

Aus der  
Klinik für Anaesthesiologie  
Direktor Prof. Dr. med., Dipl. phys. E. Kochs  
und dem  
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung  
Leitung Prof. Dr. med. B. Gänsbacher  
der  
Technischen Universität München

Angefertigt unter der Leitung von  
PD Dr. med. M. Blobner

Vorgelegt über  
Prof. Dr. med. vet. M. Erhard  
Vorstand des  
Instituts für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Vergleichende Untersuchungen der kognitiven Fähigkeiten von Ratten nach Infektion  
mit E. coli-Bakterien bzw. Injektion von devitalisierten Corynebacterium parvum**

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

von  
Christiane Elisabeth Michaelis

aus  
Bonn  
München 2002

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla  
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard  
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. T. Göbel

Tag der Promotion: 8. Februar 2002

Meinen Eltern



|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b><u>EINLEITUNG.....</u></b>                         | <b>1</b>  |
| <b>2</b>   | <b><u>SCHRIFTTUM.....</u></b>                         | <b>3</b>  |
| <b>2.1</b> | <b>SEPSIS.....</b>                                    | <b>3</b>  |
| 2.1.1      | DEFINITION DER SEPSIS .....                           | 3         |
| 2.1.2      | PATHOGENESE DES MULTIORGANVERSAGENS BEI SEPSIS .....  | 5         |
| 2.1.2.1    | Endotoxin-induzierte Mechanismen .....                | 7         |
| 2.1.2.1.1  | Zytokine.....   | 8         |
| 2.1.2.1.2  | Lipidmediatoren .....                                 | 9         |
| 2.1.2.1.3  | Stickstoffmonoxid (NO).....                           | 9         |
| 2.1.2.2    | Exotoxin-induzierter Mechanismus.....                 | 11        |
| 2.1.3      | SEPTISCHE ENZEPHALOPATHIE.....                        | 11        |
| 2.1.4      | CRITICAL ILLNES POLYNEUROPATHY (CIP).....             | 14        |
| <b>2.2</b> | <b>THERAPIEANSÄTZE ZUR BEHANDLUNG DER SEPSIS.....</b> | <b>14</b> |
| 2.2.1      | SYMPTOMATISCHE BEHANDLUNG .....                       | 14        |
| 2.2.2      | CHIRURGISCHE HERDSANIERUNG .....                      | 14        |
| 2.2.3      | ANTIBIOTIKA .....                                     | 14        |
| 2.2.4      | BEHANDLUNG MIT ANTIZYTOKINEN .....                    | 15        |
| <b>2.3</b> | <b>SEPSIS-TIERMODELLE .....</b>                       | <b>15</b> |
| 2.3.1      | AKUTMODELLE DER SEPSIS .....                          | 15        |
| 2.3.1.1    | Caecale Ligatur und Punktion (CLP) .....              | 15        |
| 2.3.1.2    | Kapselimplantation.....                               | 16        |
| 2.3.1.3    | Kontinuierliche Pumpeninfusion.....                   | 16        |
| 2.3.2      | CHRONISCHE SEPSISMODELLE.....                         | 16        |
| 2.3.2.1    | Colon ascendens Stent Peritonitis .....               | 16        |
| 2.3.2.2    | Schwämmchenimplantation .....                         | 16        |
| 2.3.2.3    | Bakterieninjektion .....                              | 16        |
| 2.3.3      | CORYNEBACTERIUMPARVUM.....                            | 17        |
| <b>2.4</b> | <b>LERN- UND GEDÄCHTNISPROZESSE.....</b>              | <b>18</b> |
| 2.4.1      | STRUKTUR UND ORGANISATION DES GEDÄCHTNISSES.....      | 18        |
| 2.4.2      | DEKLARATIVES GEDÄCHTNIS.....                          | 20        |
| 2.4.3      | NICHT-DEKLARATIVES GEDÄCHTNIS .....                   | 21        |
| 2.4.4      | ARBEITSGEDÄCHTNIS .....                               | 22        |
| <b>2.5</b> | <b>VERHALTENSTESTS.....</b>                           | <b>23</b> |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 2.5.1      | OPEN-FIELD-TEST .....   | 23        |
| 2.5.2      | AUTOMATISIERTE BEWEGUNGSMESSUNG.....  | 23        |
| 2.5.3      | DRAHTGITTERTEST.....  | 24        |
| 2.5.4      | GLEICHGEWICHTS-BALKEN-TEST .....  | 24        |
| 2.5.5      | GREIF-ZUG-TEST .....  | 24        |
| 2.5.6      | EXPLORATION-BOX-TEST .....  | 24        |
| 2.5.7      | EIGHT-HOLE-BOX.....   | 25        |
| 2.5.8      | STANDARD-OPERANT-BOX (SKINNER-BOX).....                                     | 25        |
| 2.5.9      | HOME-CAGE-EMERGENCE-TEST.....   | 25        |
| 2.5.10     | CHIMNEY-TEST.....   | 26        |
| 2.5.11     | GO/NO GO-PROCEDURE .....  | 26        |
| 2.5.12     | MAZE-TESTS.....   | 26        |
| 2.5.12.1   | Morris-Water-Maze.....  | 27        |
| 2.5.12.2   | Radial-Arm-Maze.....  | 28        |
| 2.5.12.3   | 3-Door-Runway.....  | 28        |
| 2.5.12.4   | Elevated-Plus-Maze.....   | 29        |
| 2.5.12.5   | Hole-Board-Test modifiziert nach OHL.....                                   | 29        |
| <b>2.6</b> | <b>UNTERSCHIEDE KOGNITIVER FÄHIGKEITEN VON NAGETIEREN UND MENSCHEN.....</b> | <b>30</b> |
| <b>3</b>   | <b><u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....</u></b>                                    | <b>31</b> |
| <b>3.1</b> | <b>ZIELVORSTELLUNGEN .....</b>  | <b>31</b> |
| <b>3.2</b> | <b>UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODEN.....</b>                                   | <b>31</b> |
| 3.2.1      | VERSUCHSTIERE .....   | 31        |
| 3.2.2      | HALTUNGSBEDINGUNGEN .....   | 31        |
| 3.2.2.1    | Rattenraum .....  | 31        |
| 3.2.2.2    | Futter und Einstreu .....   | 32        |
| 3.2.2.3    | Aklimatisationskäfig.....   | 32        |
| 3.2.2.4    | Versuchskäfig.....  | 32        |
| <b>3.3</b> | <b>VERSUCHSPLAN.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>3.4</b> | <b>VERSUCHSVORBEREITUNG.....</b>  | <b>34</b> |
| 3.4.1      | MATERIAL.....   | 34        |
| 3.4.1.1    | Der nach OHL modifizierte Hole-Board-Test.....                              | 34        |
| 3.4.1.2    | Futterbelohnung.....  | 35        |
| 3.4.1.3    | E. coli.....  | 35        |
| 3.4.1.4    | Natriumchlorid (NaCl) .....   | 36        |
| 3.4.1.5    | Corynebacteriumparvum (C.p.).....   | 36        |
| 3.4.1.6    | Sonstige Geräte.....  | 36        |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 3.4.2      | EINGEWÖHNUNG DER TIERE.....                                  | 36        |
| <b>3.5</b> | <b>VERSUCHSDURCHFÜHRUNG .....</b>                            | <b>37</b> |
| 3.5.1      | TÄGLICHER ABLAUF.....  | 37        |
| 3.5.2      | LERNPHASE.....   | 39        |
| 3.5.2.1    | 1. Abend .....   | 39        |
| 3.5.2.2    | 2. Abend .....   | 40        |
| 3.5.2.3    | 3. Abend .....   | 40        |
| 3.5.2.4    | 4. Abend .....   | 40        |
| 3.5.2.5    | Lochkombinationen und Ende der Lernphase .....               | 41        |
| 3.5.3      | VERSUCHSPHASE .....  | 42        |
| 3.5.3.1    | Tagesbezeichnung und Lochkombinationen .....                 | 42        |
| 3.5.3.2    | E. coli-Infektion.....                                       | 42        |
| 3.5.3.3    | C.p.-Injektion.....  | 43        |
| 3.5.4      | UNTERSUCHTE PARAMETER .....                                  | 45        |
| 3.5.4.1    | Allgemeinbefinden und physiologische Parameter .....         | 45        |
| 3.5.4.2    | Hole-Board-Protokoll .....                                   | 46        |
| 3.5.5      | BESTIMMUNGSMETHODEN.....                                     | 47        |
| 3.5.5.1    | Gedächtnisparameter .....                                    | 47        |
| 3.5.5.1.1  | Fehler.....  | 47        |
| 3.5.5.1.2  | Wiederholung .....   | 48        |
| 3.5.5.2    | Explorations- und Motivationsparameter .....                 | 48        |
| 3.5.5.2.1  | Time complete (TC) .....                                     | 48        |
| 3.5.5.2.2  | Time on board (TOB).....                                     | 48        |
| 3.5.5.2.3  | Number of board entries (NBE) .....                          | 48        |
| 3.5.5.2.4  | Number of hole visits (NHV) .....                            | 48        |
| 3.5.5.2.5  | Time on board per number of hole visits (TOB/NHV) .....      | 48        |
| 3.5.5.3    | Angstbezogene Parameter .....                                | 49        |
| 3.5.5.3.1  | Latency first entry on board (LFEB) .....                    | 49        |
| 3.5.5.3.2  | Latency first correct hole visit (LFCHV) .....               | 49        |
| 3.5.5.3.3  | Latency food intake (LFI) .....                              | 49        |
| 3.5.5.3.4  | Number of group contacts (NGC) .....                         | 49        |
| 3.5.5.3.5  | Grooming.....  | 49        |
| 3.5.5.3.6  | Rearing .....  | 49        |
| 3.5.5.3.7  | Boli .....   | 49        |
| 3.5.5.4    | Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen ..... | 50        |
| 3.5.5.4.1  | Time immobile .....  | 50        |
| 3.5.5.4.2  | Food intake .....  | 50        |

|            |   |                  |
|------------|---|------------------|
| <b>3.6</b> | <b>STATISTISCHE BERECHNUNGEN UND DOKUMENTATION</b>        | <b>51</b>        |
| <b>3.7</b> | <b>ERGEBNISSE</b>   | <b>52</b>        |
| 3.7.1      | PHYSIOLOGISCHE PARAMETER                                  | 52               |
| 3.7.1.1    | Körpergewicht   | 52               |
| 3.7.1.2    | Aufgenommene Futtermenge                                  | 54               |
| 3.7.1.3    | Wasseraufnahme  | 56               |
| 3.7.1.4    | Allgemeinbefinden   | 58               |
| 3.7.1.5    | Sektionsbefunde   | 60               |
| 3.7.2      | HOLE-BOARD-PARAMETER                                      | 61               |
| 3.7.2.1    | Gedächtnisparameter                                       | 61               |
| 3.7.2.1.1  | Fehler  | 61               |
| 3.7.2.1.2  | Wiederholungen  | 63               |
| 3.7.2.2    | Exploration und Motivationsparameter                      | 65               |
| 3.7.2.2.1  | Time complete   | 65               |
| 3.7.2.2.2  | Time on board   | 67               |
| 3.7.2.2.3  | Number of board entries                                   | 69               |
| 3.7.2.2.4  | Number of hole visits                                     | 70               |
| 3.7.2.2.5  | Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)         | 72               |
| 3.7.2.3    | Angstbezogene Parameter                                   | 74               |
| 3.7.2.3.1  | Latency first correct hole visit                          | 74               |
| 3.7.2.3.2  | Latency food intake (LFI)                                 | 76               |
| 3.7.2.3.3  | Number of group contacts                                  | 78               |
| 3.7.2.3.4  | Grooming  | 80               |
| 3.7.2.3.5  | Grooming Dauer  | 82               |
| 3.7.2.3.6  | Aufrichten  | 84               |
| 3.7.2.3.7  | Bolus   | 85               |
| 3.7.2.3.8  | Latency first board entry                                 | 86               |
| 3.7.2.4    | Hole-Board Parameter, die das Allgemeinbefinden betreffen | 88               |
| 3.7.2.4.1  | Food intake   | 88               |
| 3.7.2.4.2  | Time immobile   | 90               |
| <b>3.8</b> | <b>ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE</b>                     | <b>92</b>        |
| 3.8.1      | PHYSIOLOGISCHE PARAMETER                                  | 92               |
| 3.8.2      | GEDÄCHTNISPARAMETER                                       | 92               |
| 3.8.3      | EXPLORATIONS- UND MOTIVATIONSPARAMETER                    | 92               |
| 3.8.4      | ANGSTBEZOGENE PARAMETER                                   | 92               |
| 3.8.5      | PARAMETER, DIE SICH AUF DAS ALLGEMEINBEFINDEN BEZIEHEN    | 92               |
| <b>4</b>   | <b><u>DISKUSSION</u></b>                                  | <b><u>93</u></b> |

|            |  |            |
|------------|--|------------|
| <b>4.1</b> | <b>DISKUSSION DER METHODE .....</b>  | <b>93</b>  |
| 4.1.1      | DER HOLE-BOARD-TEST .....  | 93         |
| 4.1.2      | INTRAVENÖSE INJEKTION DURCH HITZE ABGETÖTETER CORYNEBAKTERIEN.....           | 95         |
| 4.1.3      | BAKTERIENINJEKTION ÜBER EINEN VENENVERWEILKATHETER IN DER V. JUGULARIS ..... | 95         |
| <b>4.2</b> | <b>DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....</b>                                       | <b>97</b>  |
| 4.2.1      | PHYSIOLOGISCHE PARAMETER.....  | 97         |
| 4.2.2      | GEDÄCHTNISPARAMETER .....  | 98         |
| 4.2.3      | EXPLORATIONS- UND MOTIVATIONSPARAMETER.....                                  | 99         |
| 4.2.4      | ANGSTBEZOGENE PARAMETER .....  | 100        |
| 4.2.5      | HOLE-BOARD-PARAMETER, DIE DAS ALLGEMEINBEFINDEN BETREFFEN.....               | 100        |
| 4.2.6      | SCHLUSSFOLGERUNG.....  | 101        |
| <b>5</b>   | <b><u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u></b>   | <b>103</b> |
| <b>6</b>   | <b><u>SUMMARY.....</u></b>   | <b>105</b> |
| <b>7</b>   | <b><u>LITERATURVERZEICHNIS .....</u></b>                                     | <b>107</b> |
| <b>8</b>   | <b><u>TABELLENVERZEICHNIS .....</u></b>                                      | <b>119</b> |
| <b>9</b>   | <b><u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</u></b>                                     | <b>121</b> |
| <b>10</b>  | <b><u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</u></b>                                     | <b>123</b> |
| <b>11</b>  | <b><u>DANKSAGUNG .....</u></b>   | <b>125</b> |
| <b>12</b>  | <b><u>LEBENS LAUF .....</u></b>  | <b>126</b> |



## 1 EINLEITUNG

Unter Sepsis versteht man die systemische Antwort des Organismus auf eine Infektion, die durch verschiedenste Noxen hervorgerufen werden kann. Bei einer von 1000 Operationen in den westlichen Industriestaaten tritt eine postoperative Sepsis bzw. ein Systemic-Inflammatory-Response-Syndrom (SIRS) auf (BOWTON et al. 1989). Je nach Grunderkrankung beträgt die Letalität 13 bis 90 % und ist damit trotz der umfangreichen intensivmedizinischen Möglichkeiten ausgesprochen hoch (BONE 1989). So rangiert das Krankheitsbild der Sepsis in den USA unter den häufigsten Todesursachen an 13. Stelle. Wird eine Sepsis nicht rechtzeitig erkannt und behandelt, kommt es zur Beeinträchtigung und bei Fortschreiten der Sepsis zum Versagen lebenswichtiger Organe, dem Multi-Organ-Versagen. Bei ca. 70 % der Patienten mit Sepsis wird das periphere Nervensystem in Mitleidenschaft gezogen. Besteht bei diesen Patienten die Notwendigkeit der künstlichen Beatmung, fallen Schwierigkeiten bei der Entwöhnung vom Beatmungsgerät und bei der Rückkehr zur Spontanatmung auf. Bei Patienten mit Sepsis werden zudem häufig Paresen der unteren Extremitäten beobachtet. Diese neurologischen Auswirkungen einer Sepsis werden als Critical-Illness-Polyneuropathy (CIP) definiert (BOLTON 1996).

Wenn bei einem Patienten mit einer systemischen Infektion zerebrale Funktionseinschränkungen auftreten und differentialdiagnostisch Erkrankungen des Gehirns und andere organische Ursachen einer Enzephalopathie außer der Sepsis ausgeschlossen werden können, wird dieses Krankheitsbild als septische Enzephalopathie bezeichnet. Erste Symptome der septischen Enzephalopathie treten vor der Manifestation in anderen Organen in einem frühen Stadium der Erkrankung auf (BOGDANSKI et al. 1999). Vergleichende Untersuchungen von YOUNG et al. (1990) haben ergeben, dass 71 % der Patienten mit Sepsis eine septische Enzephalopathie entwickeln. Je nach dem Schweregrad der Ausprägung der septischen Enzephalopathie beträgt die Sterberate 35- 53 %. In Abhängigkeit vom Ausmaß und von der Lokalisation der zerebralen Schädigungen können sich die Symptome bei der Sanierung des Infektionsherdes und erfolgreicher organunterstützender Therapie wieder vollständig zurückbilden. Neuronenuntergänge in lebenswichtigen Hirnarealen könnten die Ursache für eine erhöhte Sterblichkeit sein, wenn das zentrale Nervensystem bei schweren systemischen Infektionen mitbetroffen ist. Bisher gibt es eine Vielzahl von Erklärungsversuchen für die Pathogenese der septischen Enzephalopathie. Nicht bekannt ist außerdem, ob zusätzlich zur Therapie der Grunderkrankung spezifische hirnprotektive Therapien die neurologische und damit auch die Gesamtprognose der Patienten mit septischer Enzephalopathie verbessern (BOGDANSKI et al. 1999). Wenn es gelingt, pathogenetische Mechanismen und frühe

## **EINLEITUNG**

---

Marker der septischen Enzephalopathie zu finden, könnte eine spezifische Therapie früher als bislang möglich durchgeführt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es festzustellen, ob Ratten im Verlauf einer Sepsis, die durch eine E. coli-Infektion hervorgerufen wird, Veränderungen der kognitiven Fähigkeiten zeigen. Diese Veränderungen sollen dann mit den kognitiven Störungen, die Ratten nach einer Injektion mit hitzeabgetötetem *Corynebacterium parvum* aufweisen, verglichen werden. Der Hole-Board-Test modifiziert nach Ohl, ein visuell-räumlicher Test, der die Untersuchung des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses von Ratten ermöglicht, wird zur Beurteilung der kognitiven Fähigkeiten verwendet.

## 2 SCHRIFTTUM

### 2.1 Sepsis

#### 2.1.1 Definition der Sepsis

Auch heute noch wird im allgemeinen Sprachgebrauch unter „Sepsis“ nur eine systemische Reaktion des Wirtes auf eine bakterielle Invasion verstanden, obwohl die Pathogenese nicht einheitlich ist und die entsprechenden Reaktionen des Körpers auch ohne infektiöse Ursachen ausgelöst werden können (COHEN und GLAUSER 1991). Sepsis, septischer Schock und septisches Multi-Organ-Versagen sind einzelne Stationen eines dynamischen Ablaufes, der durch Infektionen ausgelöst werden kann (BONE 1989). Bei mehr als 50 % der Patienten, die das klinische Bild einer Sepsis aufweisen, sind keine Bakterien im Blut nachweisbar. Dies kann auf das Versagen von Nachweismethoden der Krankheitserreger im Blut zurückzuführen sein, es wird aber auch von sepsisähnlichen Zuständen ausgegangen, die keine bakterielle Ursache haben (NEUGEBAUER et al. 1995). Die Begriffsdefinitionen der Konsensus-Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine (1992) sehen folgende Unterscheidungen vor:

#### ➤ **Infektion**

Entzündliche Antwort des sterilen Gewebes auf das Eindringen oder die Anwesenheit von Mikroorganismen.

#### ➤ **Bakteriämie**

Anwesenheit von vermehrungsfähigen Bakterien im Blut. Analog gilt für Viren: Virämie, Pilze: Fungämie und Parasiten: Parasitämie

#### ➤ **Systemic-Inflammatory-Response-Syndrome (SIRS)**

Systemische Entzündungsreaktion des Körpers auf eine Vielzahl unterschiedlich starker Noxen wie zum Beispiel Verbrennungen, Polytraumata, Ischämien, Massenblutungen oder ausgedehnte Weichteilverletzungen.

## SCHRIFTTUM

---

Damit von einem SIRS gesprochen werden kann, müssen beim Menschen zwei oder mehr der folgenden Kriterien erfüllt sein:

- Körpertemperatur über 38°C oder unter 36°C
- Herzfrequenz über 90 Schläge/min
- Atemfrequenz über 20 Atemzüge/min
- Leukozytenzahl über 12000 Zellen/mm<sup>3</sup>, unter 4000 Zellen/mm<sup>3</sup> oder über 10 % unreife Formen

### ➤ **Sepsis**

Systemische Antwort des Organismus auf eine Infektion, wenn zwei oder mehr der unter SIRS aufgeführten Kriterien erfüllt sind.

### ➤ **Schwere Sepsis**

Sepsis mit Organversagen, Hypoperfusion oder Hypotension.

### ➤ **Septischer Schock**

Bei dem septischen Schock handelt es sich um eine Sepsis mit Hypotension und Perfusionsstörungen, bei der es trotz adäquater Volumengabe zur Laktazidose, zur Oligurie und zu einer akuten Veränderung in der Bewusstseinslage des Patienten kommt. In diese Gruppe gehören auch Patienten, die unter einer Behandlung mit positiv inotropen oder vasodilatatorisch wirkenden Medikamenten keine Hypotension mehr zeigen, aber dennoch weiterhin unter einer verminderten Organperfusion und Organfunktionsstörung leiden.

### ➤ **Sepsisinduzierter arterieller Blutdruckabfall**

Absinken des systolischen arteriellen Blutdrucks auf Werte unter 90 mmHg oder um mehr als 40 mm Hg vom individuellen Normalwert.

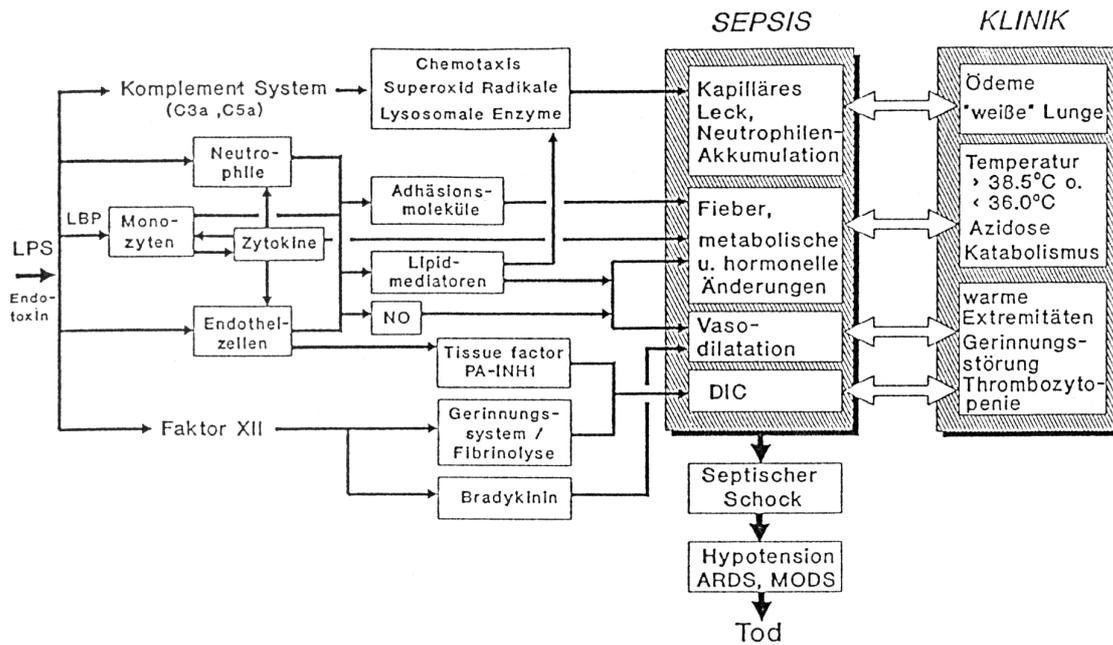
### ➤ **Multi-Organ-Versagen (MODS)**

Veränderte Organfunktion bei akut kranken Patienten, bei denen die Homöostase nicht ohne Intervention aufrecht zu erhalten ist.

### 2.1.2 Pathogenese des Multiorganversagens bei Sepsis

Ischämien, Infektionen, Traumata und Hypoxien kommen als Noxen einer Sepsis in Betracht. Abhängig von der Immunlage und den Vorerkrankungen des Patienten und der Dauer und Stärke der Noxe kommt es zur unangemessenen, übermäßigen Ganzkörperentzündungsreaktion, um die Noxe zu kontrollieren und die Toxine zu eliminieren. Unter der SIRS versteht man eine komplexe Störung der inflammatorischen, immunologischen, hämatologischen und neuroendokrinen Systeme. Gelingt es nicht, den Kreislauf der Überaktivierung dieser Systeme zu unterbrechen, so kommt es zum Multiorganversagen, zum hypodynamen Schock und zum Tod des Patienten.

Das Abwehrsystem lässt sich in das spezifische und das unspezifische Immunsystem unterteilen. Die T-Lymphozyten als zelluläre Abwehr und die Antikörper aus den B-Lymphozyten oder auch humorale Abwehr sind dem spezifischen Immunsystem zuzuordnen. Das unspezifische Immunsystem besteht einerseits aus den Monozyten/Makrophagen und neutrophilen Granulozyten und andererseits aus Kaskadesystemen: dem Komplementsystem, dem Kallikrein-Kinin-System und dem Gerinnungssystem. Von den hier aufgeführten Systemen werden unterschiedliche Mediatoren gebildet oder freigesetzt, die synergistisch und antagonistisch miteinander reagieren. Kausal am Entstehen einer Sepsis beteiligt sind: Endotoxin aus der Gruppe der Toxine, Komplementfaktoren C3 und C5, Interleukine und der Tumor-Nekrose-Faktor (TNF), die den Peptiden zugeordnet werden, sowie die Fettsäurederivate Thromboxan, Prostaglandine (beide Cyclooxygenasemetaboliten) und Peptidoleukotrien (NEUGEBAUER et al. 1995).



|          |   |
|----------|---|
| LPS      | Lipopolysaccharid                       |
| LBP      | LPS-Bindungs-Protein                    |
| C3a/C5a  | aktivierte Komplementfaktoren           |
| NO       | Stickstoffmonoxid                       |
| PA-INH 1 | plasma activator inhibitor 1            |
| DIC      | Disseminierte intravasale Koagulopathie |
| ARDS     | Acute-Respiratory-Distress-Syndrome     |
| MODS     | Multiple-Organ-Dysfunktion-Syndrome     |

**Abbildung 1: Flussdiagramm Pathogenese der Sepsis nach Neugebauer**

(NEUGEBAUER et al. 1995)

Die Funktionseinschränkung einzelner Organsysteme ist folglich auf Mikrozirkulationsstörungen zurückzuführen, die durch die Alteration des Vasotonus, die Permeabilitätssteigerung mit Ausbildung eines interstitiellen Ödems, die Obstruktion der Endstrombahn durch Leukozytenadhärenz, die Thrombozytenaggregation und die direkte Endothelschädigung verursacht werden (TRACEY et al.1988). Die Lunge ist aufgrund ihrer anatomischen Prädisposition häufig das erste Zielorgan des Multi-Organ-Versagens. Sie ist als Filterorgan der starken Reaktion der kombinierten Wirkung von IL-1 und TNF ausgesetzt (BARTELS et al. 1994). Das sequentielle Organversagen erklärt sich daraus, dass nicht alle Organe gleichzeitig und in der selben Intensität betroffen sind. Schließlich ist die Dichteverteilung leukozytär-endothelialer Adhäsionsmoleküle unterschiedlich hoch, außerdem existieren gewebespezifische Resistenzmechanismen (ELIAS et al. 1990).

### 2.1.2.1 Endotoxin-induzierte Mechanismen

Endotoxine sind hitzestabile, ubiquitäre Lipopolysaccharid(LPS)-Komponenten der äußeren Membran von gramnegativen Bakterien. Sie gelten als Schlüsselement in der Initialphase der Sepsis (BARTELS et al. 1994; NEUGEBAUER et al. 1995). Endotoxine regen das retikuloendotheliale Abwehrsystem (Makrophagen/Monozyten) im Rahmen der zellulären Immunantwort zur Mediatorenproduktion an (JOHNSTON 1988). Zytokine aktivieren neutrophile Granulozyten, die durch „Sticking“ an Endothelzellen zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren führen. Endotoxin aktiviert außerdem frühzeitig das humorale Abwehrsystem, das Komplementsystem, das Gerinnungs- und Fibrinolyse-System sowie das Kallikrein-Kinin-System. Die humorale Antwort wird dadurch, dass LPS-Bindungs-Proteine mit Endotoxinen Bindungen eingehen, noch verstärkt. Es kommt zu Wechselwirkungen mit den freigesetzten Mediatoren der zellulären Abwehr. Beide Systeme führen zur Aktivierung der Komplementfaktoren C3 und C5. Die aktivierten Komplementfaktoren C3a und C5a regen die neutrophilen Granulozyten und die Makrophagen zur Produktion von toxischen Sauerstoffradikalen und zur Freisetzung von Mediatoren an. Beide lösen eine Vasodilatation und Erhöhung der Kapillarpermeabilität mit hämodynamischen Veränderungen aus. Endotoxine und Zytokine regen Endothelzellen zur Produktion des Tissue-Faktors an, welcher das extrinsische Gerinnungssystem aktiviert und für den Verbrauch von Gerinnungsfaktoren verantwortlich ist. Außerdem aktivieren Endotoxine den Faktor XII (Hageman-Faktor), der wiederum das Gerinnungssystem und die Fibrinolyse anregt. Beides zusammen fördert die Entstehung einer Dissiminierten-Intravasalen-Koagulaopathie (DIC). Außerdem induziert der Faktor XII die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein, was die Freisetzung des Vasodilatators Bradykinin zur Folge hat (PINSKY und MATUSCHAC 1990; BERNHARD und TEDGUI 1992; NEUGEBAUER et al. 1995).

Bei den freigesetzten Mediatoren handelt es sich im Wesentlichen um Proteine (TNF, IL-1, IL-6) und um Lipide (Prostaglandin E<sub>2</sub>, Thromboxan A<sub>2</sub>). Die Aufgabe der Mediatoren ist die Zerstörung der Mikroorganismen sowie die Neutralisation von Toxinen im Rahmen einer lokalen Entzündungsreaktion. Über ungeklärte Triggermechanismen kann der Organismus die Kontrolle über sein eigenes Abwehrpotential verlieren und die Abwehrprozesse richten sich dann gegen körpereigene Strukturen (PETRAK et al. 1989).

