6-3	3,66	3,23	7,71	9,72	8,78	8,91	8,31	0,00	0,00	6,48	0,00	7,00	0,00	0,00
6-4	6,12	8,15	8,32	8,74	9,76	9,18	8,91	4,60	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-5	4,78	6,30	8,04	8,93	8,70	8,61	8,67	5,45	7,71	7,00	0,00	7,00	0,00	0,00
6-6	5,60	6,42	7,90	8,82	9,76	9,26	7,74	7,00	5,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00
6-7	5,70	4,54	7,29	9,06	8,73	8,76	8,88	7,02	4,60	0,00	7,60	7,00	0,00	0,00
6-8	3,78	6,03	8,45	9,03	9,65	9,84	9,31	3,70	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00
6-9	5,30	7,79	9,39	10,04	10,10	10,19	8,12	7,02	7,60	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	5,23	7,41	7,69	8,55	10,08	9,10	8,27	5,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-11	3,00	8,89	8,82	9,59	9,12	8,79	9,45	2,40	7,48	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-12	4,70	0,00	9,82	10,03	9,69	8,51	7,50	6,32	6,04	8,60	8,00	0,00	0,00	0,00
6-13	2,00	5,26	8,17	9,09	9,27	8,74	8,57	2,48	6,68	7,30	7,60	0,00	0,00	0,00
6-14	3,30	4,63	6,66	8,71	9,26	9,08	8,58	4,04	4,11	5,90	8,00	0,00	0,00	0,00
6-15	2,70	5,60	8,29	8,71	9,56	8,74	8,31	4,06	5,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-1	0,00	2,00	4,34	8,09	8,83	8,49	7,78	5,00	4,07	3,15	0,00	0,00	0,00	0,00
7-2	0,00	0,00	8,88	8,68	9,24	8,98	8,67	5,21	4,33	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00
7-3	0,00	2,70	9,44	7,65	9,02	9,65	9,03	2,70	3,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-4	0,00	0,00	0,00	8,51	9,64	9,57	9,21	3,75	5,53	0,00	0,00	8,00	0,00	7,00
7-5	0,00	0,00	7,99	6,98	9,46	10,42	9,10	5,52	5,51	0,00	5,30	7,00	0,00	0,00
7-6	0,00	9,23	9,40	9,27	10,95	9,58	9,83	5,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-7	0,00	6,60	8,33	9,60	9,37	8,87	7,87	5,61	7,69	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
7-8	2,60	5,25	8,20	9,60	10,32	9,39	9,91	4,03	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-9	0,00	8,08	9,10	9,07	8,94	8,92	8,80	3,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	2,95	8,86	9,81	9,03	8,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-15				9,69	9,00	8,89	9,27				0,00	0,00	0,00	0,00
7-18	0,00	3,42	0,00	6,57		9,16	9,43	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00
8-1	0,00	2,53	3,41	8,41	9,24	8,08	7,10	0,00	2,48	2,95	0,00	0,00	0,00	0,00
8-2	0,00	0,00	0,00	9,04	9,03	9,52	8,53	0,00	5,18	2,00	0,00	7,30	0,00	6,00
8-3	2,48	0,00	5,98	8,78	8,93	8,86	8,61	2,98	3,04	0,00	8,71	0,00	7,70	0,00
8-4	2,85	3,08	7,67	8,85	9,16	8,74	8,70	4,07	4,48	7,70	8,30	0,00	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	7,66	9,30	9,60	8,85	8,32	0,00	0,00	5,70	8,78	8,00	0,00	0,00
8-6	0,00	0,00	8,68	8,95	9,23	9,63	8,33	3,18	2,48	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00
8-8	0,00	0,00	8,80	9,36	9,10	9,30	9,03	4,24	4,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-9	0,00	0,00	4,60	8,79	8,91	8,57	9,47	6,20	5,32	5,25	7,85	0,00	0,00	0,00

Kalb	Laktosepositive Enterobacteriaceae							Laktosenegative Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-10	0,00	0,00	2,95	7,74	9,53	9,00	9,55	0,00	0,00	0,00	7,04	9,08	8,30	0,00
8-11	0,00	3,93	9,60	10,46	11,40	9,55	8,41	2,00	3,11	0,00	0,00	10,54	0,00	0,00
8-12	2,30	4,02	6,70	10,25	10,42	9,35	8,36	4,07	3,89	0,00	8,00	8,30	0,00	0,00
8-13	0,00	4,87	4,65	9,56	8,74	9,60	9,45	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-14	0,00	6,15	9,49	9,15	9,46	8,00	8,77	3,41	5,95	8,00	0,00	0,00	6,30	0,00
8-15	0,00	0,00	3,30	10,15	9,38	9,26	8,13	2,30	0,00	2,48	0,00	0,00	7,00	0,00
9-1	3,60	4,70	9,62	9,32	9,50	10,15		5,05	5,85	0,00	7,00	0,00	0,00	
9-2	0,00	0,00	8,37	8,77	9,26	8,98	9,68	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-4	0,00	2,00	9,08	10,08	10,09	9,28	9,37	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-5	0,00	3,34	8,33	9,05	10,10	7,13	8,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-1	0,00	0,00	5,72	10,48	9,51	9,88	8,55	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00	0,00
10-2	0,00	2,48	0,00	9,23	8,38	7,97	8,41	3,32	2,30	0,00	0,00	0,00	7,00	6,00
10-3	2,48	0,00	3,11	8,65	8,52	8,99	8,51	3,32	3,77	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00
10-4	0,00	3,61	5,18	6,97	5,46	5,38	8,14	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-6	0,00	2,90	9,15	9,06	9,12	9,34	8,11	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85
10-7	0,00	0,00	3,00	8,36	8,76	9,61	8,36	3,00	2,00	3,48	0,00	0,00	0,00	0,00
10-8	3,70	4,85	5,17	9,77	9,81	9,35	8,09	4,10	3,00	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00
10-9	0,00	5,73	8,88	9,68	8,37	8,73	8,29	3,95	5,40	0,00	7,00	0,00	7,00	0,00
10-10	0,00	0,00	3,72	7,26	9,64	9,39	7,79	0,00	0,00	3,08	6,00	0,00	7,30	0,00
10-11	0,00	0,00	4,99	8,71	8,84	9,17	8,00	2,95	4,11	4,46	0,00	0,00	7,48	0,00
10-12	2,00	3,73	8,34	9,60	7,90	9,21	8,20	2,00	3,76	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	8,64	8,51	8,20	8,89	2,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-14	0,00	3,15	8,23	8,60	8,59	9,24	8,76	3,11	3,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-15		5,63	8,05	7,26	9,99	9,47	7,27		5,43	7,58	6,30	0,00	0,00	0,00
11-1	2,00	4,93	6,21	9,69	9,00	9,04	8,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30
11-2	0,00	0,00	8,80	9,15	9,69	9,23	9,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-3	0,00	2,48	9,30	9,43	9,45	9,23	9,04	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-4	0,00	0,00	8,29	9,60	9,80	8,80	7,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-5	0,00	2,00	3,75	9,03	9,61	8,66	8,89	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-6	0,00	0,00	0,00	9,27	9,68	8,32	9,07	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00
11-7		0,00	7,28	8,78	9,60	9,52	9,12		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-8	2,60	0,00	4,47	7,26	9,74	9,23	8,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-9	0,00	0,00	8,43	9,02	8,97	7,53	6,06	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-10	2,85	3,52	5,96	9,14	9,54	8,51	6,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-11	4,16	2,00	4,20	9,26	9,97	8,55	8,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-12	2,00	7,00	7,91		9,60	8,59	8,42	0,00	6,86	7,78		0,00	8,00	0,00
11-13	0,00		7,31	9,36	9,14	9,19	8,10	2,85		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-14	0,00	3,49	6,53	8,47	9,38	8,59	8,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,90	0,00
11-15	4,54	5,64	4,53	7,52	8,80	8,00	8,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,88	0,00
11-16	0,00	3,79	7,61	9,63	9,53	8,54	8,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-17	3,15	0,00		9,14	9,52	8,46	7,85	0,00	0,00		0,00	0,00	7,78	8,41
11-18	0,00	0,00	4,11	8,94	9,54	9,20	7,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60
12-1	3,96	2,70	7,58	8,53	9,18	10,23	9,16	3,36	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-2	2,00	2,00	8,61	9,08	9,49	8,92	8,56	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	2,60	3,18	8,88	8,37	10,09	9,88	8,97	2,60	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-4	0,00	6,17	8,45	9,21	9,13	9,80	9,47	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00

Kalb	Laktosepositive Enterobacteriaceae							Laktosenegative Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-5	3,79	5,22	7,39	8,02	8,38	8,04	8,31	3,28	4,85	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00
12-6	2,00	3,41	9,52	10,06	10,76	9,29	8,96	0,00	2,70	9,62	9,60	0,00	0,00	0,00
12-7	3,04	7,41	7,01	8,38	10,00	9,28	7,96	2,48	6,48	5,48	6,30	0,00	0,00	0,00
12-8	6,59	8,23	8,25	9,58	10,52	10,74	8,48	5,00	7,30	0,00	0,00	8,30	8,00	7,30

Tabelle 36: Keimzahlen von *E. coli* und anderen Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>E. coli</i>							Andere Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	0,00	5,58	4,84	9,43	9,34	9,30	8,56	5,47	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-2	0,00	0,00	8,06	9,70	9,50	9,10	6,79	2,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00		2,00	9,61	9,00	9,32	7,52	0,00		0,00	7,00	0,00	0,00	0,00
1-4	2,48	3,11	5,40	8,60	8,95	9,95	7,40	3,00	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-6	0,00	0,00	7,45	9,23	9,90	7,70	7,24	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-7	0,00	0,00	4,28	8,88	8,41	7,85	8,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-8	0,00	0,00	3,40	8,94	8,85	6,78	8,37	2,30	3,08	3,30	0,00	9,56	0,00	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	7,74	8,44	8,13	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	0,00	4,72	8,27	8,09	9,13	8,90	8,00	3,08	4,30	7,18	0,00	0,00	0,00	6,48
2-5	0,00	0,00	8,80	8,91	8,06	7,48	8,60	2,00	4,95	7,08	0,00	7,00	6,60	8,23
2-6	3,48	0,00	8,95	8,47	7,82	8,11	9,02	3,83	7,24	7,00	6,48	0,00	6,00	0,00
2-7	0,00	8,64	8,99	8,54	8,88	7,89	7,99	4,18	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-8	0,00	7,08	7,80	8,43	7,70	7,90	7,61	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-9	5,06	8,13	8,74	8,26	9,15	8,60	8,95	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	2,30	7,34	8,76	8,28	9,45	8,73	9,06	2,30	6,30	7,85	8,00	0,00	0,00	7,60
3-2	0,00	6,01	8,92	9,76	9,60	10,43	8,05	2,85	4,90	7,30	0,00	9,00	8,00	8,04
3-3	0,00	2,78	7,28	9,22	9,27	9,20	8,56	3,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-4	0,00	3,00	8,69	8,98	9,15	7,48	7,62	0,00	3,30	0,00	7,60	0,00	0,00	7,51
3-5	0,00	0,00	8,48	9,04	8,98	9,83	8,28	4,38	4,61	8,00	8,70	8,00	9,00	8,04
3-6	2,48	8,36	9,32	9,00	8,98	9,18	8,95	3,86	8,30	7,70	8,60	0,00	0,00	0,00
3-7	3,28	5,74		8,23	9,08	9,90	9,04	4,01	0,00		8,61	8,30	0,00	0,00
3-8	2,00	3,74	8,77	8,23	9,30	9,08	8,83	0,00	3,48	7,00	7,00	8,00	8,00	0,00
3-9	3,38	2,48	8,51	9,18	8,38	7,20	8,79	3,15	3,08	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
3-10	2,00	3,00	8,46	9,72	9,08	10,00	7,57	3,26	3,23	0,00	0,00	0,00	9,00	0,00
3-11	2,00	2,30	9,75	9,23	9,08	9,60	7,86	2,78	0,00	0,00	8,85	0,00	0,00	6,30
3-12	7,00	9,32	10,23	9,49	9,45	8,08	8,95	6,28	8,30	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-13	3,48	4,41	9,20	9,04	9,67	9,43	8,85	3,78	0,00	0,00	0,00	8,48	8,00	0,00
4-2	0,00	0,00	5,60	0,00	10,03	9,34	8,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	7,90
4-3	2,00	2,30	6,90	8,93	9,22	9,66	8,68	2,00	3,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-4	0,00	3,04	8,45	9,22	9,40	9,71	8,40	0,00	2,60	7,70	0,00	8,00	0,00	8,11
4-6	0,00	0,00	4,03	9,00	9,66	9,29	8,10	2,30	0,00	5,00	8,69	0,00	0,00	0,00
4-7	4,30	6,72	8,60	7,98	9,78	10,23	8,88	6,14	0,00	0,00	0,00	8,00	0,00	8,00
4-8	2,00	6,76	9,34	9,13	9,66	9,37	9,39	2,30	0,00	8,60	0,00	8,30	0,00	0,00
4-9	0,00	3,08	4,96	8,49	9,17	9,86	8,47	2,70	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-10	0,00	3,30	7,95	8,84	10,05	9,61	9,01	5,72	3,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-11	2,78	9,08	9,49	9,15	10,21	9,64	9,19	2,90	8,95	9,85	9,52	0,00	0,00	0,00
4-12	0,00	4,40	8,10	9,11	9,86	9,89	8,79	0,00	0,00	6,00	8,00	0,00	0,00	0,00
4-13	1,04	4,30	5,45	8,92	9,49	9,50	10,76	4,77	3,48	0,00	8,00	0,00	0,00	9,60
4-14	2,00	5,30	7,57	9,97	10,41	9,69	8,34	2,00	0,00	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00
4-15	3,00	5,29	8,56	9,92	9,73	9,43	7,95	3,90	0,00	8,98	9,91	9,04	0,00	0,00
5-1	0,00	0,00	9,08	9,58	9,23	8,51	7,40	0,00	3,04	7,95	0,00	7,60	0,00	0,00
5-2	2,00	4,31	9,03	8,66	9,09	8,14	8,45	2,90	3,30	0,00	7,00	0,00	0,00	6,00

Kalb	<i>E. coli</i>							Andere Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-3	0,00	3,91	4,30	7,20	9,29	8,91	8,06	2,95	2,81	3,81	5,30	0,00	0,00	0,00
5-5	2,95	4,29	4,98	9,25	9,74	10,22	8,13	2,30	3,30	3,70	0,00	0,00	0,00	6,00
5-6	0,00	4,70	7,71	8,26	8,96	9,06	8,22	5,53	4,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-7	0,00	6,00	9,62	9,94	9,39	8,91	8,08	5,37	8,17	9,28	8,95	0,00	7,00	0,00
5-9	3,60	7,55	6,93	8,30	9,79	8,93	8,72	4,23	0,14	5,85	7,80	0,00	0,00	0,00
5-10	0,00	0,00	8,61	9,70	10,05	10,26	6,85	0,00	2,00	7,00	8,70	0,00	8,60	0,00
5-11	0,00	7,54	8,07	8,64	9,34	8,92	7,43	6,04	6,70	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00
5-12	0,00	4,61	8,59	9,67	9,73	11,65	9,62	2,60	3,78	8,53	9,41	8,60	9,30	0,00
5-13	3,84	7,07	7,49	9,98	9,02	8,94	8,19	3,04	5,60	6,63	8,60	0,00	0,00	7,00
5-14	3,96	5,85	10,84	9,30	8,85	9,15	10,21	2,08	5,81	8,30	8,30	0,00	0,00	0,00
5-15	0,00	0,00	5,34	8,93	8,81	9,98	8,08	0,00	2,30	4,00	7,70	0,00	0,00	0,00
6-1	2,78	4,70	5,84	8,54	9,00	10,78	7,75	4,68	3,70	5,00	0,00	11,08	11,13	0,00
6-2	2,00	5,03	7,65	9,66	7,72	8,39	8,42	0,00	4,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00
6-3	3,30	3,11	7,71	9,72	8,78	8,91	8,31	3,42	2,60	6,70	0,00	7,30	0,00	0,00
6-4	4,00	8,15	8,32	8,74	9,76	9,18	8,91	6,13	7,00	0,00	0,00	9,43	0,00	7,70
6-5	4,78	6,30	8,04	8,93	8,70	8,61	8,67	5,45	7,71	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-6	5,00	6,35	7,90	8,82	9,76	9,26	7,74	7,02	5,70	6,95	7,30	0,00	0,00	0,00
6-7	5,60	4,40	7,29	9,06	8,73	8,76	8,88	7,03	4,70	7,29	7,60	0,00	0,00	0,00
6-8	3,79	5,93	8,45	9,03	9,65	9,84	9,31	3,68	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-9	5,00	7,51	9,39	10,04	10,10	10,19	8,12	7,03	7,85	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	5,15	7,39	7,69	8,55	10,08	9,10	8,27	5,91	6,00	6,48	6,00	0,00	0,00	0,00
6-11	3,00	8,86	8,82	9,59	9,12	8,79	9,45	2,40	7,85	7,78	8,00	0,00	0,00	0,00
6-12	4,70	0,00	9,82	10,03	9,69	8,51	7,50	6,32	6,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-13	2,00	5,11	8,17	9,09	9,27	8,74	8,57	2,48	6,68	8,08	7,60	0,00	0,00	0,00
6-14	3,30	4,61	6,66	8,71	9,26	9,08	8,58	4,04	4,18	5,90	8,79	0,00	0,00	0,00
6-15	2,30	5,60	8,29	8,71	9,56	8,74	8,31	4,07	5,81	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00
7-1	0,00	2,00	4,34	8,09	8,83	8,49	7,78	5,00	4,07	3,49	0,00	8,00	7,48	0,00
7-2	0,00	0,00	8,88	8,68	9,24	8,98	8,67	5,21	4,33	0,00	8,08	0,00	0,00	0,00
7-3	0,00	0,00	9,44	7,65	9,02	9,65	9,03	2,70	3,90	9,41	7,49	9,02	8,00	0,00
7-4	0,00	0,00	0,00	8,51	9,64	9,57	9,21	3,75	5,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-5	0,00	0,00	7,99	6,98	9,46	10,42	9,10	5,52	5,51	0,00	5,30	8,88	0,00	0,00
7-6	0,00	9,11	9,40	9,27	10,95	9,58	9,83	5,49	8,62	9,02	8,70	0,00	0,00	0,00
7-7	0,00	0,00	8,33	9,60	9,37	8,87	7,87	5,61	7,73	8,21	0,00	0,00	0,00	6,00
7-8	0,00	5,25	8,20	9,60	10,32	9,39	9,91	4,04	3,30	0,00	0,00	10,32	0,00	0,00
7-9	0,00	7,78	9,10	9,07	8,94	8,92	8,80	3,18	7,78	8,00	8,04	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	2,95	8,86	9,81	9,03	8,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,48
7-15				9,69	9,00	8,89	9,27				0,00	8,93	0,00	9,25
7-18	0,00	3,42	0,00	6,57		9,16	9,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-1	0,00	0,53	3,41	8,41	9,24	8,08	7,10	0,00	2,80	2,00	8,20	0,00	0,00	0,00
8-2	0,00	0,00	0,00	9,04	9,03	9,52	8,53	0,00	5,18	2,00	0,00	7,30	0,00	0,00
8-3	0,00	0,00	5,98	8,78	8,93	8,86	8,61	3,10	3,04	5,81	8,60	8,00	0,00	0,00
8-4	0,00	0,00	7,67	8,85	9,16	8,74	8,70	4,09	4,50	7,75	8,30	8,48	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	7,66	9,30	9,60	8,85	8,32	0,00	0,00	7,66	9,26	9,61	8,85	8,32
8-6	0,00	0,00	8,68	8,95	9,23	9,63	8,33	3,18	2,48	0,00	8,84	0,00	7,30	0,00
8-8	0,00	0,00	8,80	9,36	9,10	9,30	9,03	4,24	4,01	0,00	8,90	0,00	0,00	0,00
8-9	0,00	0,00	4,60	8,79	8,91	8,57	9,47	6,20	5,32	5,25	0,00	0,00	0,00	0,00