### 2.1.2.1.1 Zytokine

Zytokine gehören zu der Gruppe der kleinen Mediatorproteine. Sie sind an der Immunabwehr und an der Wundheilung beteiligt und für die Homöostase von großer Bedeutung.  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8 sind regelmäßig am SIRS beteiligt. Die Zytokine werden nach einem bestimmten System, der Zytokinkaskade, freigesetzt: Eine Endotoxingabe regt die Produktion und Sekretion von  $\text{TNF}\alpha$  und IL-1 $\beta$  an. Diese aktivieren wiederum IL-6 und IL-8 (BLACKWELL und CHRISTMAN 1996).

#### ➤ *Tumor-Nekrose-Faktor $\alpha$ (TNF $\alpha$ )*

Der  $\text{TNF}\alpha$  wird von mononukleären Phagozyten gebildet. Nach einer Injektion von *E. coli*-Endotoxin steigt die  $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration signifikant an und weist nach 60 bis 90 min einen Höchstwert auf (MICHIE et al. 1988). In vitro induziert  $\text{TNF}\alpha$  die Freisetzung anderer Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8.  $\text{TNF}\alpha$  wird als zentraler Mediator im Sepsisgeschehen angesehen, da eine Endotoxingabe sofort die  $\text{TNF}\alpha$ -Bildung induziert, eine  $\text{TNF}\alpha$ -Infusion zu einem sepsisähnlichen Status führt und die  $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration bei Sepsiserkrankten erhöht ist (BLACKWELL und CHRISTMAN 1996).

#### ➤ *Interleukin-1 (IL-1)*

Man unterscheidet zwischen IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Beide aktivieren die selben IL-1 Rezeptoren. IL-1 wird von mononukleären Phagozyten, polymorphkernigen Leukozyten und anderen Zelltypen gebildet. Eine Infusion von IL-1 führt beim Menschen zu Fieber, hämodynamischen Abnormalitäten, Anorexie, Unwohlsein, Gliederschmerzen, Kopfschmerzen und Neutrophilie. Wie auch  $\text{TNF}\alpha$  aktiviert IL-1 $\beta$  die Produktion anderer Zytokine wie IL-6, IL-8 und  $\text{TNF}\alpha$ . IL-1 $\beta$  ist im Plasma einiger Patienten mit Sepsis erhöht. Daraus lässt sich schließen, dass die anfängliche Plasmakonzentration von IL-1 $\beta$  mit dem Schweregrad der Sepsis korreliert (DINARELLO und THOMPSON 1991; BLACKWELL und CHRISTMAN 1996; DINARELLO 1996).

#### ➤ *Interleukin-6 (IL-6)*

IL-6 wird neben vielen anderen Zellen auch von Lymphozyten, Fibroblasten und Monozyten produziert. Es aktiviert B- und T- Lymphozyten, ruft die Bildung von Akute-Phase-Proteinen in der Leber hervor und moduliert die Blutbildung (BORDEN und CHIN 1994). In vitro hemmt IL-6 die Bildung von  $\text{TNF}\alpha$  und IL-1 $\beta$  und spielt somit eine entscheidende Rolle in

der Zytokinkaskade (ANDERKA et al. 1989; SCHINDLER et al. 1990). Die genaue Funktion von IL-6 beim Sepsisgeschehen ist nicht geklärt, da nach Infusion von IL-6 in Tierexperimenten kein sepsisähnlicher Zustand erzielt werden kann (PREISER et al. 1991). Die IL-6-Konzentration korreliert genauer als die der anderen Zytokine mit dem Schweregrad und dem Verlauf der Sepsis. Ihre Rolle im Sepsisgeschehen ist jedoch noch nicht genau definiert. Es ist möglich, dass IL-6 ein Marker für die Aktivität der Zytokinkaskade ist (BLACKWELL und CHRISTMAN 1996).

### ➤ *Interleukin-8 (IL-8)*

Endotoxin, IL-1 und TNF $\alpha$  führen unter anderem dazu, dass IL-8 von mononuklearen Phagozyten, polymorphkernigen Leukozyten, Endothelzellen, Epithelzellen und verschiedenen Mesothelzelltypen gebildet wird. IL-8 aktiviert neutrophile Granulozyten und leitet diese chemotaktisch zum Entzündungsherd, außerdem ziehen nanomolare Konzentrationen von IL-8 basophile Granulozyten und T-Lymphozyten an (KOCH et al. 1992). Die Plasmakonzentration von IL-8 ist bei an Sepsis erkrankten Patienten erhöht, außerdem besteht eine Beziehung zwischen der Höhe der IL-8 Konzentration und der Mortalität der Patienten (HACK et al. 1992; MARTY et al. 1994).

#### **2.1.2.1.2 Lipidmediatoren**

Die Aktivität des Komplementsystems, des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems und der sekundären Mediatoren führt zur Freisetzung der Phospholipase A<sub>2</sub>, welche Arachidonsäure aus den Membranphospholipiden freisetzt. Der Metabolismus der Arachidonsäure durch Cyclooxygenase führt zur Prostaglandin- und Thromboxan-A<sub>2</sub>-Produktion. Beide haben einen gefäßverengenden und thrombozytenaktivierenden Effekt. Der Arachidonsäuremetabolismus führt über den Lipoxygenaseweg zur Leukotrienbildung, was den Anstieg der Gefäßpermeabilität mit chemotaktischer und leukozytenaktivierender Wirkung zur Folge hat (NEUGEBAUER et al. 1995). Prostaglandin E<sub>2</sub> und Leukotrien B<sub>4</sub> hemmen viele Immunantworten des zellulären und humoralen Immunsystems. Der plättchenaktivierende Faktor wird aus Makrophagen, neurophilen Granulozyten, Thrombozyten und Endothelzellen freigesetzt und verstärkt die Zytokinausschüttung (NEUGEBAUER et al. 1995).

#### **2.1.2.1.3 Stickstoffmonoxid (NO)**

Sauerstoffradikale, Proteasen und vor allem der Stickoxidmetabolismus sind bei der Umsetzung von mediator-vermittelten Signalen in pathophysiologisch erfassbare Phänomene von großer Bedeutung. LPS und Zytokine führen zur massiven Produktion von NO

## SCHRIFTTUM

---

(MIDGLEY et al. 1991; PARRAT und STOCLET 1991; NEUGEBAUER et al. 1995). NO ist ein in niedrigen Konzentrationen ubiquitär vorkommender Mediator in der intra- und interzellulären Kommunikation. Die Regulation der Biosynthese von NO ist wichtiger als die der anderen Neurotransmitter, da NO nicht gespeichert und nach seiner Freisetzung in die Synapsen nicht mit Hilfe von konventionellen Regulationsmechanismen inaktiviert werden kann. Die NO-Synthasen induzieren die NO-Bildung. Man unterscheidet zwischen der konstitutiven NO-Synthase (cNOS) und der induzierbaren NO-Synthase (iNOS). Die cNOS lässt sich nach ihrem Vorkommen in die endotheliale und die neuronale cNOS (ecNOS bzw. ncNOS) einteilen. Ein Anstieg der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration führt unter dem regulatorischen Einfluss von Calmodulin zur reversiblen Aktivierung der cNOS-Homodimere mit der anschließenden Bildung von Citrullin und NO aus L-Arginin. Das flüchtige, gut membrangängige NO gelangt in die Gefäßmuskelzellen und verursacht dort eine parakrine Aktivierung der zytoplasmatischen Guanylatzyclase (cGC), die über die Bildung von Guanosin-Monophosphat (cGMP) aus Guanosin-Triphosphat (GTP) zur Vasodilatation führt. Die Regulation der cNOS erfolgt über die Induktion bzw. Hemmung der Genexpression. Diese kann unter physiologischen Bedingungen zum Beispiel durch Östrogene erfolgen, kann aber auch durch akute und chronische pathophysiologische Ereignisse wie Hypoxie oder veränderte Wandschubspannung bei Hypertonie hervorgerufen werden (BAUER 1997). Die Aktivierung der ncNOS erfolgt nach Stimulation der N-Methyl-D-Aspartatrezeptoren (NMDA) und kann über eine parakrine Stimulation der Glutamatfreisetzung in präsynaptischen Nervenendigungen zur positiven „feed back“-Stimulation von NMDA-Rezeptoren beitragen. Tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass dieser Mechanismus für die Entwicklung des Langzeitgedächtnisses eine wichtige Rolle spielt (POU et al. 1992; KLATT et al. 1993; BREDET und SNYDER 1994).

Die Aktivierung der iNOS erfordert eine De-novo-Expression von mRNA und Proteinen. Zytokine und mikrobielle Produkte wie bakterielle Toxine bewirken eine De-novo-Expression der iNOS-mRNA. Im Gegensatz zur cNOS erfolgt die Synthese der iNOS als aktives Homodimer, wobei Calmodulin irreversibel an das Enzym gebunden ist. Aus diesem Grund produziert iNOS unabhängig von dem regulatorischen Einfluss des intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalts konstant nanomolare Mengen von NO. Die iNOS unterliegt somit primär einer transkriptionalen Kontrolle. Nach der Expression des Proteins ist somit die Verfügbarkeit von Substrat und Kofaktoren der limitierende Faktor der NO-Produktion. Folglich führt die Biosynthese der iNOS zu einer viele Stunden anhaltenden Bildung von NO. Die iNOS wurde erstmals in Makrophagen nachgewiesen, wo ihr eine bakterizide Wirkung zugeschrieben wird

(BREDT und SNYDER 1994; BAUER 1997). Sie kommt aber auch in diversen anderen Zellen vor und hat die unterschiedlichsten Wirkungen (BAUER 1997):

- Makrophagen: Bakterizide Wirkung
- Glatte Muskelzellen/Endothel der Gefäßwand: Refraktäre Hypotension, Verlust der Katecholaminwirkung
- Kardiomyozyten: Negative Inotropie
- Hepatozyten: Hemmung der Proteinbiosynthese, Zellatmung, Biotransformation von Pharmaka durch das Zytochrom P 450-System
- Pankreasinzellen: Entzündliche Prozesse

Das leicht membrangängige NO hat aufgrund seiner ungeraden Elektronenzahl eine hohe Reaktionsfähigkeit und damit eine kurze Halbwertszeit. Nach der Oxidation von NO sind  $\text{NO}^{2-}$  und  $\text{NO}^{3-}$  die stabilen Produkte und werden renal eliminiert. Der Nachweis von  $\text{NO}^{2-}$  in Serum oder Urin ist ein einfacher Weg zur Messung der NOS-Aktivität. Bei Patienten mit Sepsis werden erhöhte Plasmakonzentrationen gefunden. NO weist eine hohe Affinität zu eisenhaltigen prosthetischen Gruppen, wie sie viele Enzyme haben, auf. Eine Bindung von NO an diesen Gruppen führt zu einer Hemmung der Schlüsselenzyme der Atmungskette, des Citratzyklus und der Biotransformation (BOGDANSKI et al. 1999). Ein großer Teil der zytotoxischen Wirkung von NO auf Tumore und eindringende Mikroorganismen sind durch die Hemmung der Schlüsselenzyme erklärbar (BREDT und SNYDER 1994; BAUER 1997).

### **2.1.2.2 Exotoxin-induzierter Mechanismus**

Exotoxine grampositiver Bakterien (Superantigene) können selektiv T-Zellen zur hyperakuten Freisetzung von TNF aktivieren (MILLAR et al. 1989). Andere Exotoxine (E. coli- $\alpha$ -Toxin, Cl. perfringes- $\alpha$ -Toxin) benutzen einen TNF-unabhängigen Mechanismus (alternative pathway), wobei die Wirtszellen über eine Aktivierung zellulärer Phospholipasen oder eigene Phospholipaseaktivität beeinflusst werden (JACOBS et al. 1986).

### **2.1.3 Septische Enzephalopathie**

Wird eine Sepsis nicht rechtzeitig erkannt und adäquat behandelt, kommt es bei Fortbestehen des septischen Zustands zum Versagen lebenswichtiger Organe, zum MODS. Das zentrale Nervensystem (ZNS) ist dabei immer und sehr frühzeitig mitbetroffen. Das klinische Erscheinungsbild wird nach Ausschluss anderer organischer Ursachen oder anderer Erkrankungen des Gehirns als septische Enzephalopathie bezeichnet. Diese ist im Allgemeinen eine akute, reversible, generalisierte Störung der zerebralen Funktionen, die eine Sepsis begleiten (YOUNG 1995). Frühe klinische Symptome der betroffenen Patienten sind

## SCHRIFTTUM

---

verminderte Aufmerksamkeit, verschlechterte Konzentrations- und Schreibfähigkeit sowie mangelnde örtliche und zeitliche Orientierung. Die paratonische Rigidität ist ebenfalls ein häufiges Symptom. In schweren Fällen kommt es zu Delirium und Koma (JEPPSON et al. 1981; BOLTON et al. 1993; BRESSLOW 1997). Man unterscheidet vier Schweregrade der Septischen Enzephalopathie mit folgenden klinischen Anzeichen (BOGDANSKI et al. 1999):

- I. Konzentrationsstörungen, Schreibstörungen, Nachlassen der Gedächtnisleistung
- II. Somnolenz oder Verwirrtheit, zeitliche und räumliche Desorientiertheit
- III. Stupor oder Muskelrigidität, Krampfanfälle, Blicklähmungen, Hemiparesen
- IV. Koma

Es gibt eine Vielzahl von Theorien über die Pathogenese der septischen Enzephalopathie:

Direkte septische Schädigung, Schädigung der neuronalen Funktionen durch Gewebshormone wie z.B. Prostaglandine, Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke, hypoxisch-toxische Schädigung und die veränderte Durchblutung des Gehirns (BOGDANSKI et al. 1999).

Bei einer endotoxin-induzierten Sepsis werden Zytokine und Interleukine sowie sekundäre Mediatoren wie NO, vasoaktive Peptide und Komplementfaktoren freigesetzt. Die Zytokine bewirken über die Induktion der NO-produzierenden Enzyme eine Reduktion des Vasomotorentonus und eine Vasodilatation (NEUGEBAUER et al. 1995). Die Abnahme des systolischen Blutdrucks führt zu einer Verminderung des zerebralen Perfusionsdrucks. Zusätzlich resultiert aus der Zytokinfreisetzung ein Ausfall der metabolisch adaptierten Perfusionssteuerung, was eine homogene druckpassive Perfusionsverteilung zur Folge hat, die unabhängig von dem Sauerstoffbedarf des jeweiligen Gewebes ist (HOUTCHENS und WESTENSKOW 1984).

Auch metabolische Störungen des Aminosäure- und Glukosestoffwechsels sind als auslösende Faktoren einer septischen Enzephalopathie denkbar. So führt der vermehrte Muskelabbau bei Sepsispatienten zum Anstieg der in der Leber metabolisierten Aminosäuren Phenylalanin und Tryptophan sowie der schwefelhaltigen Aminosäuren. Diese Aminosäuren kumulieren im Gehirn und hemmen die Bildung der Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin (SPRUNG et al. 1991). Im Gegensatz zur hepatischen Enzephalopathie weisen Patienten mit septischer Enzephalopathie keine erhöhten Ammoniakwerte auf (MIZOCK et al. 1999). Veränderungen des Glucosestoffwechsels in den Gehirnregionen, die bei Ratten nach einer durch Caecumligatur und Punktion induzierten Sepsis auftreten, führen zu einer Aktivitätszunahme des serotonergen Systems bei gleichzeitiger Abnahme der  $\beta$ -Adrenorezeptorendichte (KADOI et al. 1996). Die aufgeführten metabolischen Störungen sind mitverantwortliche Faktoren für das Fortschreiten der septischen Enzephalopathie, vermutlich jedoch nicht ihre auslösenden

## SCHRIFTTUM

---

Faktoren, sondern Zeichen einer multiplen Beeinträchtigung des Gesamtorganismus durch proinflammatorische Mediatoren (BOGDANSKI et al. 1999).

Eine weitere Möglichkeit der Pathogenese der septischen Enzephalopathie stellt die Funktionsstörung der Blut-Hirn-Schranke dar, die z.B. durch IL-6 induziert wird (JEPPSON et al. 1981).

Außerdem wird eine direkte Wirkung der Zytokine auf das Gehirn diskutiert. IL-1 und TNF $\alpha$  gelangen durch ein aktives Transportsystem in das ZNS und aktivieren dort Astrozyten und Mikroglia zur Ausschüttung weiterer Zytokine (GUTIERREZ et al. 1993; PAN et al. 1997). Tierversuche haben gezeigt, dass eine IL-2-Gabe zu einer selektiven Hemmung der Azetylcholinfreisetzung im Hippokampus und dem frontalen Kortex führt. IL-6 erhöht den Serotonin- und Dopaminumsatz im Hippokampus und greift somit ebenfalls in den Neurotransmitterstoffwechsel ein (BOGDANSKI et al. 1999). Gelangt TNF $\alpha$  in das ZNS, so wirkt es stark zytotoxisch. Es treten Nekrosen der Venenwände auf (GRAHAM et al. 1979).

Die Tatsache, dass bei Autopsien ischämische Nekrosen festgestellt wurden, lässt eine zerebrale Ischämie als Ursache der septischen Enzephalopathie denkbar erscheinen. Mögliche Auslöser wären nicht messbare Mikrozirkulationsstörungen durch Zytokinwirkung oder die Aktivierung der Gerinnungskaskade und des Komplementsystems durch Endotoxine (BOLTON et al. 1993). Diese Theorie scheint jedoch wenig überzeugend, da es bei einer länger bestehenden Infektion zu einer Verringerung des zerebralen Blutflusses und einer Abnahme des Sauerstoffverbrauchs des Gehirns kommt (MAEKAWA et al. 1991). Die Abnahme des zerebralen Sauerstoffverbrauchs zeigt sich auch bei einer Steigerung des Sauerstoffangebots. Aus diesem Grund ist eine systemische Hypoperfusion vermutlich nicht der Grund für den reduzierten Sauerstoffverbrauch des Gehirns (BOWTON et al. 1989). Die Ursache des verringerten zerebralen Sauerstoffverbrauchs ist eventuell eine durch NO vermittelte Störung der Sauerstoffutilisation (PALMER 1993). Endotoxine und Zytokine stimulieren die induzierbare NO-Synthase zur Produktion unphysiologisch großer NO-Mengen. Erhöhte NO-Spiegel sind zytotoxisch, da NO mit den Fe-Gruppen von Proteinen reagiert. Es oxidiert die Fe-Gruppen der Proteine des Krebszyklus und inaktiviert damit die Proteine der zellulären Atmungskette. Diese Schädigung der Atmungskette kann zu Störungen der Zellhomöostase und zum Zelluntergang führen. Eine Wiederherstellung der zellulären Atmungskette kann nur durch die Neusynthese der betroffenen Proteine erreicht werden. Die globalen zerebralen Regulationsmechanismen, die in der Frühphase der Sepsis noch nicht beeinträchtigt sind, werden eventuell gestört, wenn die NO-Produktion bei bestehendem

Infektionsherd ansteigt, und tragen dann zum Entstehen ischämischer Schäden des Gehirns bei (BOGDANSKI et al. 1999).

### **2.1.4 Critical Illnes Polyneuropathy (CIP)**

Wegen der heutigen intensivmedizinischen Möglichkeiten und der dadurch bedingten längeren Überlebensdauer schwerkranker Patienten, konnte sich ein Krankheitsbild manifestieren, das früher seltener beobachtet wurde: die CIP. Etwa 70 % der Patienten mit einem Multi-Organ-Versagen entwickeln eine axonale Polyneuropathie. Bei ihnen wird im Rahmen einer Sepsis oder eines SIRS das periphere Nervensystem als Teil des MODS auch in Mitleidenschaft gezogen (BEREK et al. 1998). Mit einer CIP geht eine 30 %-ige Reduktion der Muskelmasse des M. tibialis cranialis einher (IBEBUNJO und MARTYN 1999). Es fallen Paresen der unteren Extremitäten auf. Bei septischen Patienten auf der Intensivstation, die beatmet werden müssen, treten Schwierigkeiten beim Entwöhnen vom Beatmungsgerät auf, da der Nervus phrenicus mitbetroffen ist (YOUNG 1995). Diese schwerwiegenden neurologischen Auswirkungen einer Sepsis werden als Entität zusammengefasst und als CIP bezeichnet (BOLTON et al. 1993; BOLTON 1996).

## **2.2 Therapieansätze zur Behandlung der Sepsis**

### **2.2.1 Symptomatische Behandlung**

Die Beatmung, die Volumensubstitution, die Dialyse und die Hämofiltration sowie der Einsatz vasoaktiver Pharmaka gehören zu der intensivmedizinischen symptomatischen Behandlung (NEUGEBAUER et al. 1995).

### **2.2.2 Chirurgische Herdsanierung**

Bei der chirurgischen Herdsanierung wird der Sepsisherd chirurgisch entfernt und somit die Noxe eliminiert, um eine überschießende Aktivierung der körpereigenen Abwehr zu verhindern (NEUGEBAUER et al. 1995).

### **2.2.3 Antibiotika**

Der Einsatz von Antibiotika gegen die eingedrungenen Keime gehört wie auch die Herdsanierung zur Standardtherapie. Allerdings kann ein zu später Einsatz von Antibiotika auch zu einer Verschlechterung führen, da der Organismus mit Endotoxinen der abgetöteten Bakterien überschwemmt wird (NEUGEBAUER et al. 1995).

### 2.2.4 Behandlung mit Antizytokinen

Die Aktivierung der Zytokinkaskade ist für die Pathophysiologie der Sepsis von großer Bedeutung. Behandlungen, mit denen die Kaskade unterbrochen wird, bieten einen Lösungsansatz. Beim Menschen wurden drei Behandlungsstrategien mit Antizytokin entwickelt:

- Die Anwendung polyklonaler oder monoklonaler Endotoxinantikörper bewirkt eine Blockade der Endotoxineffekte. Der Ansatz hierfür ist die Neutralisation von Endotoxinen. Hierfür werden polyklonale Antiseren, monoklonale Antiseren und Proteine, die Endotoxin binden und neutralisieren, verwendet. Allerdings ist bei diesem Therapieansatz kein Erfolg bei einer grampositiven Sepsis zu erwarten (NEUGEBAUER et al. 1995).
- Die Blockade der TNF $\alpha$ -Effekte durch Anti-TNF $\alpha$ -Antikörper oder mit TNF-Rezeptorblockern
- Der Einsatz von IL-1-Rezeptor-Antagonisten, die IL-1 blockieren (OHLSSON et al. 1990).

Eine komplexe Reaktion zwischen zytokin-neutralisierenden Molekülen kann möglicherweise die klinischen Befunde und die Ursachen der Sepsis erklären. Bisher durchgeführte Antizytokintherapien waren jedoch erfolglos (BLACKWELL und CHRISTMAN 1996).

### 2.3 Sepsis-Tiermodelle

Bei den Tiermodellen zur Induktion einer Sepsis unterscheidet man zwischen akuten und chronischen Sepsismodellen.

#### 2.3.1 Akutmodelle der Sepsis

##### 2.3.1.1 Caecale Ligatur und Punktion (CLP)

Bei der CLP wird ein Stück des Caecum der Ratte ligiert und mit einer Nadel mehrfach punktiert. So gelangen Darmbakterien in die Bauchhöhle und bewirken eine Sepsis. Die meisten Tiere sterben innerhalb von 24 bis 48 Stunden akut an einem septischen Schock (WICHTERMAN et al. 1980). Die Tiere überleben jedoch länger, wenn man dieses Modell modifiziert und das Caecum nur einmalig punktiert. Eine Standardisierung der Ausprägung der Sepsis ist jedoch bei der caecalen Ligatur und Punktion nicht möglich (von ALLMEN et al. 1990).

### **2.3.1.2 Kapselimplantation**

Bei diesem Modell wird eine definierte Dosis eines bekannten Bakterienstammes in einer Gelatinekapsel oder in einem sterilen Kotballen in die Bauchhöhle von Ratten implantiert. Dadurch wird eine Peritonitis mit nachfolgender Sepsis induziert. Eine gewisse Standardisierung der Sepsisausprägung ist durch die Kapselimplantation möglich, aber die Letalität innerhalb der ersten Stunden ist sehr hoch (NAKATANI et al. 1984; FREUND et al. 1986).

### **2.3.1.3 Kontinuierliche Pumpeninfusion**

Mit Hilfe einer osmotischen Pumpe infundiert man lebende Bakterien kontinuierlich und löst dadurch eine Peritonitis aus. Bei diesem Modell ist eine gewisse Standardisierung der Ausprägung möglich, jedoch zeigt der Gewichtsverlauf als Indikator für die Schwere der Sepsis keine signifikanten Unterschiede zwischen septischen und nicht septischen Tieren (PECK und ALEXANDER 1991).

## **2.3.2 Chronische Sepsismodelle**

### **2.3.2.1 Colon ascendens Stent Peritonitis**

Als Sepsisherd wird eine Fistel im Dickdarm angelegt. Damit über einen längeren Zeitraum Darmbakterien in die Bauchhöhle austreten, wird ein Stent, der die Fistel offenhält, in den Fistelkanal implantiert. Ein chronischer Krankheitsverlauf kann allerdings nicht erzielt werden, da die Tiere meistens innerhalb der ersten 48 Stunden im septischen Schock sterben oder keinen schweren Krankheitsverlauf zeigen (ZANTL et al. 1998).

### **2.3.2.2 Schwämmchenimplantation**

Ein im Unterhautfettgewebe eingelegtes Schwämmchen wird täglich mit einer genau definierten Dosis zweier verschiedener Bakterienstämme beimpft. Daraus resultiert für die Dauer von drei Wochen ein stabiler Zustand einer hyperdynamen Sepsis. Allerdings sind bei gleicher Behandlung zwei unterschiedlich schwere Sepsisverläufe möglich. Ein Teil der Tiere nimmt nach anfänglichem Gewichtsverlust wieder an Gewicht zu, der andere Teil nimmt weiterhin kontinuierlich ab. Ein Grund für die Gewichtszunahme könnte eine Abszessbildung mit Abkapselung des Sepsisherdes sein (MELA-RIKER et al. 1988).

### **2.3.2.3 Bakterieninjektion**

Durch die Injektion von lebenden Bakterien in eine Schwanzvene wird ein septischer Zustand erreicht, der für 8 bis 10 Tage anhält, wenn man den Körpergewichtsverlust als Indikator

verwendet (BREUILLE et al. 1999). Noch 10 Tage nach der Injektion können im Gewebe Bakterien nachgewiesen werden, außerdem kommt es häufig zur Abszessbildung in den Nieren und Hoden. Die definierte Bakterienkonzentration, die verabreicht wird, gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit, allerdings entspricht die einmalige Infektion nicht der intermittierenden Ausschüttung von Keimen, wie sie bei Sepsispatienten in der Humanmedizin zu sehen ist (WICHTERMAN et al. 1980).

### **2.3.3 Corynebacteriumparvum**

*Corynebacteriumparvum* (C.p.) wurde 1926 erstmals beschrieben (nach CUMMIS 1985). 1948 isolierte PRÉVOT das anaerobe *Corynebacterium* aus Blut und Gewebe von Patienten mit Erkrankungen des reticuloendothelialen Systems. Werden Kaninchen hitzeabgetötete Erreger injiziert, führt dies zur Stimulation des retikuloendothelialen Systems in Leber und Milz der Tiere. Nach einer erneuten Injektion der gleichen Suspension sterben die Kaninchen (nach CUMMIS 1985). Ursprünglich zählte man C.p. aufgrund seiner Morphologie zu den Corynebakterien. Heute ordnet man es den Propiobakterien zu, da es mit diesen einige Gemeinsamkeiten hat, wie die Bildung von Propionsäure. Eine andere Bezeichnung für C.p. ist *Propiobacterium acnes* (*P. acnes*). Die Injektion von *P. acnes*-Vakzinen führt im Wesentlichen zu folgenden Veränderungen (CUMMIS CS 1985):

1. Makrophagenaktivierung, Steigerung der Partikelclearance, Entwicklung von Hepato- und Splenomegalie.
2. Modulation sowohl der humoralen- als auch der zellulären Aspekte einer Immunantwort.
3. Effekte auf Leberenzyme.

**Tabelle 1: Zelluläre Auswirkungen einer Injektion von hitzeabgetöteten C.p. (nach CUMMINS in: FENICHEL und CHIRIGOS 1985)**

|  |
|--|
| ➤ Gesteigerte Clearance von Carbonpartikeln (nicht vor dem 4. Tag nach Injektion)                                    |
| ➤ Resistenzsteigerung gegenüber Bakterien, Viren, Protozoen  |
| ➤ Stimulation von B-Zellfunktionen   |
| ➤ Induktion von Suppressor Makrophagen und Suppressor T-Zellen   |
| ➤ Aktivierung und Induktion von Zytotoxizität in Makrophagen   |
| ➤ Inhibition der T-Zell-Funktionen   |
| ➤ Aktivierung der Natural Killer Zellen  |
| ➤ Körpergewichtsverlust, Thymusvergrößerung, Anämie, Thrombozytopenie, reduziert Plasma-Eisen und den Hämatokritwert |
| ➤ Gesteigerte Interferonproduktion   |
| ➤ Prostaglandinproduktion  |
| ➤ Aktivierung des Komplementsystems  |
| ➤ Steigerung der Histaminempfindlichkeit   |
| ➤ Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber Endotoxinen   |
| ➤ Tumor-Nekrose-Faktor-Produktion  |
| ➤ Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber Anästhetika   |
| ➤ Steigerung der Glukose-6-Phosphat Dehydrogenaseaktivität der Leber   |
| ➤ Schutz gegenüber künstlich induzierten Tumoren   |

## **2.4 Lern- und Gedächtnisprozesse**

### **2.4.1 Struktur und Organisation des Gedächtnisses**

Schon seit langem unterteilt man das Gedächtnis in das Kurzzeitgedächtnis und das Langzeitgedächtnis (nach SQUIRE et al. 1993). Ursprünglich ging man davon aus, dass die aufgenommene Information zunächst ins Kurzzeitgedächtnis gelangt und von dort aus in das Langzeitgedächtnis übergeht, wo sie jahrelang gespeichert wird. Nach dieser Auffassung muss eine Information vom Langzeitgedächtnis wieder in das Kurzzeitgedächtnis gelangen, um wiedergegeben werden zu können (ATKINSON und SHIFFRIN 1998). Untersuchungen an einem Patienten mit linksparietalen Verletzungen haben jedoch gezeigt, dass paraassoziertes Lernen von Wörtern und Wortlisten nicht in das Kurzzeitgedächtnis gelangen muss, bevor es das Langzeitgedächtnis erreicht und dass die Information Kurz- und

## SCHRIFTTUM

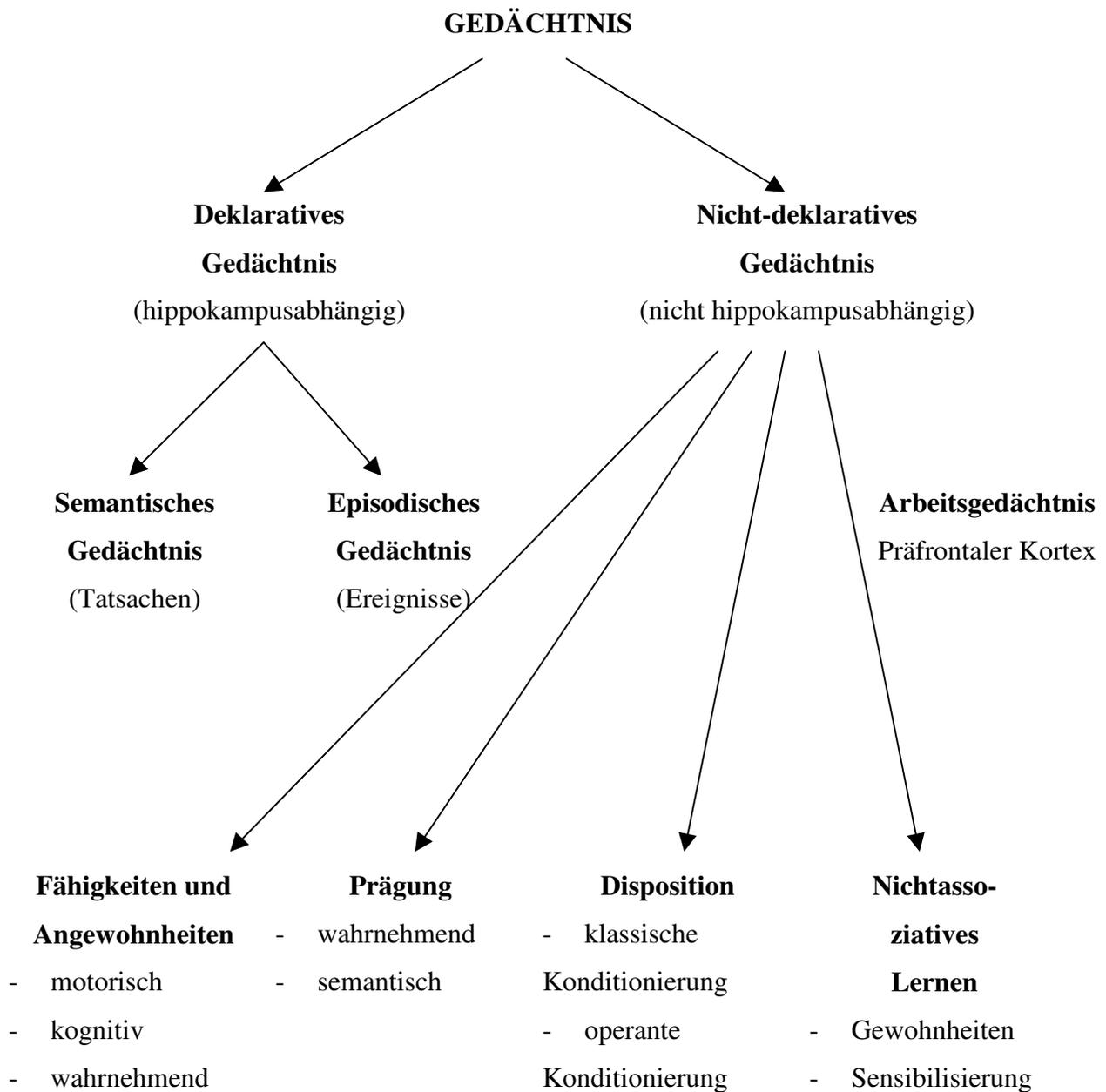
---

Langzeitgedächtnis parallel erreicht (SHALLICE und WARRINGTON 1970; WEISKRANTZ 1990). Studien von CAVE und SQUIRE (1992) zeigen, dass das Kurzzeitgedächtnis unabhängig vom Langzeitgedächtnis ist und ebenfalls unabhängig von den Strukturen und Verbindungen ist, die bei Patienten mit Amnesie zerstört sind. Ein Defizit in der phonologischen Erinnerung des Kurzzeitgedächtnisses führt jedoch zu Defiziten des Langzeitgedächtnisses, wenn das Erlernen der Langzeiterinnerung ebenfalls von phonologischen Informationen abhängig ist. Diese Tatsache gibt Hinweise darauf, dass das Kurzzeitgedächtnis in die Langzeiterinnerungen eingreift und für die Bildung des Langzeitgedächtnisses essentiell ist (SQUIRE et al. 1993).

Der Hippokampus ist dafür verantwortlich, dass bis zur endgültigen Speicherung des Erlernten im Langzeitgedächtnis die entgegengesetzten Seiten im Neokortex, die gemeinsam die ganze Erinnerung beinhalten, miteinander verbunden werden (SQUIRE 1992). Er ermöglicht somit für eine gewisse Zeit den Abruf der gesamten Information. Nach einiger Zeit übernimmt der Neokortex die gesamte Verantwortung für die Speicherung der Information im Langzeitgedächtnis. Die Zeitspanne, bis der Neokortex die Information übernimmt, hängt sowohl von der Spezies, als auch von der anfänglichen Lernintensität und der Vergesslichkeitsrate ab (ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1990; SQUIRE et al. 1993). Versuche in der Standard-Operant-Box haben ergeben, dass Ratten, denen am frontalen Kortex Läsionen gesetzt werden, die Futterbelohnung später erwarten als die Referenztiere. Dieses spricht dafür, dass Läsionen des frontalen Kortex zu Veränderungen der „reference memory“ führen, also das Kurzzeitgedächtnis betreffen. Läsionen des Nucleus basalis magnocellularis führen sowohl im Kurzzeit- als auch im Langzeitgedächtnis zu Veränderungen (OLTON 1989).

Da die Abgrenzung der einzelnen Erinnerungssysteme nicht einheitlich ist und verschieden für den Menschen definierte Erinnerungssysteme bei Tieren nicht nachweisbar sind, wird im Folgenden den Definitionen aus den Arbeitsgruppen von SQUIRE gefolgt (siehe Abbildung Nr. 2). Die Autorin beschreibt kein tierspezifisches System, hat aber bei Arbeiten mit Ratten, Affen und Menschen festgestellt, dass die Funktionen des Hippokampus und anatomisch verwandter Strukturen bei allen drei Spezies weitestgehend miteinander übereinstimmen (SQUIRE 1992; SQUIRE et al. 1993).

Das Gedächtnis besteht aus verschiedenen Komponenten und lässt sich in das deklarative Gedächtnis (Synonyme: explicit memory und relational memory) und in das nicht-deklarative Gedächtnis (Synonym: implicit memory) einteilen (SCHACTER 1987; SQUIRE et al. 1993).



**Abbildung 2: Aufbau des Gedächtnisses nach SQUIRE (1993)**

**2.4.2 Deklaratives Gedächtnis**

Das deklarative Gedächtnis enthält die Erinnerung an Tatsachen wie z.B. Orte, Wortlisten, Gesichter, Gerüche und taktile Eindrücke. Anatomisch kann man es dem Hippokampus und Hippokampus-verwandten anatomischen Strukturen zuordnen, die ebenfalls in der medialen temporalen Schleife liegen. Zusätzlich wird es bestimmten Strukturen im Diencephalon zugeschrieben (SQUIRE 1992; ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1993). Die Informationen im deklarativen Gedächtnis können schnell und flexibel, das heißt, durch verschiedene Systeme

abgerufen werden. Die Kapazität des deklarativen Gedächtnisses ist begrenzt, allerdings hat es in der Anfangsphase des Lernens eine Schlüsselfunktion (SQUIRE et al. 1993). Innerhalb des deklarativen Gedächtnisses unterscheidet man zwischen dem **episodischen Gedächtnis**, das sich auf autobiographische Ereignisse mit bestimmtem örtlichen und zeitlichen Zusammenhang bezieht, und dem **semantischen Gedächtnis**, das für Allgemeinwissen verantwortlich ist (TULVING et al. 1991).

### 2.4.3 Nicht-deklaratives Gedächtnis

Das nicht-deklarative Gedächtnis ist eine heterogene Zusammenstellung von separaten Fähigkeiten, die von einander unterschieden werden können (HEINDEL et al. 1989; HEINDEL et al. 1991). Der Sitz des nicht-deklarativen Gedächtnisses ist in vielen verschiedenen Hirnstrukturen ausserhalb des Hippokampus und dessen anatomisch verwandten Strukturen und außerhalb des Diencephalon anzusiedeln. Das nicht-deklarative Gedächtnis ist langsam, immer wieder abrufbar, aber inflexibel, da es nur durch Prozesse abgerufen werden kann, die am ursprünglichen Lernvorgang beteiligt waren (SQUIRE 1992). Man ordnet dem nicht-deklarativen Gedächtnis folgende Funktionen zu (SQUIRE et al. 1993):

#### ➤ **Fähigkeiten**

Man unterscheidet motorisch-kognitive und wahrnehmende Fähigkeiten, die unter bestimmten Umständen aus dem Langzeitgedächtnis abgerufen werden können und zwar unabhängig von dem Bewusstsein, was erlernt wurde.

#### ➤ **Dispositionen**

Das Cerebellum ist essentiell für die klassische Konditionierung (THOMPSON 1988). Der Grund dafür könnte sein, dass eine präzise Zeitabstimmung erforderlich ist (IVRY und BALDO 1992). Für die konditionierten emotionalen Reaktionen ist die Amygdala wichtig (SQUIRE et al. 1993).

#### ➤ **Nichtassoziatives Lernen**

Nichtassoziatives Lernen bezieht sich auf Gewohnheiten und Eindrücke, die alle nicht bewusst erlernt werden.

#### ➤ **Prägung**

Prägung bezieht sich auf die Tatsache, dass die Geschwindigkeit und Abwicklung aufgrund bereits bekannter Stimuli erhöht ist. Visuelle Prägung, die ihren Sitz im hinteren visuellen

Kortex hat, wird zum Beispiel effizienter, wenn der Stimulus kürzlich schon einmal prozessiert wurde. So erfolgt die Reaktion schon, bevor die Information die Limbus- und Diencephalonstrukturen erreicht hat. Beide Strukturen sind für die deklarative Erinnerung wichtig.

### **2.4.4 Arbeitsgedächtnis**

Das Arbeitsgedächtnis ist ein Kurzzeitgedächtnis, das flexible Stimulus-Reaktions-Assoziationen erfordert und höchst empfänglich für Störungen ist (OLTON et al. 1979). Es stellt ein System zur vorübergehenden Aufbewahrung und Manipulation von Information dar. In einem vereinfachten Modell veranschaulicht BADDELEY (1998) das Arbeitsgedächtnis, indem er von einer zentralen Verwaltung ausgeht, an deren einer Seite sich der phonologische Teil befindet, und an deren anderer Seite der viso-spatiale Teil zu finden ist. Der phonologische Teil ist für das Lautverständnis und für die Lautäußerung verantwortlich. Er umfasst zwei Komponenten, nämlich die vorübergehende Speicherung und die Wiedergabe von gehörten Äußerungen. Der viso-spatiale Teil enthält und manipuliert visuell-räumliche Informationen (BADDELEY 1998). Im Gegensatz zu dem phonologischen Teil, der in der Humanmedizin bevorzugt untersucht wird, können bei Tierstudien nur die visuell-räumlichen Aspekte des Arbeitsgedächtnisses untersucht werden (GOLDMAN-RAKIC 1988).

Tests, bei denen Menschen Wortreihen wiederholen müssen, zeigen, dass im Langzeitgedächtnis semantische Ähnlichkeiten von Wortreihen wichtig sind. Im Gegensatz dazu sind im Arbeitsgedächtnis die akustischen Assoziationen für die Speichervorgänge wichtig (BADDELEY 1996; BADDELEY und DELLA SALA 1996). Über die Rolle des Hippokampus als bedeutendes Element des Arbeitsgedächtnisses gibt es derzeit drei verschiedene Theorien. O'KEEFE und CONWAY (1978) gehen davon aus, dass der Hippokampus ausschließlich Ortsinformationen vermittelt. Andere Arbeitsgruppen meinen, dass der Hippokampus alle ankommenden räumlichen, zeitlichen, und sensitiven Informationen vermittelt und kodiert (OLTON et al. 1979; COHEN und EICHENBAUM 1993; SQUIRE et al. 1993; JACKSON et al. 1998). Die dritte Theorie besagt, dass verschiedene neurale Ableitungen unterschiedliche Merkmale verarbeiten. So ist nach dieser Auffassung der Hippokampus für die Raum- und die Zeitvorstellung des Arbeitsgedächtnisses verantwortlich, der Nucleus caudatus vermittelt im Arbeitsgedächtnis die motorische Reaktion. Der extrastriate visuelle Kortex vermittelt im Arbeitsgedächtnis visuell-sensorisch erfassbare Merkmale, und die Amygdala erfasst die Gemütsbewegungen (JACKSON et al. 1998). Schädigungen des medialen präfrontalen Kortex führen zu Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses, Schädigungen des rostralen Anteiles des medialen präfrontalen Kortex

betreffen lediglich den räumlichen Teil des Arbeitsgedächtnisses (DUNNETT 1990). Die Blockade von NMDA-Rezeptoren mit 2-amino-5-phosphonopentanoic-Säure (D,L-AP5) führt bei Ratten zu Lernschwäche im räumlichen Bereich, nicht jedoch im visuellen Bereich (MORRIS 1989). Der Hippokampus weist die höchste Dichte von NMDA-Rezeptoren auf (MONAGHAN und COTMAN 1985). D,L-AP5 bewirkt nicht, dass früher erlernte räumliche Informationen zurückgehalten werden (MORRIS 1989). Eine gezielte Blockade von NMDA-Rezeptoren im rostralen Teil des dorsomedialen Kortex beeinflusst ortsabhängige Prozesse im Arbeitsgedächtnis (AURA und RIEKKINEN 1999).

## **2.5 Verhaltenstests**

### **2.5.1 Open-Field-Test**

Das Tier wird in eine Arena mit einer leeren, beleuchteten, runden Grundfläche (Durchmesser 80 cm), die von einer undurchsichtigen, 30 cm hohen Umrandung umgeben ist, gesetzt. Auf dem Boden sind 19 Felder und ein Zentralfeld eingezeichnet. Das Tier wird einmalig in ein Randfeld des Kreises gesetzt, wobei nach zwei Minuten akustische Signale ertönen. Die ungewohnte, hellerleuchtete Umgebung ohne Rückzugsmöglichkeiten lässt geringgradige Verhaltensänderungen des Tieres deutlicher hervortreten. Die Latenzzeit bis zum Verlassen des ersten Feldes, die Zeit bis zum Betreten des Zentralfeldes, die Anzahl der durchlaufenen Felder, der Urin- und Kotabsatz sowie das Putzen und Aufrichten dienen als Untersuchungsparameter. Nachdem ein akustisches Signal ertönt, wird die Latenzzeit bis zum Heben des Kopfes bzw. Bewegen der Pfote und bis zum Verlassen des beim Klingeln besetzten Feldes bestimmt. Beim Open-Field-Test wird die Emotionalität beurteilt (BROADHURST 1957; LAININGER 1989).

### **2.5.2 Automatisierte Bewegungsmessung**

Dieser Test basiert auf den Prinzipien des Open-Field-Testes, wobei die Aktivität der Tiere mit Hilfe eines Netzes von Infrarotlichtschranken gemessen wird. Sie geben Aussagen über:

- die horizontalen Bewegungsaktivitäten,
- die Bewegungsdauer,
- die zurückgelegte Distanz und Geschwindigkeit,
- die Anzahl der Bewegungen,
- die Ruhezeit,
- die vertikale Bewegungsaktivität,
- die Anzahl der vertikalen Bewegungen,

- die Anzahl von Stereotypen,
- die Zeitdauer der Stereotypen,
- die Anzahl der Bewegungen im und gegen den Uhrzeigersinn
- und die Zeitdauer, die das Tier in jeder der verschiedenen Zonen verbracht hat.

Mit diesem Test wird die motorische Aktivität der Tiere bestimmt. Gegenüber dem Open-Field-Test hat dieser Test den Vorteil, dass er aufgrund der Automatisierung mittels Computertechnik objektivierbar ist. Allerdings sind feine Bewegungsmuster wie Muskelzittern nicht erfassbar und Putzverhalten wird als Stereotypie gedeutet (SANBERG et al. 1985).

### **2.5.3 Drahtgittertest**

Bei diesem Test setzt man die Ratte auf ein horizontales Drahtgitter, welches dann langsam um 90° in die Vertikale und schließlich um 180° gedreht wird. Es wird gemessen, wie lange sich das Tier in den verschiedenen Neigungswinkeln festhalten kann. Dieser Test dient als Indikator für die Muskelkraft, den Gleichgewichtssinn und nach dem Fallenlassen aus der umgekehrten Horizontalen für das Gleichgewichtsverhalten und die Stellreflexe (COMBS und D'ALECY 1987).

### **2.5.4 Gleichgewichts-Balken-Test**

Bei diesem Test wird ein 2,5 cm breiter Holzbalken horizontal 40 cm über dem Boden befestigt und die Ratte auf die Mitte des Balkens gesetzt. Man misst, wie lange die Ratte die Balance halten kann und wie lange sie sich nach Balanceverlust am Balken festhält. Mit diesem Test werden der Gleichgewichtssinn und die Körperkraft beurteilt (COMBS und D'ALECY 1987).

### **2.5.5 Greif-Zug-Test**

Hierbei wird die Fähigkeit der Ratte bestimmt, sich mit den Vorderpfoten an einem 0,5 cm dicken, horizontal gespannten Seil festzuhalten. Dabei kommt es auf die Zeitdauer an, bis die Ratte herunterfällt, und auf die Tatsache, ob das Tier mit einem Hinterbein an das Seil greift. Das Greifvermögen, die Muskelkraft und das Gleichgewichtsgefühl werden so beurteilt (COMBS und D'ALECY 1987).

### **2.5.6 Exploration-Box-Test**

Die Tiere werden in einen Untersuchungskäfig (50 cm x 100 cm) gesetzt, in dessen Ecke sich eine nur zu einer Seite hin offene Box (20 cm x 20 cm x 20 cm) befindet. Der Boden der Box

ist mit Sägemehl eingestreut. An festgelegte Plätze des offenen Teils des Untersuchungskäfigs werden vier Objekte gelegt: z.B. ein Holzstück, ein Futterpellet, ein Glaskrug und eine Pappschachtel. Die Ratte wird in die kleine Box gesetzt. Man protokolliert die Zeit, bis sie den offenen Käfigteil betritt, die Anzahl der Besuche im offenen Käfigteil, die Überschreitungen der Bodenlinien, das Aufrichten und die Erkundung der Objekte sowie die Zeit, die sie in dem offenen Käfigteil verbringt. Je nach Testdesign können die Tiere auch wiederholt dem Test unterzogen werden. Der Test erlaubt die Untersuchung von Vermeidungs-, Annäherungs- und Gewöhnungsverhalten sowie die Beurteilung der Umwelterkundung als Ganzes, im Gegensatz zur Erkundung einzelner Objekte. Bei einer Wiederholung des Tests an mehr als fünf Tagen kann zwischen emotionalen und motivationsbedingten Aspekten des Erkundungsverhaltens unterschieden werden (OTTER et al. 1997).

### **2.5.7 Eight-hole-box**

Entlang der Wand einer runden Versuchsarena (Durchmesser 54 cm) sind gleichmäßig 2,5 cm oberhalb des Bodens acht Löcher (Durchmesser 3 cm) angebracht. Infrarotphotozellen in den Löchern registrieren, wann ein Tier seine Nase in eines der Löcher steckt. Das Computerprogramm erfasst die Frequenz, die Gesamtdauer und die durchschnittliche Lochbesuchsdauer. Außerdem wird die Lochsequenz analysiert, so dass Aussagen über das Erkundungsverhalten gemacht werden können. Mit Hilfe einer Videokamera, die die Bewegungen, das Aufrichten und die Fellpflege erfasst, wird zusätzlich die motorische Aktivität untersucht (KELLEY et al. 1985).

### **2.5.8 Standard-Operant-Box (Skinner-Box)**

Hierbei lernt die Ratte, auf eine bestimmte Kombination eines akustischen und eines optischen Signals einen Hebel zu betätigen, worauf sie automatisch eine Futterbelohnung erhält. In der Testphase beginnen die Signale ähnlich wie die erlernten Signale. Sie dauern jedoch anstatt von 10 bzw. 20 Sekunden 130 Sekunden, und es erfolgt keine Futterbelohnung. Es wird der Zeitpunkt bestimmt, wann das Tier während des langen Testsignals den Hebel betätigt. Mit diesem Test wird die Fähigkeit der Ratten bestimmt, die Länge des erlernten Futtersignals einzuschätzen (OLTON 1989).

### **2.5.9 Home-cage-emergence-Test**

Bei diesem Test wird das Verhalten der Ratten nach dem Öffnen ihres Heimatkäfigs beurteilt. Es wird die Zeit bestimmt, bis die Nase und die Vorderpfoten auf der Höhe des Käfigrandes

angelangt sind (WILLIAMS und WELLS 1970). Dieser Test kann modifiziert werden, indem man vor den Käfig einen Auslauf stellt und die Zeit ermittelt, bis das Tier aus dem Käfig geklettert ist und eine Zielmarkierung im Auslauf erreicht hat (LAININGER 1989). Mit diesem Test wird das Erkundungsverhalten, die Emotionalität und die Ängstlichkeit der Tiere ermittelt.

### **2.5.10 Chimney-Test**

Das Tier läuft in eine waagrecht liegende, durchsichtige Röhre hinein. Wenn es am Röhrenende angekommen ist, wird die Röhre senkrecht aufgestellt und die Ratte muss rückwärts wieder hinausklettern. Die Testzeit beträgt 3 Minuten. Der Durchmesser der ca. 50 cm langen Röhre muss so gewählt sein, dass sich das Tier nicht umdrehen kann. Die Röhre ist in regelmässigen Abständen mit Löchern versehen, damit das Tier einen besseren Griff hat. Es werden die Latenzzeit bis zum Kletterbeginn und die Kletterdauer bestimmt. Mit diesem Test kann man auf der neuromuskulären Ebene die negative Geotaxis, das Koordinationsvermögen und die Muskelleistung untersuchen sowie auf der psychischen Ebene das Erkundungsverhalten, die Schreckhaftigkeit und die Fluchtbereitschaft beurteilen (BOISSIER et al. 1960; PALISSA und BECKER 1986).

### **2.5.11 Go/no go-Procedure**

Hierbei handelt es sich um einen dreidimensionalen Objekt-Stimulationstest. Den Tieren werden Objekte gezeigt, die in Abhängigkeit von der Zeit, während der sie gezeigt werden, dazu führen, dass die Tiere eine Futterbelohnung erhalten. Die Tiere erhalten eine Belohnung, wenn ihnen ein Ball für zwei Sekunden gezeigt wird; wenn aber eine Flasche für zwei Sekunden gezeigt wird, erhalten sie nichts. Sehen die Ratten den Ball hingegen für acht Sekunden, so erhalten sie nichts; sehen sie die Flasche für acht Sekunden, dann erhalten sie eine Belohnung. Gemessen wird die Zeitdauer, die die Tiere benötigen, um den Gegenstand zu erreichen, zu bewegen und die Gesamtdauer des Testes. Mit diesem Test wird das Arbeitsgedächtnis beurteilt (JACKSON et al. 1998).

### **2.5.12 Maze-Tests**

Bei den Maze-Tests werden umweltbedingte, optisch-räumliche Aufgaben gestellt. So sind zum Beispiel offene Maze-Tests gut geeignet, um Lokalisationslernen und Erinnerung zu beurteilen. Es gibt eine Vielzahl von Mazes, die man nach den verschiedenen Kriterien unterscheidet (HODGES 1996):

1. Einrichtungstypen:

Einfache Arenen beim Water-Maze oder hochstrukturierte Gebilde beim Radial-Arm-Maze

2. Fragestellungen:

Es werden visospatale, assoziative oder sensorische Fähigkeiten untersucht.

3. Aufgabestellungen:

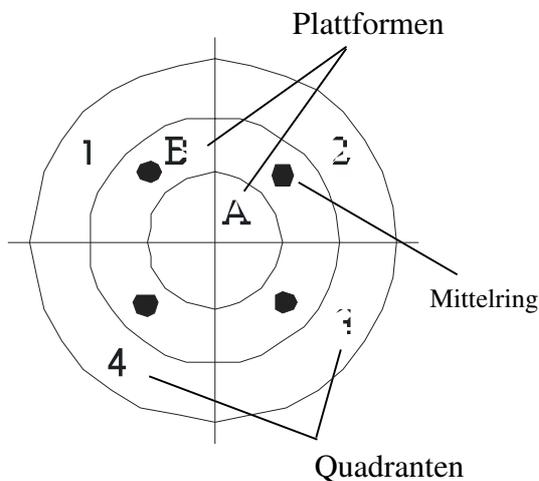
Die Aufgaben reichen von spontaner Erkundung bis hin zu komplexen Sequenzen von Entscheidungen.

4. Motivation:

Beweggründe der Tiere, die gestellten Aufgaben zu lösen, können z.B. sein

- Flucht aus Angst,
- Suche nach Zufluchtsmöglichkeiten,
- Neugier, neue Objekte zu erkunden oder
- Fressen an bestimmten Lokalisationen zu finden

### 2.5.12.1 Morris-Water-Maze

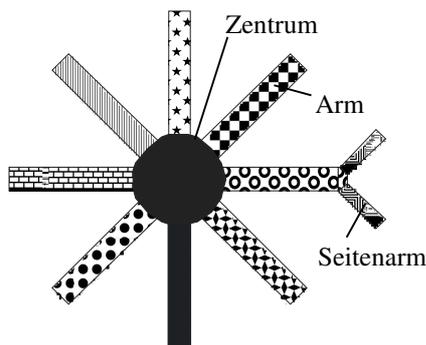


### Abbildung 3: Flächeneinteilung des Morris-Water-Maze

Die Tiere lernen, schwimmend eine im Zentrum eines Beckens gelegene, überschwemmte Plattform zu erreichen. Bei jedem Durchgang wird der Startpunkt innerhalb des Becken verändert. Gemessen werden die Zeit bis die Ratte auf der Plattform sitzt, die gesamte zurückgelegte Wegstrecke, die Schwimgeschwindigkeit, der durchschnittliche Abstand zur Plattform sowie die Zeit, die sie in den verschiedenen Quadranten des Beckens verbringt. Der

Water-Maze ist für die Untersuchungen der räumlichen Orientierung und der motorischen Aktivität gut geeignet. Durch Lokalisationsänderungen der Plattform nach der Lernphase oder bei jedem Durchlauf gibt es viele Testvarianten (MORRIS 1984). Durch Erweiterung des Tests mit zwei farblich unterschiedlichen Plattformen, von denen nur eine fixiert ist, kann die visuell-räumliche Orientierung untersucht werden (MORRIS et al. 1986). Für die Bewertung von Langzeitgedächtnisdefiziten ist der Water-Maze jedoch ungeeignet (HODGES 1996).

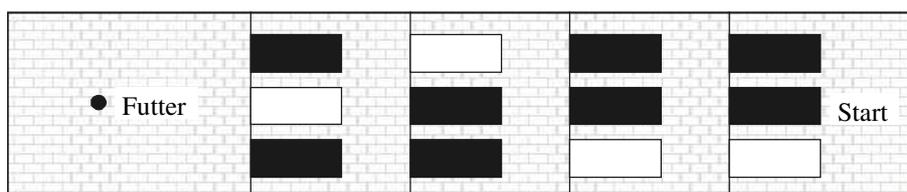
### 2.5.12.2 Radial-Arm-Maze



**Abbildung 4: Darstellung des Radial-Arm-Maze**

Es handelt sich um eine strahlenförmige Anordnung von acht in Muster oder Textur unterschiedlichen Armen um ein rundes Zentrum, deren Komplexität durch Seitenarme an den Armen noch gesteigert werden kann. Die ins Zentrum gesetzte, restriktiv gefütterte Ratte lernt, Futterplätze an den Enden der Arme aufzusuchen. Die Anzahl der insgesamt besuchten Arme, wiederholte Besuche desselben Arms, Besuche von Armen, die noch nie Futter enthalten haben, sowie die Gesamtzeit, bis alle mit Futter belegten Arme aufgesucht sind, werden protokolliert. Mit dieser Testanordnung werden die räumliche und die visuell-räumliche Orientierung, die motorische Aktivität sowie das Arbeits- und das Langzeitgedächtnis untersucht (HODGES 1996).

### 2.5.12.3 3-Door-Runway

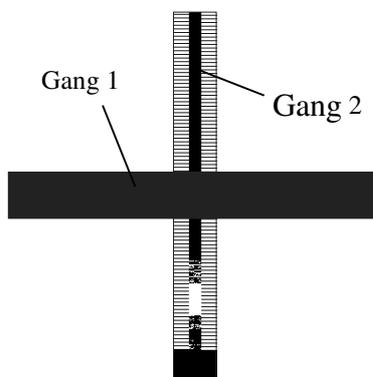


nur die hell dargestellten Türen sind passierbar

**Abbildung 5: 3-Door-Runway**

In einem langen Gang befinden sich vier Barrieren. Jede der Barrieren enthält drei Türen, von denen sich nur eine öffnet. Am Gangende befindet sich Futter. Die Kombination der Türen, die sich auf dem Weg zum Futter öffnen lassen, wechselt täglich. Beim ersten Durchlauf eines Tages sind die sich öffnenden Türen weiss markiert. Bei den folgenden Durchläufen des Tages haben alle Türen eine einheitliche Farbe. Dieser Test lässt Aussagen über das Arbeitsgedächtnis und das schnelle Lokalisationslernen zu (HODGES 1996).

### 2.5.12.4 Elevated-Plus-Maze



**Abbildung 6: Darstellung der Gänge des Elevated-Plus-Maze**

Zwei Gänge sind plusförmig angeordnet. Einer der Gänge ist bedeckt, der andere nach oben hin offen. Es wird die Zeitdauer, die das Tier in dem geschlossenen Teil verbringt, der Dauer, die es sich im offenen Teil aufhält, gegenübergestellt. Der Elevated-Plus-Maze ist entwickelt worden, um das Angstverhalten von Ratten zu untersuchen (HODGES 1996).

### 2.5.12.5 Hole-Board-Test modifiziert nach OHL

Das modifizierte Hole-Board ist ein Brett, in das 15 Löcher eingelassen sind, auf denen sich Deckel befinden, die von den Tieren geöffnet werden können. Täglich werden drei verschiedene Löcher mit einem hellen Klebestreifen markiert. Lediglich in den markierten Löchern befindet sich eine Futterbelohnung. Es wird die Zeit gemessen, bis alle Futterbelohnungen gefunden und gefressen werden, außerdem werden Fehler, das Öffnen eines nicht markierten Lochs und Wiederholungen, das wiederholte Öffnen eines markierten Lochs, bestimmt. Mit diesem Test können Explorations- und Motivationsparameter sowie Gedächtnisparameter des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses bestimmt werden (OHL et al. 1998).