Kalb	<i>E. coli</i>							Andere Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-10	0,00	0,00	0,00	7,74	9,53	9,00	9,55	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-11	0,00	0,00	9,60	10,46	11,40	9,55	8,41	2,00	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-12	0,00	0,00	6,70	10,25	10,42	9,35	8,36	4,08	4,26	6,70	9,26	0,00	0,00	7,85
8-13	0,00	4,86	4,65	9,56	8,74	9,60	9,45	5,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-14	0,00	6,15	9,49	9,15	9,46	8,00	8,77	3,41	5,95	8,60	8,30	0,00	6,30	0,00
8-15	0,00	0,00	3,30	10,15	9,38	9,26	8,13	2,30	0,00	3,04	8,30	8,00	8,34	0,00
9-1	3,60	4,70	9,62	9,32	9,50	10,15		5,05	5,85	8,04	7,60	0,00	0,00	
9-2	0,00	0,00	8,37	8,77	9,26	8,98	9,68	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	8,81	0,00
9-4	0,00	2,00	9,08	10,08	10,09	9,28	9,37	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	7,70	0,00
9-5	0,00	3,32	8,33	9,05	10,10	7,13	8,74	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-1	0,00	0,00	5,72	10,48	9,51	9,88	8,55	2,48	0,00	5,58	10,31	0,00	8,00	0,00
10-2	3,32	0,00	0,00	9,23	8,38	7,97	8,41	0,00	2,70	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00
10-3	2,48	0,00	3,11	8,65	8,52	8,99	8,51	3,32	3,77	0,00	8,33	7,30	0,00	0,00
10-4	0,00	0,00	5,18	6,97	5,46	5,38	8,14	2,48	3,61	0,00	0,00	5,46	5,38	7,04
10-6	0,00	0,00	9,15	9,06	9,12	9,34	8,11	2,48	2,90	8,90	9,01	7,60	0,00	6,85
10-7	0,00	0,00	3,00	8,36	8,76	9,61	8,36	3,00	2,00	3,48	7,23	0,00	7,00	0,00
10-8	0,00	4,85	5,17	9,77	9,81	9,35	8,09	4,24	3,00	5,17	8,60	0,00	0,00	0,00
10-9	0,00	5,69	8,88	9,68	8,37	8,73	8,29	3,95	5,46	7,48	9,68	7,28	7,70	0,00
10-10	0,00	0,00	3,72	7,26	9,64	9,39	7,79	0,00	0,00	3,52	6,85	9,20	9,30	0,00
10-11	0,00	0,00	4,99	8,71	8,84	9,17	8,00	2,95	4,11	4,52	8,65	8,54	8,69	0,00
10-12	2,00	0,00	8,34	9,60	7,90	9,21	8,20	2,00	4,05	8,11	9,34	7,89	7,95	6,00
10-13	0,00	0,00	0,00	8,64	8,51	8,20	8,89	2,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	7,30
10-14	0,00	3,11	8,23	8,60	8,59	9,24	8,76	3,11	3,20	6,60	8,60	8,15	8,26	7,90
10-15		5,45	8,05	7,26	9,99	9,47	7,27		5,62	8,11	7,15	0,00	0,00	0,00
11-1	2,00	4,93	6,21	9,69	9,00	9,04	8,76	0,00	0,00	5,70	8,48	7,78	8,00	7,00
11-2	0,00	0,00	8,80	9,15	9,69	9,23	9,83	0,00	0,00	8,78	0,00	9,56	0,00	0,00
11-3	0,00	0,00	9,30	9,43	9,45	9,23	9,04	0,00	2,70	9,30	9,42	9,43	0,00	8,94
11-4	0,00	0,00	8,29	9,60	9,80	8,80	7,72	0,00	0,00	8,08	0,00	0,00	0,00	0,00
11-5	0,00	2,00	3,75	9,03	9,61	8,66	8,89	0,00	2,00	3,48	8,30	8,48	0,00	0,00
11-6	0,00	0,00	0,00	9,27	9,68	8,32	9,07	0,00	0,00	2,60	8,70	0,00	0,00	0,00
11-7		0,00	7,28	8,78	9,60	9,52	9,12		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-8	0,00	0,00	4,47	7,26	9,74	9,23	8,23	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-9	0,00	0,00	8,43	9,02	8,97	7,53	6,06	0,00	2,48	0,00	0,00	8,96	0,00	0,00
11-10	0,00	3,52	5,96	9,14	9,54	8,51	6,02	2,85	0,00	5,83	8,00	0,00	0,00	0,00
11-11	4,16	2,00	4,20	9,26	9,97	8,55	8,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-12	0,00	7,00	7,91		9,60	8,59	8,42	2,00	6,86	7,78		0,00	0,00	0,00
11-13	0,00		7,31	9,36	9,14	9,19	8,10	2,85		5,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-14	0,00	3,49	6,53	8,47	9,38	8,59	8,76	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00
11-15	4,54	5,64	4,53	7,52	8,80	8,00	8,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-16	0,00	3,79	7,61	9,63	9,53	8,54	8,86	0,00	0,00	0,00	9,29	9,27	7,30	0,00
11-17	3,15	0,00		9,14	9,52	8,46	7,85	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00
11-18	0,00	0,00	4,11	8,94	9,54	9,20	7,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-1	3,26	2,70	7,58	8,53	9,18	10,23	9,16	3,98	2,48	6,89	8,00	0,00	0,00	0,00
12-2	2,00	2,00	8,61	9,08	9,49	8,92	8,56	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	2,60	3,02	8,88	8,37	10,09	9,88	8,97	2,60	3,16	8,40	0,00	0,00	0,00	0,00
12-4	0,00	6,17	8,45	9,21	9,13	9,80	9,47	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00

Kalb	<i>E. coli</i>							Andere Enterobacteriaceae						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-5	3,45	5,08	7,39	8,02	8,33	8,04	8,31	3,72	5,06	0,00	0,00	7,00	6,48	0,00
12-6	2,00	2,70	9,52	10,06	10,76	9,29	8,96	0,00	3,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-7	3,04	0,00	7,01	8,38	10,00	9,28	7,96	2,48	7,46	7,01	8,09	0,00	0,00	0,00
12-8	6,59	8,20	8,25	9,58	10,52	10,74	8,48	5,00	7,48	6,30	8,20	0,00	0,00	0,00

Tabelle 37: Gesamtzahl der Enterokokken [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>Enterococcus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	3,06	0,00	0,00	6,09	8,62	7,63	5,70
1-2	0,00	0,00	4,82	8,07	8,18	7,31	5,29
1-3	0,00		3,00	7,85	7,32	7,60	
1-4	0,00	0,00	2,30	5,74	6,99	5,26	3,43
1-6	0,00	0,00	5,18	8,26	8,40	6,20	3,97
1-7	0,00	0,00	3,71	7,54	7,51	6,80	4,32
1-8	0,00	0,00	3,70	8,04	8,08	6,68	5,98
1-9	0,00	0,00	0,00	3,48	7,11	6,05	4,15
2-4	2,00	3,78	8,37	8,41	8,30	8,56	8,18
2-5	0,00	0,00	7,51		7,48	6,88	8,08
2-6	3,30	5,70	8,23	7,15	7,04	7,00	4,79
2-7	3,40	7,70	8,32	8,72	8,37	7,96	6,15
2-8	0,00	6,90	6,70	7,65	7,90	7,10	5,62
2-9	4,18	6,25	7,61	7,90	7,85	6,30	5,78
3-1	0,00	6,67	7,85	7,71	8,52	8,04	6,74
3-2	2,00	6,02	8,85	9,40	8,85	8,74	7,08
3-3	0,00	0,00	6,36	8,44	8,86	8,36	6,29
3-4	0,00	0,00	6,48	8,08	7,61	7,43	6,45
3-5	0,00	2,00	8,32	8,66	8,04	7,40	6,60
3-6	0,00	7,42	6,90	7,51	7,53	6,06	5,64
3-7	0,00	3,90		8,02	8,34	9,28	6,36
3-8	0,00	2,00	7,32	7,18	7,72	6,95	6,29
3-9	2,00	0,00	8,45	8,67	7,35	8,68	8,15
3-10	2,00	0,00	6,04	8,11	7,78	8,24	5,86
3-11	0,00	0,00	9,04	8,41	8,40	8,04	5,86
3-12	5,28	6,40	8,91	8,41	7,96	7,26	6,18
3-13	3,08	2,95	6,75	8,05	8,40	8,15	7,75
4-2	0,00	0,00	5,38	7,00	7,98	5,80	5,92
4-3	2,78	0,00	5,73	8,58	7,39	7,98	7,20
4-4	0,00	0,00	7,54	9,02	8,68	8,85	8,30
4-6	0,00	2,30	3,11	8,46	8,94	8,11	7,27
4-7	3,46	4,38	6,85	7,34	6,57	7,40	7,04
4-8	0,00	3,88	4,96	8,20	7,59	7,22	6,26
4-9	0,00	3,72	0,00	2,90	7,43	6,92	6,10
4-10	2,70	2,85	4,77	8,10	8,06	7,27	7,63
4-11	2,90	8,11	7,61	7,79	8,45	7,06	7,96
4-12	0,00	2,78	5,17	7,45	8,24	8,04	7,04
4-13	3,85	3,92	4,05	8,38	7,79	7,28	8,52
4-14	0,00	3,93	5,11	8,59	8,28	7,46	5,62
4-15	0,00	3,69	7,89	8,28	7,89	7,61	4,91
5-1	0,00	2,90	8,32	9,23	8,23	7,54	4,65
5-2	2,30	3,49	7,92	8,17	8,58	7,30	5,49
5-3	0,00	2,00	2,88	4,56	8,10	7,50	7,13

Kalb	<i>Enterococcus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	3,26	3,85	4,91	6,46	7,45	6,01	6,32
5-6	0,00	3,74	8,62	7,78	6,83	6,29	6,84
5-7	0,00	7,44	8,23	7,42	7,18	6,72	5,67
5-9	3,99	5,98	5,37	6,97	7,62	6,87	5,44
5-10	2,00	0,00	8,14	9,34	8,88	8,82	5,64
5-11	0,00	5,45	4,23	6,80	7,72	7,26	
5-12	0,00	3,60	7,69	7,83	7,61	7,08	5,37
5-13	3,23	6,12	6,14	8,63	8,78	7,73	6,26
5-14	3,53	6,51	9,04	8,86	8,47	7,38	7,11
5-15	0,00	0,00	4,20	9,22	8,68	8,44	4,76
6-1	2,60	3,65	4,11	6,41	7,79	6,10	5,96
6-2	0,00	4,56	7,20	9,19	8,35	7,93	6,80
6-3	2,30	0,00	5,79	7,09	7,57	6,36	7,99
6-4	4,54	6,46	7,98	7,29	8,49	7,97	6,58
6-5	0,00	4,96	6,24	8,05	8,17	7,28	7,68
6-6	5,83	5,86	6,66	6,88	8,18	6,64	5,22
6-7	2,95	3,57	5,26	8,53	8,10	7,16	6,58
6-8	4,02	4,95	7,05	7,74	7,43	7,01	6,24
6-9	4,23	6,76	8,16	7,36	8,53	8,28	6,54
6-10	4,93	6,42	7,03	7,74	8,16	7,04	6,20
6-11	0,00	6,32	6,89	8,09	8,15	7,34	7,19
6-12	4,40	3,08	8,99	8,62	8,59	8,48	6,79
6-13	2,70	4,50	5,93	8,61	7,20	6,57	6,09
6-14	2,90	2,85	4,93	7,32	6,88	7,47	6,48
6-15	2,78	5,09	6,44	8,02	8,35	6,04	5,75
7-1	2,30	0,00	2,60	7,27	7,47	6,58	4,95
7-2	0,00	0,00	8,22	8,48	8,41	8,26	6,73
7-3	0,00	0,00	8,40	5,69	5,68	8,22	7,21
7-4	2,60	3,58	2,00	0,00	8,38	8,51	7,84
7-5	2,00	0,00	6,92	6,57	7,79	8,24	7,18
7-6	3,63	9,01	9,11	8,77	8,60	8,24	6,33
7-7	2,70	4,66	7,69	8,81	8,07	7,42	4,98
7-8	0,00	4,76	6,99	8,66	8,56	7,56	6,68
7-9	2,30	7,07	8,29	9,54	8,58	8,13	6,93
7-10	0,00	0,00	2,00	7,20	7,96	7,74	6,29
7-15				8,99	8,28	7,61	5,84
7-18	0,00	2,00	0,00	4,70		7,14	5,31
8-1	0,00	5,07	4,30	8,78	9,21	8,46	6,59
8-2	0,00	2,48	0,00	8,20	8,92	9,29	8,37
8-3	0,00	3,81	2,00	8,27	8,35	8,66	7,54
8-4	0,00	2,30	4,62	6,94	8,18	7,29	6,25
8-5	0,00	0,00	5,23	8,39	8,32	8,32	6,08
8-6	2,00	0,00	8,05	8,04	8,39	7,77	5,95
8-8	2,48	2,00	8,98	8,60	8,20	8,14	6,70
8-9	2,48	3,28	4,68	7,71	7,88	6,71	7,44
8-10	0,00	2,00	3,97	6,77	7,21	7,34	9,03

Kalb	<i>Enterococcus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	0,00	3,52	8,32	8,37	8,73	7,31	6,75
8-12	0,00	4,04	5,32	8,47	8,54	8,75	8,50
8-13	0,00	2,30	4,38	7,81	8,05	9,29	9,06
8-14	3,08	6,80	8,70	8,65	9,02	8,34	7,76
8-15	0,00	0,00	3,94	8,41	8,45	9,60	7,64
9-1	0,00	3,11	8,94	7,75	6,21	8,13	
9-2	0,00	0,00	4,84	7,55	7,20	6,42	5,76
9-4	0,00	0,00	4,54	5,06	8,65	7,12	7,89
9-5	2,60	4,35	9,41	9,47	7,56	4,64	7,00
10-1	0,00	0,00	7,90	10,79	8,68	9,23	7,95
10-2	0,00	0,00	0,00	8,78	8,98	8,18	5,23
10-3	0,00	0,00	2,60	7,72	7,92	7,97	5,77
10-4	0,00	4,00	5,21	8,37	8,60	8,48	8,55
10-6	0,00	0,00	7,53	8,65	8,56	8,90	5,77
10-7	0,00	0,00	0,00	6,43	9,00	8,69	5,31
10-8	2,85	4,74	0,00	9,14	9,28	7,71	7,01
10-9	2,30	5,03	6,59	8,21	7,62	8,06	6,09
10-10	0,00	0,00	2,60	5,57	9,16	8,75	7,24
10-11	0,00	0,00	3,04	6,30	8,18	8,00	6,33
10-12	0,00	0,00	2,00	7,54	7,65	8,14	6,04
10-13	0,00	0,00	0,00	8,54	8,79	7,89	8,56
10-14	0,00	0,00	7,78	7,90	8,29	8,67	8,46
10-15		4,02	6,92	6,29	8,51	7,85	5,10
11-1	2,00	4,70	6,00	8,84	8,35	8,09	6,99
11-2	0,00	0,00	8,07	7,95	9,00	8,29	7,19
11-3	0,00	0,00	5,60	6,94	8,17	8,21	5,72
11-4	0,00	0,00	7,69	8,43	8,40	7,97	6,25
11-5	2,70	3,00	3,77	8,76	8,55	8,16	7,51
11-6	0,00	0,00	2,00	7,98	8,34	6,76	5,74
11-7		2,30	6,24	8,22	8,37	8,38	7,57
11-8	2,00	0,00	0,00	2,30	8,65	7,29	7,17
11-9	0,00	0,00	7,31	8,27	8,80	8,10	5,69
11-10	3,15	0,00	4,98	7,71	8,72	8,31	4,33
11-11	0,00	0,00	0,00	5,75	7,91	8,01	5,02
11-12	0,00	7,40	7,05		8,27	8,52	7,23
11-13	0,00		6,64	8,35	8,53	8,36	8,41
11-14	0,00	0,00	5,27	7,33	8,21	7,63	7,27
11-15	2,00	2,85	2,30	2,48	7,80	7,35	4,43
11-16	0,00	2,70	4,62	8,86	8,39	8,29	7,15
11-17	0,00	0,00		7,03	8,45	6,97	7,05
11-18	0,00	0,00	2,60	7,64	7,53	7,30	5,89
12-1	3,32	0,00	5,68	7,14	8,13	6,82	6,83
12-2	0,00	0,00	8,05	8,60	9,19	7,63	5,36
12-3	0,00	3,45	7,71	7,43	8,79	9,28	6,25
12-4	2,00	5,32	7,36	7,56	8,70	8,82	6,75
12-5	3,59	5,87	7,26	7,67	7,77	8,55	5,47