### 2.6 Unterschiede kognitiver Fähigkeiten von Nagetieren und Menschen

Nagetiere werden am häufigsten verwendet, um kognitive Dysfunktionen des Menschen zu erforschen. Viele Verhaltensmuster, die für die Erforschung der kognitiven Fähigkeiten von Nagetieren verwendet werden, untersuchen jedoch andere Funktionen als die, die im allgemeinen beim Menschen bestimmt werden. Das Sensorium von Mensch und Ratte ist unterschiedlich stark ausgeprägt. So ist die Sehschärfe der Ratten weitaus schlechter als die des Menschen, der Geruchssinn der Tiere jedoch wesentlich besser ausgeprägt als der menschliche. So kann etwa für Verhaltenstests mit Ratten der Geruchssinn besser geeignet sein als andere Sinne, die weniger stark ausgeprägt sind. Beim Vergleich zwischen Ratten und Menschen stellen die bei Tieren nötigen Zwangsmaßnahmen wie Futterentzug oder Bewegungseinschränkung unumgängliche Unterschiede dar. Wichtig ist es jedoch bei Mensch und Versuchstier, möglichst ähnliche kognitive Muster zu verwenden (STECKLER und MUIR 1996). Auf jeden Fall muss die Aufgabenkomplexität berücksichtigt werden, da gleiche Aufgaben bei Ratten und Menschen unterschiedliche Prozesskapazitäten erfordern (MACPHAIL 1982). Nagetiere benötigen zum Beispiel regelmäßig längere Übungszeiten als Menschen, um eine stabile Ausgangslinie zu erreichen. Aus diesem Grund muss in der Praxis die Möglichkeit in Erwägung gezogen werden, dass beide Spezies verschiedene Erinnerungsprozesse verwenden. Der Aufbau der deklarativen Erinnerung ist aufwendig und bezieht sich auf Informationsverarbeitung von Tatsachen oder Ort-Zeit-Geschehnissen. Prozedurale Erinnerungen hingegen laufen automatisch ab und beziehen sich auf Informationen von Verhalten und Fähigkeiten (STECKLER und MUIR 1996). PANG et al. (1992) haben durch einen 2-choices-Reaktionszeit-Test herausgefunden, dass die Reaktionszeit von Ratten auf akustische Reize kürzer ist als auf visuelle Reize. Möglicherweise werden bei verschiedenen Spezies vergleichbare Abläufe von unterschiedlichen psychologischen Prozessen gesteuert. Kognitive Abläufe hängen wahrscheinlich von zwei Faktoren ab:

- erstens von der neuralen Leistung, welche die Exaktheit von Abläufen festlegt,
- zweitens von der Motivation oder dem Erregungszustand, die entscheidend sind, um ein bestimmtes Verhalten auszulösen.

So kann man aus Veränderungen der neuralen Leistungen nur dann eine Schlussfolgerung ableiten und auf eine andere Spezies übertragen, wenn sich der Motivations- und Erregungszustand nicht verändert hat (STECKLER und MUIR 1996).

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Zielvorstellungen

Die vorliegende Arbeit ist der Teil eines Forschungsprojektes zur Entwicklung eines Modells der chronischen Sepsis bei der Ratte zur Erforschung der Critical-Illness-Polyneuropathie. Durch eine Injektion von E. coli-Bakterien über einen Katheter in die V. jugularis externa soll eine Sepsis hervorgerufen werden. Das klinische Problem der Kathetersepsis wird dadurch simuliert, dass der Katheter im Tier verbleibt. Es ist zu erwarten, dass sich die Bakterien an der Katheterwand anheften und dadurch ein streuender Bakterienherd entsteht. Es sollen die pathologischen Veränderungen der neuromuskulären Übertragung bei einer langandauernden Sepsis untersucht werden. Im Rahmen der Dissertationen von GORDAN (in Vorb.) und FRICK (in Vorb.) sollen die Effekte von drei verschiedenen Bakteriodosen nach drei, sieben und 14 Tagen auf die sepsisinduzierte Muskelatrophie untersucht werden. In der vorliegenden Arbeit wird mit Hilfe des modifizierten Hole-Board-Tests nach OHL (OHL et al. 1998) die Auswirkung unterschiedlicher Dosierungen nativer E. coli-Keime auf die kognitiven Fähigkeiten von Ratten ermittelt. Sie werden dann mit den Beeinträchtigungen der kognitiven Leistungen von Ratten, die durch eine Injektion von hitzeabgetöteten *Corynebacterium parvum* (C.p.) hervorgerufen werden, verglichen (MANNNS 2001).

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäss § 8 Abs. 1 des deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt (Aktenzeichen 211-2531-81/99).

#### 3.2 Untersuchungsgut und Methoden

##### 3.2.1 Versuchstiere

Es werden 51 männliche Sprague Dawley Ratten (Stamm: CD, Charles River, Sulzfeld) mit einem Ausgangsgewicht von 180 g beim Einsetzen in den Tierstall verwendet.

##### 3.2.2 Haltungsbedingungen

###### 3.2.2.1 Rattenraum

Die Tiere werden in einem klimatisierten Raum gehalten. Die Temperatur des Raumes beträgt 19 bis 24°C bei konstantem Luftwechsel (500 l/min) und die Luftfeuchtigkeit 50 bis 60 %. Das Licht wird über eine 12 Stunden-hell-dunkel-Zeitautomatik gesteuert. Von 07:00 Uhr bis 19:00 Uhr beträgt die Lichtintensität durchschnittlich in Abhängigkeit von der Position des Käfigs 50 bis 100 Lux.

### 3.2.2.2 Futter und Einstreu

Das Futter (ALTRROMIN-Haltung 1324, Altromin GmbH, Lage) und Leitungswasser aus einer Nippeltränke erhalten die Tiere ad libitum.

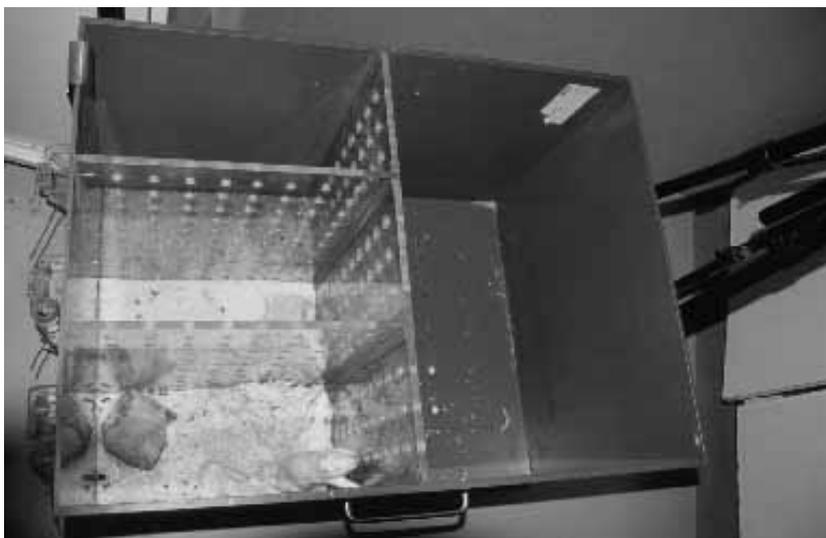
Entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage) wird als Einstreu für den Käfig verwendet.

### 3.2.2.3 Akklimatisationskäfig

Die erste Woche verbringen die Tiere in Achtergruppen in einem Standardkäfig vom Typ III aus Makrolon (1800 cm<sup>2</sup>).

### 3.2.2.4 Versuchskäfig

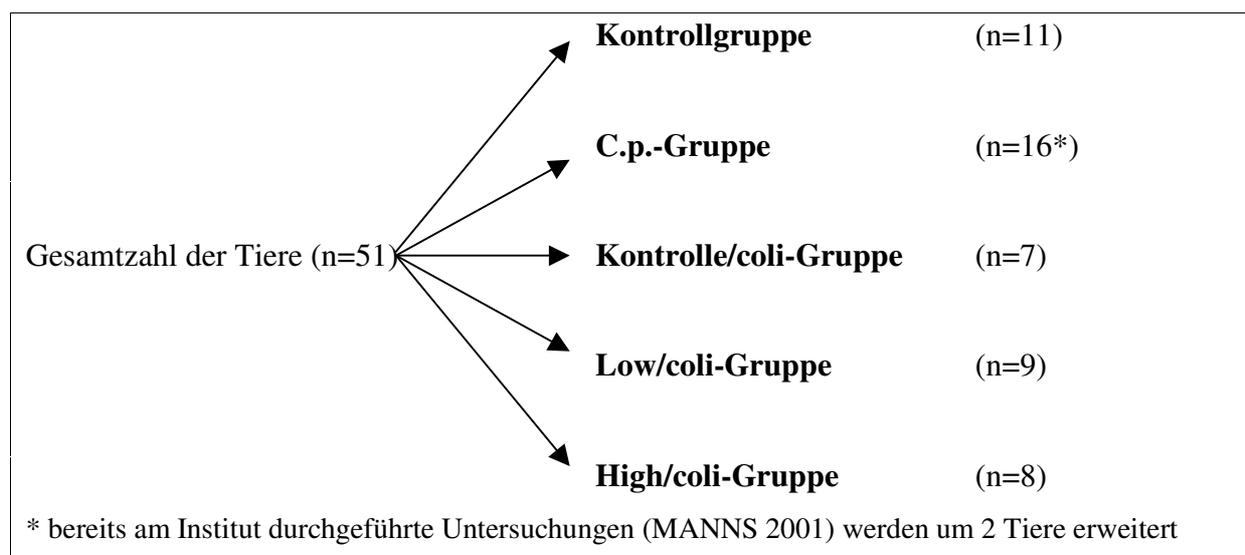
Nach der einwöchigen Aklimatisation werden die Ratten in den Versuchskäfig gesetzt und bleiben bis zum Versuchsende in diesem Käfig. Der Versuchskäfig ist eine aus 1 cm dickem, grauem PVC bestehende, 60 cm x 80 cm große und 50 cm hohe Kiste. Mit Hilfe von durchsichtigen PVC-Trennwänden (1 cm dick, Löcher mit 2 cm Durchmesser, Löcherabstand 5 cm) kann der Käfig in vier Räume unterteilt werden. Eine Hälfte des Käfigs ist die Versuchsarena. Die andere Käfighälfte wird durch zwei fest installierte Trennwände in drei gleichgroße (je 19 x 39 cm<sup>2</sup>) Tierabteile eingeteilt. Die drei Trennwände zur Versuchsarena sind herausnehmbar. An der Längsseite jedes Tierabteils befinden sich ein Loch für den Metallnippel der Trinkflasche und eine Futterraufe. Die Trinkflaschen (CLASSIC – Pet Products: DE-LUX HAMSTER-Drinking Bottle, Code:0191, GB) und Futterraufen werden von außen am Käfig befestigt.



**Abbildung 7: Aufnahme des Versuchskäfigs**

### 3.3 Versuchsplan

Die Tiere werden randomisiert fünf Versuchsgruppen zugeteilt. Tieren der **Gruppe C.p.** wird am Tag 0 unter kurzer Allgemeinanästhesie 54 mg/kg einer Suspension von hitzeabgetöteten C.p.-Keimen in die V. dorsalis penis injiziert. Tieren der **Kontrollgruppe** wird unter den selben Bedingungen wie der C.p.-Gruppe isotone Kochsalzlösung (NaCl-Lösung) in die V. dorsalis penis injiziert. Die Tiere der anderen drei Gruppen werden am Tag 0 unter Allgemeinanästhesie über einen Jugulariskatheter infiziert, der nach der Bakterieninjektion als Sepsisherd liegen bleibt. Tieren der **Gruppe High/coli** wird über den Jugulariskatheter eine Dosierung von  $3 \times 10^8$  E. coli Keime/Tier injiziert, Tiere der **Low/coli-Gruppe** erhalten  $1 \times 10^8$  E. coli Keime/Tier, und den Tieren der **Gruppe Kontrolle/coli** wird isotone NaCl-Lösung über den Katheter injiziert. Die Untersuchung von zwei mit Hitze abgetöteten C.p. Erregern injizierten Tieren bestätigt das Untersuchungsergebnis einer bereits am Institut durchgeführten C.p.-Gruppe (MANNNS 2001). Deshalb, sowie auch aus Tierschutzgründen, wird auf einen Wiederholungsversuch der C.p.-Gruppe verzichtet. Alle Tiere werden in den zehn Tagen vor dem Eingriff täglich dem modifizierten Hole-Board-Test unterzogen. Hierbei lernen sie eine Futterbelohnung aus jeweils drei markierten von den insgesamt 15 Löchern des Hole-Boards herauszuholen. Der Test wird nach der Bakterieninjektion fortgeführt und bietet somit die Möglichkeit, die kognitiven Fähigkeiten vor der Injektion mit denen danach zu vergleichen.



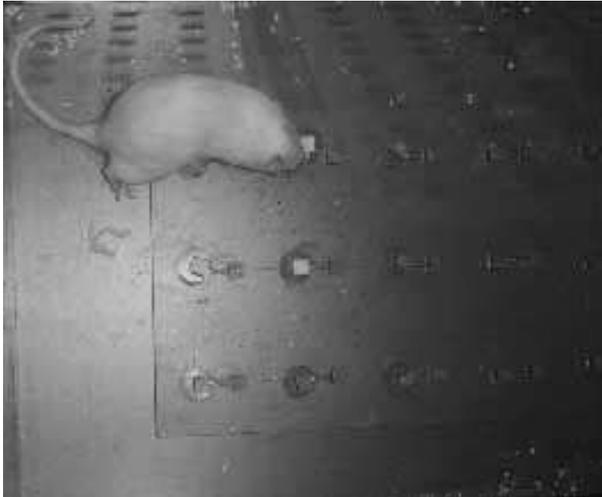
C.p. CorynebacteriumParvum  
n Anzahl

**Abbildung 8: Darstellung der verschiedenen Versuchsgruppen**

## 3.4 Versuchsvorbereitung

### 3.4.1 Material

#### 3.4.1.1 Der nach OHL modifizierte Hole-Board-Test



**Abbildung 9: Ratte beim Öffnen eines Lochs beim Hole-Board-Test**

Das modifizierte Hole-Board ist ein  $25 \times 40 \text{ cm}^2$  großes, 1 cm dickes PVC-Brett, in das 15 Löcher mit einem Durchmesser von 2 cm eingelassen sind (Tiefe 0,7 cm). Jedes Loch des modifizierten Hole-Boards ist entsprechend seiner Lage mit einer Nummer 1 bis 15 kodiert. Die Löcher werden von runden PVC-Scheiben mit einem Durchmesser von 2,5 cm und einer Stärke von 2 mm bedeckt. Die Scheiben sind mit je einer kleinen Schraube auf dem Hole-Board so angebracht, dass sie, sich um die Schraube drehend, das darunter liegende Loch freigeben können. Auf jeder Platte ist im Zentrum ein PVC-Würfel mit der Kantenlänge 1 cm aufgeklebt. In der der Schraube zugewandten Seitenfläche befindet sich ein 0,3 cm tiefes Loch mit einem Durchmesser von 0,5 cm. Fünfzehn weitere Würfel sind direkt auf dem Board befestigt. Sie befinden sich in 2 cm Abstand zu den Schraubenlöchern der Platten und haben ebenfalls eine Bohrung in der Wand, die der Schraube zugewandt ist. In die Löcher der Würfel werden unter leichter Kompression 3 cm lange Metallfedern (1 D 0,3x 4) gesteckt, so dass je ein Deckelplattenwürfel mit einem Würfel auf dem Hole-Board verbunden ist. Dies bewirkt, dass sich das Loch automatisch durch die Rückstellkraft der Feder schließt.



**Abbildung 10: Das Hole-Board mit geöffnetem Loch**

### 3.4.1.2 Futterbelohnung

Zur Belohnung für das richtige Öffnen der markierten Löcher erhalten die Tiere in Johannisbeeraroma getauchten Puffreis.

Johannisbeeraroma: Micro-Plus®; Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf

0,1 g / 50 ml Leitungswasser

Puffreis: Knusperpuffreis®; Frigo-Werk, Remshalden

### 3.4.1.3 E. coli

200 Mikroliter E. coli-Bakterien (Serotyp 0153:K-:H-) werden in 100 ml LB-Medium, das mit 500 Mikroliter Chloramphenicol (6 mg/ml) versetzt wird, für 110 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wird die Extinktion der Suspension bei 600 nm gemessen. Anhand einer Extinktionstabelle wird berechnet, welches Volumen der Bakteriensuspension für die entsprechende Bakteriendosierung benötigt wird. Die Proben werden in 1 ml Mikrotubes pipettiert und 10 min bei 4°C und 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Anschließend verwirft man den Überstand und lagert die Proben bis zur Verwendung auf Eis. Vor der Injektion werden die Bakterien in isotoner NaCl-Lösung (Delta-Pharma GmbH, 72793 Pfullingen) aufgeschwemmt und 0,5 ml der Suspension dem Tier injiziert. Die Tiere der **Low/coli-Gruppe** erhalten  $1 \times 10^8$  E. coli Keime/Tier, die der **High/coli-Gruppe**  $3 \times 10^8$  E. coli-Keime/Tier. Anhand von Verdünnungsreihen, die parallel zur Injektion aus den Proben hergestellt und auf Mc Conkey-Agar ausgestrichen werden, wird die tatsächlich injizierte Bakteriendosis der einzelnen Tiere bestimmt.

### 3.4.1.4 Natriumchlorid (NaCl)

Anstelle der Bakteriensuspension erhalten Tiere der Kontrollgruppe und der Gruppe Kontrolle/coli 0,5 ml isotone Natriumchlorid-Lösung (Delta – Pharma GmbH, 72793 Pfullingen).

### 3.4.1.5 Corynebacteriumparvum (C.p.)

Aufbereitung der C.p.: Die in 750 µl-Portionen tiefgefrorenen (-60 °C) hitzeabgetöteten Bakterien werden in der Hand aufgetaut, mit Hilfe des MS2-Minishakers (IKA® WORKS, INC., Wilmington, NC 28405, USA) bei 2500/min durchmischt und zu einer Sammelprobe vereint, erneut durchmischt und in 1-ml-Spritzen (Luer, CODAN Medical ApS; DK- 4970 Rodby) aufgezogen. Den Tieren der C.p.-Gruppe wird 1,6 ml/kg der Suspension verabreicht, dieses entspricht 54 mg/kg der durch Hitze abgetöteten C.p. (Roche, Penzberg).

### 3.4.1.6 Sonstige Geräte

- Videokamera (Model No: CCD-TR705E, Sony Cooperation, Japan) mit Stativ um den Verhaltenstest aufzuzeichnen
- Laborstoppuhr
- Notebook (Designnote: FCC, ID: Eundesignote 3, Computer Revolution GmbH) zur Erstellung des Versuchsprotokolls

### 3.4.2 Eingewöhnung der Tiere

Nach der Anlieferung werden die Tiere für eine Woche in Achtergruppen in Makrolon Typ III Käfigen im Rattenraum gehalten. Sie gewöhnen sich in dieser Zeit an die Haltungsbedingungen. Die Gruppe (n=8 Tiere) verbringt weitere acht Tage gemeinsam in dem Versuchskäfig im Rattenraum. Während dieser Zeit befinden sich zwischen den Tierabteilen und der Versuchsarena keine Trennwände, und der gesamte Käfig ist etwa 3 cm tief mit Weichholzgranulat eingestreut. Die Tiere erhalten täglich ein paar Stücke Puffreis, der zuvor in Johannisbeerlösung getaucht wurde. Einen Tag vor Versuchsbeginn wird das Hole-Board ohne Federn und Markierungen in die Versuchsarena gelegt. In allen Löchern befinden sich in Johannisbeerlösung getauchter Puffreis. Die Tiere erhalten so die Gelegenheit, das Hole-Board über Nacht zu explorieren und zu markieren. Das Hole-Board verliert dadurch den Charakter eines Fremdgegenstandes.

### 3.5 Versuchsdurchführung

#### 3.5.1 Täglicher Ablauf

Der Versuch beginnt täglich um 15.30 Uhr. Der Untersucher trägt stets institutsübliche, grüne OP-Kleidung, um eine eventuelle Beeinflussung der Tiere durch Kleidungsstücke zu verhindern. Der Käfig wird in die Beobachtungsposition geschoben, die Videokamera und das Notebook werden aufgebaut. Puffreis, Johannisbeerlösung und eine anatomische Pinzette werden bereitgelegt. Der Untersucher wiegt die Tiere, ermittelt den Wasser- und Futterverbrauch und notiert alle Parameter im Gewichtsprotokoll. Anschließend wird das Hole-Board aus der Arena genommen und mit einem Handfeger von Einstreuresten befreit. Die Versuchsarena wird ebenfalls mit Handfeger und Schaufel ausgefegt. Die drei für den entsprechenden Tag vorgesehenen Löcher des Hole-Boards (Siehe Tab. 3 und Tab. 4) werden mit einem weißen Pflasterstreifen markiert (Leukoplast® hospital 1 cm breit, Beiersdorf S.A., E-08310 Argentona, Spanien). Alle Löcher des Boards werden mit einem in Johannisbeerlösung getauchten Puffreiskorn ausgewischt. Nach jeweils drei Löchern wird der Puffreis erneut in die Lösung getaucht. Anschließend werden die noch in den Löchern verbleibenden Tropfen der Lösung mit einem Mulltupfer (10x10 cm, haselnuss groß, lotusform, Karl Beese GmbH und Co., D-22885 Barsbüttel) aufgesogen. Ziel des Auswischens der Löcher ist es, allen Löchern einen einheitlichen Geruch zu geben, damit die Ratten olfaktorisch wenig beeinflusst werden.

Das Hole-Board wird in die Mitte der Testarena gestellt, wobei die nicht beweglichen Würfel zu der dem Beobachter abgewandten kurzen Seite zeigen. Drei Puffreisstücke werden in die Johannisbeerlösung getaucht und zum Abtropfen kurz auf ein Papiertuch gelegt. Die drei markierten Löcher des Hole-Boards werden mit Hilfe der Pinzette mit der Futterbelohnung bestückt. Das Hole-Board bleibt dabei in der Versuchsarena liegen und wird zur Vermeidung von Geruchsbeeinträchtigungen nicht angefasst.

Die Nummer der Ratte sowie die Nummer des Durchlaufs und die Lochkombination werden in das Notebook eingegeben. Der Untersucher drückt den Aufnahmeknopf der Kamera und holt die entsprechende Ratte ruhig, aber zügig aus dem Käfig, indem er das Tier an der Schwanzwurzel anhebt und in die linke vordere Ecke der Versuchsarena setzt. Während des Versuchs sitzt der Beobachter auf einem Hocker neben dem Käfig und kann die ganze Versuchsarena gut überblicken. Seine rechte Hand ruht währenddessen auf der Notebooktastatur, damit durch den entsprechenden Tastendruck das Verhalten der Ratte sofort protokolliert werden kann. Wenn die Ratte alle drei Futterbelohnungen gefressen hat oder wenn 10 min seit dem Einsetzen in die Arena vergangen sind, drückt der Beobachter auf die

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

---

Laborstoppuhr. Das Piepsen der Laborstoppuhr signalisiert dem Tier, dass es in sein Käfigabteil zurückgesetzt wird. Der Untersucher gibt die Daten der folgenden Ratte in das Notebook ein. Jede Ratte absolviert pro Tag vier Durchläufe. Innerhalb der vier Durchläufe eines Abends wechselt die Reihenfolge der sechs Tiere nicht. So ist zwischen den Durchläufen der Tiere eine in etwa gleich lange Ruhepause gewährleistet. Jeden Tag beginnt ein anderes Tier. Sofern an einem Abend zwei Käfige beobachtet werden, beginnt der Untersucher mit dem zweiten Käfig zwischen 17 und 18 Uhr im Anschluss an den ersten Käfig. Die Tabelle 2 gibt einen Überblick über den Versuchsablauf.

**Tabelle 2: Versuchsablauf**

1. VERSUCHSBEGINN 15.30 UHR (1. GRUPPE)
2. RATTEN WIEGEN
3. FUTTER WIEGEN UND AUFFÜLLEN
4. H<sub>2</sub>O WIEGEN UND AUFFÜLLEN
5. HOLE-BOARD MIT HANDFEGER ABSTAUBEN
6. VERSUCHSARENA AUSFEGEN
7. TAPESTREIFEN AUF 3 LÖCHER KLEBEN
8. HOLE-BOARD-LÖCHER MIT IN JOHANNISBEERLÖSUNG GETAUCHTEM PUFFREIS AUSWISCHEN
9. LÖCHER MIT OP-TUPFER AUSWISCHEN
10. HOLE-BOARD IN ARENA ZURÜCKLEGEN
11. PUFFREIS IN JOHANNISBEERLÖSUNG TAUCHEN, AUF TUCH ABTROPFEN LASSEN
12. MARKIERTE LÖCHER MIT REISKÖRNERN BEFÜLLEN
13. AUFNAHME VIDEO
14. RATTE AUS KÄFIGABTEIL IN VERSUCHSARENA
15. PROTOKOLLIEREN MIT NOTEBOOK
16. STOPPUHR ALS SCHLUSSIGNAL
17. VIDEOAUFNAHME STOPPEN
18. RATTE ZURÜCK IN KÄFIG
19. FÜR NÄCHSTE RATTE PUNKT 11.-18. WIEDERHOLEN
20. JEDES TIER 4 DURCHLÄUFE PRO ABEND
21. START 2. GRUPPE CA. 17.00 UHR:
22. PUNKT 2.-20. WIEDERHOLEN

### 3.5.2 Lernphase

#### 3.5.2.1 1. Abend

Ziel an diesem Tag ist es, von den acht Tieren sechs für den Versuch geeignete auszuwählen und sie mit dem Hole-Board vertraut zu machen. Das am Abend zuvor in die Versuchsarena gelegte Hole-Board wird herausgenommen und die sich in der Versuchsarena befindende Einstreu entfernt. Es werden die Zwischenwände eingezogen und die Tiere auf die drei so entstandenen Käfige verteilt. Das Brett hat bei allen vier Durchläufen des ersten Abends keine Federn.

##### ➤ *1. Durchlauf:*

Alle Löcher sind weit geöffnet, jedes Loch wird mit einem in die Johannisbeerlösung getauchten und auf einem Papier abgetropften Puffreiskorn befüllt. Zwei Ratten werden gleichzeitig in das Versuchsfeld gesetzt und beobachtet. Die Ratte, die zuerst drei Puffreiskörner gefressen hat, wird als geeignet markiert und in eines der Tierabteile gesetzt. Bevor eine Ratte aus der Arena genommen wird, ertönt das Piepsen der Stoppuhr, um die Tiere akustisch auf ein Eingreifen des Untersuchers in die Testarena aufmerksam zu machen. Sogleich wird eine neue Ratte zu dem in der Testarena verbleibenden Tier gesetzt und wiederum beobachtet, welche Ratte zuerst drei Futterbelohnungen gefressen hat. Die zwei am wenigsten für den Hole-Board-Test geeigneten Tiere werden ermittelt und von der Gruppe separiert. Übermäßige Ängstlichkeit, Hyperaktivität oder Desinteresse am Puffreis sind wichtige Ausschlusskriterien. Schließlich soll auch das Gewicht innerhalb der Gruppe möglichst homogen sein.

##### ➤ *2. Durchlauf:*

Die Tiere werden einzeln in die Versuchsarena gesetzt. Vor jedem Tier werden alle Löcher wieder mit in Johannisbeerlösung getauchtem Puffreis bestückt. Die Löcher des Hole-Boards sind halb geöffnet. Jedes Tier darf 3 Körner fressen und wird dann nach dem akustischen Signal wieder in sein Heimatabteil zurückgesetzt.

##### ➤ *3. Durchlauf:*

Ein großer Teil der Löcher ist geschlossen, einige sind halb geöffnet und lediglich zwei bis vier nicht mit Puffreis bestückten Löcher sind weit geöffnet. Jede Ratte frisst drei Puffreiskörner, bevor sie aus der Arena genommen wird.

### ➤ 4. Durchlauf:

Alle mit Belohnung versehenen Löcher sind geschlossen. Lediglich vier bis sechs leere Löcher sind weit geöffnet.

#### **3.5.2.2 2. Abend**

Am zweiten Abend werden die Löcher 2, 5, 8 mit einem hellen Pflasterstreifen (Leukoplast® hospital 1 cm breit, Beiersdorf S.A., E-08310 Argentona, Spanien) beklebt und mit Futterbelohnungen bestückt. Die ersten beiden Durchläufe finden ohne Federn statt. Für den 3. und 4. Durchlauf werden die Federn zwischen die Würfel gespannt. Der Untersucher protokolliert das Verhalten des Tieres durch direkte Eingabe in das Notebook. Sobald die Ratte alle Futterbelohnungen gefressen hat, wird sie aus der Versuchsarena genommen. Falls eine Ratte nach 10 min noch kein Loch geöffnet hat, wird eine zweite Ratte dazugesetzt, die bereits gelernt hat, die Löcher zu öffnen.

#### **3.5.2.3 3. Abend**

Das Brett ist von diesem Abend an bis zum Versuchsende immer mit Federn bestückt. Es wird die Lochkombination 2, 5, 8 wie am Vortag verwendet.

#### **3.5.2.4 4. Abend**

Ab diesem Tag wechselt die Lochkombination täglich (siehe Tabelle 3).

### 3.5.2.5 Lochkombinationen und Ende der Lernphase

Die Lochkombinationen der Lernphase sind nachfolgender Tabelle 3 zu entnehmen:

**Tabelle 3: Randomisierte Lochkombination in der Lernphase**

| <b>Tag</b>         | <b>Lochkombination</b> |
|--------------------|------------------------|
| <b>2./3. Abend</b> | 2, 5, 8                |
| <b>4. Abend</b>    | 4, 12, 13              |
| <b>5. Abend</b>    | 3, 10, 12              |
| <b>6. Abend</b>    | 1, 2, 15               |
| <b>7. Abend</b>    | 4, 6, 9                |
| <b>8. Abend</b>    | 9, 12, 13              |
| <b>9. Abend</b>    | 2, 11, 14              |
| <b>10. Abend</b>   | 3, 4, 10               |
| <b>11. Abend</b>   | 3, 7, 14               |
| <b>12. Abend</b>   | 5, 6, 8                |
| <b>13. Abend</b>   | 1, 10, 13              |
| <b>14. Abend</b>   | 6, 13, 15              |
| <b>15. Abend</b>   | 2, 10, 12              |
| <b>16. Abend</b>   | 7, 8, 13               |

Wenn der Durchschnitt des wiederholten Öffnens von markierten Löchern einer Käfiggruppe an drei aufeinander folgenden Abenden unter 0,3 Wiederholungen pro Durchlauf und Tier liegt, kann davon ausgegangen werden, dass die Tiere den modifizierten Hole-Board-Test beherrschen und die Gruppenleistung für den restlichen Versuchszeitraum konstant bleibt. Die Tiere benötigen meistens acht bis zehn Tage für das Erlernen des Tests, nach dieser Zeit wird mit der Versuchsphase begonnen.

## 3.5.3 Versuchsphase

### 3.5.3.1 Tagesbezeichnung und Lochkombinationen

**Tag 0** ist der Tag, an dem die Tiere nach den vier Testdurchläufen mit dem Sepsiserreger infiziert werden. Von der Lochkombination her ist dieser Tag variabel, da er die letzte Lochkombination der Lernphase hat.

**Tag 1** ist der 1. Tag nach der Injektion. Ab diesem Tag ist bei allen Versuchsgruppen die Lochkombination identisch. Die Lochkombination ab Tag 1 ist nachfolgender Tabelle 4 zu entnehmen.

**Tabelle 4: Randomisierte Lochkombinationen in der Versuchsphase**

| Tag    | Lochkombination |
|--------|-----------------|
| Tag 1  | 10, 11, 14      |
| Tag 2  | 4, 9, 13        |
| Tag 3  | 2, 5, 11        |
| Tag 4  | 3, 6, 13        |
| Tag 5  | 3, 8, 15        |
| Tag 6  | 1, 7, 10        |
| Tag 7  | 6, 9, 12        |
| Tag 8  | 1, 11, 13       |
| Tag 9  | 1, 6, 15        |
| Tag 10 | 3, 7, 9         |
| Tag 11 | 1, 4, 14        |
| Tag 12 | 8, 9, 15        |
| Tag 13 | 1, 11, 12       |
| Tag 14 | 4, 9, 10        |

### 3.5.3.2 E. coli-Infektion

Nach dem Hole-Board-Test werden die Tiere am Tag 0 mit E. coli infiziert. Die Narkoseeinleitung erfolgt in einem Glassturz (zylinderförmig, 30 cm hoch, Durchmesser 24 cm, mit gut abschließendem gläsernen Deckel), in dem sich eine mit Sevofluran (SEVOrane® Sevofluran, Abbott GmbH, 65205 Wiesbaden) getränkte Zellstofflage befindet. Sobald die Tiere das Toleranzstadium erreichen, werden sie unter Sichtkontrolle mit Hilfe eines

modifizierten Kinderlaryngoskops (nach Möllenberg) endotracheal intubiert. Als Tubus dient eine angespitzte Venenverweilkanüle (Cavafix Certo 1,5 x 2.0 mm, Fa. Braun AG, Melsungen). Für die Dauer des Eingriffs werden die Tiere mit einem Sauerstoff/Lachgasgemisch im Verhältnis 1:2 und mit Sevofluran (SEVOrane® Sevofluran, Abbott GmbH, 65205 Wiesbaden) mit Hilfe einer volumengesteuerten Beatmungspumpe (Harvard Rodent Ventilator, Model 683, Harvard Apparatus Inc., South Natick, Massachusetts, 01760 USA) beatmet. Mit Hilfe eines Atemgasmonitors (Capnomac, Fa. Datex, Helsinki, Finnland) werden die endexpiratorischen Gaskonzentrationen von Kohlendioxid, Sauerstoff, Stickstoffmonoxid und Sevofluran sowie die Atemfrequenz und der Beatmungsdruck überwacht. Durch Regulierung der Beatmungsfrequenz wird die endexpiratorische Gaskonzentration bei Werten zwischen 35 und 40 konstant gehalten. Bei dem Narkosesystem handelt es sich um ein halboffenes System ohne Rückatmung mit einer konstanten Frischgaszufuhr von etwa 2 l/min und einer Gasabsaugung.

Die Tiere werden in Rückenlage gelegt und im Bereich der linken V. jugularis externa geschoren, gereinigt und desinfiziert (Cutasept® F, Fa. Bode, Hamburg). Um einer Thrombosierung vorzubeugen, wird der PE-Katheter (PE-Katheter ID 0,58/AD 0,97 mm, Dispomedica GMBH, Hamburg) mit heparinisierendem (Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) Sterofundin® (Fa. Braun AG, 34209 Melsungen) gespült. Am Übergang vom mittleren zum distalen Halsdrittel wird die V. jugularis, die im Sulcus jugularis zwischen dem M. brachiocephalicus und dem M. sternooccipitalis verläuft, dargestellt. Proximal und distal wird eine Ligatur vorgelegt (Mersilene® 4/0, nicht resorbierbar). Die Vene wird punktiert und der PE-Katheter eingeführt und fixiert (Mersilene® 4/0, nicht resorbierbar). Je nach Gruppenzugehörigkeit wird eine definierte Menge an E.coli-Suspension oder NaCl injiziert. Durch Umbiegen und eine doppelte Ligatur wird der Katheter verschlossen. Er wird anschließend subkutan versenkt und die Haut mit Sultan'schen Diagonalheften mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Perma Hand – Seide® 2/0) verschlossen.

### **3.5.3.3 C.p.-Injektion**

Am Tag 0 werden die Tiere nach dem Verhaltenstest mit C.p. infiziert. Hierzu werden die Tiere in einem Glassturz, in dem sich Raumluft und eine mit Sevofluran (SEVOrane® Sevofluran, Abbott GmbH, 65205 Wiesbaden) getränkte Zellstofflage befinden, betäubt. Während der etwa 5-minütigen Bewusstlosigkeit atmet die Ratte spontan. In dieser Zeit wird der Penis der Ratte vorgelagert, die V. dorsalis penis mit einer Kanüle (Sterican® Gr.20, 0,4 x

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

---

20mm, Braun Melsungen AG, 34209 Melsungen) punktiert und das hitzeabgetötete C.p. injiziert.

### 3.5.4 Untersuchte Parameter

#### 3.5.4.1 Allgemeinbefinden und physiologische Parameter

Versuchsbedingt muss das Allgemeinbefinden wegen eventueller Beeinflussung der Halebard-Parameter durch die Manipulation an den Tieren rein adspektorisch beurteilt werden. Als Parameter dienen hierbei besonders die Körperpflege und die Vitalität. Kranke Tiere putzen sich weniger ausgiebig als gesunde Tiere, das Fell wird glanzlos und struppig, um die Augen setzt sich rotbraunes Sekret ab, die Nasenlöcher verkrusten. Tiere mit Schmerzen krümmen häufig den Rücken auf und sind weniger interessiert an ihrer Umgebung. In dem Protokoll werden in der Spalte „Achtung“ der Allgemeinzustand der Tiere sowie besondere Vorkommnisse während der Versuchsdurchführung notiert. Außerdem werden in dem Protokoll täglich zur gleichen Uhrzeit das Gewicht der Tiere und der Wasser- und Futterverbrauch sowie die Einwaage für den nächsten Tag vermerkt.

Käfig 1: Tiernummer = interne Nr. und \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_

Käfig 2: \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_ und \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_

Käfig 3: \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_ und \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_

| Tag   | Käfig                  | H <sub>2</sub> O<br>voll | H <sub>2</sub> O<br>leer | H <sub>2</sub> O<br>verbr.                                    | Futter<br>voll | Futter<br>leer | Futter<br>verbr.                        | Achtung                        |
|-------|------------------------|--------------------------|--------------------------|---|----------------|----------------|---|--------------------------------|
| Datum | 1 Gewicht<br>der Tiere |                          |                          | Differenz<br>H <sub>2</sub> O voll –<br>H <sub>2</sub> O leer |                |                | Differenz<br>Futter voll<br>Futter leer | Besondere<br>Vor-<br>kommnisse |
|       | 2                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 3                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
| Datum | 1                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 2                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 3                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 1                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 2                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |
|       | 3                      |                          |                          |   |                |                |   |                                |

**Abbildung 11: Protokoll mit Angaben zum Allgemeinbefinden, zum Gewichtsverlauf und zum Futter- und Wasserverbrauch der Ratten**

### 3.5.4.2 Hole-Board-Protokoll

Während sich das Tier in der Versuchsarena befindet, bedient die untersuchende Person durch Eingaben auf der Notebooktastatur ein Computerprogramm, das das Hole-Board-Protokoll erstellt. Das Programm basiert auf folgendem Prinzip: Während sich die Ratte in der Versuchsarena befindet, läuft eine Stoppuhr. Bestimmte Aktionen der Ratte werden durch eine Taste auf der Notebooktastatur kodiert, die bei der folgenden Darstellung in Klammern angegeben wird. Das Programm kann so errechnen, zu welchem Zeitpunkt welche Tieraktion erfolgt.

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Start                     | (I. Druck auf Leertaste) sobald das Tier in die Versuchsarena gesetzt wird.   |
| Betritt Board             | (Leertaste) Das Tier signalisiert Interesse am Hole-Board, wenn sich eine Vorderpfote und die Nase der Ratte auf oder an dem Hole-Board befinden.   |
| Verlässt Board            | (Leertaste) Vorderpfoten und Nase verlassen das Hole-Board  |
| Erstmals am Loch          | (Ö) Tier berührt mit der Schnauze oder den Vorderpfoten erstmals ein markiertes Loch.   |
| Loch 1 zu                 | (J) Tier öffnet das von der Numerierung her niedrigste Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.   |
| Loch 2 zu                 | (K) Tier öffnet das von der Numerierung her mittlere Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.   |
| Loch 3 zu                 | (L) Tier öffnet das von der Numerierung her höchste Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.  |
| Wiederholung Loch 1, 2, 3 | (Erneutes Drücken der Tasten J, K oder L) das Tier bewegt mit den Vorderpfoten oder mit der Schnauze aktiv den Deckel eines markierten Lochs, das zuvor bereits besucht wurde. Nicht gewertet wird ein erneutes Nachschauen, ob noch Futterreste im |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

---

|                      |  |
|----------------------|--|
|                      | Loch sind, sofern sich die Ratte während des Fressens nicht von dem Loch abgewandt hat.  |
| Falsches Loch        | (Ä) Die Ratte bewegt mit den Vorderpfoten oder mit der Schnauze den Deckel eines nicht markierten Lochs. Wiederholte Besuche nicht markierter Löcher werden nicht als Wiederholungen gewertet, da die Ratten keine Tendenz zeigen, die jeweilige Sequenz der nicht belegten Löcher zu lernen.  |
| Fressen beendet      | (H) Tier kaut nicht mehr oder widmet sich einer anderen Tätigkeit.   |
| Männchen machen      | (I) Tier hebt beide Vorderpfoten hoch und stellt sich auf die Hinterbeine. Dies kann sowohl frei als auch an der Wand der Versuchsarena stattfinden.   |
| Schnuppert Trennwand | (U) Tier beschnuppert die Abtrennung zu einem der Tierabteile und steckt seine Nase in eines der Löcher. Der Vorgang dauert mit kurzen Unterbrechungen meistens mehrere Sekunden; erneuter Druck auf (U) erfolgt nur, wenn die Trennwand eines anderen Käfigabteils beschnuppert wird oder nachdem das Schnuppeln durch eine andere Aktion unterbrochen wurde. |
| Beginn groom         | (O) Tier beginnt sich zu putzen.   |
| End groom            | (O) Tier hört auf sich zu putzen.  |
| Bolus                | (P) Tier setzt Kotballen ab.   |
| Beginn Inaktivität   | (Return Taste) Wenn die Ratte 3 bis 5 Sekunden in einer Position verharrt.   |
| Ende Inaktivität     | (Return Taste) Tier bewegt sich wieder.  |

### 3.5.5 Bestimmungsmethoden

#### 3.5.5.1 Gedächtnisparameter

##### 3.5.5.1.1 Fehler

Wenn ein Loch besucht wird, das nicht mit einer Markierung bzw. Futterbelohnung versehen ist, wird dieses als Fehler oder „wrong choice“ (WC) bewertet. Die Anzahl wird aus der Summe der „Falschen Löcher“ des Durchlaufs berechnet.

### **3.5.5.1.2 Wiederholung**

Der Besuch eines markierten bzw. belegten Loches, das im selben Versuchsdurchlauf schon einmal besucht wurde, wird als Wiederholung gewertet. Da die Ratten keine Tendenz zeigen, die jeweilige Sequenz der nicht markierten Löcher zu lernen, werden wiederholte Besuche nicht markierter Löcher nicht als Wiederholungen, sondern als Fehler bewertet.

### **3.5.5.2 Explorations- und Motivationsparameter**

Die Explorations- und Motivationsparameter dienen als Indikator für lokomotorische Aktivität, die Motivation und den Aufmerksamkeitszustand.

#### **3.5.5.2.1 Time complete (TC)**

Die Gesamtzeit eines Durchlaufs ergibt sich aus der gemessenen Zeitspanne vom Einsetzen in die Versuchsarena bis zum „fressen beendet“ des letzten besuchten Loches. Für die TC besteht, unabhängig von der Anzahl der besuchten markierten Löcher, ein Zeitlimit von zehn Minuten, welches von einigen Tieren gelegentlich während der Lernphase in Anspruch genommen wird.

#### **3.5.5.2.2 Time on board (TOB)**

Die TOB ist die Zeit, die die Ratte damit verbringt, das modifizierte Hole-Board zu erkunden. Sie errechnet sich aus der Summe der Intervalle „betritt board“ bis „verlässt board“ abzüglich der Intervalle „loch zu“ bis „fressen beendet“ bzw. „verlässt board“.

#### **3.5.5.2.3 Number of board entries (NBE)**

NBE gibt an, wie oft innerhalb eines Durchlaufs ein Tier das modifizierte Hole-Board betreten hat und errechnet sich aus der Anzahl der „betritt board“ eines Durchlaufs.

#### **3.5.5.2.4 Number of hole visits (NHV)**

Gesamtsumme der besuchten Löcher inklusive Fehler und Wiederholungen. Sie errechnet sich aus der Summe von „loch 1 auf“, „loch 2 auf“, „loch 3 auf“, Fehlern und Wiederholungen.

#### **3.5.5.2.5 Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)**

Der Quotient aus TOB und NHV ermöglicht, die Motivation der Tiere trotz möglicher kognitiver Funktionsstörungen zu beurteilen.

### **3.5.5.3 Angstbezogene Parameter**

Für die erfolgreiche Durchführung des modifizierten Hole-Board-Tests ist es wichtig, dass die Tiere die Versuchsarena angstfrei betreten. (Man hat beobachtet, dass emotionale Tiere in einer Open-Field-Anordnung angebotene Nahrung verweigern und eine quantitativ höhere Kot- und Urinabsatzrate zeigen, als weniger emotionale Tiere. Emotionale Tiere bleiben seltener zum Putzen sitzen als weniger emotionale Tiere (HALL 1934; DOYLE und YULE 1959).)

#### **3.5.5.3.1 Latency first entry on board (LFEB)**

Zeitspanne bis zum ersten Betreten des modifizierten Hole-Boards. Sie errechnet sich aus der Differenz von „betritt board“ und „start“.

#### **3.5.5.3.2 Latency first correct hole visit (LFCHV)**

Zeitspanne bis zum Auffinden des ersten mit Futter belegten Loches. Sie ergibt sich aus dem Parameter „erstmal am loch“.

#### **3.5.5.3.3 Latency food intake (LFI)**

Zeitspanne bis zur ersten Futteraufnahme. Dauer von „start“ bis zum ersten mal „loch zu“.

#### **3.5.5.3.4 Number of group contacts (NGC)**

Häufigkeit der Kontaktaufnahme zu den anderen Ratten durch die Trennwände. Summe der „schnuppert Trennwand“.

#### **3.5.5.3.5 Grooming**

Während des Verhaltenstests putzen sich die Ratten gelegentlich. Die Anzahl der „Begin groom“ gibt die Häufigkeit des Putzens an. Die Zeitdauer errechnet sich aus der Summe der Intervalle „begin groom“ bis „end groom“ eines Durchlaufs.

#### **3.5.5.3.6 Rearing**

Hierunter versteht man das Aufrichten des Tieres auf die Hinterpfoten, es kann an den Käfigwänden oder frei in der Mitte der Versuchsarena erfolgen. Summe aller „männchen machen“ innerhalb eines Durchlaufs.

#### **3.5.5.3.7 Boli**

Summe der abgesetzten Kotballen eines Durchlaufs.

### **3.5.5.4 Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen**

#### **3.5.5.4.1 Time immobile**

Summe der Intervalle „beginn inaktivität“ bis „ende inaktivität“.

#### **3.5.5.4.2 Food intake**

Zeit, die das Tier während eines Durchlaufs mit der Futteraufnahme beschäftigt ist. Sie ergibt sich aus der Summe der Intervalle „loch zu“ bis „fressen beendet“.

### 3.6 Statistische Berechnungen und Dokumentation

Die Hole-Board-Parameter, das Tiergewicht, sowie der Futter- und Wasserverbrauch sind mit Mittelwerten (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) angegeben. Alle Werte werden mit einer 2-Wege-Varianz-Analyse für wiederholte Messungen untersucht. Die Zwischengruppenfaktoren sind die Tiergruppen (Kontrollgruppe = 0; Kontrolle/coli-Gruppe = 1; Low/coli-Gruppe = 2; High/coli-Gruppe = 3; C.p.-Gruppe = 4). Innerhalb der Gruppen werden die Durchläufe der Tage -3 bis Tag 8 als Messwertwiederholung ausgewertet. Unterschiedliche Verläufe der Parameter werden angenommen, wenn der Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) signifikant ist ( $p < 0.05$ ). In diesem Fall wird posthoc an den Tagen 1, 2, und 3 eine faktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Ist  $p < 0,05/3 = 0,017$  werden abschließend mit dem Fischer PLSD-Test die Werte zwischen den einzelnen Gruppen paarweise getestet ( $p < 0,05/10 = 0,005$  (Messwertwiederholung für 2 aus 5 = 10 Paare)

Die Daten werden mit Hilfe der Programme Exel und SPSS Version 10.07 GmbH Software, München ausgewertet.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7 Ergebnisse

#### 3.7.1 Physiologische Parameter

##### 3.7.1.1 Körpergewicht

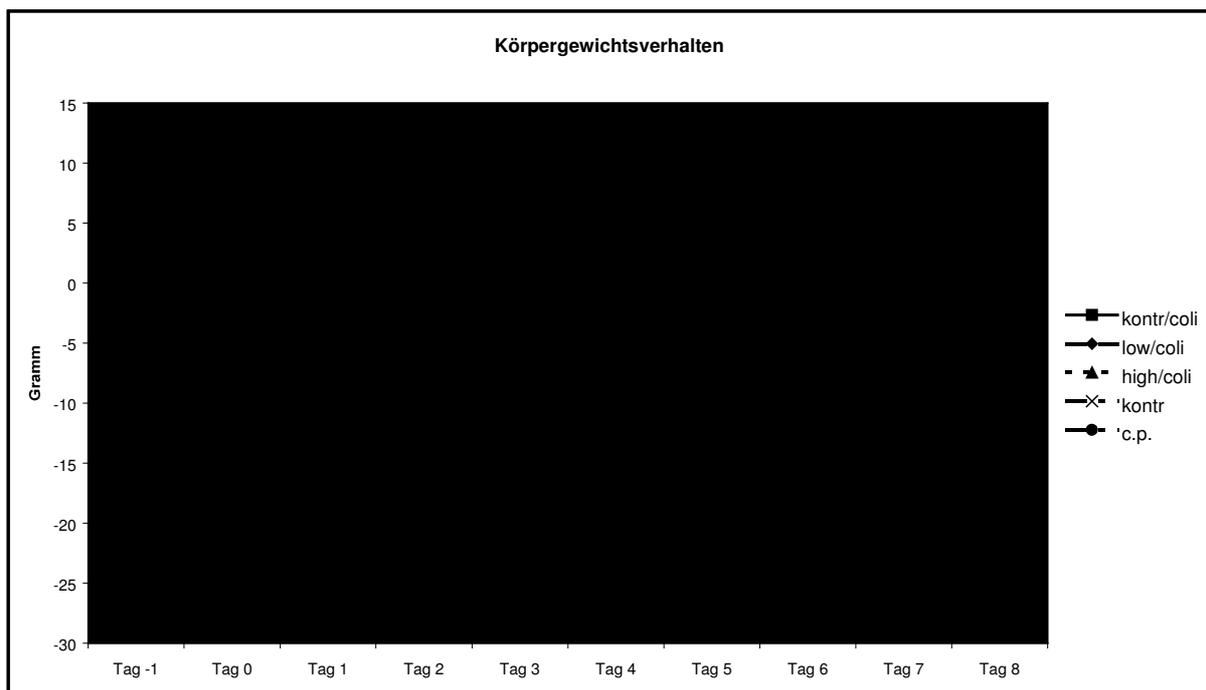
**Tabelle 5: Durchschnittliches tägliches Gewichtsverhalten in Gramm (MW±SD)  
(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p<0,05)**

|               | Kontr/coli |       | Low/coli |       | High/coli |       | Kontr |       | C.p.  |       |
|---------------|------------|-------|----------|-------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               | MW         | ±SD   | MW       | ±SD   | MW        | ±SD   | MW    | ±SD   | MW    | ±SD   |
| <b>Tag -4</b> | 5,3        | ±1,7  | 6,9      | ±3,1  | 1,9       | ±2,1  | 5,7   | ±2,9  |       |       |
| <b>Tag -3</b> | 2,3        | ±4,0  | 3,3      | ±2,2  | 4,9       | ±1,8  | 4,2   | ±3,2  |       |       |
| <b>Tag -2</b> | 4,3        | ±2,8  | 3,8      | ±4,9  | 3,6       | ±3,9  | 5,1   | ±2,4  |       |       |
| <b>Tag -1</b> | 4,4        | ±3,7  | 1,4      | ±5,4  | 5,1       | ±2,3  | 5,0   | ±3,4  |       |       |
| <b>Tag 0</b>  | 4,4        | ±6,4  | 4,2      | ±4,0  | 6,7       | ±5,0  | 4,0   | ±2,9  | 7,2   | ±2,6  |
| <b>Tag 1</b>  | -6,4       | ±8,3  | -19,4    | ±9,8  | -23,6     | ±4,8  | 3,0   | ±2,6  | -10,1 | ±6,1  |
| <b>Tag 2</b>  | 8,6        | ±1,3  | 5,9      | ±11,2 | -11,3     | ±11,0 | 3,2   | ±5,8  | 4,6   | ±8,6  |
| <b>Tag 3</b>  | 6,0        | ±2,3  | 8,7      | ±6,1  | 2,5       | ±11,1 | 5,8   | ±6,0  | -2,8  | ±9,5  |
| <b>Tag 4</b>  | 2,9        | ±4,2  | 5,2      | ±5,3  | 5,4       | ±8,0  | 3,4   | ±3,4  | -5,6  | ±10,2 |
| <b>Tag 5</b>  | 2,6        | ±2,8  | 4,6      | ±3,1  | 4,5       | ±6,4  | 3,1   | ±3,6  | 12,1  | ±8,6  |
| <b>Tag 6</b>  | 2,7        | ±4,1  | 1,3      | ±4,8  | -0,5      | ±5,6  | 4,2   | ±3,5  | 5,9   | ±4,7  |
| <b>Tag 7</b>  | 2,9        | ±2,0  | 7,0      | ±3,0  | 3,1       | ±4,8  | 6,1   | ±4,5  | 4,7   | ±3,2  |
| <b>Tag 8</b>  | 4,7        | ±3,0  | 5,2      | ±3,8  | 3,8       | ±5,4  | 2,5   | ±5,7  | 4,3   | ±5,4  |
| <b>Tag 9</b>  | 5,1        | ±11,1 | 4,1      | ±2,2  | 7,6       | ±2,7  | -1,8  | ±10,8 | 8,1   | ±6,1  |
| <b>Tag 10</b> | 0,9        | ±11,6 | -5,2     | ±32,2 | 2,3       | ±3,6  |       |       |       |       |
| <b>Tag 11</b> | 4,1        | ±4,3  | 14,4     | ±32,5 | 18,6      | ±33,6 |       |       |       |       |
| <b>Tag 12</b> | 3,6        | ±2,2  | 5,8      | ±2,3  | -7,4      | ±30,2 |       |       |       |       |
| <b>Tag 13</b> | 3,7        | ±1,3  | 4,8      | ±4,8  | 6,0       | ±3,9  |       |       |       |       |
| <b>Tag 14</b> | 3,0        | ±3,0  | 3,4      | ±4,2  | 4,0       | ±3,6  |       |       |       |       |

Bis zum Tag 0 nehmen die Tiere aller Gruppen täglich etwa 4,5 g zu. Tiere der Gruppe Kontrolle/coli weisen am Tag 1 im Durchschnitt einen absoluten Gewichtsverlust von 6,4 g auf. Bis zum Versuchsende nehmen diese Tiere pro Tag um die 4 g zu. Die Tiere der Low/coli-Gruppe zeigen am Tag 1 im Durchschnitt einen absoluten Gewichtsverlust von 19,4 g, bis zum Versuchsende nehmen sie im Durchschnitt pro Tag 5 g zu. Mit einem Gewichtsverlust von 23,6 g an Tag 1, 11,3 g an Tag 2, 0,5 g an Tag 6 und 7,4 g an Tag 12 zeigen die Tiere der Gruppe High/coli eine Gewichtreduktion. Die Tiere der Gruppe C.p.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

zeigen an den Tagen 1, 3 und 4 deutliche Gewichtsverluste von 10 g, 3 g und 5,6 g. Von Tag 5 bis zum Versuchsende nehmen sie wieder zu. Die Kontrollgruppe nimmt kontinuierlich zu. Der Gewichtsverlauf zwischen den Versuchsgruppen ist im Infektionszeitraum signifikant unterschiedlich (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Am Tag 1 ergeben sich Signifikante Unterschiede zwischen der High/coli- und der Kontrollgruppe sowie zwischen der High/coli und C.p.-Gruppe. Eine Signifikanz zeigt die High/coli-Gruppe gegenüber den Gruppen Cp, Kontrolle und Kontrolle/coli an den Tagen 2 und 3. Das tägliche Gewichtsverhalten ist in Tab. 12 dargestellt.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 12: Tägliches Gewichtsverhalten in g (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

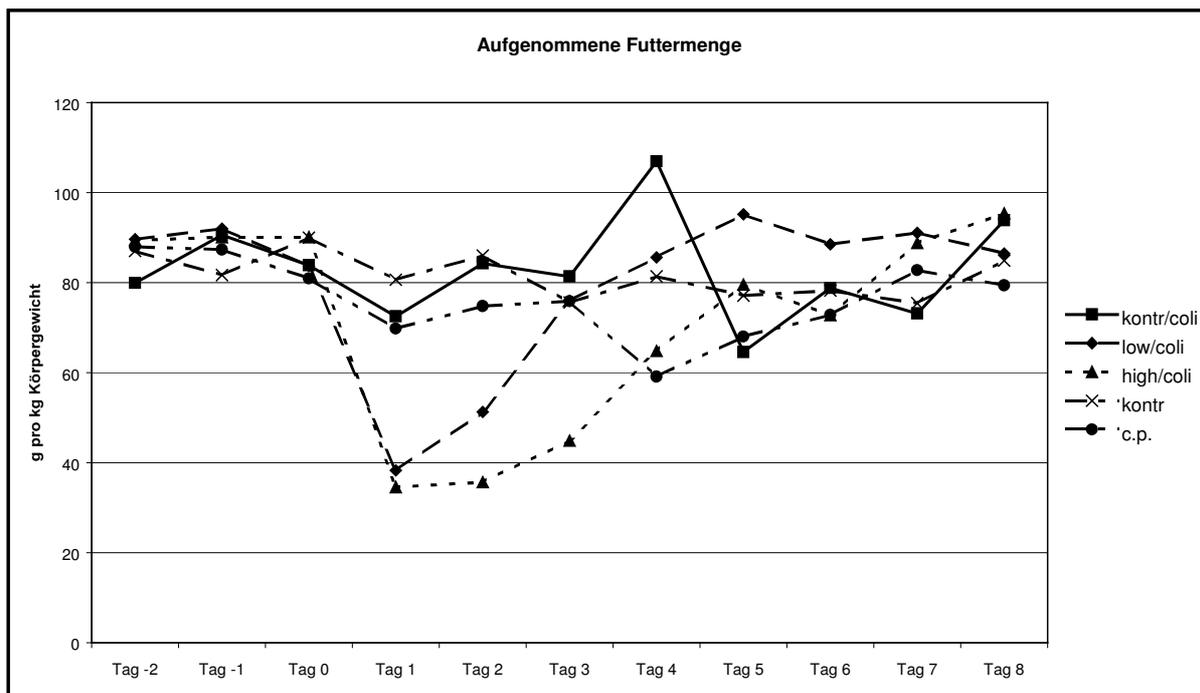
### 3.7.1.2 Aufgenommene Futtermenge

**Tabelle 6: Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge in g pro kg Körpergewicht (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|               | Kontr/coli |            | Low/coli |            | High/coli |            | Kontr |            | C.p. |            |
|---------------|------------|------------|----------|------------|-----------|------------|-------|------------|------|------------|
|               | MW         | $\pm$ SD   | MW       | $\pm$ SD   | MW        | $\pm$ SD   | MW    | $\pm$ SD   | MW   | $\pm$ SD   |
| <b>Tag -4</b> | 90,1       | $\pm$ 6,1  | 86,1     | $\pm$ 8,8  | 90,1      | $\pm$ 14,0 | 85,7  | $\pm$ 8,8  | 96,0 | $\pm$ 9,4  |
| <b>Tag -3</b> | 89,4       | $\pm$ 5,6  | 85,3     | $\pm$ 9,7  | 86,8      | $\pm$ 5,6  | 88,6  | $\pm$ 8,0  | 88,3 | $\pm$ 5,3  |
| <b>Tag -2</b> | 79,9       | $\pm$ 8,4  | 89,6     | $\pm$ 12,6 | 89,4      | $\pm$ 7,4  | 87,0  | $\pm$ 6,5  | 87,9 | $\pm$ 6,4  |
| <b>Tag -1</b> | 90,5       | $\pm$ 7,6  | 92,0     | $\pm$ 14,0 | 90,1      | $\pm$ 10,1 | 81,7  | $\pm$ 7,4  | 87,3 | $\pm$ 5,9  |
| <b>Tag 0</b>  | 83,8       | $\pm$ 6,0  | 83,7     | $\pm$ 11,5 | 90,1      | $\pm$ 15,9 | 90,0  | $\pm$ 6,0  | 80,9 | $\pm$ 5,6  |
| <b>Tag 1</b>  | 72,5       | $\pm$ 12,5 | 38,3     | $\pm$ 14,6 | 34,6      | $\pm$ 34,7 | 80,6  | $\pm$ 12,2 | 69,8 | $\pm$ 8,8  |
| <b>Tag 2</b>  | 84,2       | $\pm$ 12,7 | 51,2     | $\pm$ 15,7 | 35,7      | $\pm$ 28,0 | 86,0  | $\pm$ 11,7 | 74,8 | $\pm$ 8,3  |
| <b>Tag 3</b>  | 81,4       | $\pm$ 4,1  | 75,9     | $\pm$ 18,1 | 44,9      | $\pm$ 23,7 | 75,6  | $\pm$ 12,6 | 75,9 | $\pm$ 6,3  |
| <b>Tag 4</b>  | 106,9      | $\pm$ 30,1 | 85,6     | $\pm$ 12,8 | 64,8      | $\pm$ 22,9 | 81,4  | $\pm$ 7,9  | 59,1 | $\pm$ 22,7 |
| <b>Tag 5</b>  | 64,6       | $\pm$ 14,5 | 95,1     | $\pm$ 24,1 | 79,6      | $\pm$ 21,4 | 77,1  | $\pm$ 6,0  | 68,0 | $\pm$ 7,6  |
| <b>Tag 6</b>  | 78,8       | $\pm$ 9,9  | 88,5     | $\pm$ 8,2  | 72,8      | $\pm$ 23,9 | 78,2  | $\pm$ 7,9  | 72,8 | $\pm$ 9,1  |
| <b>Tag 7</b>  | 73,1       | $\pm$ 7,8  | 91,1     | $\pm$ 14,9 | 88,8      | $\pm$ 10,7 | 75,4  | $\pm$ 20,4 | 82,8 | $\pm$ 8,1  |
| <b>Tag 8</b>  | 93,8       | $\pm$ 32,9 | 86,4     | $\pm$ 16,2 | 95,3      | $\pm$ 12,1 | 84,9  | $\pm$ 12,1 | 79,4 | $\pm$ 4,2  |
| <b>Tag 9</b>  | 79,7       | $\pm$ 4,0  | 85,0     | $\pm$ 16,0 | 92,1      | $\pm$ 16,9 | 80,5  | $\pm$ 12,9 | 76,7 | $\pm$ 3,6  |
| <b>Tag 10</b> | 79,5       | $\pm$ 4,0  | 97,1     | $\pm$ 18,2 | 88,3      | $\pm$ 8,3  |       |            |      |            |
| <b>Tag 11</b> | 76,4       | $\pm$ 4,8  | 82,9     | $\pm$ 10,0 | 85,8      | $\pm$ 10,2 |       |            |      |            |
| <b>Tag 12</b> | 81,7       | $\pm$ 9,2  | 82,3     | $\pm$ 11,5 | 84,9      | $\pm$ 6,1  |       |            |      |            |
| <b>Tag 13</b> | 74,5       | $\pm$ 9,2  | 79,5     | $\pm$ 11,4 | 82,5      | $\pm$ 5,8  |       |            |      |            |
| <b>Tag 14</b> | 78,1       | $\pm$ 11,5 | 77,7     | $\pm$ 13,6 | 71,1      | $\pm$ 17,6 |       |            |      |            |