Kalb	<i>Enterococcus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-6	3,18	4,87	7,96	8,54	7,98	6,60	7,01
12-7	2,00	6,88	6,28	7,70	8,95	7,97	5,11
12-8	5,57	6,76	7,02	7,41	8,50	7,80	7,21
13-1	0,00	0,00	0,00	6,04	8,51	5,51	6,95
13-2	3,37	3,15	7,69	8,50	8,80	8,37	7,61
13-3	0,00	2,00	0,00	6,20	7,43	7,46	6,62
13-4	2,70	0,00	3,19	7,22	7,48	7,70	6,82
13-5	0,00	0,00	2,85	7,80	7,60	7,01	7,22
13-6	0,00	2,15	3,93	5,70	8,50	5,97	5,70
13-7	2,78	3,96	3,45	6,23	8,45	7,62	4,72
13-8	0,00	0,00	4,87	6,53	7,37	6,71	5,39
13-9	0,00	2,60	6,67	7,98	8,68	7,74	6,51
13-10	4,54	4,61	5,77	6,55	7,54	7,15	6,26
13-11	0,00	4,14	5,48	6,62	8,48	8,27	6,58
13-12	4,28	8,34	8,34	8,81	8,21	7,30	5,76

Tabelle 38: Keimzahlen von *Ent. faecalis* und *Ent. faecium* [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>Ent. faecalis</i>							<i>Ent. faecium</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	0,00	0,00	0,00	5,30	8,50	7,30	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00
1-2	0,00	0,00	4,46	8,03	8,02	6,58	4,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00		3,00	0,00	0,00	7,54		0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	
1-4	0,00	0,00	2,30	5,50	6,43	5,04	3,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30
1-6	0,00	0,00	4,00	7,78	7,85	6,18	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	2,95
1-7	0,00	0,00	2,48	5,78	7,11	5,78	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	2,60
1-8	0,00	0,00	3,70	7,60	7,78	6,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	3,48	0,00	5,97	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	2,00	3,00	7,65	7,70	8,00	7,00	6,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-5	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	6,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-6	0,00	5,70	8,18	7,15	6,30	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-7	0,00	7,70	8,28	8,72	8,20	7,48	5,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,90
2-8	0,00	0,00	6,60	7,00	7,78	6,80	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-9	3,48	6,23	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	0,00	6,38	7,83	7,71	8,49	8,00	6,00	0,00	5,90	0,00	0,00	7,30	6,78	6,30
3-2	2,00	5,60	8,83	9,36	8,84	8,72	6,85	0,00	5,30	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00
3-3	0,00	0,00	6,36	8,37	8,83	8,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,18
3-4	0,00	0,00	5,30	8,06	7,59	7,40	5,30	0,00	0,00	6,08	0,00	0,00	6,00	6,20
3-5	0,00	0,00	8,32	8,58	8,04	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-6	0,00	0,00	6,60	7,44	7,36	6,00	5,11	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,46
3-7	0,00	0,00		8,00	8,00	7,48	5,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	6,04
3-8	0,00	2,00	0,00	7,18	7,56	6,60	4,70	0,00	0,00	5,78	0,00	0,00	6,30	5,95
3-9	2,00	0,00	0,00	6,48	7,35	0,00	0,00	0,00	0,00	8,45	7,95	0,00	0,00	7,00
3-10	0,00	0,00	5,00	8,00	7,60	8,22	4,90	0,00	0,00	0,00	6,70	0,00	0,00	5,77
3-11	0,00	0,00	9,04	8,41	8,40	7,30	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,48
3-12	4,30	5,30	8,30	8,40	7,85	7,23	5,60	4,00	0,00	8,71	0,00	0,00	0,00	6,00
3-13	2,90	2,30	6,60	8,00	8,37	8,08	7,41	0,00	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-2	0,00	0,00	4,60	6,89	7,81	5,60	5,85	0,00	0,00	5,36	6,36	0,00	5,00	0,00
4-3	2,00	0,00	5,00	7,85	6,48	7,15	5,95	2,70	0,00	0,00	7,60	7,11	0,00	0,00
4-4	0,00	0,00	7,54	8,95		8,18	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00
4-6	0,00	0,00	2,85	7,00	7,70	7,78	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-7	3,43	4,38	6,30	7,08	6,49	7,05	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-8	0,00	3,70	4,96	7,78	7,34	6,83	6,18	0,00	2,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-9	0,00	0,00	0,00	2,00	7,41	6,60	5,30	0,00	3,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-10	2,70	2,00	4,46	8,06	7,48	6,30	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-11	0,00	0,00	7,48	7,40	7,60	6,00	7,79	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00	0,00	0,00
4-12	0,00	0,00	4,48	6,78	7,90	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-13	2,60	3,04	3,78	8,32	7,61	7,10	8,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-14	0,00	3,49	4,95	8,51	7,95	6,85	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-15	0,00	3,00	7,82	8,00	7,30	7,30	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-1	0,00	2,90	8,32	9,23	8,20	7,49	4,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-2	2,30	3,40	7,68	7,71	7,85	6,30	5,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,30
5-3	0,00	0,00	2,70	4,46	7,48	6,82	6,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00

Kalb	Ent. faecalis							Ent. faecium						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	2,70	3,71	4,88	6,45	7,23	5,78	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,95
5-6	0,00	2,73	7,70	7,23	5,70	5,94	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
5-7	0,00	7,24	8,08	7,42	6,48	6,40	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	5,49
5-9	2,60	5,36	5,24	6,81	7,56	6,30	4,48	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	6,48	5,13
5-10	0,00	0,00	6,95	9,15	8,85	8,61	5,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00
5-11	0,00	5,18	0,00	6,62	7,52	6,60	4,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-12	0,00	3,30	7,44	7,69	7,15	6,48	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70
5-13	3,15	6,06	6,11	8,52	8,76	6,60	4,48	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	6,00
5-14	3,41	5,60	8,70	8,76	8,45	6,70	5,00	0,00	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-15	0,00	0,00	3,89	9,18	8,64	7,20	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-1	0,00	3,38	3,78	5,60	7,54	5,30	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-2	0,00	0,00	5,70	9,18	7,90	7,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-3	0,00	0,00	5,00	9,74	0,00	7,45	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-4	4,26	6,15	7,89	8,25	7,68	6,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23
6-5	0,00	4,62	5,70	8,04	7,30	5,48	7,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-6	4,60	5,20	6,66	6,38	7,48	6,40	3,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-7	2,60	2,95	5,18	8,52	6,85	5,48	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
6-8	0,00	4,00	6,48	7,40	7,20	6,30	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-9	2,48	6,65	8,13	7,37	7,30	7,48	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	3,70	6,12	7,02	7,72	7,30	6,90	5,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-11	0,00	4,00	5,00	7,79	7,78	7,30	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-12	4,40	3,08	8,99	8,62	8,54	8,11	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-13	2,00	4,24	5,00	8,61	6,48	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-14	2,00	2,60	4,85	7,30	6,45	6,30	4,90	0,00	0,00	0,00	6,00	5,48	0,00	0,00
6-15	0,00	4,48	5,61	7,60	7,90	5,00	4,85	0,00	0,00	5,70	7,60	0,00	6,00	5,21
7-1	0,00	0,00	2,00	7,16	7,47	6,52	4,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-2	0,00	0,00	8,22	8,48	8,22	7,30	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-3	0,00	0,00	7,30	5,00	5,65	7,85	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-4	0,00	2,85	2,00	0,00	8,24	8,35	7,26	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-5	0,00	0,00	0,00	6,11	7,71	8,05	6,56	0,00	0,00	6,89	6,05	0,00	0,00	0,00
7-6	3,56	9,01	9,11	8,60	8,58	8,11	6,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-7	0,00	4,66	7,68	8,77	7,26	6,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-8	0,00	0,00	0,00	8,20	8,40	6,00	6,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-9	2,00	7,00	7,78	9,70	8,51	7,51	5,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	2,00	7,18	7,90	7,26	6,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-15				8,91	8,14	6,60	4,85				0,00	0,00	0,00	0,00
7-18	0,00	0,00	0,00	3,70		6,20	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00
8-1	0,00	5,03	4,28	8,76	9,18	8,34	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-2	0,00	2,48	0,00	8,20	2,86	8,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-3	0,00	3,80	0,00	0,00	8,00	7,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-4	0,00	0,00	0,00	6,38	8,11	7,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	0,00	7,00	7,00	7,00	4,00	0,00	0,00	5,18	0,00	0,00	0,00	0,00
8-6	0,00	0,00	7,04	0,00	7,90	7,60	5,08	0,00	0,00	0,00	0,00	7,60	0,00	0,00
8-8	2,00	0,00	7,30	8,08	7,48	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85	0,00
8-9	0,00	0,00	0,00	6,95	7,55	5,30	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-10	0,00	0,00	3,95	0,00	6,43	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Kalb	Ent. faecalis							Ent. faecium						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	0,00	0,00	7,60	7,70	7,08	5,85	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00
8-12	0,00	0,00	3,70	8,04	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-13	0,00	0,00	0,00	7,49	6,30	7,30	0,00	0,00	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00
8-14	2,60	6,71	8,65	8,65	8,20	6,30	4,00	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	3,89	8,40	8,19	8,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-1	0,00	3,11	0,00	0,00	6,12	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	
9-2	0,00	0,00	0,00	6,30	5,90	5,45	4,32	0,00	0,00	0,00	7,52	0,00	5,08	4,79
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,54	3,30	6,00	0,00	0,00
9-5	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	3,08	6,51	2,60	4,35	7,00	9,46	7,41	4,49	5,60
10-1	0,00	0,00	2,33	10,77	8,30	8,95	6,90	0,00	0,00	6,60	0,00	0,00	8,86	0,00
10-2	0,00	0,00	0,00	8,65	8,89	7,48	3,30	0,00	0,00	0,00	7,71	7,70	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	7,82	7,90	5,69	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85	7,04	0,00
10-4	0,00	0,00	0,00	7,70	7,95	8,08	7,93	0,00	0,00	0,00	7,30	7,70	0,00	0,00
10-6	0,00	0,00	7,08	8,63	8,56	8,89	5,23	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	5,49
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	9,00	8,63	3,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00
10-8	2,30	0,00	0,00	9,13	9,28	7,57	4,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00
10-9	0,00	3,60	6,00	7,85	7,30	7,97	5,48	0,00	4,89	6,26	0,00	6,48	6,00	0,00
10-10	0,00	0,00	2,00	5,46	9,15	8,70	5,85	0,00	0,00	0,00	4,48	7,00	0,00	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	6,15	7,70	7,48	5,48	0,00	0,00	0,00	5,49	7,48	6,48	0,00
10-12	0,00	0,00	0,00	7,39	7,61	8,09	4,78	0,00	0,00	2,00	6,60	0,00	7,00	4,00
10-13	0,00	0,00	0,00	8,54	8,78	7,20	6,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-14	0,00	0,00	7,20	7,57	8,20	0,00	7,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70
10-15		4,02	0,00	0,00	8,18	7,64	4,70		0,00	0,00	0,00	8,07	7,36	4,30
11-1	2,00	4,48	5,70	8,59	8,26	7,41	6,85	0,00	4,26	5,69	7,60	0,00	0,00	6,11
11-2	0,00	0,00	7,93	0,00	8,89	8,24	0,00	0,00	0,00	7,23	0,00	0,00	0,00	7,00
11-3	0,00	0,00	0,00	6,67	7,95	8,13	0,00	0,00	0,00	4,65	5,78	6,00	0,00	5,71
11-4	0,00	0,00	6,08	7,85	7,30	6,78	4,30	0,00	0,00	6,48	7,00	6,48	6,48	6,24
11-5	0,00	2,48	3,67	8,71	8,28	7,30	5,00	0,00	0,00	2,78	7,78	7,30	6,60	7,50
11-6	0,00	0,00	0,00	7,40	0,00	6,61	5,28	0,00	0,00	0,00	6,60	0,00	5,30	5,08
11-7		0,00	0,00	8,00	0,00	8,20	0,00		0,00	6,18	7,70	6,60	0,00	7,56
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	8,56	6,98	6,72	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	6,97
11-9	0,00	0,00	0,00	8,19	8,79	7,48	0,00	0,00	0,00	6,78	0,00	0,00	0,00	5,69
11-10	3,15	0,00	4,81	0,00	0,00	7,36	3,34	0,00	0,00	4,04	0,00	0,00	6,00	4,23
11-11	0,00	0,00	0,00	5,32	7,79	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	0,00	0,00	5,00
11-12	0,00	0,00	6,90		0,00	8,11	0,00	0,00	6,34	6,48		0,00	0,00	6,30
11-13	0,00		6,60	7,00	8,42	8,30	7,00	0,00		5,60	7,15	7,00	6,30	0,00
11-14	0,00	0,00	4,70	7,23	7,79	6,95	6,60	0,00	0,00	4,18	5,70	0,00	0,00	0,00
11-15	0,00	2,78	2,30	0,00	7,30	6,32	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,32
11-16	0,00	2,70	4,62	8,84	8,31	8,25	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	7,15	0,00	6,90
11-17	0,00	0,00		6,93	0,00	6,41	5,00	0,00	0,00		6,04	7,00	5,60	7,04
11-18	0,00	0,00	0,00	7,49	6,00	6,60	3,85	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	6,00	5,56
12-1	0,00	0,00	4,30	5,90	6,30	5,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,36
12-2	0,00	0,00	6,30	8,60	9,18	2,39	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30
12-3	0,00	3,45	7,58	7,42	8,54	8,34	5,26	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00
12-4	0,00	5,30	7,35	7,50	8,65	7,90	6,18	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-5	0,00	5,75	7,20	7,26	7,71	8,55	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

[illegible]

Tabelle 39: Gesamtzahl der Laktobazillen [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>Lactobacillus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	2,48	2,30	0,00	3,19	7,20	8,28	8,54
1-2	0,00	0,00	2,00	6,90	8,27	7,98	9,22
1-3	0,00		2,78	5,96	6,11	8,34	7,47
1-4	2,00	2,00	0,00	0,00	7,29	7,11	5,54
1-6	0,00	2,00	2,90	2,48	8,81	8,28	8,46
1-7	0,00	0,00	0,00	0,00	7,90	8,90	8,40
1-8	0,00	0,00	0,00	5,95	7,53	8,74	8,58
1-9	0,00	0,00	0,00	0,00	7,63	8,38	8,00
2-4	0,00	2,78	2,30	3,23	6,72	6,30	6,41
2-5	0,00	4,42	3,69	3,13	6,69	5,76	8,16
2-6	2,30	4,37	8,08	7,51	6,63	7,48	6,20
2-7	2,98	2,95	4,35	8,36	8,33	8,55	7,65
2-8	2,00	0,00	0,00	6,40	6,45	8,16	8,61
2-9	0,00	0,00	6,85	5,51	5,92	7,01	6,87
3-1	0,00	3,40	5,62	5,57	7,84	6,90	9,94
3-2	0,00	0,00	4,54	4,86	6,58	6,41	8,11
3-3	0,00	0,00	0,00	6,09	8,41	8,36	9,39
3-4	0,00	0,00	0,00	4,08	7,54	9,08	9,83
3-5	0,00	0,00	4,95	6,04	6,77	6,04	8,60
3-6	0,00	0,00	3,15	4,74	6,23	7,83	6,86
3-7	0,00	2,48		4,40	5,89	8,11	8,18
3-8	0,00	2,30	2,70	5,32	6,36	6,04	6,30
3-9	0,00	0,00	0,00	2,00	5,04	4,48	9,30
3-10	0,00	0,00	0,00	7,05	6,61	6,80	9,15
3-11	0,00	0,00	2,48	3,54	6,69	6,64	8,04
3-12	0,00	2,30	2,00	5,19	7,35	6,75	8,08
3-13	2,48	0,00	4,93	4,85	7,55	6,82	8,25
4-2	0,00	0,00	3,06	4,59	6,74	7,45	6,98
4-3	0,00	0,00	0,00	6,18	9,18	8,81	7,75
4-4	0,00	0,00	3,54	3,96	7,98	7,62	7,26
4-6	0,00	0,00	0,00	4,85	5,49	4,59	8,51
4-7	0,00	0,00	2,30	5,18	7,51	7,68	7,96
4-8	2,60	2,00	0,00	3,41	4,41	5,16	7,58
4-9	0,00	2,00	0,00	0,00	3,66	5,00	8,30
4-10	3,76	0,00	0,00	2,30	4,68	8,35	8,91
4-11	2,00	4,79	5,26	5,02	6,14	7,30	7,68
4-12	0,00	0,00	0,00	3,04	8,10	8,44	8,15
4-13	2,30	0,00	2,30	3,61	6,99	5,58	8,41
4-14	0,00	0,00	0,00	5,59	8,21	7,85	7,75
4-15	0,00	0,00	2,88	4,97	4,67	4,32	6,85
5-1	2,00	2,00	4,24	6,91	8,32	7,01	7,39
5-2	0,00	2,85	3,04	6,77	7,99	7,75	6,92
5-3	0,00	0,00	0,00	0,00	6,46	6,37	8,42