Die Futteraufnahme der High/coli-Gruppe ist an den Tagen 1, 2, 3 und 4 im Vergleich zum Durchschnitt der anderen Tage deutlich reduziert. Die Low/coli-Gruppe frisst an den Tagen 1 und 2 deutlich weniger als an den übrigen. Im Gegensatz dazu ist die Futteraufnahme der C.p.-Gruppe an den Tagen 1, 4 und 5 reduziert. Die durchschnittliche tägliche Fressmenge zeigt einen signifikant unterschiedlichen Verlauf zwischen den Versuchsgruppen im Infektionszeitraum (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). An den Tagen 1 und 2 weisen sowohl die High/coli- als auch die Low/coli-Gruppe signifikante Unterschiede zu den Gruppen Kontrolle, C.p. und Kontrolle/coli auf. Am Tag 3 weist die High/coli-Gruppe gegenüber allen anderen Gruppen signifikante Unterschiede auf.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
 low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
 high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
 kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
 c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 13: Tägliche Futteraufnahme in g pro kg Körpergewicht (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.1.3 Wasseraufnahme

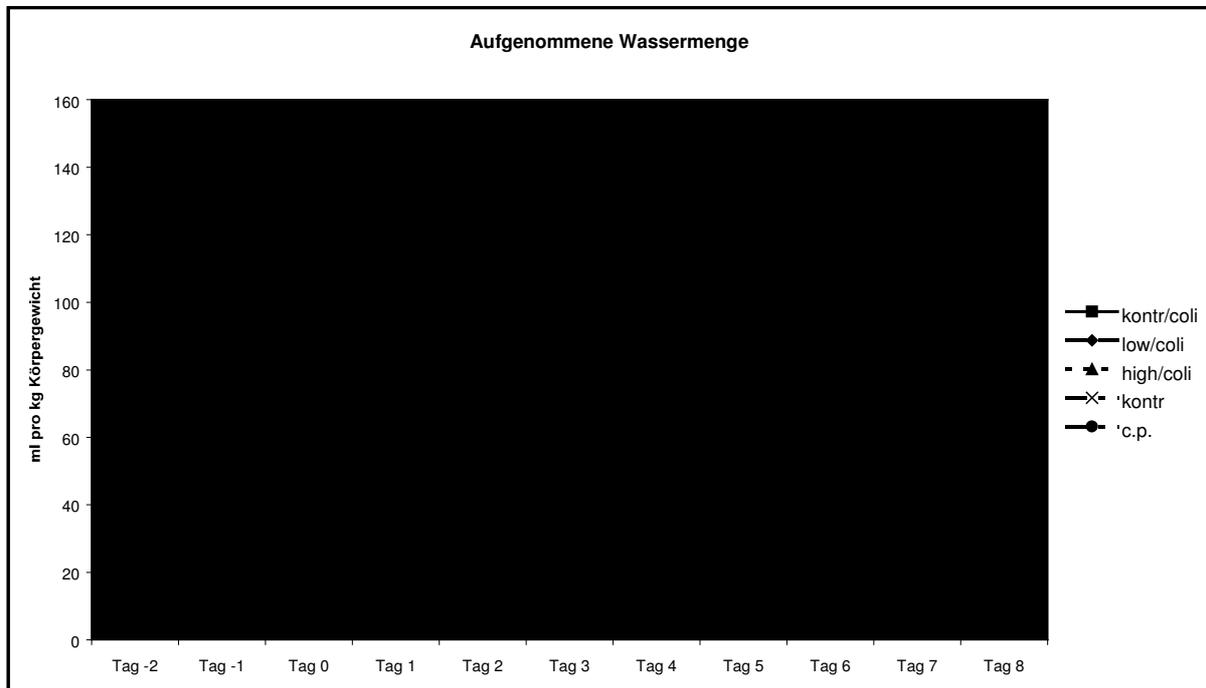
**Tabelle 7: Durchschnittlicher Wasserverbrauch in ml pro kg Körpergewicht (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|               | Kontr/coli |            | Low/coli |            | High/coli |            | Kontr |            | C.p.  |            |
|---------------|------------|------------|----------|------------|-----------|------------|-------|------------|-------|------------|
|               | MW         | $\pm$ SD   | MW       | $\pm$ SD   | MW        | $\pm$ SD   | MW    | $\pm$ SD   | MW    | $\pm$ SD   |
| <b>Tag -4</b> | 110,7      | $\pm$ 7,3  | 112,2    | $\pm$ 13,4 | 108,7     | $\pm$ 7,3  | 128,6 | $\pm$ 31,9 |       |            |
| <b>Tag -3</b> | 118,1      | $\pm$ 10,8 | 106,1    | $\pm$ 12,1 | 120,9     | $\pm$ 18,4 | 113,6 | $\pm$ 8,7  |       |            |
| <b>Tag -2</b> | 109,2      | $\pm$ 10,1 | 106,0    | $\pm$ 9,9  | 115,7     | $\pm$ 10,7 | 111,0 | $\pm$ 9,5  |       |            |
| <b>Tag -1</b> | 116,9      | $\pm$ 10,4 | 108,3    | $\pm$ 20,0 | 106,0     | $\pm$ 14,8 | 115,6 | $\pm$ 1,6  | 120,4 | $\pm$ 15,9 |
| <b>Tag 0</b>  | 103,6      | $\pm$ 24,3 | 100,2    | $\pm$ 23,3 | 109,0     | $\pm$ 20,9 | 113,9 | $\pm$ 9,3  | 131,1 | $\pm$ 22,5 |
| <b>Tag 1</b>  | 94,2       | $\pm$ 23,6 | 56,9     | $\pm$ 21,4 | 54,0      | $\pm$ 16,2 | 106,9 | $\pm$ 3,0  | 93,4  | $\pm$ 18,8 |
| <b>Tag 2</b>  | 108,2      | $\pm$ 10,8 | 116,6    | $\pm$ 35,3 | 78,5      | $\pm$ 32,5 | 114,9 | $\pm$ 0,0  | 139,8 | $\pm$ 37,8 |
| <b>Tag 3</b>  | 104,5      | $\pm$ 6,4  | 120,2    | $\pm$ 20,0 | 102,1     | $\pm$ 28,4 | 106,4 | $\pm$ 9,7  | 129,7 | $\pm$ 24,9 |
| <b>Tag 4</b>  | 95,4       | $\pm$ 19,2 | 140,7    | $\pm$ 51,8 | 100,2     | $\pm$ 26,2 | 129,8 | $\pm$ 39,9 | 109,2 | $\pm$ 29,7 |
| <b>Tag 5</b>  | 100,9      | $\pm$ 15,9 | 103,0    | $\pm$ 19,8 | 126,4     | $\pm$ 34,3 | 105,4 | $\pm$ 14,3 | 145,0 | $\pm$ 25,0 |
| <b>Tag 6</b>  | 105,2      | $\pm$ 12,9 | 114,0    | $\pm$ 15,9 | 100,5     | $\pm$ 38,7 | 110,2 | $\pm$ 16,3 | 119,6 | $\pm$ 22,5 |
| <b>Tag 7</b>  | 100,4      | $\pm$ 5,8  | 117,9    | $\pm$ 18,6 | 122,8     | $\pm$ 29,4 | 107,2 | $\pm$ 19,4 | 125,4 | $\pm$ 37,6 |
| <b>Tag 8</b>  | 98,2       | $\pm$ 5,2  | 114,4    | $\pm$ 19,9 | 130,8     | $\pm$ 27,7 | 102,6 | $\pm$ 12,8 | 112,6 | $\pm$ 16,5 |
| <b>Tag 9</b>  | 111,6      | $\pm$ 18,8 | 104,4    | $\pm$ 11,1 | 108,0     | $\pm$ 8,4  | 90,9  | $\pm$ 28,1 | 120,6 | $\pm$ 21,4 |
| <b>Tag 10</b> | 106,3      | $\pm$ 6,8  | 123,2    | $\pm$ 25,4 | 117,9     | $\pm$ 36,8 |       |            |       |            |
| <b>Tag 11</b> | 107,0      | $\pm$ 21,7 | 109,7    | $\pm$ 13,0 | 112,6     | $\pm$ 22,4 |       |            |       |            |
| <b>Tag 12</b> | 107,8      | $\pm$ 12,0 | 104,5    | $\pm$ 13,6 | 108,0     | $\pm$ 13,6 |       |            |       |            |
| <b>Tag 13</b> | 100,3      | $\pm$ 11,6 | 103,9    | $\pm$ 15,7 | 111,7     | $\pm$ 11,7 |       |            |       |            |
| <b>Tag 14</b> | 99,8       | $\pm$ 12,1 | 99,0     | $\pm$ 13,8 | 104,6     | $\pm$ 7,6  |       |            |       |            |

Der Wasserverbrauch der High/coli-Tiere ist an Tag 1 und Tag 2 deutlich geringer als an den anderen Tagen, der der Low/coli-Gruppe hingegen nur an Tag 1. Die Tiere der C.p.-Gruppe trinken an den Tagen 1 und 4 weniger als an den anderen Tagen. Die tägliche Wasseraufnahme weist einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 8 (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Am Tag 1 zeigen die Gruppen High/coli und Low/coli signifikante Unterschiede gegenüber den Gruppen Kontrolle, Kontrolle/coli und C.p.. Zwischen den Gruppen High/coli und Kontrolle sowie

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

High/coli und C.p. ergeben sich am Tag 2 signifikante Unterschiede. Am Tag 3 ergibt sich beim Vergleich der Gruppen High/coli und C.p. eine Signifikanz.



|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| kontr/coli | Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe |
| low/coli   | Mittelwerte der Low/coli-Gruppe       |
| high/coli  | Mittelwerte der High/coli-Gruppe      |
| kontr      | Mittelwerte der Kontrollgruppe        |
| c.p.       | Mittelwerte der C.p.-Gruppe           |

**Abbildung 14: Tägliche Wasseraufnahme in ml pro kg Körpergewicht (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

### 3.7.1.4 Allgemeinbefinden

In Tabelle 8 sind die Tiere bei denen ein gestörtes Allgemeinbefinden auftritt aufgeführt. Bei allen Tieren der High/coli-Gruppe fällt an den Tagen 1 und 2 nach der Infektion eine mittel- bis hochgradige Störung des Allgemeinbefindens auf. Am Tag 3 ist bei 75 % der Tiere das Allgemeinbefinden beeinträchtigt und bei 50 % der Tiere hält eine geringgradige Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens bis zum Tag 4 an, bei 25 % der Tieren sogar darüber hinaus. Ab Tag 6 ist das Allgemeinbefinden bei keinem Tier beeinträchtigt. Zwei der Tiere zeigen einige Tage nach der Infektion eine Lahmheit der linken hinteren Gliedmaße. Sie belasten und bewegen das Bein kaum und lassen es nachschleifen. Beim Berühren der Gliedmaße äußern sie keinen Schmerz. Palpatorisch ist die Gliedmaße unauffällig. Zwei weitere Tiere, die eine hohe Dosierung der E. coli-Bakterien erhalten haben, liegen am Tag 1 tot im Käfig. Sie werden bei der Auswertung der Daten nicht berücksichtigt. 67 % der Tiere der Low/coli-Gruppe zeigen am Tag 1 post infectionem eine geringgradig gestörtes Allgemeinbefinden. Am Tag 2 weisen 55 % der Low/coli-Tiere und am Tag 3 22 % ein geringgradig gestörtes Allgemeinbefinden auf.

Lediglich bei einem der Kontrolle/coli-Tiere ist am Tag 1 eine leichte Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens festzustellen. Die C.p.-Gruppe zeigt an den ersten drei bis vier Tagen nach der Injektion eine geringgradige Störung des Allgemeinbefindens.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

**Tabelle 8: Übersicht über die Störungen des Allgemeinbefindens der Tiere, die im Versuchszeitraum ein gestörtes Allgemeinbefindens (AB) gezeigt haben**

| TIER NR. |            | TAG 1 | TAG 2             | TAG 3            | TAG 4            | TAG 5            | TAG 6       | TAG 7       | TAG 8       | TAG 9       | TAG 10      | TAG 11      | TAG 12      | TAG 13      |
|----------|------------|-------|-------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| J75      | high/coli  | +++   | +++               | +++              |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J74      | high/coli  | +     | +                 |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J67      | high/coli  | +++   | ++                | +                | +                | +                |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J58      | high/coli  | +++   | +++               | +++              | +                |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J57      | high/coli  | +++   | +++               | tot              |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J68      | high/coli  | +++   | ++                | +<br>lahmt<br>HL | +<br>lahmt<br>LH | lahmt<br>HL      | lahmt<br>HL |             |             |             |             |             |             |             |
| J32      | high/coli  | ++    | ++<br>lahmt<br>HL | +<br>lahmt<br>HL | +<br>lahmt<br>HL | +<br>lahmt<br>HL | lahmt<br>HL |
| J31      | high/coli  | ++    | ++                | +                |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J76      | high/coli  | tot   |                   |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J59      | high/coli  | tot   |                   |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J73      | Low/coli   | +     |                   |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J70      | Low/coli   | +++   | ++                | +                |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J55      | Low/coli   | +     | +                 |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J56      | Low/coli   | ++    | ++                | +                | +                |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J33      | Low/coli   | +     | +                 |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J15      | Low/coli   | +     | +                 |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |
| J17      | Kontr/coli | +     |                   |                  |                  |                  |             |             |             |             |             |             |             |             |

Legende: + = geringgradig gestörtes AB; ++ = mittelgradig gestörtes AB; +++ = hochgradig gestörtes AB; HL = hinten links

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

---

### 3.7.1.5 Sektionsbefunde

Tiere, die während des Versuchs gestorben sind, werden seziert. Bei den seziierten Tieren fällt eine Hyperämie von Milz, Leber und Lunge auf. Alle Tiere scheinen an einem akuten Kreislaufversagen gestorben zu sein.

**Tabelle 9: Sektionsbefunde**

| <b>TIER</b> | <b>BEFUND</b>   | <b>DIAGNOSE</b>                     |
|-------------|---|-------------------------------------|
| <b>J 57</b> | blutverschmiertes Maul; Blutreste in Trachea; Leber: im Zentralbereich 1-2 mm große in die Tiefe ziehende weisse Flecken; Lunge: stumpfe Ränder, hochgradig vergrößert, weiß-rosa marmoriert; Herz: kugelförmig | Tod durch Kreislaufversagen mit DIC |
| <b>J 59</b> | Milz: hyperämisch, Leber: stumpfer Rand, stark blutgefüllt; Lunge: o.p.B.   | Tod durch Kreislaufversagen mit DIC |
| <b>J 76</b> | Milz: geringgradig stumpfer Rand; Lunge: geringgradig emphysematös  | Kreislaufversagen                   |

o.p.B. ohne pathologischen Befund

DIC Disseminierte intravasale Koagulopathie

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2 Hole-Board-Parameter

#### 3.7.2.1 Gedächtnisparameter

##### 3.7.2.1.1 Fehler

**Tabelle 10: Durchschnittliche Fehleranzahl eines Durchlaufs pro Tag (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-11</b> | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag-10</b> | 0,4        | $\pm$ 0,6 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,6   | $\pm$ 0,4 | 0,6  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag -9</b> | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,5  | $\pm$ 0,7 |
| <b>Tag -8</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,5       | $\pm$ 0,6 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,7  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag -7</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,1 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,4  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -6</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,2      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,4  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -5</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,0       | $\pm$ 0,1 | 0,1   | $\pm$ 0,3 | 0,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -4</b> | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag -2</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag -1</b> | 0,3        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 0</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,4       | $\pm$ 0,6 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 1</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,3      | $\pm$ 0,4 | 0,4       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 2</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 3</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,4  | $\pm$ 0,7 |
| <b>Tag 4</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 5</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 6</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,3       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 7</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 8</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 9</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 10</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,1 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,4      | $\pm$ 0,4 | 0,2       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,0       | $\pm$ 0,1 |       |           |      |           |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

---

In Tabelle 10 wird die durchschnittliche Anzahl an Fehlern pro Durchlauf und Tag dargestellt. Nach einer Lernphase von etwa 4 Tagen bleibt bei allen Gruppen die durchschnittliche Fehleranzahl konstant. Für die Coli-Gruppen liegt sie bei durchschnittlich 0,3 Fehlern pro Durchlauf, bei der C.p.-Gruppe und der Kontrollgruppe bei 0,1 Fehler pro Durchlauf. Bei der C.p.-Gruppe fällt an Tag 3 ein leichter Anstieg auf 0,4 Fehler pro Durchlauf auf, ansonsten verändert sich bis zum Ende des Versuches die durchschnittliche Fehleranzahl bei keiner der Gruppen deutlich. An den Tagen -3 bis 8 ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.1.2 Wiederholungen

**Tabelle 11: Durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen eines Durchlaufs pro Tag  
(MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-11</b> | 0,5        | $\pm$ 0,4 | 0,6      | $\pm$ 0,4 | 0,8       | $\pm$ 0,0 | 0,9   | $\pm$ 0,3 | 1,3  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag-10</b> | 0,6        | $\pm$ 0,5 | 0,7      | $\pm$ 0,3 | 0,7       | $\pm$ 0,4 | 0,7   | $\pm$ 0,5 | 1,4  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag -9</b> | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,5      | $\pm$ 0,3 | 0,6       | $\pm$ 0,2 | 0,7   | $\pm$ 0,1 | 1,2  | $\pm$ 0,7 |
| <b>Tag -8</b> | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,4      | $\pm$ 0,3 | 0,9       | $\pm$ 0,7 | 0,8   | $\pm$ 0,4 | 1,3  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -7</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,3       | $\pm$ 0,2 | 0,7   | $\pm$ 0,5 | 1,0  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -6</b> | 0,5        | $\pm$ 0,5 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,5       | $\pm$ 0,4 | 0,5   | $\pm$ 0,5 | 0,6  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -5</b> | 0,3        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,3 | 0,3   | $\pm$ 0,3 | 0,6  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -4</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,3       | $\pm$ 0,2 | 0,2   | $\pm$ 0,0 | 0,2  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,3 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -2</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,3   | $\pm$ 0,4 | 0,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -1</b> | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,1 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,3  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 0</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 1</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,1       | $\pm$ 0,1 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,4  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 2</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,4       | $\pm$ 0,4 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,4  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 3</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,8  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag 4</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,1 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,5  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 5</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 6</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 7</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,1 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 8</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,1 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 9</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,3       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 10</b> | 0,1        | $\pm$ 0,3 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,0       | $\pm$ 0,0 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,1       | $\pm$ 0,1 |       |           |      |           |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 11 gibt die durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen pro Durchlauf und Tag an. Die Anzahl der Wiederholungen ist bei allen Gruppen zu Beginn des Hole-Board-Tests deutlich erhöht. Nach einer Lernzeit von etwa 5 Tagen bleibt die Anzahl an Wiederholungen unverändert. Von Tag -4 bis Tag 0 überschreitet die durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen pro Durchlauf bei keiner Gruppe den Wert 0,3. Am Tag 2 machen sowohl die High/coli- als auch die C.p.-Gruppe im Durchschnitt 0,4 Wiederholungen. Bei der C.p.-Gruppe ist die durchschnittliche Anzahl an Wiederholungen an den Tagen 1, 2, 3 und 4 mit 0,4, 0,4, 0,8 und 0,5 Wiederholungen deutlich erhöht. Ab Tag 5 treten bei keiner der Gruppen Abweichungen von den Ausgangswerten auf. Von Tag -3 bis Tag 8 ist der Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl von Wiederholungen zwischen den Versuchsgruppen signifikant (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Die C.p.-Gruppe weist am Tag 3 im Vergleich zu allen anderen Gruppen eine Signifikanz auf.



|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| kontr/coli | Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe |
| low/coli   | Mittelwerte der Low/coli-Gruppe       |
| high/coli  | Mittelwerte der High/coli-Gruppe      |
| kontr      | Mittelwerte der Kontrollgruppe        |
| c.p.       | Mittelwerte der C.p.-Gruppe           |

**Abbildung 15: Durchschnittliche Anzahl von Wiederholungen pro Tier und Durchlauf (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.2 Exploration und Motivationsparameter

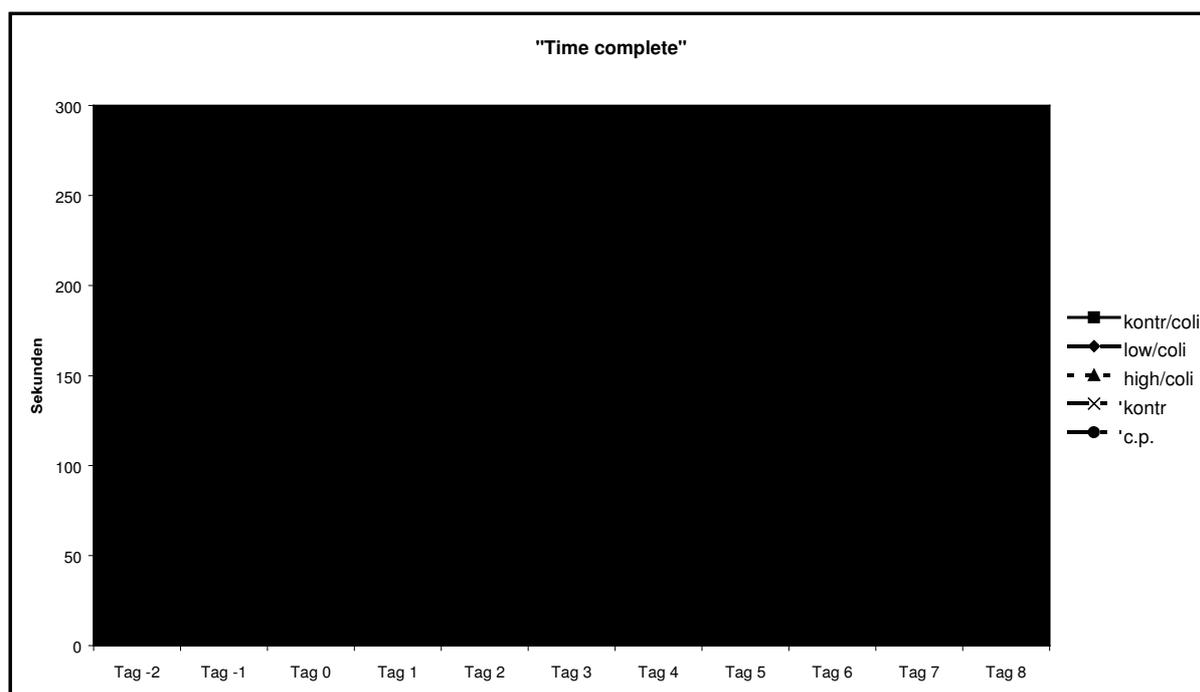
#### 3.7.2.2.1 Time complete

**Tabelle 12: Zeit in Sekunden, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (MW  $\pm$ SD)  
(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |          | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |          |
|---------------|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag-11</b> | 105        | $\pm$ 34  | 171      | $\pm$ 52 | 136       | $\pm$ 49  | 108   | $\pm$ 25  | 143  | $\pm$ 66 |
| <b>Tag-10</b> | 130        | $\pm$ 64  | 130      | $\pm$ 51 | 229       | $\pm$ 146 | 106   | $\pm$ 26  | 112  | $\pm$ 35 |
| <b>Tag -9</b> | 144        | $\pm$ 119 | 119      | $\pm$ 86 | 183       | $\pm$ 126 | 73    | $\pm$ 12  | 106  | $\pm$ 23 |
| <b>Tag -8</b> | 116        | $\pm$ 97  | 92       | $\pm$ 47 | 173       | $\pm$ 68  | 163   | $\pm$ 132 | 128  | $\pm$ 96 |
| <b>Tag -7</b> | 85         | $\pm$ 50  | 83       | $\pm$ 34 | 139       | $\pm$ 72  | 165   | $\pm$ 129 | 119  | $\pm$ 67 |
| <b>Tag -6</b> | 76         | $\pm$ 30  | 68       | $\pm$ 17 | 117       | $\pm$ 62  | 106   | $\pm$ 44  | 95   | $\pm$ 42 |
| <b>Tag -5</b> | 87         | $\pm$ 43  | 58       | $\pm$ 14 | 92        | $\pm$ 36  | 76    | $\pm$ 29  | 87   | $\pm$ 35 |
| <b>Tag -4</b> | 60         | $\pm$ 9   | 61       | $\pm$ 16 | 80        | $\pm$ 30  | 68    | $\pm$ 0   | 68   | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b> | 66         | $\pm$ 25  | 53       | $\pm$ 14 | 103       | $\pm$ 77  | 61    | $\pm$ 18  | 78   | $\pm$ 40 |
| <b>Tag -2</b> | 58         | $\pm$ 12  | 76       | $\pm$ 77 | 69        | $\pm$ 20  | 62    | $\pm$ 27  | 73   | $\pm$ 19 |
| <b>Tag -1</b> | 64         | $\pm$ 16  | 59       | $\pm$ 27 | 69        | $\pm$ 22  | 62    | $\pm$ 24  | 61   | $\pm$ 16 |
| <b>Tag 0</b>  | 72         | $\pm$ 16  | 66       | $\pm$ 23 | 76        | $\pm$ 30  | 53    | $\pm$ 16  | 56   | $\pm$ 17 |
| <b>Tag 1</b>  | 83         | $\pm$ 23  | 109      | $\pm$ 19 | 241       | $\pm$ 121 | 59    | $\pm$ 29  | 77   | $\pm$ 33 |
| <b>Tag 2</b>  | 71         | $\pm$ 16  | 71       | $\pm$ 13 | 145       | $\pm$ 76  | 57    | $\pm$ 13  | 67   | $\pm$ 26 |
| <b>Tag 3</b>  | 61         | $\pm$ 8   | 62       | $\pm$ 15 | 102       | $\pm$ 32  | 53    | $\pm$ 15  | 80   | $\pm$ 23 |
| <b>Tag 4</b>  | 60         | $\pm$ 13  | 52       | $\pm$ 12 | 101       | $\pm$ 41  | 54    | $\pm$ 13  | 69   | $\pm$ 23 |
| <b>Tag 5</b>  | 53         | $\pm$ 13  | 54       | $\pm$ 7  | 99        | $\pm$ 71  | 51    | $\pm$ 14  | 53   | $\pm$ 16 |
| <b>Tag 6</b>  | 52         | $\pm$ 6   | 52       | $\pm$ 14 | 67        | $\pm$ 25  | 53    | $\pm$ 16  | 48   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag 7</b>  | 56         | $\pm$ 8   | 59       | $\pm$ 29 | 76        | $\pm$ 38  | 51    | $\pm$ 17  | 48   | $\pm$ 15 |
| <b>Tag 8</b>  | 52         | $\pm$ 8   | 49       | $\pm$ 11 | 68        | $\pm$ 32  | 53    | $\pm$ 18  | 44   | $\pm$ 12 |
| <b>Tag 9</b>  | 53         | $\pm$ 14  | 48       | $\pm$ 9  | 72        | $\pm$ 29  | 50    | $\pm$ 14  | 46   | $\pm$ 12 |
| <b>Tag 10</b> | 49         | $\pm$ 11  | 44       | $\pm$ 12 | 67        | $\pm$ 32  |       |           |      |          |
| <b>Tag 11</b> | 50         | $\pm$ 6   | 45       | $\pm$ 9  | 67        | $\pm$ 37  |       |           |      |          |
| <b>Tag 12</b> | 52         | $\pm$ 13  | 43       | $\pm$ 10 | 55        | $\pm$ 15  |       |           |      |          |
| <b>Tag 13</b> | 51         | $\pm$ 9   | 56       | $\pm$ 14 | 65        | $\pm$ 14  |       |           |      |          |
| <b>Tag 14</b> | 44         | $\pm$ 10  | 42       | $\pm$ 8  | 70        | $\pm$ 28  |       |           |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die „time complete“ gibt die durchschnittliche Gesamtdauer eines Durchlaufs des entsprechenden Tages an. An den ersten vier Tagen des Verhaltenstests benötigen die Tiere wesentlich mehr Zeit für einen Durchlauf als an den Tagen -4 bis 0, an denen die Dauer innerhalb der einzelnen Gruppen konstant ist. Die High/coli-Gruppe verdreifacht am Tag 1 die „time complete“ und weist auch am Tag 2 eine deutliche Erhöhung auf. Erst ab Tag 6 erreicht sie wieder ähnliche Geschwindigkeiten wie an Tag 0. Bei der Low/coli-Gruppe fällt ebenfalls am Tag 1 eine deutliche Verzögerung der Gesamtdauer eines Durchlaufs auf. Bei der Kontrollgruppe und der C.p.-Gruppe erfolgt zu keinem Zeitpunkt ein Anstieg der „time complete“. Die durchschnittliche Zeitdauer weist einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 8 auf (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Die Gruppe High/coli unterscheidet sich am Tag 1 und 2 signifikant von allen anderen Gruppen. Am Tag 3 zeigt die High/coli-Gruppe signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe, der Kontrolle/coli-Gruppe und der Low/coli-Gruppe. Zwischen Kontrollgruppe und C.p.-Gruppe ergibt sich an diesem Tag ebenfalls eine Signifikanz.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 16: Dauer eines Durchlaufs in Sekunden (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

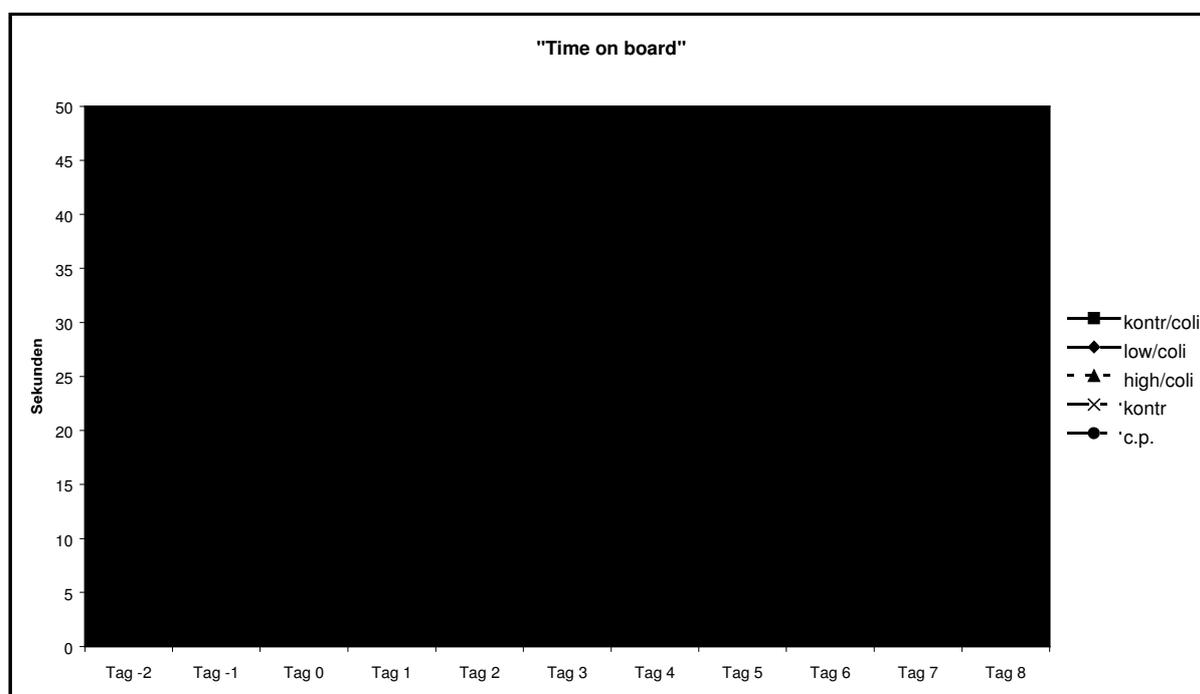
### 3.7.2.2.2 Time on board

**Tabelle 13: Zeit in Sekunden, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|               | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|---------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|               | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag-11</b> | 31         | $\pm$ 16 | 42       | $\pm$ 14 | 26        | $\pm$ 8  | 35    | $\pm$ 3  | 40   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag-10</b> | 36         | $\pm$ 33 | 30       | $\pm$ 10 | 40        | $\pm$ 12 | 39    | $\pm$ 8  | 39   | $\pm$ 16 |
| <b>Tag -9</b> | 29         | $\pm$ 16 | 25       | $\pm$ 7  | 53        | $\pm$ 53 | 25    | $\pm$ 2  | 33   | $\pm$ 8  |
| <b>Tag -8</b> | 28         | $\pm$ 17 | 24       | $\pm$ 13 | 38        | $\pm$ 15 | 42    | $\pm$ 28 | 34   | $\pm$ 16 |
| <b>Tag -7</b> | 21         | $\pm$ 10 | 23       | $\pm$ 10 | 25        | $\pm$ 8  | 42    | $\pm$ 36 | 33   | $\pm$ 13 |
| <b>Tag -6</b> | 18         | $\pm$ 7  | 17       | $\pm$ 3  | 29        | $\pm$ 16 | 29    | $\pm$ 12 | 26   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag -5</b> | 21         | $\pm$ 12 | 17       | $\pm$ 6  | 19        | $\pm$ 6  | 23    | $\pm$ 9  | 24   | $\pm$ 6  |
| <b>Tag -4</b> | 16         | $\pm$ 5  | 15       | $\pm$ 5  | 17        | $\pm$ 5  | 19    | $\pm$ 0  | 19   | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b> | 20         | $\pm$ 11 | 14       | $\pm$ 4  | 25        | $\pm$ 15 | 19    | $\pm$ 9  | 21   | $\pm$ 7  |
| <b>Tag -2</b> | 15         | $\pm$ 4  | 17       | $\pm$ 7  | 17        | $\pm$ 6  | 18    | $\pm$ 9  | 23   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag -1</b> | 16         | $\pm$ 8  | 13       | $\pm$ 5  | 15        | $\pm$ 3  | 18    | $\pm$ 7  | 21   | $\pm$ 8  |
| <b>Tag 0</b>  | 22         | $\pm$ 13 | 17       | $\pm$ 5  | 23        | $\pm$ 10 | 15    | $\pm$ 4  | 19   | $\pm$ 6  |
| <b>Tag 1</b>  | 22         | $\pm$ 9  | 32       | $\pm$ 8  | 47        | $\pm$ 24 | 17    | $\pm$ 8  | 22   | $\pm$ 7  |
| <b>Tag 2</b>  | 14         | $\pm$ 2  | 19       | $\pm$ 7  | 41        | $\pm$ 44 | 17    | $\pm$ 4  | 22   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag 3</b>  | 17         | $\pm$ 6  | 19       | $\pm$ 4  | 23        | $\pm$ 7  | 16    | $\pm$ 5  | 28   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag 4</b>  | 15         | $\pm$ 5  | 13       | $\pm$ 3  | 23        | $\pm$ 7  | 14    | $\pm$ 5  | 22   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 5</b>  | 14         | $\pm$ 5  | 13       | $\pm$ 3  | 22        | $\pm$ 11 | 15    | $\pm$ 5  | 18   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 6</b>  | 15         | $\pm$ 5  | 15       | $\pm$ 3  | 17        | $\pm$ 6  | 15    | $\pm$ 4  | 17   | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 7</b>  | 16         | $\pm$ 5  | 15       | $\pm$ 5  | 19        | $\pm$ 10 | 17    | $\pm$ 8  | 17   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 8</b>  | 14         | $\pm$ 4  | 14       | $\pm$ 4  | 15        | $\pm$ 5  | 15    | $\pm$ 5  | 16   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 9</b>  | 13         | $\pm$ 4  | 13       | $\pm$ 3  | 18        | $\pm$ 5  | 15    | $\pm$ 5  | 16   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 10</b> | 10         | $\pm$ 3  | 11       | $\pm$ 3  | 15        | $\pm$ 6  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b> | 13         | $\pm$ 4  | 13       | $\pm$ 4  | 18        | $\pm$ 7  |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b> | 14         | $\pm$ 4  | 10       | $\pm$ 1  | 17        | $\pm$ 8  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b> | 12         | $\pm$ 4  | 16       | $\pm$ 4  | 16        | $\pm$ 3  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b> | 9          | $\pm$ 3  | 11       | $\pm$ 3  | 16        | $\pm$ 3  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In Tabelle 13 ist die Zeit in Sekunden dargestellt, die die Tiere an einem Tag durchschnittlich während eines Durchlaufs auf dem Hole-Board verbringen. Sie wird als TOB bezeichnet. Nach einer Eingewöhnungsphase von sechs Tagen bleibt die TOB konstant. Die Tiere der Gruppe Low/coli zeigen am Tag 1 einen deutlichen Anstieg auf 32 Sekunden pro Durchlauf. Bei der High/coli-Gruppe zeigt sich an den Tagen 1 bis 2 ein deutlicher Anstieg mit einem Maximum von 47 Sekunden pro Durchlauf am Tag 1. Die durchschnittliche Zeitdauer weist einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 8 auf (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Die Gruppe High/coli weist gegenüber den Gruppen Kontrolle, Kontrolle/coli und C.p. am Tag 1 signifikante Unterschiede auf. Die Gruppe C.p. zeigt am Tag 3 gegenüber der Kontrollgruppe und der Kontrolle/coli-Gruppe eine Signifikanz.



|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| kontr/coli | Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe |
| low/coli   | Mittelwerte der Low/coli-Gruppe       |
| high/coli  | Mittelwerte der High/coli-Gruppe      |
| kontr      | Mittelwerte der Kontrollgruppe        |
| c.p.       | Mittelwerte der C.p.-Gruppe           |

**Abbildung 17: Zeit in Sekunden, die während eines Durchlaufs auf dem Hole-Board verbraucht wird (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.2.3 Number of board entries

**Tabelle 14: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-11</b> | 5,0        | $\pm$ 1,6 | 6,6      | $\pm$ 1,9 | 6,6       | $\pm$ 1,4 | 4,7   | $\pm$ 1,4 | 6,2  | $\pm$ 2,1 |
| <b>Tag-10</b> | 5,9        | $\pm$ 1,8 | 4,9      | $\pm$ 1,2 | 7,3       | $\pm$ 2,8 | 4,2   | $\pm$ 1,3 | 5,0  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag -9</b> | 4,9        | $\pm$ 1,4 | 5,0      | $\pm$ 2,4 | 5,0       | $\pm$ 2,1 | 3,5   | $\pm$ 0,4 | 4,9  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -8</b> | 4,6        | $\pm$ 1,6 | 4,3      | $\pm$ 1,6 | 5,7       | $\pm$ 1,8 | 7,1   | $\pm$ 4,7 | 5,4  | $\pm$ 2,5 |
| <b>Tag -7</b> | 3,7        | $\pm$ 0,7 | 4,0      | $\pm$ 1,1 | 4,4       | $\pm$ 1,2 | 7,0   | $\pm$ 5,4 | 5,4  | $\pm$ 2,5 |
| <b>Tag -6</b> | 3,4        | $\pm$ 1,5 | 3,7      | $\pm$ 0,5 | 4,5       | $\pm$ 1,7 | 5,3   | $\pm$ 2,1 | 4,7  | $\pm$ 1,9 |
| <b>Tag -5</b> | 3,8        | $\pm$ 1,8 | 3,0      | $\pm$ 0,8 | 3,6       | $\pm$ 1,0 | 4,2   | $\pm$ 1,5 | 4,2  | $\pm$ 1,7 |
| <b>Tag -4</b> | 2,9        | $\pm$ 0,5 | 2,9      | $\pm$ 0,5 | 3,7       | $\pm$ 1,0 | 3,4   | $\pm$ 0,0 | 3,4  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 3,8        | $\pm$ 1,4 | 2,8      | $\pm$ 0,7 | 4,5       | $\pm$ 3,3 | 2,8   | $\pm$ 0,9 | 3,7  | $\pm$ 1,4 |
| <b>Tag -2</b> | 3,0        | $\pm$ 1,0 | 2,9      | $\pm$ 1,0 | 3,3       | $\pm$ 1,2 | 3,3   | $\pm$ 1,5 | 3,3  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -1</b> | 3,3        | $\pm$ 0,8 | 2,6      | $\pm$ 0,8 | 2,8       | $\pm$ 1,0 | 3,5   | $\pm$ 1,3 | 3,1  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag 0</b>  | 2,7        | $\pm$ 0,8 | 2,6      | $\pm$ 1,2 | 3,5       | $\pm$ 1,3 | 2,9   | $\pm$ 1,1 | 2,8  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag 1</b>  | 2,9        | $\pm$ 1,0 | 2,8      | $\pm$ 0,7 | 4,0       | $\pm$ 2,2 | 2,8   | $\pm$ 1,5 | 3,2  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag 2</b>  | 3,1        | $\pm$ 0,5 | 2,7      | $\pm$ 0,6 | 3,0       | $\pm$ 0,9 | 3,0   | $\pm$ 0,8 | 3,0  | $\pm$ 1,4 |
| <b>Tag 3</b>  | 3,0        | $\pm$ 0,5 | 3,1      | $\pm$ 0,8 | 3,4       | $\pm$ 1,0 | 2,7   | $\pm$ 0,8 | 2,6  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag 4</b>  | 2,6        | $\pm$ 0,5 | 2,6      | $\pm$ 0,9 | 3,5       | $\pm$ 1,4 | 2,5   | $\pm$ 0,7 | 3,0  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag 5</b>  | 2,6        | $\pm$ 0,8 | 2,6      | $\pm$ 0,7 | 3,8       | $\pm$ 1,9 | 2,7   | $\pm$ 0,9 | 2,4  | $\pm$ 0,7 |
| <b>Tag 6</b>  | 2,6        | $\pm$ 0,4 | 2,6      | $\pm$ 0,8 | 2,7       | $\pm$ 1,0 | 3,0   | $\pm$ 1,4 | 2,4  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag 7</b>  | 3,0        | $\pm$ 0,5 | 2,4      | $\pm$ 1,1 | 2,8       | $\pm$ 1,3 | 2,7   | $\pm$ 1,4 | 2,3  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag 8</b>  | 3,0        | $\pm$ 1,0 | 2,3      | $\pm$ 0,9 | 2,7       | $\pm$ 0,9 | 2,7   | $\pm$ 1,0 | 2,1  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 9</b>  | 2,6        | $\pm$ 0,6 | 2,4      | $\pm$ 0,7 | 3,0       | $\pm$ 1,2 | 2,5   | $\pm$ 0,8 | 2,1  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 10</b> | 2,6        | $\pm$ 0,5 | 2,1      | $\pm$ 0,8 | 2,7       | $\pm$ 1,1 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 2,6        | $\pm$ 0,5 | 2,2      | $\pm$ 0,7 | 3,5       | $\pm$ 1,5 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 2,0        | $\pm$ 0,8 | 1,8      | $\pm$ 1,1 | 2,3       | $\pm$ 1,0 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 2,4        | $\pm$ 0,5 | 2,1      | $\pm$ 0,9 | 2,8       | $\pm$ 0,8 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 2,2        | $\pm$ 0,6 | 2,4      | $\pm$ 0,8 | 2,9       | $\pm$ 1,2 |       |           |      |           |

Die durchschnittliche Anzahl der NBE liegt nach einer Eingewöhnungszeit von etwa fünf Tagen bei allen Gruppen pro Durchlauf und Tag zwischen 2,8 und 4,6 und bleibt bis zum

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Versuchsende bei diesen Werten. Innerhalb der Gruppen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.

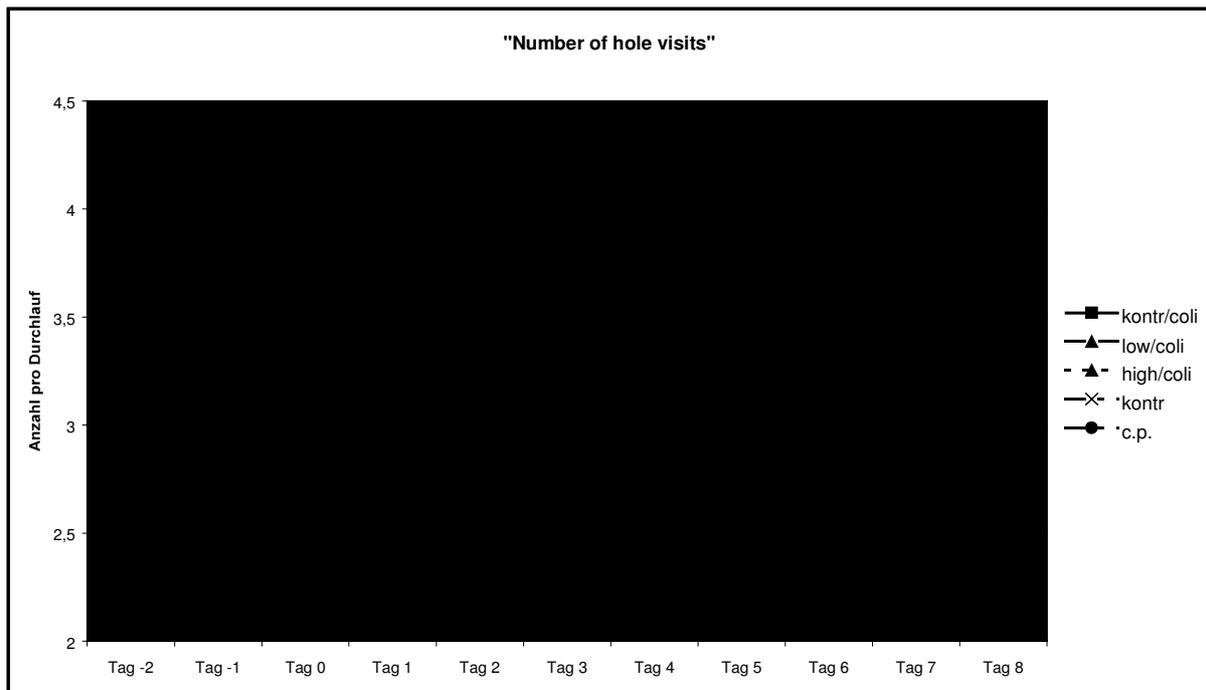
### 3.7.2.2.4 Number of hole visits

**Tabelle 15: Anzahl der pro Durchlauf besuchten Löcher (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-11</b> | 3,7        | $\pm$ 0,5 | 3,6      | $\pm$ 0,5 | 3,8       | $\pm$ 0,0 | 4,1   | $\pm$ 0,4 | 5,2  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag-10</b> | 4,0        | $\pm$ 1,1 | 3,8      | $\pm$ 0,4 | 3,4       | $\pm$ 0,7 | 4,3   | $\pm$ 0,5 | 5,8  | $\pm$ 1,7 |
| <b>Tag -9</b> | 3,5        | $\pm$ 0,3 | 3,6      | $\pm$ 0,4 | 3,4       | $\pm$ 0,6 | 3,7   | $\pm$ 0,1 | 5,4  | $\pm$ 1,2 |
| <b>Tag -8</b> | 3,3        | $\pm$ 0,3 | 3,5      | $\pm$ 0,4 | 4,3       | $\pm$ 1,3 | 3,7   | $\pm$ 0,5 | 5,5  | $\pm$ 1,6 |
| <b>Tag -7</b> | 3,3        | $\pm$ 0,3 | 3,4      | $\pm$ 0,4 | 3,4       | $\pm$ 0,2 | 3,8   | $\pm$ 0,5 | 4,8  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag -6</b> | 3,7        | $\pm$ 0,5 | 3,4      | $\pm$ 0,3 | 3,6       | $\pm$ 0,7 | 3,6   | $\pm$ 0,5 | 4,4  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag -5</b> | 3,3        | $\pm$ 0,4 | 3,3      | $\pm$ 0,3 | 3,3       | $\pm$ 0,3 | 3,5   | $\pm$ 0,4 | 3,9  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -4</b> | 3,3        | $\pm$ 0,2 | 3,1      | $\pm$ 0,2 | 3,4       | $\pm$ 0,4 | 3,3   | $\pm$ 0,0 | 3,3  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 3,3        | $\pm$ 0,2 | 3,3      | $\pm$ 0,2 | 3,4       | $\pm$ 0,5 | 3,2   | $\pm$ 0,2 | 3,3  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag -2</b> | 3,2        | $\pm$ 0,3 | 3,5      | $\pm$ 0,4 | 3,4       | $\pm$ 0,3 | 3,3   | $\pm$ 0,4 | 3,4  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -1</b> | 3,5        | $\pm$ 0,3 | 3,2      | $\pm$ 0,3 | 3,2       | $\pm$ 0,2 | 3,2   | $\pm$ 0,3 | 3,4  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 0</b>  | 3,4        | $\pm$ 0,4 | 3,4      | $\pm$ 0,4 | 3,6       | $\pm$ 0,9 | 3,1   | $\pm$ 0,2 | 3,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 1</b>  | 3,3        | $\pm$ 0,3 | 3,5      | $\pm$ 0,6 | 2,9       | $\pm$ 1,1 | 3,1   | $\pm$ 0,2 | 3,5  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag 2</b>  | 3,5        | $\pm$ 0,4 | 3,2      | $\pm$ 0,3 | 3,5       | $\pm$ 0,5 | 3,2   | $\pm$ 0,4 | 3,5  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 3</b>  | 3,2        | $\pm$ 0,2 | 3,1      | $\pm$ 0,2 | 3,4       | $\pm$ 0,4 | 3,3   | $\pm$ 0,2 | 4,3  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag 4</b>  | 3,3        | $\pm$ 0,3 | 3,2      | $\pm$ 0,2 | 3,2       | $\pm$ 0,2 | 3,2   | $\pm$ 0,2 | 3,7  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 5</b>  | 3,4        | $\pm$ 0,4 | 3,2      | $\pm$ 0,3 | 3,2       | $\pm$ 0,2 | 3,2   | $\pm$ 0,2 | 3,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 6</b>  | 3,5        | $\pm$ 0,4 | 3,3      | $\pm$ 0,4 | 3,4       | $\pm$ 0,3 | 3,1   | $\pm$ 0,1 | 3,4  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 7</b>  | 3,4        | $\pm$ 0,1 | 3,2      | $\pm$ 0,3 | 3,3       | $\pm$ 0,4 | 3,0   | $\pm$ 0,1 | 3,3  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 8</b>  | 3,0        | $\pm$ 0,1 | 3,1      | $\pm$ 0,2 | 3,1       | $\pm$ 0,3 | 3,1   | $\pm$ 0,2 | 3,4  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 9</b>  | 3,1        | $\pm$ 0,2 | 3,2      | $\pm$ 0,2 | 3,5       | $\pm$ 0,3 | 3,0   | $\pm$ 0,1 | 3,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 10</b> | 3,3        | $\pm$ 0,2 | 3,1      | $\pm$ 0,2 | 3,2       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 3,3        | $\pm$ 0,2 | 3,2      | $\pm$ 0,2 | 3,1       | $\pm$ 0,1 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 3,1        | $\pm$ 0,2 | 3,0      | $\pm$ 0,1 | 3,3       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 3,1        | $\pm$ 0,2 | 3,5      | $\pm$ 0,5 | 3,4       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 3,1        | $\pm$ 0,1 | 3,2      | $\pm$ 0,3 | 3,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 15 zeigt die durchschnittlich Anzahl der pro Durchlauf an einem Tag besuchten Löcher. Nach der Lernphase bleibt der Wert bei den Gruppen Kontrolle/coli, Low/coli und High/coli von Tag -3 an bis zum Versuchsende bei Werten um 3 und weist kaum Schwankungen auf. Die C.p.-Gruppe weist an Tag 3 einen Anstieg auf 4,3 Lochbesuche pro Durchlauf auf. Innerhalb der Gruppen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 18: Anzahl der pro Durchlauf besuchten Löcher**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.2.5 Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)

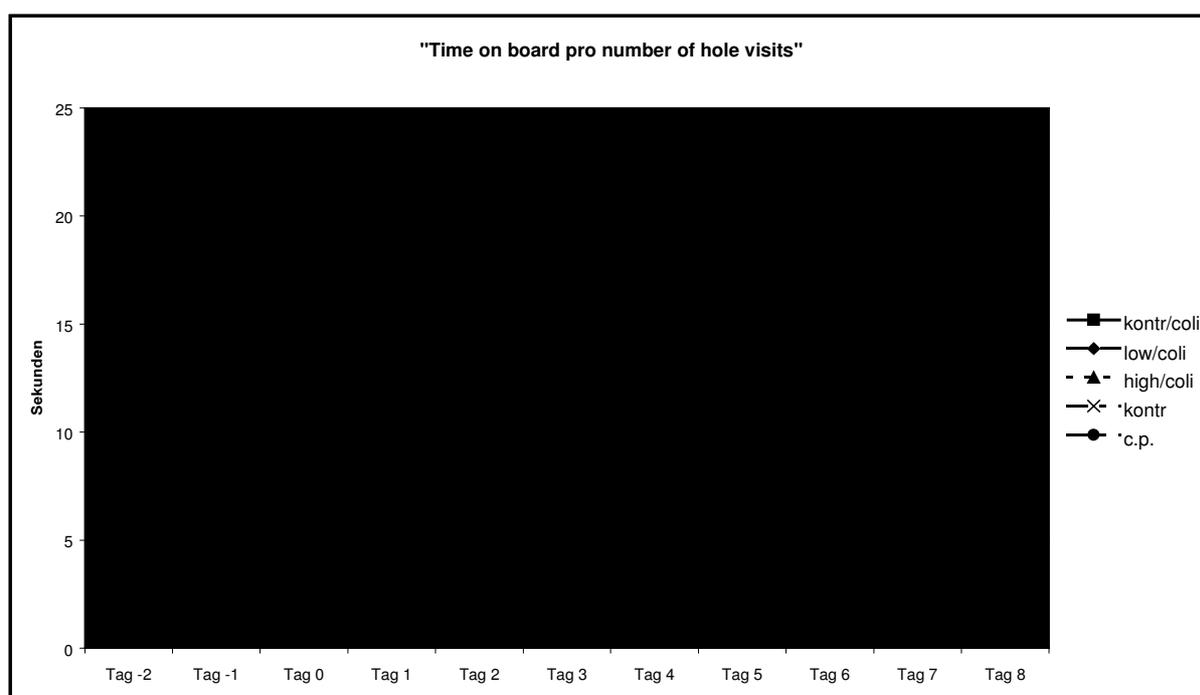
**Tabelle 16: Zeit (in Sekunden) auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch (MW  $\pm$ SD)  
(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|                | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |            | Kontr |           | C.p. |           |
|----------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|------------|-------|-----------|------|-----------|
|                | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD   | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag -11</b> | 8,2        | $\pm$ 3,9 | 12,3     | $\pm$ 4,9 | 6,9       | $\pm$ 2,5  | 8,6   | $\pm$ 0,8 | 7,5  | $\pm$ 1,3 |
| <b>Tag -10</b> | 7,8        | $\pm$ 4,1 | 7,7      | $\pm$ 2,4 | 9,9       | $\pm$ 3,9  | 9,3   | $\pm$ 1,9 | 6,5  | $\pm$ 1,2 |
| <b>Tag -9</b>  | 8,3        | $\pm$ 4,8 | 6,8      | $\pm$ 1,3 | *         |            | 6,9   | $\pm$ 0,6 | 6,3  | $\pm$ 1,8 |
| <b>Tag -8</b>  | 8,5        | $\pm$ 5,5 | 6,7      | $\pm$ 2,9 | *         |            | 8,8   | $\pm$ 3,5 | 6,1  | $\pm$ 1,9 |
| <b>Tag -7</b>  | 6,7        | $\pm$ 3,2 | 6,9      | $\pm$ 2,9 | 7,3       | $\pm$ 2,2  | *     |           | 6,6  | $\pm$ 2,1 |
| <b>Tag -6</b>  | 5,0        | $\pm$ 1,7 | 5,1      | $\pm$ 1,0 | 7,9       | $\pm$ 3,0  | 8,3   | $\pm$ 3,0 | 6,1  | $\pm$ 2,2 |
| <b>Tag -5</b>  | 6,7        | $\pm$ 3,5 | 5,4      | $\pm$ 1,9 | 5,5       | $\pm$ 1,6  | 6,5   | $\pm$ 2,6 | 6,1  | $\pm$ 1,4 |
| <b>Tag -4</b>  | 5,1        | $\pm$ 1,7 | 4,9      | $\pm$ 1,7 | 5,1       | $\pm$ 1,7  | *     |           | *    |           |
| <b>Tag -3</b>  | 6,2        | $\pm$ 3,2 | 4,2      | $\pm$ 1,3 | 6,8       | $\pm$ 3,1  | 6,1   | $\pm$ 2,7 | 6,3  | $\pm$ 1,7 |
| <b>Tag -2</b>  | 4,6        | $\pm$ 1,1 | 4,9      | $\pm$ 1,3 | 5,2       | $\pm$ 1,5  | 5,4   | $\pm$ 2,0 | 6,7  | $\pm$ 1,5 |
| <b>Tag -1</b>  | 4,5        | $\pm$ 2,1 | 4,2      | $\pm$ 1,4 | 4,8       | $\pm$ 0,9  | 5,6   | $\pm$ 1,8 | 6,0  | $\pm$ 2,0 |
| <b>Tag 0</b>   | 6,0        | $\pm$ 3,1 | 5,0      | $\pm$ 1,0 | 6,7       | $\pm$ 3,4  | 4,7   | $\pm$ 1,2 | 5,7  | $\pm$ 1,7 |
| <b>Tag 1</b>   | 6,7        | $\pm$ 2,4 | 9,0      | $\pm$ 1,7 | 22,7      | $\pm$ 19,2 | 5,1   | $\pm$ 2,2 | 6,1  | $\pm$ 1,6 |
| <b>Tag 2</b>   | 4,0        | $\pm$ 0,7 | 6,0      | $\pm$ 2,1 | 23,4      | $\pm$ 43,5 | 5,2   | $\pm$ 1,3 | 6,0  | $\pm$ 2,0 |
| <b>Tag 3</b>   | 5,2        | $\pm$ 1,8 | 6,0      | $\pm$ 1,3 | 6,8       | $\pm$ 1,8  | 4,9   | $\pm$ 1,5 | 6,6  | $\pm$ 1,3 |
| <b>Tag 4</b>   | 4,8        | $\pm$ 1,7 | 4,1      | $\pm$ 1,1 | 7,1       | $\pm$ 1,8  | 4,5   | $\pm$ 1,5 | 6,0  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag 5</b>   | 4,0        | $\pm$ 1,3 | 4,3      | $\pm$ 1,1 | 6,8       | $\pm$ 3,6  | 4,7   | $\pm$ 1,5 | 5,4  | $\pm$ 1,2 |
| <b>Tag 6</b>   | 4,2        | $\pm$ 1,3 | 4,5      | $\pm$ 1,1 | 4,9       | $\pm$ 1,4  | 4,8   | $\pm$ 1,3 | 4,9  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag 7</b>   | 4,5        | $\pm$ 1,1 | 4,6      | $\pm$ 1,3 | 5,3       | $\pm$ 2,1  | 5,6   | $\pm$ 2,5 | 5,0  | $\pm$ 1,3 |
| <b>Tag 8</b>   | 4,6        | $\pm$ 1,1 | 4,2      | $\pm$ 1,1 | 4,9       | $\pm$ 1,6  | 4,9   | $\pm$ 1,7 | 4,6  | $\pm$ 1,2 |
| <b>Tag 9</b>   | *          |           | 4,0      | $\pm$ 0,9 | 5,1       | $\pm$ 1,1  |       |           |      |           |
| <b>Tag10</b>   | 3,3        | $\pm$ 0,9 | 3,4      | $\pm$ 0,9 | 4,8       | $\pm$ 2,2  |       |           |      |           |
| <b>Tag11</b>   | 4,0        | $\pm$ 1,4 | 4,1      | $\pm$ 1,5 | 5,7       | $\pm$ 2,2  |       |           |      |           |
| <b>Tag12</b>   | 4,2        | $\pm$ 1,0 | 3,1      | $\pm$ 0,5 | 5,3       | $\pm$ 2,7  |       |           |      |           |
| <b>Tag13</b>   | 3,7        | $\pm$ 1,2 | 4,7      | $\pm$ 1,0 | 4,8       | $\pm$ 0,9  |       |           |      |           |
| <b>Tag14</b>   | 2,8        | $\pm$ 0,8 | 3,4      | $\pm$ 0,8 | 5,4       | $\pm$ 1,0  |       |           |      |           |