Kalb	<i>Lactobacillus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	0,00	2,70	2,85	2,70	5,37	7,83	8,87
5-6	0,00	0,00	4,18	5,57	7,54	6,75	8,23
5-7	2,00	5,10	5,85	4,88	8,66	7,11	9,11
5-9	3,56	2,78	4,36	5,26	5,69	6,15	8,32
5-10	2,95	3,49	3,91	6,35	6,88	6,12	9,51
5-11	0,00	0,00	0,00	2,48	8,43	7,73	
5-12	3,15	2,48	4,68	4,39	6,50	7,08	4,95
5-13	2,70	2,06	3,19	3,79	7,57	8,41	8,37
5-14	3,11	4,57	4,51	6,71	6,63	7,26	9,43
5-15	0,00	0,00	0,00	5,90	7,19	6,00	6,91
6-1	0,00	2,00	0,00	4,15	6,85	7,66	7,44
6-2	2,00	2,85	4,69	6,97	6,15	6,59	6,85
6-3	3,20	0,00	3,67	7,09	6,48	6,36	7,99
6-4	5,79	5,48	5,32	7,46	7,65	7,66	9,29
6-5	3,90	4,65	4,23	7,27	6,89	6,39	8,20
6-6	4,70	4,22	4,70	3,69	7,23	7,45	8,76
6-7	4,51	2,48	4,00	7,32	7,81	6,85	6,52
6-8	4,00	4,79	4,77	6,33	7,72	8,25	6,69
6-9	4,93	6,11	4,48	4,32	7,24	7,76	7,50
6-10	6,01	6,89	6,09	6,32	6,97	6,20	7,28
6-11	0,00	2,70	0,00	6,73	8,20	8,03	8,32
6-12	6,48	2,30	4,71	6,33	8,05	8,04	7,80
6-13	4,23	5,37	5,63	6,38	7,76	7,55	7,87
6-14	4,34	3,90	5,14	5,85	7,02	7,76	8,74
6-15	2,78	4,06	4,22	7,34	8,09	7,18	7,63
7-1	2,00	0,00	0,00	0,00	5,21	5,49	6,95
7-2	2,00	0,00	5,46	6,42	6,96	6,77	8,17
7-3	0,00	2,00	5,53	2,70	4,49	5,15	8,77
7-4	0,00	3,45	0,00	2,00	6,68	6,27	8,13
7-5	2,00	0,00	0,00	3,32	6,47	7,57	9,35
7-6	2,00	5,89	6,04	6,46	7,87	8,51	10,05
7-7	2,00	0,00	5,50	7,67	5,63	6,67	7,74
7-8	2,30	2,00	2,78	2,00	6,46	6,96	8,84
7-9	0,00	3,23	5,23	8,28	8,03	7,42	8,79
7-10	0,00	0,00	2,00	3,53	6,26	7,36	6,63
7-15				5,00	4,49	6,85	7,34
7-18	0,00	0,00	0,00	0,00		7,41	8,46
8-1	2,30	3,00	3,20	7,85	8,62	6,72	7,71
8-2	0,00	2,00	0,00	3,91	9,32	9,75	8,96
8-3	0,00	0,00	4,57	8,04	8,27	8,21	8,57
8-4	0,00	0,00	0,00	2,70	6,86	7,76	8,69
8-5	2,00	0,00	0,00	5,08	7,92	7,47	7,35
8-6	0,00	0,00	4,15	4,54	7,08	7,26	8,55
8-8	2,48	0,00	4,82	6,50	8,44	8,54	6,30
8-9	3,32	0,00	0,00	3,98	5,91	4,52	7,11
8-10	0,00	0,00	0,00	0,00	7,65	8,13	9,88

Kalb	<i>Lactobacillus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	0,00	2,30	3,30	9,20	11,09	7,73	6,40
8-12	0,00	2,95	3,51	5,57	7,69	8,25	7,87
8-13	2,78	0,00	2,85	3,46	5,33	6,36	6,50
8-14	2,30	4,59	5,60	5,29	8,52	8,26	9,05
8-15	0,00	0,00	0,00	3,89	6,13	8,48	7,85
9-1	0,00	0,00	7,04	7,01	6,70	8,00	
9-2	0,00	0,00	0,00	5,74	7,88	7,06	9,58
9-4	0,00	0,00	2,48	4,94	7,57	7,68	7,76
9-5	0,00	0,00	5,44	7,65	7,41	4,47	8,86
10-1	0,00	0,00	0,00	6,57	7,75	8,47	8,47
10-2	0,00	0,00	0,00	6,21	9,06	7,97	7,73
10-3	2,30	0,00	0,00	3,32	4,72	7,59	7,77
10-4	0,00	0,00	0,00	5,15	6,91	6,17	6,82
10-6	0,00	0,00	0,00	2,30	4,19	7,53	7,88
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	6,81	6,35	6,74
10-8	0,00	0,00	0,00	3,38	5,14	8,45	8,03
10-9	0,00	2,00	3,36	3,93	7,64	7,48	8,52
10-10	0,00	0,00	2,30	0,00	6,09	6,96	8,01
10-11	0,00	0,00	0,00	3,15	4,04	5,39	7,29
10-12	0,00	0,00	3,36	2,00	3,67	7,42	7,67
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,96	8,54
10-14	0,00	0,00	0,00	4,84	7,47	7,77	8,26
10-15		0,00	0,00	0,00	9,09	8,56	7,74
11-1	0,00	0,00	4,34	7,86	8,33	6,33	7,46
11-2	0,00	0,00	7,65	6,78	8,41	7,65	5,49
11-3	0,00	0,00	5,41	6,32	8,39	7,48	5,55
11-4	0,00	0,00	5,38	8,02	8,79	8,53	8,60
11-5	0,00	2,00	2,30	6,86	7,96	7,57	8,72
11-6	0,00	0,00	0,00	7,09	8,26	7,89	4,25
11-7		0,00	0,00	7,64	8,00	8,29	8,06
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	8,31	8,47	6,76
11-9	0,00	0,00	4,97	7,77	8,57	8,48	8,52
11-10	0,00	0,00	2,60	4,65	7,91	8,46	8,40
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	7,16	7,87	5,40
11-12	0,00	0,00	0,00		7,44	8,66	7,56
11-13	0,00		4,06	6,90	8,31	8,20	8,29
11-14	0,00	0,00	2,00	6,51	7,90	8,60	8,38
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	8,10	8,61	9,28
11-16	0,00	0,00	0,00	6,80	7,66	8,77	7,57
11-17	0,00	0,00		4,94	6,55	6,53	9,41
11-18	0,00	0,00	0,00	5,59	8,08	8,90	7,67
12-1	3,23	0,00	2,30	0,00	6,98	7,95	4,93
12-2	0,00	0,00	4,31	6,89	7,81	7,66	8,13
12-3	0,00	0,00	5,86	4,21	9,03	8,85	7,15
12-4	0,00	0,00	2,00	4,19	8,28	9,73	8,21
12-5	0,00	4,09	2,60	0,00	3,46	5,81	7,83

Kalb	<i>Lactobacillus</i> spp.						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-6	0,00	0,00	3,68	3,84	9,97	9,20	6,42
12-7	2,30	2,30	3,04	3,18	8,47	7,40	7,83
12-8	2,48	0,00	0,00	0,00	5,43	4,07	6,25
13-1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,27	6,45	7,15
13-2	2,78	0,00	3,51	4,59	6,92	7,08	8,90
13-3	0,00	0,00	0,00	3,24	8,21	8,53	8,92
13-4	0,00	0,00	3,40	5,22	6,32	6,89	6,56
13-5	0,00	0,00	0,00	2,48	8,14	6,79	6,52
13-6	0,00	0,00	2,30	6,51	5,80	7,77	8,45
13-7	3,32	4,04	4,11	7,00	7,22	6,91	4,65
13-8	0,00	0,00	2,90	4,90	4,25	5,06	5,82
13-9	0,00	2,00	4,41	3,45	5,12	6,32	6,30
13-10	3,32	2,85	3,13	4,37	6,59	6,51	7,72
13-11	0,00	0,00	2,00	2,00	5,31	5,15	6,66
13-12	0,00	5,08	5,48	6,54	8,27	7,01	8,55

Tabelle 40: Keimzahlen von *L. reuteri* und *L. paracasei* [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>L. reuteri</i>							<i>L. paracasei</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	5,18	6,90	0,00
1-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-6	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	8,08	8,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-8	0,00	0,00	0,00	0,00	7,51	8,70	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	0,00	6,78	8,15	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-5	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-6	0,00	0,00	6,60	7,34	0,00	5,30	6,15	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,70	7,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-8	0,00	0,00	0,00	0,00	7,20	8,16	8,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-9	0,00	0,00	6,00	5,30	5,80	6,30	6,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	5,30	4,60	0,00	0,00	0,00
3-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,70	0,00	0,00	4,00	4,00	0,00	0,00	7,48
3-3	0,00	0,00	0,00	0,00	8,40	8,18	0,00	0,00	0,00	0,00	4,90	0,00	0,00	0,00
3-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,70	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00
3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	4,91	6,86	0,00	6,00	0,00
3-6	0,00	0,00	0,00	0,00	5,85	7,83	0,00	0,00	0,00	3,11	3,60	5,60	0,00	6,34
3-7	0,00	0,00	0,00	0,00	5,26	0,00	8,11	0,00	0,00	0,00	4,40	5,60	7,70	0,00
3-8	0,00	0,00	0,00	0,00	6,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,90	5,30	0,00	0,00
3-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	4,85	0,00	0,00
3-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,78	6,57	6,36	0,00
3-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	5,30	0,00	0,00
3-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,98	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00
3-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00
4-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,78	0,00	0,00	2,00	4,00	0,00	0,00	0,00
4-3	0,00	0,00	0,00	0,00	9,11	8,48	7,68	0,00	0,00	0,00	6,18	0,00	0,00	0,00
4-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,26	0,00	0,00	2,00	4,85	0,00	0,00	0,00
4-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,32	0,00
4-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30
4-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,54	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00
4-9	0,00	0,00	0,00	0,00	3,58	4,95	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	2,90	0,00	0,00
4-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,62	0,00	4,56	4,90	4,48	5,85	0,00	6,30
4-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,04	0,00	7,48	8,08
4-13	0,00	0,00	0,00	0,00	6,08	5,26	7,48	0,00	0,00	0,00	3,11	0,00	0,00	0,00
4-14	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	7,85	7,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30
4-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	2,30	4,92	4,30	4,32	0,00
5-1	0,00	0,00	0,00	0,00	8,26	5,30	7,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,68	6,92	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00

[illegible]

Kalb	<i>L. reuteri</i>							<i>L. paracasei</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00
8-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	7,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-2	0,00	0,00	0,00	0,00	7,83	6,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	0,00	0,00
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	2,30	3,60	5,78	0,00	0,00
9-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-1	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-2	0,00	0,00	0,00	0,00	8,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	3,90	7,50	7,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-6	0,00	0,00	0,00	0,00	3,32	7,47	7,73	0,00	0,00	0,00	2,00	2,60	0,00	0,00
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23	6,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-8	0,00	0,00	0,00	0,00	5,05	8,32	7,40	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00
10-9	0,00	2,00	0,00	0,00	5,00	7,38	7,81	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00
10-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	7,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-12	0,00	0,00	0,00	0,00	2,85	7,42	7,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,95	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,70	7,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-15	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	8,04	7,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23	0,00	0,00	0,00	4,25	7,81	0,00	4,48	0,00
11-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	7,27	6,78	0,00	6,95	5,23
11-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,72	5,42	0,00	0,00	5,40	6,31	0,00	5,90	4,30
11-4	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	8,42	0,00	0,00	0,00	5,18	0,00	7,60	7,00	0,00
11-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	6,84	7,96	7,70	0,00
11-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	3,40	0,00	0,00	0,00	7,08	8,18	7,83	0,00
11-7	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85	7,70	7,81	0,00	0,00	0,00	7,64	7,96	7,89	7,54
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	8,47	6,76	0,00	0,00	0,00	0,00	8,28	6,00	6,18
11-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,08	0,00	0,00	0,00	4,69	7,77	8,00	0,00	0,00
11-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,43	7,48	0,00	0,00	2,60	4,60	6,90	7,00	0,00
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,50	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	7,45	4,30
11-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,51	7,29	0,00	0,00	0,00	0,00	7,42	7,85	0,00
11-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,64	6,90	7,96	7,98	0,00
11-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	6,70	0,00	0,00	2,00	5,81	7,78	8,33	0,00
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	8,42	0,00
11-16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,52	0,00	0,00	0,00	6,75	7,48	8,73	0,00
11-17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,71	5,60	0,00	0,00
11-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	5,58	0,00	0,00	0,00
12-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,06
12-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,47	7,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,00	7,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,48	7,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,28	0,00

[illegible]

Tabelle 41: Keimzahlen von *L. murinus* und *L. mucosae* [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>L. murinus</i>							<i>L. mucosae</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-2	0,00	0,00	0,00	6,48	8,22	7,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00	0,00	2,78	5,91	5,95	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	7,08	0,00
1-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-6	0,00	0,00	2,90	2,48	8,80	7,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-8	0,00	0,00	0,00	5,70	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	3,04	6,71	6,30	5,95
2-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	7,95
2-6	0,00	0,00	7,00	0,00	6,52	7,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-7	0,00	0,00	3,30	8,33	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	4,15	0,00	0,00	0,00	0,00
2-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23	0,00	0,00	0,00
2-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	9,73
3-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	7,30
3-3	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	7,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	8,48
3-4	0,00	0,00	0,00	0,00	7,32	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00	9,18
3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00
3-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00
3-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00
3-8	0,00	0,00	0,00	0,00	5,85	5,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-11	0,00	0,00	0,00	0,00	6,65	6,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,78
3-12	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,14
4-2	0,00	0,00	0,00	4,00	6,51	7,11	6,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-3	0,00	0,00	0,00	0,00	8,60	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,95
4-4	0,00	0,00	3,51	4,58	7,40	7,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-7	0,00	0,00	0,00	0,00	7,51	7,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00
4-8	0,00	0,00	0,00	3,41	4,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00
4-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-10	0,00	0,00	0,00	2,30	4,04	8,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00
4-11	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,78	0,00	7,23	0,00
4-12	0,00	0,00	0,00	0,00	8,09	8,29	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-13	0,00	0,00	0,00	0,00	6,54	0,00	8,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-14	0,00	0,00	0,00	5,48	8,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-15	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-1	0,00	0,00	3,30	6,89	0,00	6,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
5-2	0,00	0,00	2,00	6,69	0,00	6,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Kalb	<i>L. murinus</i>							<i>L. mucosae</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	0,00	0,00	0,00	0,00	4,30	7,60	8,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-6	0,00	0,00	0,00	4,70	7,53	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-7	0,00	5,08	5,85	4,76	8,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-10	0,00	0,00	0,00	6,05	0,00	7,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-11	0,00	0,00	0,00	0,00	8,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-13	0,00	0,00	0,00	3,60	7,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,37	0,00
5-14	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,44	5,18	0,00
5-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-3	0,00	0,00	3,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	7,11	0,00
6-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,10
6-6	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-8	0,00	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-4	0,00	0,00	0,00	0,00	5,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,55	5,99	0,00
7-5	0,00	0,00	0,00	0,00	6,46	0,00	9,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,11
7-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,23	0,00	6,18	6,70	0,00	0,00
7-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,11	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	6,17	0,00	0,00
7-9	0,00	0,00	5,18	8,28	7,93	7,15	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	0,00	2,48	6,24	7,32	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-15	0,00	0,00	0,00	4,04	4,18	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00
7-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00
8-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-2	0,00	0,00	0,00	0,00	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-4	0,00	0,00	0,00	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	0,00	4,78	7,48	6,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,36	7,24	5,30
8-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	6,60	6,00	0,00
8-8	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	8,23	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	8,33	0,00	0,00
8-9	0,00	0,00	0,00	3,64	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	4,28	0,00

Kalb	<i>L. murinus</i>							<i>L. mucosae</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00
8-11	0,00	0,00	0,00	8,78	11,01	7,26	0,00	0,00	0,00	0,00	8,99	10,00	7,30	0,00
8-12	0,00	0,00	0,00	0,00	7,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00
8-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	6,31	5,78
8-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,11	6,30
9-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-5	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-1	0,00	0,00	0,00	6,57	7,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-2	0,00	0,00	0,00	6,21	8,94	7,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-4	0,00	0,00	0,00	5,15	6,91	6,12	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,78
10-6	0,00	0,00	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	5,64	0,00
10-8	0,00	0,00	0,00	3,38	4,36	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-9	0,00	0,00	0,00	2,90	0,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00
10-10	0,00	0,00	0,00	0,00	6,08	6,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	3,15	4,04	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-12	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,16
10-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,20
10-15	0,00	0,00	0,00	0,00	9,08	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,45
11-2	0,00	0,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-3	0,00	0,00	0,00	0,00	8,21	7,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00
11-4	0,00	0,00	0,00	7,93	8,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,95
11-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,60	7,78
11-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,45
11-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30
11-9	0,00	0,00	0,00	0,00	8,41	8,19	8,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00
11-10	0,00	0,00	0,00	0,00	7,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	7,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-13	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,32	6,70
11-14	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	0,00	0,00
11-16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00
11-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,85	8,30	0,00
12-1	0,00	0,00	2,30	0,00	6,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-2	0,00	0,00	4,31	6,89	5,70	0,00	7,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	0,00	0,00	5,86	3,30	0,00	8,62	6,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Kalb	<i>L. murinus</i>							<i>L. mucosae</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
12-4	0,00	0,00	2,00	2,78	7,00	8,30	8,92	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00
12-5	0,00	0,00	2,00	0,00	3,46	5,00	6,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34	0,00
12-6	0,00	0,00	0,00	3,83	9,97	9,13	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-7	0,00	0,00	0,00	0,00	8,46	5,70	7,45	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00
12-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	5,00

Tabelle 42: Keimzahlen von *L. salivarius* und *L. rhamnosus* [log₁₀ KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

[illegible]

Kalb	<i>L. salivarius</i>							<i>L. rhamnosus</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	7,30	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-7	0,00	0,00	0,00	4,26	7,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-10	0,00	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-11	0,00	0,00	0,00	0,00	8,03	6,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-13	0,00	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00
6-1	0,00	0,00	0,00	3,92	6,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-4	0,00	0,00	4,00	0,00	6,70	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,48
6-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-9	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-11	0,00	2,70	0,00	6,58	7,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	5,48	0,00
7-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,30	0,00
7-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,95	7,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-9	0,00	0,00	3,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	0,00	2,48	4,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-1	0,00	0,00	0,00	0,00	8,62	6,56	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
8-2	0,00	0,00	0,00	0,00	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-3	0,00	0,00	4,42	8,04	8,04	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	7,48	6,48	5,70
8-6	0,00	0,00	0,00	4,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-8	0,00	0,00	4,77	6,50	7,78	8,00	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,90
8-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,90	0,00

Kalb	<i>L. salivarius</i>							<i>L. rhamnosus</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-10	0,00	0,00	0,00	0,00	7,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-11	0,00	0,00	0,00	0,00	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,70
8-12	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,79
8-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,20	5,15	6,29
8-14	0,00	0,00	0,00	5,13	8,00	0,00	8,89	2,00	0,00	5,52	0,00	0,00	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	0,00	3,80	5,89	8,06	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,62	0,00	0,00
9-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,04	0,00	0,00	6,78	0,00
9-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,74	6,48	0,00	0,00
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,04	0,00	0,00	0,00	4,83	5,60	0,00	0,00
9-5	0,00	0,00	4,08	7,46	7,34	4,26	8,86	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00	3,95	0,00
10-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,26	8,33
10-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	4,45	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,48	6,82	6,30
10-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,18	6,70
10-6	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	5,48	7,32
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	0,00
10-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-9	0,00	0,00	0,00	0,00	7,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
10-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	5,30
10-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,52	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,48	8,04
10-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,15	0,00	0,00	7,00
10-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	5,54	0,00
11-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,75	6,00	0,00
11-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,48	0,00	0,00	0,00	4,78	7,40	6,60	0,00
11-4	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	7,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00
11-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	0,00	0,00
11-9	0,00	0,00	3,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-10	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,23	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00
11-13	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	6,30	7,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	7,15	7,30	8,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-16	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-17	0,00	0,00	0,00	0,00	5,90	0,00	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	5,48	5,30	0,00
11-18	0,00	0,00	0,00	4,00	6,48	7,60	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

[illegible]

Tabelle 43: Keimzahlen von *L. plantarum* und *L. parabuchneri* [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

Kalb	<i>L. plantarum</i>							<i>L. parabuchneri</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
1-1	2,00	0,00	0,00	2,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,78	6,48	0,00
1-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	5,40	0,00	0,00
1-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-5	0,00	2,30	3,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-6	0,00	4,04	8,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-7	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,15	4,48	0,00	6,30	0,00
3-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00
3-4	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,08	6,60	0,00
3-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,04	0,00	0,00	6,48
3-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00
3-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,11	5,30	5,48	0,00
3-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	4,48	9,20
3-10	0,00	0,00	0,00	6,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	5,30	0,00	0,00
3-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00
3-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00
4-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	5,48
4-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00
4-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00
4-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-10	3,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,28	0,00	8,00
4-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,02	5,58	0,00	6,08
4-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,18	0,00	0,00	7,00
4-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	0,00	0,00	0,00
4-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,32	0,00	0,00
5-1	0,00	0,00	0,00	5,70	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-2	0,00	0,00	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00
5-3	0,00	0,00	0,00	0,00	5,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00

Kalb	<i>L. plantarum</i>							<i>L. parabuchneri</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
5-5	0,00	2,30	0,00	2,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-6	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-7	2,00	3,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,30	0,00	0,00
5-9	2,90	0,00	4,30	5,15	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	5,70	0,00
5-10	0,00	0,00	3,79	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-11	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-12	2,48	2,30	0,00	0,00	5,30	0,00	4,78	0,00	0,00	4,33	4,00	0,00	0,00	0,00
5-13	0,00	3,00	2,95	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-14	0,00	3,30	4,00	0,00	5,48	6,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-2	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,79	0,00	0,00
6-3	3,00	0,00	3,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,95
6-4	4,00	4,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00
6-5	0,00	4,11	3,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-6	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-7	4,41	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,72	0,00	0,00
6-8	0,00	3,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-10	4,30	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-12	5,48	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,70	0,00	0,00	0,00
6-13	3,78	4,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-14	3,78	3,60	4,95	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6-15	2,30	3,70	3,95	6,90	7,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00
7-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	5,20	0,00	0,00
7-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,70	0,00	5,48	0,00	0,00
7-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,70	0,00	0,00	0,00
7-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,48	3,60	0,00	0,00
7-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-2	0,00	0,00	0,00	3,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-6	0,00	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	6,00	0,00	0,00
8-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-9	2,48	0,00	0,00	2,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,38	0,00	0,00

Kalb	<i>L. plantarum</i>							<i>L. parabuchneri</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-11	0,00	2,00	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,78	0,00
8-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00
9-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,78	0,00
10-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-9	0,00	0,00	3,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-1	0,00	0,00	3,60	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-2	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,48	0,00
11-3	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00	0,00	4,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-4	0,00	0,00	4,95	6,00	7,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,20	0,00	0,00	0,00
11-5	0,00	0,00	0,00	5,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,48	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00
11-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	7,18
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-9	0,00	0,00	4,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,78	0,00	0,00	0,00	0,00
11-10	0,00	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-13	0,00	0,00	3,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,95	0,00	0,00
11-14	0,00	0,00	0,00	6,40	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	6,20	8,08	0,00
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,73	8,00	0,00
11-16	0,00	0,00	0,00	5,00	6,30	8,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-17	0,00	0,00	0,00	4,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,00	0,00
11-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70
12-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

[illegible]

Tabelle 44: Keimzahlen von *L. brevis* und *L. fermentum* [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts

[illegible]

[illegible]

Kalb	<i>L. brevis</i>							<i>L. fermentum</i>						
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	3 d	7 d
8-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	7,11	6,60
8-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,32	4,72	0,00	5,00
8-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,48	6,48	0,00	0,00
8-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,08	0,00	0,00	0,00
9-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	5,48	7,49	0,00
9-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	7,78
9-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,55	7,66	7,64
9-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	3,30	0,00
10-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	7,90
10-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,90	0,00	0,00
10-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00
10-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,53	0,00	0,00
10-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00
10-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,60	5,70	0,00
10-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00
10-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00
10-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,60	0,00
10-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	6,90	4,70	5,30
11-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,30	0,00	6,70	6,30	0,00
11-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,56	5,00	0,00
11-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	7,48	7,70	8,41
11-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,66
11-6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	3,95
11-7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	7,00	0,00
11-8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00
11-9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	7,48	7,30
11-10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,18	0,00
11-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,85	7,30	0,00
11-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,30	6,00	0,00
11-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	7,00	6,00
11-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,34	0,00	0,00
11-16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,70	7,15	7,00	0,00
11-17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,30	6,25	6,48	8,00
11-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00	8,23	0,00
12-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12-5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

[illegible]

Tabelle 45: Begleitdaten zu den im Fütterungsversuch untersuchten Kälbern

Kalb	Probiotikum	Durchfall	Durchfall- beginn ^a	Rotavirus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis	TM ^b 48 h	TM 3 d	TM 7 d
1_1	nein	ja	3	nein	ja	nein	37,0		19,8
1_2	ja	ja	9				29,4	37,3	16,8
1_3	nein	ja	4	nein	nein	nein	26,2	33,8	
1_5	nein	ja	11				39,6	39,4	26,0
1_6	ja	ja	7	nein	nein	nein	45,0	33,2	10,0
1_7	nein	nein					23,4	28,4	18,4
1_8	ja	nein					44,9	41,3	42,3
1_9	nein	ja	7	nein	nein	nein	21,6	38,4	
1_10	ja	nein					30,6	28,9	38,8
1_11	nein	ja	6	ja	nein	ja	44,7	22,4	32,8
1_12	nein	nein					45,2	45,2	
1_13	nein	ja	11				38,4	21,6	34,1
1_14	ja	ja	5	nein	nein	nein	37,4	39,7	12,6
1_15	nein	nein					23,5	38,1	26,5
1_16	ja	ja	6	nein	nein	ja	38,0	30,4	4,9
1_17	nein	ja	6	nein	nein	ja	35,7	35,7	4,2
2_1	nein	nein					36,3		27,6
2_2	ja	nein					40,3		24,4
2_3	nein	nein							
2_4	ja	nein							34,9
2_5	nein	nein					31,5	45,9	33,6
2_6	ja	nein					36,6	44,8	20,9
2_7	nein	nein					29,7	46,6	20,8
2_8	ja	nein						51,0	20,6
2_9	nein	ja	3	nein	nein	nein	50,2	15,0	26,6
2_10	ja	ja	8				33,1	33,5	33,5
2_11	nein	nein					34,3	33,2	32,1
2_12	ja	nein					35,9	41,3	
2_13	ja	nein					42,5	35,8	30,0
2_14	ja	nein					36,4	44,6	42,5
2_15	nein	ja	8				35,4	28,4	21,6
2_16	ja	nein					26,0	35,1	30,1
2_17	nein	ja	7	ja	nein	nein	31,9	21,0	9,4
3_1	nein	ja	3	ja	nein	nein	37,0	16,0	19,9
3_2	nein	ja	8				49,8	35,3	24,0
3_3	ja	nein					44,4		20,2
3_4	ja	nein					28,1	18,9	17,0
3_5	nein	ja	7	ja	nein	ja	36,4	29,8	10,8
3_6	ja	ja	7	nein	nein	nein	35,0	31,1	13,1
3_7	nein	nein					38,7	32,1	
3_8	ja	nein					42,7	17,9	29,7
3_9	ja	nein					24,9	19,0	24,6
3_10	ja	nein					30,7	25,2	18,1
3_11	nein	ja	6	ja	nein	nein		32,4	9,0

a: in Tagen nach der Geburt

b: Trockenmasse [%]

Kalb	Probiotikum	Durchfall	Durchfall- beginn ^a	Rotavirus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis	TM ^b 48 h	TM 3 d	TM 7 d
3_12	ja	ja	2	nein	nein	nein	15,6	20,9	
3_13	nein	ja	3	ja	nein	nein		12,9	19,4
3_14	ja	ja	2	ja	nein	nein	10,7	38,4	15,5
3_15	nein	nein					38,6	29,0	26,5
3_16	ja	nein					33,9	35,7	25,9
3_17	ja	nein					36,3	22,0	23,5
4_1	nein	ja	9				36,7	29,1	34,0
4_2	nein	ja	6	ja	nein	ja	32,6	28,7	8,7
4_3	ja	nein					31,9	29,5	22,4
4_4	ja	ja	2	nein	nein	nein	15,4	25,2	27,5
4_5	nein	nein					27,6	28,2	26,1
4_6	ja	nein					28,3	27,1	19,6
4_7	nein	ja	6	nein	nein	nein	24,7	30,0	
4_8	ja	nein					26,5	30,7	26,1
4_9	nein	ja	6	nein	nein	nein	16,5	33,1	14,8
4_10	ja	ja	2	nein	nein	nein	14,7	33,4	33,7
4_11	nein	nein					36,1	33,9	21,9
4_12	ja	ja	7	nein	nein	nein	30,3	32,3	9,1
4_13	nein	nein					35,9	31,1	34,5
4_14	ja	ja	6	nein	nein	ja	34,6	30,6	12,8
4_15	nein	ja	6	ja	nein	ja	30,9	30,6	9,2
4_16	ja	nein					41,1	32,2	23,9
4_17	ja	nein					46,8	30,9	35,0
5_1	nein	nein					30,9	38,4	24,0
5_2	ja	nein					21,6	37,4	30,3
5_3	nein	ja	7	nein	nein	ja	27,3	30,2	12,6
5_4	ja	nein					42,0	36,3	30,4
5_5	nein	nein					34,5	36,2	26,1
5_6	ja	ja	6	ja	nein	ja	23,3	32,5	4,6
5_7	nein	ja	7	nein	nein	nein	33,0	31,3	11,9
5_8	ja	ja	6	ja	nein	ja	21,4	38,1	2,2
5_9	nein	ja	2	nein	nein	ja	11,5	14,3	3,4
5_10	ja	ja	2	nein	nein	nein	6,9	27,7	4,7
5_11	nein	nein					44,5	31,6	25,0
5_12	ja	ja	2	nein	nein	nein	8,8	32,3	23,0
5_13	nein	ja	2	nein	nein	nein	11,4	29,5	25,4
5_14	ja	ja	2	nein	nein	nein	7,7	28,3	23,5
5_15	nein	nein					32,0	33,8	19,2
5_16	ja	ja	2	nein	nein	nein	12,5	36,9	30,3
5_17	nein	ja	2	nein	nein	nein	15,0	25,3	25,5
6_1	ja	nein					30,5	33,1	24,1
6_2	nein	ja	7	nein	nein	ja	32,4	22,4	9,3
6_3	nein	ja	7	nein	nein	ja	23,6	39,2	11,8
6_4	nein	ja	4	nein	nein	ja	38,5	31,6	15,7
6_5	ja	ja	5	nein	nein	ja	44,8		10,5

a: in Tagen nach der Geburt

b: Trockenmasse [%]

Kalb	Probiotikum	Durchfall	Durchfall- beginn ^a	Rotavirus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis	TM ^b 48 h	TM 3 d	TM 7 d
6_6	nein	ja	2	nein	nein	nein	12,3	52,1	15,8
6_7	ja	ja	2	nein	nein	ja	3,9	28,9	28,0
6_8	ja	nein					31,2		23,5
6_9	nein	ja	2	nein	nein	nein	9,0	44,5	6,7
6_10	ja	ja	6	nein	nein	ja	40,8	35,6	11,9
6_13	nein	ja	6	nein	nein	ja	31,1		6,6
6_14	ja	ja	3	nein	nein	ja	35,8	14,8	8,0
6_15	nein	ja	3	nein	nein	nein	38,6	9,4	10,2
6_16	ja	nein					30,2	38,5	20,9
6_17	ja	nein					38,4		23,3
7_1	nein	nein					43,0	41,2	22,5
7_2	ja	nein					37,2		26,7
7_3	nein	nein					30,1	34,7	24,8
7_4	ja	nein					28,4	29,1	25,7
7_5	nein	nein					41,8	32,5	26,0
7_6	ja	nein					25,0	28,0	16,9
7_7	nein	nein					38,8	39,5	21,9
7_8	ja	nein					40,1	42,2	22,4
7_9	nein	nein					23,7	26,7	30,3
7_10	ja	nein					35,0	35,9	20,7
7_11	nein	nein					34,2	21,2	22,1
7_12	ja	nein					26,2	29,6	24,4
7_13	nein	ja	3	nein	nein	nein	36,4	7,7	24,9
7_14	ja	nein					29,2	21,7	21,3
7_15	nein	ja	5	ja	nein	ja	34,6	35,8	7,5
7_16	ja	nein					40,3	17,5	31,0
7_17	ja	nein					23,2	21,9	22,5
8_1	nein	nein					38,2	38,5	29,3
8_2	ja	nein					23,8	33,5	23,9
8_3	nein	nein					23,7	29,4	22,1
8_4	ja	ja	10				44,1	44,2	25,8
8_5	nein	nein					40,9	41,0	27,1
8_6	ja	ja	14				43,5	31,4	23,0
8_7	nein	ja	9				36,9	41,8	24,5
8_8	ja	ja	9				37,4	23,2	22,5
8_9	nein	ja	9				33,9	35,3	27,3
8_10	ja	ja	8				32,7	38,6	33,7
8_11	nein	ja	8				28,1	20,0	20,9
8_12	ja	nein					40,1	41,8	24,8
8_13	nein	nein					39,6	24,3	21,2
8_14	ja	ja	8				20,9	28,0	29,8
8_15	nein	nein					30,7	47,5	23,3
8_16	ja	nein					38,5	34,6	23,4
8_17	nein	nein					37,4	33,1	28,3
11_1	nein	ja	6	nein	nein	ja	28,7	32,3	4,2

a: in Tagen nach der Geburt

b: Trockenmasse [%]

Kalb	Probiotikum	Durchfall	Durchfall- beginn ^a	Rotavirus- Nachweis	Corona- virus- Nachweis	Crypto- sporidien- Nachweis	TM ^b 48 h	TM 3 d	TM 7 d
11_2	ja	nein					30,8	33,5	25,9
11_3	nein	nein					38,6	28,3	26,9
11_4	ja	nein					24,6		22,4
11_5	nein	ja	2	nein	nein	nein	15,9	6,3	18,5
11_6	ja	nein					33,7	32,9	27,2
11_7	nein	nein					48,9	30,6	28,4
11_8	ja	nein					24,8	20,9	19,0
11_9	nein	nein					34,0	27,9	45,9
11_10	nein	ja	6	nein	nein	ja	28,8	30,6	5,0
11_11	nein	nein					16,5	24,5	29,6
11_13	nein	ja	2	nein	ja	ja	15,6	33,5	31,6
11_14	ja	nein					34,4	21,1	18,9
11_15	nein	nein					30,7	29,6	28,0
11_16	ja	nein					26,2	28,3	22,8
11_17	ja	ja	7	nein	nein	ja	26,2	31,3	12,6
12_1	nein	ja	11				37,4	34,0	28,0
12_2	ja	ja	8				24,0	38,1	31,3
12_3	nein	ja	7	ja	nein	nein	36,6	35,5	15,9
12_4	ja	nein					24,8	29,6	34,6
12_5	nein	ja	7	nein	nein	nein	25,4	19,4	15,4
12_6	ja	nein					27,6	30,6	21,4
12_7	nein	nein					18,9	41,9	35,5
12_8	ja	ja	3	nein	nein	nein		10,5	
12_9	nein	nein					36,0		
12_10	ja	nein							23,9
12_11	nein	nein					29,0	38,7	30,4
12_12	ja	nein					36,7	34,5	18,2
12_13	nein	nein					36,8	36,5	25,8
12_14	ja	ja	2	nein	nein	nein	11,1	37,2	31,3
12_15	nein	nein					44,3	18,6	
12_16	ja	nein					40,6	31,2	
12_17	ja	nein					25,3	32,4	22,8

a: in Tagen nach der Geburt

b: Trockenmasse [%]

Tabelle 46: Anaerobe GKZ und Gesamtzahl der Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] der Kälber des Fütterungsversuchs

Kalb	Probiotikum	Anaerobe GKZ				Enterobacteriaceae			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
1_1	nein	2,95	9,15	9,80	10,25	2,93	8,87	9,23	8,33
1_2	ja	9,00	9,77	10,23	11,15	8,48	9,72	9,80	8,54
1_3	nein	5,75	9,88	9,62	9,53	4,40	9,52	9,24	9,26
1_5	nein	6,60	9,79	9,15	10,06	6,13	9,29	8,90	9,08
1_6	ja	7,48	9,30	9,54	9,82	6,83	9,18	9,28	7,95
1_7	nein	6,71	9,20	9,23	11,13	6,67	9,15	8,83	9,67
1_8	ja	6,71	10,22	8,78	9,62	6,55	9,33	9,00	9,00
1_9	nein	7,44	10,53	10,29	10,06	7,39	8,51	9,42	9,21
1_10	ja	4,10	9,49	9,14	10,53	3,18	9,59	8,84	8,77
1_11	nein	8,56	9,56	10,16	9,68	8,91	9,56	8,85	7,49
1_12	nein	9,33	9,65	10,48	9,59	8,85	9,61	9,38	7,87
1_13	nein	6,94	8,31	10,52	10,13	6,77	8,05	9,98	8,78
1_14	ja	7,78	9,52	9,91	9,49	7,95	9,15	9,05	8,45
1_15	nein	8,63	8,26	9,34	10,50	9,02	8,77	8,95	7,47
1_16	ja	8,27	9,33	9,00	9,12	8,32	9,05	8,38	8,81
1_17	nein	8,49	9,19	9,66	9,11	8,36	8,60	9,28	8,68
2_1	nein	5,97	9,90	9,86	10,02	6,41	8,92	8,35	9,07
2_2	ja	9,62	9,84	9,74	10,72	8,93	9,05	7,71	8,48
2_3	nein	7,05	8,96	9,29	9,88	7,36	9,17	8,88	7,48
2_4	ja	3,35	8,49	9,28	7,89	2,93	8,69	8,63	7,93
2_5	nein	7,49	8,44	9,18	9,79	7,40	8,60	8,49	7,83
2_6	ja	7,16	9,22	9,66	9,98	7,22	8,76	8,94	7,35
2_7	nein	6,06	10,42	10,07	10,75	5,84	9,33	9,03	8,53
2_8	ja	5,24	9,17	9,61	10,88	4,95	8,70	8,77	8,32
2_9	nein	8,42	9,31	9,65	10,64	8,34	8,59	7,72	8,37
2_10	ja	7,78	9,48	10,20	9,33	7,21	9,22	9,35	7,34
2_11	nein	7,32	9,96	9,04	9,61	7,49	9,24	9,18	7,97
2_12	ja	8,60	9,19	9,60	10,68	8,51	9,72	8,41	9,38
2_13	ja	5,80	9,43	9,56	9,87	5,88	9,42	9,09	7,99
2_14	ja	7,53	9,19	9,93	9,89	6,67	9,10	9,08	8,41
2_15	nein	8,19	9,73	10,53	10,50	8,45	8,20	9,32	10,70
2_16	ja	8,94	10,06	9,63	9,68	8,97	9,19	8,96	8,27
2_17	nein	6,56	9,42	10,52	10,29	6,97	9,10	8,71	9,13
3_1	nein	7,03	9,57	9,92	8,57	6,93	9,07	8,68	7,65
3_2	nein	7,21	9,72	9,79	9,69	6,23	9,04	8,54	6,98
3_3	ja	9,51	9,88	9,65	10,16	9,33	9,22	8,96	9,12
3_4	ja	9,25	10,20	10,25	9,78	9,02	8,43	8,29	8,59
3_5	nein	6,24	9,48		9,66	5,57	8,63	8,59	8,11
3_6	ja	9,72	9,41	9,80	10,61	9,38	8,59	9,20	7,57
3_7	nein	8,82	9,21	10,75	10,49	8,67	8,92	9,79	8,04
3_8	ja	8,95	9,29	10,17	9,67	8,81	9,07	7,99	8,79
3_9	ja	9,26	10,28	10,58	10,44	9,38	8,84	7,12	8,92
3_10	ja	8,43	9,70	10,21	10,53	7,60	8,95	5,95	7,40

Kalb	Probiotikum	Anaerobe GKZ				Enterobacteriaceae			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
3_11	nein	9,46	10,11	9,39	10,13	9,29	9,91	9,32	7,94
3_12	ja	5,06	9,65	9,60	10,14	5,22	8,65	7,58	9,30
3_13	nein	6,99	9,72	9,57	10,49	6,93	9,49	8,08	7,62
3_14	ja	7,59	9,14	9,01	10,62	7,00	8,95	8,65	9,21
3_15	nein	7,90	9,63	9,79	9,01	7,71	9,81	8,37	7,33
3_16	ja	5,67	9,63	10,27	8,04	4,66	9,13	9,19	5,30
3_17	ja	6,37	9,25	8,69	9,44	6,37	8,71	5,78	7,67
4_1	nein	3,65	10,01	9,12	10,01	2,30	9,11	8,48	7,88
4_2	nein	9,92	9,65	9,62	9,66	9,54	9,27	8,58	8,48
4_3	ja	8,97	10,16	9,74	10,23	8,89	9,85	8,89	9,06
4_4	ja	3,83	9,63	9,51	10,74	3,08	9,44	8,63	8,62
4_5	nein	8,37	9,33	10,15	10,35	8,17	9,00	9,72	8,72
4_6	ja	8,21	9,58	9,79	10,82	7,57	9,28	9,14	7,93
4_7	nein	4,62	9,94	10,15	10,32	3,15	9,84	9,78	8,78
4_8	ja	5,82	10,37	10,36	10,85	5,59	9,21	9,67	8,26
4_9	nein	3,92	9,46	9,69	10,54	3,40	8,45	8,33	9,41
4_10	ja	8,22	9,97	10,15	9,75	7,54	9,71	9,73	8,47
4_11	nein	4,79	9,63	10,30	9,65	4,73	9,45	9,03	8,63
4_12	ja	7,21	9,71	9,21	9,25	7,14	9,04	8,31	8,94
4_13	nein	3,93	9,82	9,47	9,17	2,00	9,74	9,12	8,24
4_14	ja	8,10	9,98	9,15	9,79	8,37	9,30	7,92	8,76
4_15	nein	8,27	9,56	9,18	9,26	8,26	9,40	8,55	8,60
4_16	ja	4,81	8,94	9,94	10,02	3,59	8,82	9,64	8,51
4_17	ja	8,08	9,48	10,00	10,54	7,57	9,29	9,54	8,24
5_1	nein	4,64	9,28	9,38	10,06	4,23	8,73	9,43	8,86
5_2	ja	3,69	8,88	9,48	9,92	3,34	8,37	9,28	8,47
5_3	nein	2,30	9,74	9,65	9,42	2,00	9,69	9,20	7,82
5_4	ja	0,00	9,06	9,45	9,66	0,00	8,96	8,23	7,89
5_5	nein	0,00	8,84	10,00	10,13	0,00	8,46	8,63	8,25
5_6	ja	3,30	9,73	10,21	9,60	0,00	9,36	9,86	8,44
5_7	nein	3,23	9,21	9,60	10,30	3,15	9,20	8,71	9,10
5_8	ja	5,27	10,05	9,94	9,73	5,56	9,60	8,94	8,01
5_9	nein		9,31	9,67	9,43	4,12	9,15	8,60	9,12
5_10	ja	7,65	9,62	9,94	10,21	7,62	9,48	9,79	7,87
5_11	nein	6,53	9,66	9,63	9,11	5,84	8,82	7,30	6,96
5_12	ja	4,09	9,14		9,63	3,15	8,54	7,93	8,14
5_13	nein	2,00	10,64	10,29	9,15	0,00	8,79	7,60	7,62
5_14	ja	0,00	8,90	11,38	9,20	2,00	8,00	11,13	7,75
5_15	nein	4,60	10,40	10,35	10,03	4,10	9,35	8,44	7,69
5_16	ja	3,00	9,75	9,44	9,57	2,00	8,12	9,55	8,48
5_17	nein	4,79	9,62	10,34	10,28	4,48	8,15	8,85	8,52
6_1	ja	8,79	9,38	9,05	9,06	8,68	7,62	8,51	8,56
6_2	nein	9,04	8,74	8,96	8,90	8,89	6,90	8,90	7,50
6_3	nein	6,85	9,31	9,93	9,36	5,33	9,09	8,39	7,69
6_4	nein	10,10			9,89	9,86	9,55	9,16	7,70

Kalb	Probiotikum	Anaerobe GKZ				Enterobacteriaceae			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
6_5	ja	8,79	9,23	9,41	9,34	8,69	9,19	8,74	8,01
6_6	nein	7,44	9,42	9,96	8,96	7,42	9,29	9,38	8,92
6_7	ja	7,95	9,61	8,81	8,49	7,82	9,42	8,84	7,77
6_8	ja	7,69	9,38	9,35	9,60	7,64	9,24	8,65	7,76
6_9	nein	7,94	9,03	9,14	9,14	8,14	8,74	8,91	9,10
6_10	ja	4,31	9,06	9,46	9,36	2,30	8,91	8,60	8,91
6_13	nein	8,69		9,25	8,80	9,06	9,16	9,01	8,77
6_14	ja	4,18	9,67	8,92	9,31	3,89	9,19	8,95	7,51
6_15	nein	5,00	7,57	9,78	10,41	4,97	7,44	9,54	7,28
6_16	ja	7,40	9,64	10,16	10,08	9,00	9,39	9,21	7,68
6_17	ja	4,93	9,25	9,24	10,31	4,86	9,32	8,62	8,81
7_1	nein	8,31	9,62	9,89	10,08	8,22	9,24	9,25	8,60
7_2	ja	6,35	9,73		10,44	5,70	8,65		7,97
7_3	nein	2,30	9,45	10,24	10,93	3,08	9,40	9,89	9,36
7_4	ja	2,30	9,99	9,58	9,69	2,30	9,52	9,51	7,96
7_5	nein	3,15	8,93	9,61	10,27	0,00	8,44	9,00	9,45
7_6	ja	3,00	7,53	9,89	10,51	0,00	7,58	8,66	8,86
7_7	nein	4,57	9,70	10,07	10,00	3,46	9,58	9,38	8,77
7_8	ja	8,99	10,20	9,31	10,17	8,90	8,80	7,81	7,95
7_9	nein	4,02	8,39	9,33	10,31	4,78	8,15	8,92	8,56
7_10	ja	3,71	9,17	9,28	10,39	2,00	8,87	7,37	8,73
7_11	nein	6,99	9,09	9,16	9,34	7,02	9,07	9,14	8,87
7_12	ja	9,00	7,83	9,90	9,10	9,34	7,72	9,37	8,70
7_13	nein	6,94	8,25	9,61	10,64	6,81	8,47	9,06	8,55
7_14	ja	4,68	9,19	10,96	10,81	2,70	9,02	8,44	9,11
7_15	nein	5,06	9,88	10,33	8,89	5,07	8,54	9,47	7,94
7_16	ja	3,35	9,38	9,56	9,73	2,70	9,22	8,71	8,25
7_17	ja	5,00	9,46	9,39	10,63	4,92	9,51	8,82	9,59
8_1	nein	6,76	9,81	10,37	8,61	6,49	9,60	9,89	7,53
8_2	ja	3,53	10,10	10,48	10,53	0,00	9,67	9,13	8,06
8_3	nein	5,02	9,29	10,09	10,56	5,63	9,08	9,62	8,72
8_4	ja	7,11	9,68	10,08	10,06	7,34	9,19	9,41	8,38
8_5	nein	4,01	9,82	10,17	10,91	3,26	9,23	9,42	8,53
8_6	ja	3,08	9,83	10,47	10,58	2,70	9,59	8,98	8,35
8_7	nein	4,13	9,53	9,33	10,51	3,94	9,46	8,97	8,23
8_8	ja	4,29	9,60	10,35	11,14	3,79	9,31	7,34	8,18
8_9	nein	6,08	8,69	9,78	10,32	6,05	8,29	9,63	8,23
8_10	ja	5,11	9,79	8,90	10,23	3,04	9,78	8,54	9,91
8_11	nein	9,36	8,77	8,83	9,66	9,26	8,36	8,61	8,54
8_12	ja	3,04	9,29	9,98	10,61	3,04	9,31	9,91	8,67
8_13	nein	4,08	9,19	9,39	10,40	2,85	8,78	9,17	7,13
8_14	ja	5,13	9,29	9,53	9,69	3,20	8,98	8,71	7,76
8_15	nein	3,31	9,29	10,20	9,43	3,93	8,93	9,66	8,40
8_16	ja	9,88	10,20	10,59	9,91	9,36	10,03	9,68	6,26
8_17	nein	5,20	9,89	9,49	10,21	2,60	9,69	8,79	7,80

Kalb	Probiotikum	Anaerobe GKZ				Enterobacteriaceae			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
11_1	nein	9,80	9,44	10,18	9,81	9,32	9,40	9,03	9,42
11_2	ja	8,57	9,51	9,59	11,13	8,20	8,98	9,02	8,60
11_3	nein	9,42	9,55	9,47	9,88	9,63	10,62	8,91	7,96
11_4	ja	9,48	9,80	10,29	10,53	9,46	9,21	9,06	8,55
11_5	nein	9,44	10,10	9,73	11,01	9,34	10,00	9,93	9,74
11_6	ja	2,90	10,29	9,71	10,50	2,90	9,51	8,56	8,42
11_7	nein	0,00	9,75	10,35	10,08	2,00	9,62	9,33	8,28
11_8	ja	9,31	9,05	9,89	9,64	9,26	8,89	9,32	8,51
11_9	nein	9,35	9,32	11,06	10,68	9,22	8,36	8,84	9,50
11_10	nein	6,73	9,92	9,83	9,03	6,45	9,72	8,52	7,82
11_11	nein	8,87	9,76	10,45	10,70	8,60	8,67	7,73	8,49
11_13	nein	6,79	9,48	9,70	10,70	6,78	8,61	9,04	8,75
11_14	ja	3,45	9,79	9,53	10,64	2,78	8,50	8,44	7,72
11_15	nein	8,82	9,56	9,84	10,70	8,49	8,68	7,97	7,38
11_16	ja	8,36	10,48	9,69	10,97	8,40	10,38	9,23	7,67
11_17	ja	9,35	9,83	8,90	10,29	9,00	9,21	8,64	9,68
12_1	nein	9,54	9,00	10,16	8,92	9,13	9,10	8,82	7,42
12_2	ja	7,68	8,70	10,33	7,57	7,73	8,55	8,41	6,04
12_3	nein	8,38	9,17	9,36	10,49	8,45	9,41	8,90	7,70
12_4	ja	7,73	8,54	9,47	10,23	7,99	8,70	9,26	9,04
12_5	nein	5,56	10,35	9,82	10,75	6,74	8,83	8,32	7,50
12_6	ja	7,39	8,16	9,99	9,59	6,54	8,33	8,69	8,66
12_7	nein	4,97	9,19	9,38	9,52	3,57	9,17	7,83	7,40
12_8	ja	7,71	9,16	9,74	9,21	7,43	9,54	9,79	9,06
12_9	nein	2,70	8,78	9,07	10,53	3,70	8,03	8,09	9,29
12_10	ja	9,93	9,00	9,36	9,25	9,45	8,15	8,85	7,61
12_11	nein	8,31	9,51	9,56	9,94	8,27	8,91	8,15	8,25
12_12	ja	7,15	8,38	9,95	10,41	7,49	8,20	8,87	7,60
12_13	nein	6,42	8,45	9,65	10,63	6,41	8,44	8,74	7,06
12_14	ja	7,87	9,99	9,12	10,07	7,28	9,86	8,67	8,12
12_15	nein	8,30	8,47	9,57	10,49	8,39	8,21	9,62	8,23
12_16	ja	5,81	10,00	10,23	9,38	6,18	9,83	8,67	8,73
12_17	ja	3,73	8,88	9,82	10,27	3,94	8,62	8,94	8,09

Tabelle 47: Gesamtzahl der *Enterococcus* spp. und *Lactobacillus* spp. [\log_{10} KBE/g Kot] der Kälber des Fütterungsversuchs

Kalb	Probiotikum	<i>Enterococcus</i> spp.				<i>Lactobacillus</i> spp.			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
1_1	nein	0,00	7,89	8,48	4,90	0,00	7,96	8,91	8,73
1_2	ja	7,81	8,56	9,12	5,56	3,84	4,36	6,70	9,33
1_3	nein	2,30	9,16	7,70	7,40	0,00	5,79	7,47	6,74
1_5	nein	0,00	8,11	7,41	5,88	0,00	7,38	7,99	8,21
1_6	ja	6,99	8,45	7,84	6,41	3,75	6,47	6,04	8,06
1_7	nein	4,08	8,37	7,23	5,59	0,00	7,14	5,64	7,38
1_8	ja	4,22	7,26	6,29	7,01	0,00	6,61	6,72	4,77
1_9	nein	2,00	5,16	7,91	5,94	0,00	8,78	6,77	8,00
1_10	ja	0,00	6,88	8,24	6,26	0,00	5,44	7,22	7,88
1_11	nein	7,74	8,00	7,18	5,54	3,26	6,21	8,09	7,44
1_12	nein	6,60	7,52	8,11	4,56	4,43	4,56	5,53	7,50
1_13	nein	3,48	3,39	7,91	4,72	0,00	0,00	6,57	7,79
1_14	ja	5,46	8,10	8,25	6,18	0,00	7,13	8,40	6,50
1_15	nein	6,21	7,89	8,42	4,83	0,00	0,00	5,34	9,44
1_16	ja	5,58	8,30	6,60	5,38	0,00	6,99	7,77	7,85
1_17	nein	7,05	8,34	8,25	7,33	0,00	5,38	6,92	7,01
2_1	nein	3,04	7,68	6,92	7,78	2,48	7,18	5,02	8,28
2_2	ja	4,49	7,18	6,54	6,61	2,30	6,84	7,48	6,72
2_3	nein	0,00	8,01	7,93	6,52	3,88	2,90	5,00	4,69
2_4	ja	0,00	5,49	8,16	6,40	0,00	0,00	5,22	6,42
2_5	nein	3,89	6,56	7,19	7,50	4,34	2,30	5,89	4,26
2_6	ja	4,17	7,85	8,34	8,11	5,51	5,40	5,75	8,26
2_7	nein	5,63	8,45	8,06	5,21	3,95	6,23	4,79	5,44
2_8	ja	4,80	7,46	7,27	5,71	3,24	5,01	4,92	4,39
2_9	nein	7,28	7,41	5,85	8,05	6,37	6,00	5,79	8,63
2_10	ja	5,22	8,66	7,48	6,29	4,99	6,71	6,60	5,90
2_11	nein	5,51	8,31	6,59	5,08	5,44	6,11	5,28	6,58
2_12	ja	4,64	8,49	7,43	6,56	3,08	6,00	6,60	8,47
2_13	ja	5,49	8,65	7,89	6,80	2,00	3,87	4,29	6,98
2_14	ja	6,99	8,14	7,49	8,45	5,15	7,56	4,47	6,73
2_15	nein	5,79	8,29	8,70	7,69	5,10	5,93	7,10	8,44
2_16	ja	6,77	8,47	8,33	3,06	5,77	7,41	6,96	7,95
2_17	nein	5,39	8,41	6,95	5,97	3,22	7,19	6,64	7,18
3_1	nein	5,34	8,09	8,05	5,65	6,54	8,38	9,61	8,85
3_2	nein	6,13	8,41	7,83	6,17	3,60	8,61	7,75	8,24
3_3	ja	7,37	8,33	8,00	5,04	3,30	8,68	7,39	7,69
3_4	ja	6,79	6,51	6,07	7,01	4,38	8,38	9,17	8,74
3_5	nein	6,04	8,31	7,28	6,59	2,90	7,61	7,73	8,43
3_6	ja	8,74	8,26	7,82	5,48	5,18	8,84	8,56	8,88
3_7	nein	7,76	8,16	7,76	6,56	4,76	6,50	8,84	8,73
3_8	ja	7,40	7,45	6,30	4,26	6,36	6,69	8,40	6,52
3_9	ja	7,72	7,86	5,23	5,32	4,10	9,41	8,64	7,62
3_10	ja	8,31	8,23	4,49	6,87	6,00	9,11	8,94	8,69

Kalb	Probiotikum	<i>Enterococcus</i> spp.				<i>Lactobacillus</i> spp.			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
3_11	nein	7,94	8,64	8,21	4,63	4,64	9,39	8,63	9,13
3_12	ja	2,95	8,07	6,60	3,26	0,00	7,34	8,25	9,09
3_13	nein	0,00	9,22	8,16	6,69	0,00	7,05	8,38	8,62
3_14	ja	7,67	7,16	7,08	5,18	0,00	6,43	6,38	9,03
3_15	nein	4,22	9,14	8,41	2,78	0,00	5,40	5,11	8,20
3_16	ja	5,18	9,19	8,49	0,00	0,00	5,50	6,78	7,69
3_17	ja	5,78	8,21	4,20	4,29	0,00	5,80	5,64	6,76
4_1	nein	0,00	8,66	7,58	4,38	0,00	7,39	7,50	7,67
4_2	nein	8,60	8,04	6,61	6,26	7,15	5,50	4,83	7,29
4_3	ja	6,72	7,56	6,39	6,54	0,00	7,40	7,96	8,03
4_4	ja	3,08	8,01	5,21	7,69	0,00	6,38	5,38	8,15
4_5	nein	7,20	8,09	8,27	6,49	0,00	4,46	5,36	8,41
4_6	ja	7,90	8,08	7,09	5,67	2,90	6,68	6,62	8,41
4_7	nein	0,00	7,54	7,32	5,97	0,00	7,45	7,85	7,54
4_8	ja	4,36	8,29	7,72	6,14	0,00	7,11	8,32	7,11
4_9	nein	0,00	7,33	7,51	7,57	0,00	7,18	6,89	7,36
4_10	ja	7,50	7,93	7,37	6,66	3,08	7,22	8,89	8,59
4_11	nein	3,98	5,82	7,45	6,41	0,00	3,45	5,59	6,92
4_12	ja	4,38	8,92	7,49	6,12	0,00	6,59	7,24	7,05
4_13	nein	0,00	8,26	7,41	7,60	0,00	4,73	5,78	7,45
4_14	ja	5,37	7,52	5,88	5,12	0,00	7,56	7,42	7,93
4_15	nein	7,39	8,71	7,68	4,58	3,04	4,07	6,02	6,10
4_16	ja	2,85	7,80	7,94	6,89	0,00	7,05	7,21	8,14
4_17	ja	6,59	8,76	8,47	7,81	0,00	6,96	6,53	6,52
5_1	nein	0,00	7,89	6,67	4,71	0,00	6,74	7,00	7,41
5_2	ja	0,00	5,81	4,56	4,42	0,00	7,61	7,71	7,46
5_3	nein	0,00	7,03	5,67	4,18	0,00	6,92	7,22	8,14
5_4	ja	0,00	8,67	8,31	5,36	0,00	4,45	5,34	6,11
5_5	nein	0,00	8,12	7,87	7,06	0,00	4,47	6,89	7,44
5_6	ja	0,00	8,08	7,91	7,33	2,00	6,10	7,27	7,17
5_7	nein	0,00	7,29	6,23	7,26	0,00	6,48	6,89	8,59
5_8	ja	4,02	8,11	6,47	6,67	0,00	7,67	8,30	7,28
5_9	nein	3,04	7,22	7,06	7,19	0,00	6,49	6,42	6,42
5_10	ja	4,98	7,67	7,97	6,45	0,00	6,06	7,24	5,98
5_11	nein	5,71	4,00	4,03	4,78	2,00	7,64	7,77	7,91
5_12	ja	3,16	5,78	5,46	5,66	0,00	5,47	7,65	5,92
5_13	nein	0,00	7,83	7,79	4,34	0,00	6,76	7,20	7,26
5_14	ja	0,00	7,23	7,33	2,48	0,00	5,58	7,74	7,14
5_15	nein	3,85	6,71	5,76	5,42	3,26	6,44	6,02	7,52
5_16	ja	0,00	7,76	7,98	6,60	0,00	6,91	6,56	5,34
5_17	nein	0,00	7,36	4,54	6,05	0,00	5,68	5,23	6,63
6_1	ja	6,67	7,18	7,25	6,58	4,84	8,21	7,81	9,21
6_2	nein	7,11	4,13	6,54	5,90	6,74	6,97	7,65	7,57
6_3	nein	6,65	6,42	6,62	5,42	2,60	7,42	8,24	6,17
6_4	nein	8,16	8,48	8,02	6,88	6,84	7,19	7,67	7,82

Kalb	Probiotikum	<i>Enterococcus</i> spp.				<i>Lactobacillus</i> spp.			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
6_5	ja	7,69	7,46	6,26	4,32	5,38	6,53	7,35	7,79
6_6	nein	6,81	7,10	7,53	5,21	3,41	5,75	7,49	7,53
6_7	ja	4,73	7,52	7,03	4,15	3,28	6,81	7,66	8,35
6_8	ja	6,70	7,66	7,14	6,31	2,78	6,88	6,80	8,00
6_9	nein	6,75	7,30	6,86	6,20	0,00	7,90	7,56	8,16
6_10	ja	0,00	8,05	6,99	6,95	2,00	7,25	7,76	8,64
6_13	nein	6,89	8,19	7,85	5,58	4,41	6,20	5,76	7,08
6_14	ja	0,00	7,16	5,09	5,60	3,89	6,40	7,21	8,02
6_15	nein	3,08	0,00	7,02	5,15	0,00	0,00	6,80	8,46
6_16	ja	5,20	7,85	7,64	5,23	4,23	8,09	7,43	7,56
6_17	ja	4,20	7,85	6,92	7,76	2,00	6,17	6,85	8,55
7_1	nein	6,99	8,54	8,22	6,37	3,51	6,13	7,05	8,47
7_2	ja	5,18	8,48		4,94	0,00	5,79		8,67
7_3	nein	0,00	8,62	8,63	8,21	0,00	4,68	7,73	8,91
7_4	ja	0,00	6,37	6,64	6,08	0,00	6,09	6,89	8,33
7_5	nein	0,00	8,60	8,27	7,30	0,00	4,34	7,19	7,60
7_6	ja	0,00	4,96	8,32	7,16	0,00	0,00	7,72	8,77
7_7	nein	3,48	8,96	8,01	7,06	0,00	6,96	7,13	7,89
7_8	ja	7,77	9,71	8,70	6,35	0,00	6,26	6,33	7,41
7_9	nein	2,85	7,64	8,08	3,81	0,00	2,30	4,39	7,28
7_10	ja	0,00	7,65	7,63	7,42	2,00	6,49	7,03	7,68
7_11	nein	3,95	7,85	5,86	6,11	0,00	3,04	5,77	7,18
7_12	ja	7,38	7,32	7,51	7,06	3,00	3,32	5,75	8,28
7_13	nein	4,81	7,46	6,66	6,22	2,00	0,00	5,62	7,34
7_14	ja	2,00	8,28	7,09	6,51	0,00	7,65	8,73	9,27
7_15	nein	2,60	8,39	6,27	5,01	0,00	6,48	6,65	6,82
7_16	ja	0,00	7,95	7,33	7,74	0,00	4,78	7,72	7,33
7_17	ja	3,04	8,40	6,96	7,12	0,00	0,00	4,70	8,38
8_1	nein	4,34	8,39	8,70	8,33	0,00	6,43	7,45	7,50
8_2	ja	0,00	7,75	7,68	5,78	2,00	4,92	6,86	8,12
8_3	nein	3,76	7,83	8,50	6,92	2,70	5,67	5,91	6,60
8_4	ja	4,97	8,35	8,44	7,21	2,48	5,74	5,82	7,83
8_5	nein	0,00	9,06	9,52	6,77	2,60	6,02	8,34	8,68
8_6	ja	2,70	8,72	7,88	5,86	0,00	5,07	6,12	8,37
8_7	nein	2,00	8,30	8,06	6,62	2,60	4,48	7,19	8,15
8_8	ja	3,69	8,58	7,88	6,67	3,43	5,51	8,08	8,93
8_9	nein	3,46	8,21	8,69	7,99	2,00	3,71	6,17	7,08
8_10	ja	2,60	8,18	7,54	7,02	0,00	6,17	7,45	6,76
8_11	nein	8,26	6,43	7,02	5,69	5,25	4,97	5,05	6,63
8_12	ja	2,48	8,13	7,76	5,45	0,00	4,75	5,39	8,29
8_13	nein	0,00	8,25	7,15	6,79	2,00	5,38	6,57	7,38
8_14	ja	3,83	8,69	8,48	7,17	3,26	6,14	6,91	7,14
8_15	nein	0,00	8,06	9,77	6,75	0,00	4,16	7,44	7,07
8_16	ja	8,65	8,84	8,26	4,55	6,71	7,62	8,57	8,20
8_17	nein	0,00	8,71	7,21	6,30	0,00	7,41	7,23	7,51

Kalb	Probiotikum	<i>Enterococcus</i> spp.				<i>Lactobacillus</i> spp.			
		24 h	48 h	3 d	7 d	24 h	48 h	3 d	7 d
11_1	nein	8,60	7,79	7,60	5,33	7,29	7,65	7,61	5,66
11_2	ja	7,72	7,50	6,42	7,29	5,61	6,59	5,42	6,97
11_3	nein	7,65	8,44	7,60	6,74	4,94	7,23	7,58	8,50
11_4	ja	8,40	7,67	7,77	7,72	6,15	7,39	6,63	6,16
11_5	nein	7,92	7,55	6,03	7,66	7,03	7,32	6,81	7,65
11_6	ja	0,00	7,79	4,77	6,03	0,00	6,38	7,37	7,36
11_7	nein	0,00	7,83	7,44	6,40	0,00	7,75	8,27	5,36
11_8	ja	7,78	6,37	6,20	6,72	5,86	7,60	7,37	7,45
11_9	nein	8,59	7,69	7,09	6,43	7,43	8,10	8,63	9,37
11_10	nein	4,75	8,07	5,92	5,13	2,00	7,55	6,29	6,18
11_11	nein	7,56	7,66	7,28	7,61	6,48	7,84	8,63	8,59
11_13	nein	4,87	8,13	7,95	7,34	0,00	6,82	7,31	7,27
11_14	ja	0,00	7,43	6,24	6,77	0,00	9,14	8,17	8,86
11_15	nein	6,22	7,12	6,43	7,35	0,00	7,86	8,48	8,49
11_16	ja	7,36	7,19	6,67	6,35	4,07	8,87	8,43	8,76
11_17	ja	8,70	7,90	7,27	5,26	2,95	8,46	7,59	7,51
12_1	nein	8,38	8,38	8,65	4,30	7,01	8,25	8,03	8,01
12_2	ja	6,98	6,88	7,86	5,89	3,99	2,30	7,77	7,65
12_3	nein	5,39	7,86	8,38	7,53	2,85	0,00	7,33	7,96
12_4	ja	4,02	7,63	8,72	4,18	0,00	3,11	6,43	7,03
12_5	nein	3,81	7,41	8,43	7,53	2,00	4,01	6,26	8,26
12_6	ja	5,26	6,23	8,09	7,61	0,00	0,00	5,98	8,83
12_7	nein	4,80	9,08	8,81	4,82	0,00	7,62	7,91	6,75
12_8	ja	6,48	6,81	8,90	6,23	4,49	0,00	7,59	8,50
12_9	nein	2,00	8,52	8,42	5,85	0,00	5,28	6,14	7,46
12_10	ja	8,47	8,40	8,27	4,88	4,63	5,93	6,83	7,41
12_11	nein	6,61	8,85	7,85	5,30	2,00	7,64	7,15	5,79
12_12	ja	6,66	5,29	7,35	5,08	3,65	0,00	7,55	6,19
12_13	nein	6,44	4,42	8,62	5,81	0,00	0,00	7,40	7,39
12_14	ja	6,15	7,91	9,04	7,48	2,48	6,64	7,86	7,55
12_15	nein	7,87	8,03	7,80	7,51	3,81	0,00	6,49	7,39
12_16	ja	4,18	8,30	7,57	5,79	0,00	7,15	7,49	6,89
12_17	ja	3,00	8,89	8,05	4,61	0,00	6,47	6,84	8,95

Tabelle 48: Sequenziererergebnisse nach Sequiserve

Primer	Isolat	Sequenz (5' - 3')
Com 1/Com 2	6-15-5 Lac 2	CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGA TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCRGGCGGTTGCTTAGGTCTG ATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGAAGAAGTGCATCGGAAA CCGGGCGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATG TGTAAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTG GCGAAGGCGRCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCG AAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC ATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCC CTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTGGGG AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
	11-8-5 Lac 1	CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGA TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTGCTTAGGTCTG ATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGAAGAAGTGCATCGGAAA CCGGGCGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATG TGTAAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTG GCGAAGGCGRCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCG AAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC ATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCC CTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTGGGG AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
REUT1/ LOWLAC	6-15-5 Lac 2	CGACGACCATGAACCACCTGTCATTGCGTCCCCGAAGGGAA CGCCTTATCTCTAAGGTTAGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTA AGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCG CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTA CTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGG CACTGAAGGGCGGAAACCCCTCCAACACCTAGCACTCATCGT TTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTACC CATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTGCAGACCAGACAGyCG CCTTCGCCACTGGTGTTCTTCCATATATCTACGCATTCCACCG CTACACATGGAGTTCCACTGTCCTCTTCTGCACTCAAGTCGC CCGGTTTCCGATGCACTTCTTCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCA CATCAGACCTAAGCAACCGCCYCGCTCGCTTACGCCCAAT AAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGC TGGCACGTAGTTAGCCGTGACTTTCTGGTTGGATACCGTCAC TGCGTGAACAGTTACTCTCACGCAYRTTCTTCTCCAACAACA GAGCTTACGAGCCGAAACCCCTTCTTCACTCACGCGGTGTTG CTCCATCAGGCTTGCGCCCATTTGTGGAAGATTCCCTACTGCT GCCTCCCGTAGGAGTATGGACCGTGTCTCAGTTCCATTGTGG CCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATYGCCTTGGTA AGCCGTTACCTTACCAACTAGCTAATGCACCGCAGGTCCATC CCAGAGTGATAGCCAAAGCCATCTTTCAAAYAAAARCCATG YGGCTTTTRTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGT TATCCCCCGCTCCGGGGCRGGTTACCTACGTGTTACTACCC GTCCGC CACTCAC TGGTGATCCATCGTCAATTCA
	11-8-5 Lac 1	CGACGACCATGAACCACCTGTCATTGCGTCCCCGAAGGGAA CGCCTTATCTCTAAGGTTAGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTA AGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACCATGCTCCACCG CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTA CTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGG CACTGAAGGGYGGAAACCCCTCCAACACCTAGCACTCATCGT TTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTACC CATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTGCAGACCAGACAGyCG CCTTCGCCACTGGTGTTCTTCCATATATCTACGCATTCCACCG CTACACATGGAGTTCCACTGTCCTCTTCTGCACTCAAGTCGC CCGGTTTCCGATGCACTTCTTCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCA CATCAGACCTAAGCAACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCCAAT AAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGC TGGCACGTAGTTAGCCGTGACTTTCTGGTTGGATACCGTCAC TGCGTGAACAGTTACTCTCACGCACGTTCTTCTCCAACAACA GAGCTTACGAGCCGAAACCCCTTCTTCACTCACGCGGTGTTG CTCCATCAGGCTTGCGCCCATTTGTGGAAGATTCCCTACTGCT GCCTCCCGTAGGAGTATGGACCGTGTCTCAGTTCCATTGTGG CCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATYGCCTTGGTA AGCCGTTACCTTACCAACTAGCTAATGCACCGCAGGTCCATC CCAGAGTGATAGCCAAAGCCATCTTTCAAAYAAAARCCATG YGGCTTTTRTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGT TATCCCCCGCTCCGGGGCRGGTTACCTACGTGTTACTACCC GTCCGC CACTCAC TGGTGATCCATCGTCAATTCA

Primer	Isolat	Sequenz (5' - 3')
		CCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATYGCCTTGGTA AGCCRTTACCTTACCAACTAGCTAATGCACCGCAGGTCCATC CCAGAGTGATAGCCAAAGCCATCTTTCAAACAAAARCCATG YGGCTTTTTRTTGTTATGCGGTATTAKCATCTGTTCCAAATGT TATCCCCCGCTCCGGGGCAGGTTACCTACGTGTTACTCACCC GTCCGC CACTCAC TGGTGATCCATCGTCAATTCA

X ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
AZ	Aktenzeichen
bp	Basenpaare
C.	<i>Clostridium</i>
ca.	circa
CO ₂	Kohlendioxid
d	Tag
dest.	destilliert
DNA	Desoxyribonucleic-acid
DSM/DSMZ	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EFSA	European Food Safety Authority
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
<i>Ent.</i>	<i>Enterococcus</i>
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
GKZ	Gesamtkeimzahl
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
KBE	Koloniebildende Einheiten
kDa	Kilodalton

kg	Kilogramm
l	Liter
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
max.	maximal
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmol	Millimol
n	Anzahl
NaCl	Kochsalz
NaOH	Natronlauge
nm	Nanometer
p. n.	post natum
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonucleic-acid
rpm	Revolutions per minute
rRNA	ribosomale RNA
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
sek	Sekunde
sog.	sogenannt
SPF	Specific pathogen free
spp.	Species (Plural)
ssp.	Subspecies
UV	Ultraviolettstrahlung
v. a.	vor allem
vs.	versus
WHO	World Health Organization
z. B.	zum Beispiel
λ	Lambda

XI ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Wechselwirkungen zwischen GALT und Darmflora (nach Frick und Autenrieth, 2009).....	9
Abbildung 2: Reuterin (3-HPA) und seine verschiedenen Formen (Schaefer et al., 2010).....	12
Abbildung 3: Zusammenhang zwischen Erreger und Lebensalter bei Auftreten des Durchfalls (modifiziert nach Kaske und Kunz, 2003).....	24
Abbildung 4: Prinzip der Identifikation von Proteinen mittels MALDI-TOF-MS (Schubert und Wieser, 2010).....	61
Abbildung 5: Schema für die Untersuchung von Faecesproben auf Rotaviren, Coronaviren, E. coli F5 (K99) und Cryptosporidium parvum mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Testkits	63
Abbildung 6: Schema für die Auswahl geeigneter Stämme für ein Probiotikum.	64
Abbildung 7: Arbeitsschritte der Extraktion mittels Power Soil™ DNA Isolation Kit	66
Abbildung 8: Reduktion von MTT zu Formazan (Hebestreit, 2004).....	73
Abbildung 9: Applikationsschema für die Überprüfung der antimikrobiellen Aktivität gegen Pathogene.....	78
Abbildung 10: Zeitpunkt des Durchfallbeginns der einzelnen Kälber.....	82
Abbildung 11: Durchfallinzidenz der einzelnen Betriebe.....	83
Abbildung 12: Jahreszeitlicher Vergleich der Durchfallinzidenz.....	84
Abbildung 13: Durchfallinzidenz bei verschiedenen Geburtsgewichten.....	86
Abbildung 14: Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe.....	87
Abbildung 15: Vergleich der Dauer zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe bei gesunden und durchfallkranken Kälbern.....	88
Abbildung 16: Vergleich der von gesunden und durchfallkranken Kälbern aufgenommenen Kolostrumerstmenge	89
Abbildung 17: Anzahl der Laktationen der Muttertiere von gesunden und durchfallkranken Kälbern.....	90
Abbildung 18: Mittels ELISA nachweisbare Durchfallerreger innerhalb einzelner Betriebe.....	92

Abbildung 19: Zusammenhang zwischen Erregernachweis und Muttertierimpfung. * kennzeichnet signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$).	93
Abbildung 20: Mittels ELISA nachweisbare Durchfallerreger im Zusammenhang mit dem Durchfallbeginn.....	94
Abbildung 21: Entwicklung der aeroben GKZ in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 80$)	95
Abbildung 22: Entwicklung der anaeroben GKZ in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 80$)	96
Abbildung 23: Clostridiennachweis aus Faecesproben gesunder Kälber ($n = 69$)	97
Abbildung 24: Entwicklung der Enterobacteriaceae in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 80$)	98
Abbildung 25: Relation laktosepositiver und laktosenegativer Enterobacteriaceae in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 69$).....	99
Abbildung 26: Anteil von E. coli an der Enterobakteriengesamtzahl.....	100
Abbildung 27: Entwicklung der Enterokokken in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 80$)	101
Abbildung 28: Entwicklung verschiedener Enterokokken-Gruppen in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 69$).....	102
Abbildung 29: Entwicklung der Laktobazillen in Faecesproben gesunder Kälber ($n = 80$)	103
Abbildung 30: Vergleich der aeroben GKZ in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test; $p < 0,05$).....	106
Abbildung 31: Vergleich der anaeroben GKZ in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)	107
Abbildung 32: Nachweis von Clostridien in Faecesproben gesunder und in der 1. Lebenswoche an Durchfall erkrankter Kälber. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; $p < 0,05$).....	108
Abbildung 33: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche	109

Abbildung 34: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 24 h (links) bzw. 48 h (rechts). * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)	110
Abbildung 35: Vergleich des Vorkommens von Enterokokken in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test; $p < 0,05$)	111
Abbildung 36: Vergleich des Vorkommens von Enterokokken in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 48 h. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (t-Test und Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)	112
Abbildung 37: Vergleich des Vorkommens von Laktobazillen in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfall in der 1. Lebenswoche. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)	113
Abbildung 38: Vergleich des Vorkommens von Laktobazillen in Faecesproben von gesunden Kälbern und Kälbern mit Durchfallbeginn (DF) zum Zeitpunkt 48 h. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; $p < 0,05$)	114
Abbildung 39: Vergleich von <i>L. reuteri</i> und <i>L. mucosae</i> gesunder und durchfallkranker Kälber. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (logistische Regressionsanalyse; $p < 0,05$).....	116
Abbildung 40: Überprüfung der als <i>L. reuteri</i> identifizierten (MALDI-TOF) Isolate mittels speziespezifischer PCR (n = 57)	118
Abbildung 41: RAPD-Bandenprofile ausgewählter <i>L.-reuteri</i> -Isolate (n = 57) .	119
Abbildung 42: Einfluss von Kulturüberständen der <i>L.-reuteri</i> -Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 auf die MTT-Spaltungsaktivität von Verozellen (pH-Wert: 6,5; entspricht dem des MRS-Mediums)	123
Abbildung 43: Einfluss von Kulturüberständen der <i>L.-reuteri</i> -Isolate 6-15-5 Lac 2 und 11-8-5 Lac 1 auf die MTT-Spaltungsaktivität von Verozellen (pH-Wert: 4,3; pH-Wert des MRS-Mediums entsprechend dem der Kulturüberstände korrigiert)	124
Abbildung 44: pH- und Gallesalzstabilität von <i>L.-reuteri</i> -Isolat 6-15-5 Lac 2 ..	125

Abbildung 45: pH- und Gallesalzstabilität von <i>L.-reuteri</i> -Isolat 11-8-5 Lac 1 ..	126
Abbildung 46: Visualisierung der PCR-Produkte aus 16S rRNA-PCR mit Universalprimern (links) und speziesspezifischer PCR (rechts) .	128
Abbildung 47: Durchfallinzidenz der Versuchs- und Kontrollgruppe. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; p < 0,05)	130
Abbildung 48: Durchfallinzidenz der Versuchs- und Kontrollgruppe innerhalb der 1. Lebenswoche	131
Abbildung 49: Erregernachweis mittels ELISA in Durchfallproben der Versuchs- und Kontrollgruppe. * kennzeichnet signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat-Test; p < 0,05).....	132
Abbildung 50: Keimgehalte in Faecesproben von Kälbern der Versuchs- und Kontrollgruppe im Vergleich	133
Abbildung 51: Vergleich des Vorkommens von Enterobacteriaceae in Faecesproben von gesunden Kälbern und Durchfallkälbern mit negativem ELISA-Ergebnis.....	152

XII TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Schätzung der Kosten durch diarrhoebedingte Kälberverluste in Bayern im Jahr 2012 (nach Brändle, 2006 und LKV Bayern, 2012)	22
Tabelle 2: Neugeboren-Durchfall: Zusammenspiel verschiedener Faktoren (nach Rademacher, 2007).....	23
Tabelle 3: Für Kälber als Futterzusatzstoff zugelassene Mikroorganismen (nach Richtlinie 70/524/EWG, Übergangsregelung und Futterzusatzstoff-VO EG 1831/2003; Stand: Juni 2011; Quelle: www.bvl.bund.de).....	39
Tabelle 4: Übersichtstabelle über die im ersten Versuchsteil untersuchten Kälber	50
Tabelle 5: Zeitpunkte der Probenentnahme	51
Tabelle 6: Verdünnungsstufen pro Nährboden für verschiedene Faecesproben...	53
Tabelle 7: Anzuchtmedien zur bakteriologischen Untersuchung von Kälberfaeces	54
Tabelle 8: Prüfschema zur orientierenden Differenzierung in Kälberfaeces vorkommender Bakterien.....	55
Tabelle 9: Zuckerverstoffwechselung verschiedener <i>Enterococcus</i> spp. (nach Bejuk et al., 2000)	59
Tabelle 10: Beurteilung der Kotkonsistenz (nach der Methode der Klinik für Wiederkäuer, LMU München; Friedrich et al., 2011)	62
Tabelle 11: Bestandteile des Power Soil™ DNA Isolation Kits.....	65
Tabelle 12: Primer für <i>L.-reuteri</i> -spezifische PCR	67
Tabelle 13: Zusammensetzung der Reagenzien für <i>L.-reuteri</i> -spezifische PCR ..	67
Tabelle 14: Thermocycler-Protokoll für <i>L.-reuteri</i> -spezifische PCR	68
Tabelle 15: Für RAPD-PCR verwendeter Primer	68
Tabelle 16: Zusammensetzung der Reagenzien für RAPD-PCR.....	69
Tabelle 17: Thermocycler-Protokoll für RAPD-PCR.....	69
Tabelle 18: Universalprimer für 16S rRNA-PCR.....	69
Tabelle 19: Zusammensetzung der Reagenzien für 16S rRNA-PCR mit Universalprimern.....	70
Tabelle 20: Thermocycler-Protokoll für 16S rRNA-PCR mit Universalprimern.	70
Tabelle 21: Cut-off-Werte für <i>L. reuteri</i> (nach EFSA, 2012a)	72
Tabelle 22: Muttertierimpfung und Durchfallinzidenz einzelner Betriebe.....	90

Tabelle 23: Speziesidentifikation der von LAMVAB-Agar isolierten Einzelkeime mittels MALDI-TOF-MS	104
Tabelle 24: Vorkommen dominanter <i>Lactobacillus</i> spp. [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben gesunder Kälber (n = 69).....	105
Tabelle 25: Vorkommen dominanter <i>Lactobacillus</i> spp. [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben durchfallkranker Kälber (n = 69)	115
Tabelle 26: Einteilung der mittels RAPD-PCR untersuchten <i>L.-reuteri</i> -Isolate (n = 57)	121
Tabelle 27: MHK-Werte ausgewählter <i>L.-reuteri</i> -Isolate (n = 19).....	122
Tabelle 28: Ergebnisse der Untersuchung zur antimikrobiellen Aktivität.....	127
Tabelle 29: Keimzahlen [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten	155
Tabelle 30: Begleitdaten zu den im ersten Versuchsabschnitt untersuchten Kälbern – Teil 1.....	206
Tabelle 31: Begleitdaten zu den im ersten Versuchsabschnitt untersuchten Kälbern – Teil 2.....	210
Tabelle 32: Aerobe GKZ [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	214
Tabelle 33: Anaerobe GKZ [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	218
Tabelle 34: Gesamtzahl der Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	222
Tabelle 35: Keimzahlen der laktosepositiven und laktosenegativen Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	226
Tabelle 36: Keimzahlen von <i>E. coli</i> und anderen Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	230
Tabelle 37: Gesamtzahl der Enterokokken [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	234
Tabelle 38: Keimzahlen von <i>Ent. faecalis</i> und <i>Ent. faecium</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	238
Tabelle 39: Gesamtzahl der Laktobazillen [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	242

Tabelle 40: Keimzahlen von <i>L. reuteri</i> und <i>L. paracasei</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	246
Tabelle 41: Keimzahlen von <i>L. murinus</i> und <i>L. mucosae</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	250
Tabelle 42: Keimzahlen von <i>L. salivarius</i> und <i>L. rhamnosus</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	254
Tabelle 43: Keimzahlen von <i>L. plantarum</i> und <i>L. parabuchneri</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	258
Tabelle 44: Keimzahlen von <i>L. brevis</i> und <i>L. fermentum</i> [\log_{10} KBE/g Kot] in Faecesproben neugeborener Kälber des ersten Versuchsabschnitts	262
Tabelle 45: Begleitdaten zu den im Fütterungsversuch untersuchten Kälbern..	266
Tabelle 46: Anaerobe GKZ und Gesamtzahl der Enterobacteriaceae [\log_{10} KBE/g Kot] der Kälber des Fütterungsversuchs	270
Tabelle 47: Gesamtzahl der <i>Enterococcus</i> spp. und <i>Lactobacillus</i> spp. [\log_{10} KBE/g Kot] der Kälber des Fütterungsversuchs	274
Tabelle 48: Sequenziererergebnisse nach Sequiserve	278

XIII DANKSAGUNG

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Johann Bauer möchte ich mich von ganzem Herzen für die Überlassung des interessanten Themas, die immerwährende Motivation und die hervorragende Betreuung der Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger danke ich herzlich für seine Bereitschaft, diese Arbeit als Inaugural-Dissertation anzunehmen. Zudem möchte ich mich bei ihm und seinen Mitarbeitern für die geduldige Anleitung und Unterstützung bei den MALDI-TOF-MS-Messungen bedanken.

Frau Dr. Karin Schwaiger möchte ich ganz besonders für die hervorragende wissenschaftliche Anleitung, die konstruktiven Lösungsvorschläge und die sorgfältige Durchsicht der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt der Bayerischen Forschungstiftung für die finanzielle Förderung des Projektes.

Weiterhin möchte ich der Firma Trouw Nutrition, und hier insbesondere Herrn Dr. Anton Einberger und Herrn Dr. Klaus Daubinger, für die finanzielle und organisatorische Unterstützung bei dem Projekt danken.

Frau Dr. Christina Hölzel danke ich für ihre Hilfe bei statistischen und computerbedingten Fragestellungen.

Herrn Dr. Markus Ege vom Dr. von Haunerschen Kinderspital möchte ich ebenfalls für die Unterstützung bei der statistischen Datenanalyse danken.

Ich danke allen am Projekt teilnehmenden Landwirten, ohne deren engagierte Mithilfe die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Tierhygiene, insbesondere Frau Barbara Fritz und Frau Cornelia Oehme, danke ich für ihre fortwährende Unterstützung und exzellente Arbeit.

Meinem Büroteilpartner Rupert Bassitta möchte ich besonders für die vielen lustigen und manchmal auch ernsten Gespräche danken, die mir stets geholfen haben, wieder Licht im Dunkeln zu sehen.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatten und ich immer auf sie zählen konnte.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Großmutter Rosa Nagl und meinen Eltern, Gerhard Nagl und Elisabeth Friedl, für ihre liebevolle Unterstützung bedanken. Mit ihrem Mitgefühl für Tiere und ihrem Verständnis für die Natur haben sie sicherlich wesentlich dazu beigetragen, dass ich diesen Berufsweg eingeschlagen habe.

Sebastian Storch – danke für Deine Liebe und dafür, dass Du immer für mich da bist.