\* Werte nicht berechenbar

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die TOB/NHV ist bei der High/coli-Gruppe an den Tagen 1 und 2 erhöht. Die anderen Gruppen zeigen zu diesem Zeitpunkt keine Veränderungen. Für TOB/NHV ergibt sich an den Tagen -3 bis 8 ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Am Tag 1 zeigt die High/coli-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe, der Low/coli-Gruppe sowie mit der C.p.-Gruppe signifikante Unterschiede.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 19: Zeit in Sekunden auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3 Angstbezogene Parameter

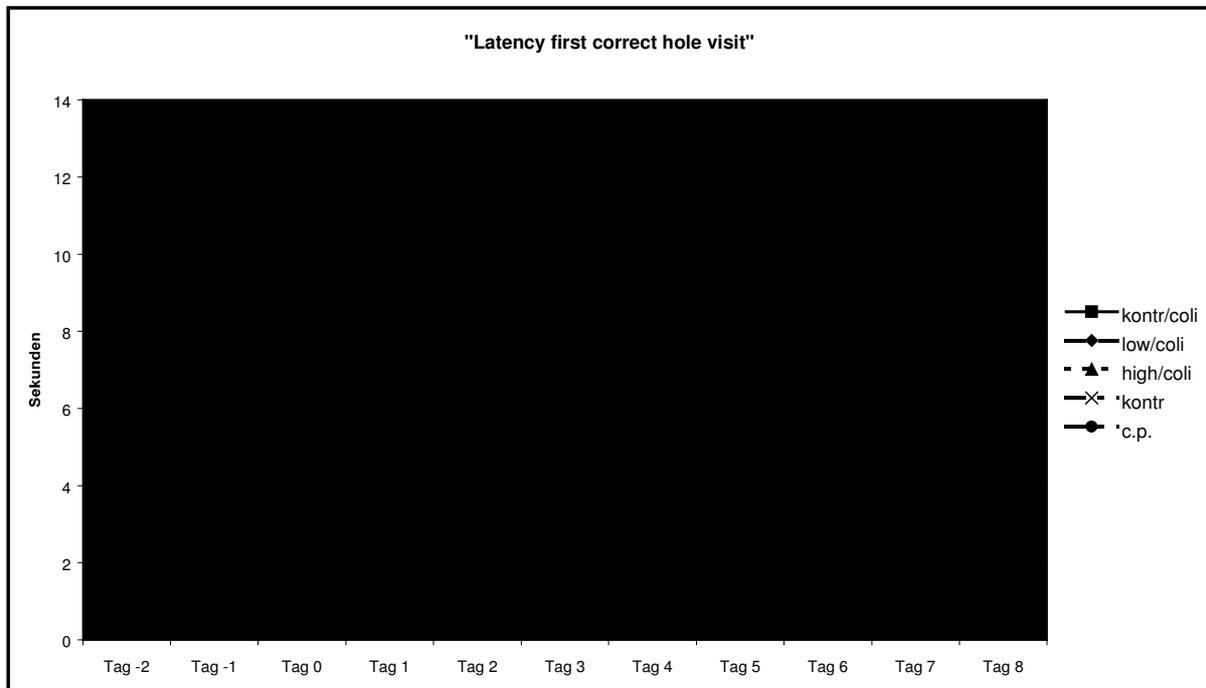
#### 3.7.2.3.1 Latency first correct hole visit

**Tabelle 17: Zeit in Sekunden, bis das erste markierte Loch besucht wird (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|---------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|               | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag-11</b> | 16         | $\pm$ 5  | 25       | $\pm$ 11 | 41        | $\pm$ 31 | 13    | $\pm$ 3  | 24   | $\pm$ 20 |
| <b>Tag-10</b> | 25         | $\pm$ 18 | 30       | $\pm$ 25 | 23        | $\pm$ 14 | 10    | $\pm$ 2  | 16   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag -9</b> | 24         | $\pm$ 25 | 12       | $\pm$ 5  | 23        | $\pm$ 17 | 4     | $\pm$ 2  | 11   | $\pm$ 6  |
| <b>Tag -8</b> | 14         | $\pm$ 13 | 15       | $\pm$ 20 | 17        | $\pm$ 17 | 19    | $\pm$ 13 | 21   | $\pm$ 37 |
| <b>Tag -7</b> | 7          | $\pm$ 7  | 13       | $\pm$ 11 | 26        | $\pm$ 22 | 33    | $\pm$ 52 | 14   | $\pm$ 18 |
| <b>Tag -6</b> | 10         | $\pm$ 6  | 7        | $\pm$ 5  | 19        | $\pm$ 19 | 18    | $\pm$ 14 | 11   | $\pm$ 13 |
| <b>Tag -5</b> | 6          | $\pm$ 5  | 6        | $\pm$ 4  | 13        | $\pm$ 9  | 9     | $\pm$ 7  | 10   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag -4</b> | 7          | $\pm$ 5  | 5        | $\pm$ 4  | 11        | $\pm$ 8  | 8     | $\pm$ 0  | 8    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b> | 8          | $\pm$ 6  | 4        | $\pm$ 2  | 10        | $\pm$ 8  | 7     | $\pm$ 4  | 10   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag -2</b> | 4          | $\pm$ 2  | 7        | $\pm$ 8  | 7         | $\pm$ 4  | 7     | $\pm$ 8  | 7    | $\pm$ 5  |
| <b>Tag -1</b> | 5          | $\pm$ 4  | 3        | $\pm$ 2  | 4         | $\pm$ 2  | 5     | $\pm$ 7  | 6    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 0</b>  | 7          | $\pm$ 4  | 9        | $\pm$ 4  | 9         | $\pm$ 6  | 7     | $\pm$ 7  | 5    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 1</b>  | 7          | $\pm$ 4  | 9        | $\pm$ 4  | 12        | $\pm$ 9  | 8     | $\pm$ 12 | 5    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 2</b>  | 4          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 1  | 13        | $\pm$ 11 | 6     | $\pm$ 4  | 4    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag 3</b>  | 3          | $\pm$ 2  | 3        | $\pm$ 1  | 7         | $\pm$ 7  | 3     | $\pm$ 2  | 4    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag 4</b>  | 4          | $\pm$ 2  | 4        | $\pm$ 2  | 9         | $\pm$ 5  | 5     | $\pm$ 4  | 4    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 5</b>  | 3          | $\pm$ 2  | 3        | $\pm$ 2  | 4         | $\pm$ 3  | 5     | $\pm$ 6  | 4    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 6</b>  | 6          | $\pm$ 3  | 5        | $\pm$ 4  | 5         | $\pm$ 4  | 5     | $\pm$ 4  | 4    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 7</b>  | 4          | $\pm$ 2  | 5        | $\pm$ 4  | 7         | $\pm$ 7  | 5     | $\pm$ 4  | 3    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 8</b>  | 4          | $\pm$ 2  | 4        | $\pm$ 1  | 6         | $\pm$ 3  | 6     | $\pm$ 4  | 3    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 9</b>  | 3          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 1  | 5         | $\pm$ 3  | 5     | $\pm$ 6  | 3    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 10</b> | 2          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 1  | 5         | $\pm$ 5  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b> | 2          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 1  | 4         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b> | 2          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 3  | 4         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b> | 5          | $\pm$ 2  | 7        | $\pm$ 2  | 7         | $\pm$ 3  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b> | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 2  | 3         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 17 zeigt die Mittelwerte und die Standardabweichungen in Sekunden, die die Tiere pro Durchlauf benötigen, um das erste Loch aufzufinden. An den Tagen 1 und 2 zeigen die Tiere der High/coli-Gruppe eine leichte Verzögerung. Zwischen den Gruppen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 20: Zeit in Sekunden, bis das erste markierte Loch besucht wird**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3.2 Latency food intake (LFI)

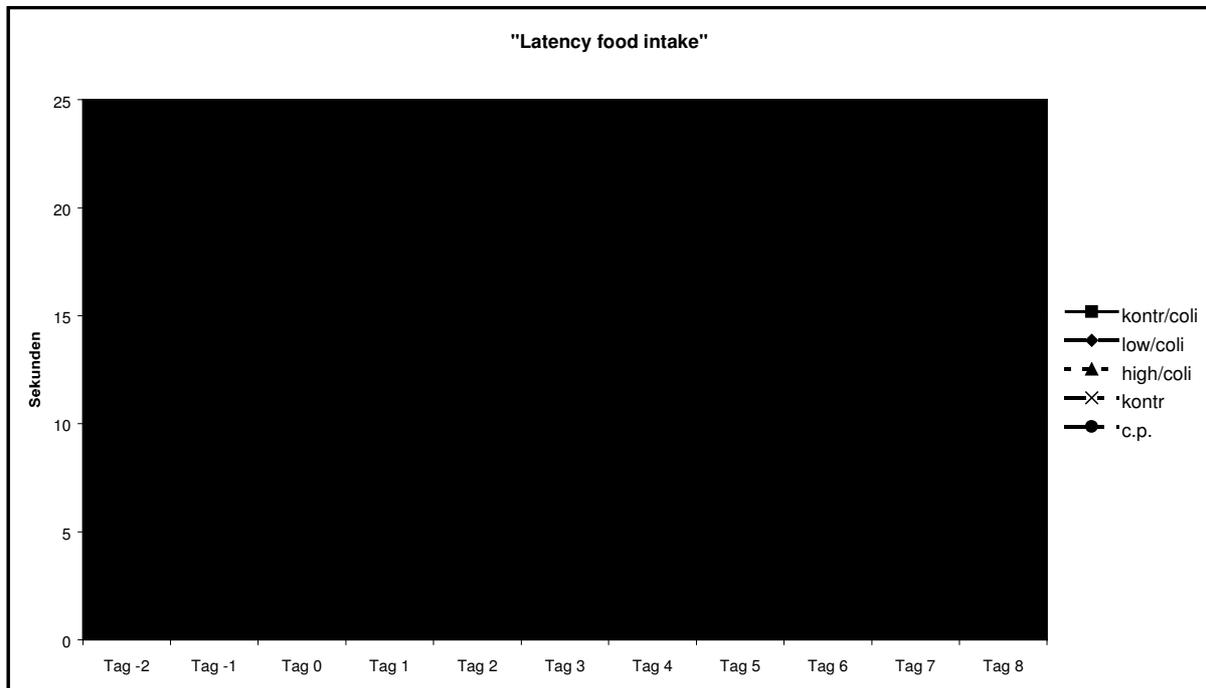
**Tabelle 18: LFI in Sekunden (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|---------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|               | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag-11</b> | 31         | $\pm$ 20 | 38       | $\pm$ 11 | 56        | $\pm$ 35 | 19    | $\pm$ 2  | 28   | $\pm$ 21 |
| <b>Tag-10</b> | 40         | $\pm$ 33 | 39       | $\pm$ 27 | 70        | $\pm$ 70 | 17    | $\pm$ 4  | 20   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag -9</b> | 35         | $\pm$ 35 | 23       | $\pm$ 15 | 27        | $\pm$ 25 | 9     | $\pm$ 4  | 14   | $\pm$ 6  |
| <b>Tag -8</b> | 25         | $\pm$ 30 | 21       | $\pm$ 22 | 29        | $\pm$ 29 | 38    | $\pm$ 40 | 25   | $\pm$ 37 |
| <b>Tag -7</b> | 11         | $\pm$ 8  | 17       | $\pm$ 14 | 34        | $\pm$ 24 | 42    | $\pm$ 64 | 17   | $\pm$ 19 |
| <b>Tag -6</b> | 14         | $\pm$ 10 | 9        | $\pm$ 5  | 22        | $\pm$ 16 | 22    | $\pm$ 15 | 15   | $\pm$ 15 |
| <b>Tag -5</b> | 9          | $\pm$ 6  | 9        | $\pm$ 6  | 16        | $\pm$ 12 | 12    | $\pm$ 7  | 13   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag -4</b> | 9          | $\pm$ 5  | 8        | $\pm$ 5  | 17        | $\pm$ 12 | 11    | $\pm$ 0  | 11   | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b> | 11         | $\pm$ 10 | 5        | $\pm$ 2  | 16        | $\pm$ 17 | 10    | $\pm$ 4  | 13   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag -2</b> | 6          | $\pm$ 3  | 9        | $\pm$ 8  | 9         | $\pm$ 5  | 9     | $\pm$ 8  | 9    | $\pm$ 5  |
| <b>Tag -1</b> | 9          | $\pm$ 8  | 6        | $\pm$ 5  | 8         | $\pm$ 4  | 8     | $\pm$ 7  | 8    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 0</b>  | 9          | $\pm$ 4  | 11       | $\pm$ 5  | 13        | $\pm$ 10 | 9     | $\pm$ 6  | 8    | $\pm$ 5  |
| <b>Tag 1</b>  | 8          | $\pm$ 4  | 11       | $\pm$ 4  | 21        | $\pm$ 12 | 10    | $\pm$ 12 | 7    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag 2</b>  | 7          | $\pm$ 5  | 6        | $\pm$ 3  | 18        | $\pm$ 15 | 7     | $\pm$ 4  | 6    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag 3</b>  | 7          | $\pm$ 5  | 6        | $\pm$ 2  | 10        | $\pm$ 7  | 5     | $\pm$ 2  | 7    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag 4</b>  | 5          | $\pm$ 3  | 5        | $\pm$ 2  | 11        | $\pm$ 6  | 7     | $\pm$ 6  | 6    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 5</b>  | 4          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 2  | 8         | $\pm$ 6  | 7     | $\pm$ 7  | 6    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 6</b>  | 9          | $\pm$ 4  | 6        | $\pm$ 4  | 8         | $\pm$ 4  | 7     | $\pm$ 4  | 6    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 7</b>  | 6          | $\pm$ 3  | 6        | $\pm$ 4  | 8         | $\pm$ 7  | 7     | $\pm$ 4  | 5    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 8</b>  | 7          | $\pm$ 2  | 6        | $\pm$ 2  | 7         | $\pm$ 3  | 8     | $\pm$ 4  | 5    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 9</b>  | 5          | $\pm$ 2  | 5        | $\pm$ 1  | 8         | $\pm$ 4  | 7     | $\pm$ 6  | 5    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 10</b> | 4          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 1  | 7         | $\pm$ 5  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b> | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 1  | 7         | $\pm$ 4  |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b> | 4          | $\pm$ 2  | 5        | $\pm$ 3  | 5         | $\pm$ 3  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b> | 6          | $\pm$ 2  | 9        | $\pm$ 3  | 8         | $\pm$ 4  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b> | 4          | $\pm$ 1  | 4        | $\pm$ 2  | 5         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |

In Tabelle 18 wird die durchschnittliche Zeit pro Durchlauf in Sekunden angegeben, nach der die Tiere anfangen, erstmals die Futterbelohnung zu fressen. Bei der High/coli-Gruppe tritt an

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tag 1 und Tag 2 eine deutliche, aber im Gruppenvergleich nicht signifikante Verzögerung auf.



|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| kontr/coli | Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe |
| low/coli   | Mittelwerte der Low/coli-Gruppe       |
| high/coli  | Mittelwerte der High/coli-Gruppe      |
| kontr      | Mittelwerte der Kontrollgruppe        |
| c.p.       | Mittelwerte der C.p.-Gruppe           |

**Abbildung 21: Zeit in Sekunden bis die erste Futterbelohnung gefunden wird**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3.3 Number of group contacts

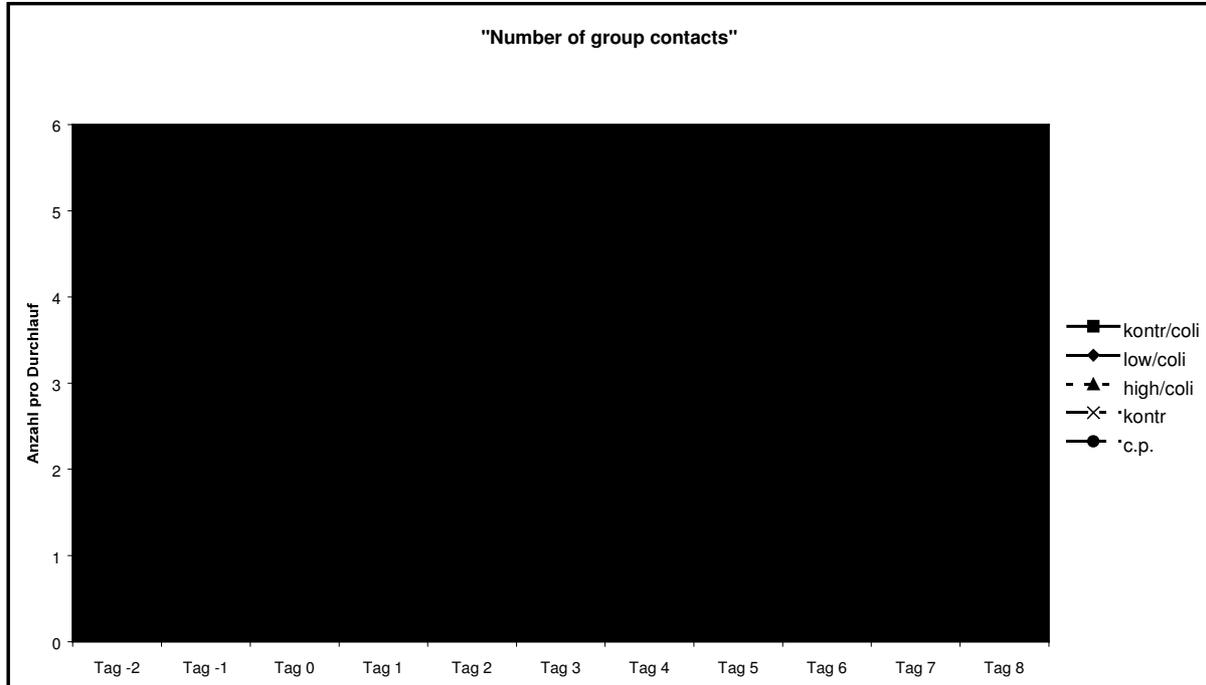
**Tabelle 19: Kontakte zu den Artgenossen während eines Durchlaufs (MW  $\pm$ SD)**

|                | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|----------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|                | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag -11</b> | 3,7        | $\pm$ 1,7 | 6,4      | $\pm$ 3,0 | 7,4       | $\pm$ 3,4 | 1,6   | $\pm$ 0,9 | 4,9  | $\pm$ 3,3 |
| <b>Tag -10</b> | 4,6        | $\pm$ 2,1 | 3,4      | $\pm$ 1,8 | 8,1       | $\pm$ 6,1 | 1,8   | $\pm$ 0,5 | 2,7  | $\pm$ 1,3 |
| <b>Tag -9</b>  | 3,0        | $\pm$ 1,3 | 3,6      | $\pm$ 3,9 | 5,2       | $\pm$ 4,8 | 1,0   | $\pm$ 0,5 | 2,7  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -8</b>  | 3,0        | $\pm$ 1,5 | 2,6      | $\pm$ 2,1 | 5,0       | $\pm$ 2,8 | 4,9   | $\pm$ 4,8 | 3,7  | $\pm$ 4,1 |
| <b>Tag -7</b>  | 1,8        | $\pm$ 1,3 | 2,3      | $\pm$ 2,1 | 4,4       | $\pm$ 3,1 | 5,8   | $\pm$ 5,8 | 3,4  | $\pm$ 3,2 |
| <b>Tag -6</b>  | 1,7        | $\pm$ 0,7 | 2,1      | $\pm$ 1,1 | 3,5       | $\pm$ 2,8 | 3,2   | $\pm$ 2,1 | 2,8  | $\pm$ 2,1 |
| <b>Tag -5</b>  | 2,2        | $\pm$ 1,9 | 1,3      | $\pm$ 0,8 | 2,7       | $\pm$ 1,8 | 1,6   | $\pm$ 0,8 | 1,9  | $\pm$ 1,8 |
| <b>Tag -4</b>  | 1,6        | $\pm$ 0,8 | 1,1      | $\pm$ 0,7 | 2,6       | $\pm$ 1,8 | 1,7   | $\pm$ 0,0 | 1,7  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b>  | 1,3        | $\pm$ 0,6 | 0,9      | $\pm$ 0,8 | 3,4       | $\pm$ 3,5 | 1,3   | $\pm$ 1,2 | 1,5  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -2</b>  | 1,1        | $\pm$ 0,9 | 1,3      | $\pm$ 1,7 | 1,9       | $\pm$ 1,4 | 1,3   | $\pm$ 1,4 | 1,1  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag -1</b>  | 1,4        | $\pm$ 0,7 | 0,6      | $\pm$ 0,7 | 1,2       | $\pm$ 0,8 | 1,4   | $\pm$ 1,2 | 1,0  | $\pm$ 1,1 |
| <b>Tag 0</b>   | 1,3        | $\pm$ 0,9 | 0,9      | $\pm$ 0,8 | 1,6       | $\pm$ 0,9 | 1,4   | $\pm$ 1,2 | 0,9  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag 1</b>   | 1,8        | $\pm$ 1,1 | 1,4      | $\pm$ 0,6 | 5,2       | $\pm$ 3,4 | 0,8   | $\pm$ 1,2 | 1,0  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag 2</b>   | 1,3        | $\pm$ 0,5 | 0,9      | $\pm$ 0,5 | 2,3       | $\pm$ 1,7 | 1,2   | $\pm$ 1,0 | 1,0  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag 3</b>   | 1,0        | $\pm$ 0,6 | 1,1      | $\pm$ 0,5 | 1,6       | $\pm$ 1,3 | 0,9   | $\pm$ 0,5 | 0,5  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 4</b>   | 0,9        | $\pm$ 0,5 | 0,9      | $\pm$ 0,5 | 2,3       | $\pm$ 2,0 | 1,0   | $\pm$ 0,7 | 0,9  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 5</b>   | 1,1        | $\pm$ 0,7 | 0,9      | $\pm$ 0,5 | 2,2       | $\pm$ 2,5 | 1,0   | $\pm$ 0,8 | 0,5  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 6</b>   | 1,1        | $\pm$ 0,6 | 0,9      | $\pm$ 0,6 | 1,4       | $\pm$ 1,2 | 1,2   | $\pm$ 1,0 | 0,5  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 7</b>   | 1,6        | $\pm$ 0,6 | 1,4      | $\pm$ 1,4 | 1,7       | $\pm$ 1,7 | 0,8   | $\pm$ 0,8 | 0,4  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 8</b>   | 1,0        | $\pm$ 0,6 | 0,6      | $\pm$ 0,5 | 1,4       | $\pm$ 1,6 | 0,8   | $\pm$ 0,8 | 0,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 9</b>   | 0,9        | $\pm$ 0,5 | 0,9      | $\pm$ 0,6 | 2,0       | $\pm$ 1,7 | 0,8   | $\pm$ 0,9 | 0,5  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 10</b>  | 0,6        | $\pm$ 0,4 | 0,7      | $\pm$ 0,7 | 1,8       | $\pm$ 1,8 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b>  | 0,9        | $\pm$ 0,4 | 0,6      | $\pm$ 0,4 | 2,0       | $\pm$ 1,5 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b>  | 0,5        | $\pm$ 0,3 | 0,5      | $\pm$ 0,7 | 0,7       | $\pm$ 0,7 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b>  | 0,9        | $\pm$ 0,3 | 0,7      | $\pm$ 0,5 | 1,4       | $\pm$ 1,0 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b>  | 0,6        | $\pm$ 0,4 | 0,6      | $\pm$ 0,5 | 1,4       | $\pm$ 1,3 |       |           |      |           |

Tabelle 19 zeigt die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Anzahl der Kontaktaufnahmen zu anderen Artgenossen während eines Durchlaufs. An den Tagen -4 bis 0

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

sind die Werte der einzelnen Gruppen stabil. Am Tag 1 steigt die Anzahl der Kontakte zu anderen Tieren bei der High/coli-Gruppe von unter 3 auf 5,2 an. Die Werte weisen jedoch im Zeitraum Tag -3 bis Tag 8 zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied auf.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli        Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 22: Anzahl der Kontakte zu den Artgenossen**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3.4 Grooming

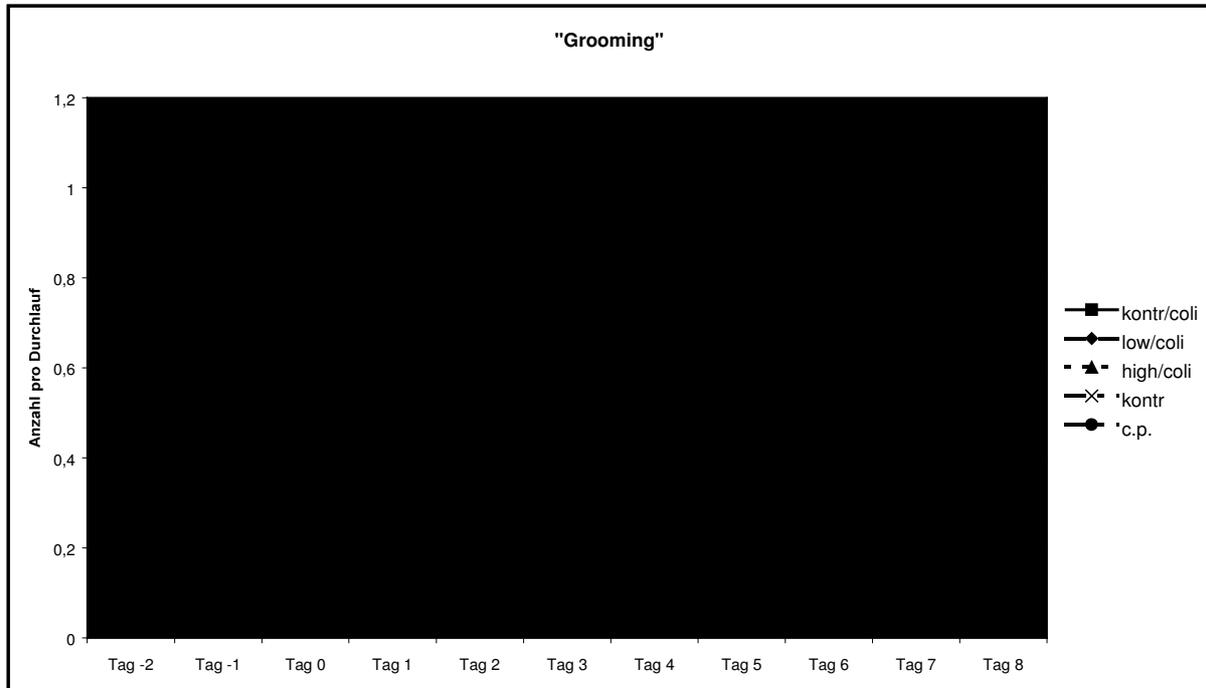
**Tabelle 20: Durchschnittliche Anzahl der Putzvorgänge während eines Durchlaufs (MW  $\pm$ SD)**

|                | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|----------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|                | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag -10</b> | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,6      | $\pm$ 0,5 | 1,1       | $\pm$ 1,1 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -9</b>  | 0,4        | $\pm$ 0,6 | 0,4      | $\pm$ 0,5 | 0,8       | $\pm$ 0,8 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag -8</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,4 | 0,4      | $\pm$ 0,3 | 1,2       | $\pm$ 0,9 | 0,5   | $\pm$ 0,6 | 0,6  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag -7</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,5 | 0,3      | $\pm$ 0,5 | 1,1       | $\pm$ 0,8 | 0,7   | $\pm$ 0,7 | 0,5  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag -6</b>  | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,2      | $\pm$ 0,4 | 0,4       | $\pm$ 0,8 | 0,4   | $\pm$ 0,4 | 0,2  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag -5</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,4 | 0,2      | $\pm$ 0,4 | 0,4       | $\pm$ 0,5 | 0,2   | $\pm$ 0,2 | 0,4  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -4</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,4       | $\pm$ 0,4 | 0,2   | $\pm$ 0,0 | 0,2  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,2      | $\pm$ 0,4 | 0,7       | $\pm$ 1,1 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,3  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag -2</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,3 | 0,2      | $\pm$ 0,4 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,3  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag -1</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 0</b>   | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,4 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 1</b>   | 0,3        | $\pm$ 0,3 | 0,7      | $\pm$ 0,6 | 1,0       | $\pm$ 1,2 | 0,1   | $\pm$ 0,3 | 0,3  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 2</b>   | 0,2        | $\pm$ 0,3 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,9       | $\pm$ 0,7 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,3  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 3</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,4 | 0,1   | $\pm$ 0,1 | 0,3  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 4</b>   | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,3       | $\pm$ 0,4 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 5</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,1       | $\pm$ 0,1 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,2  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 6</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,0       | $\pm$ 0,1 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 7</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,2       | $\pm$ 0,4 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 8</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,5 | 0,3       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 9</b>   | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,2 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,1  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 10</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,0       | $\pm$ 0,1 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,2       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,5 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b>  | 0,1        | $\pm$ 0,1 | 0,2      | $\pm$ 0,5 | 0,1       | $\pm$ 0,2 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,4 |       |           |      |           |

Aus Tabelle 20 ist die durchschnittliche Anzahl der Putzvorgänge der Ratten pro Durchlauf ersichtlich. Ab Tag 4 bleiben die Werte der einzelnen Gruppen in etwa konstant. Die Ratten

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

der Low/coli-Gruppe putzen sich am Tag 1 deutlich häufiger als an den anderen Tagen. Bei der High/coli-Gruppe nimmt die Häufigkeit des Putzens an den Tagen 1 und 2 stark zu. Zwischen den Gruppen ergeben sich jedoch an den Tagen -3 bis 8 keine signifikanten Unterschiede.



|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| kontr/coli | Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe |
| low/coli   | Mittelwerte der Low/coli-Gruppe       |
| high/coli  | Mittelwerte der High/coli-Gruppe      |
| kontr      | Mittelwerte der Kontrollgruppe        |
| c.p.       | Mittelwerte der C.p.-Gruppe           |

**Abbildung 23: Anzahl der Putzvorgänge pro Tier während eines Durchlaufs**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

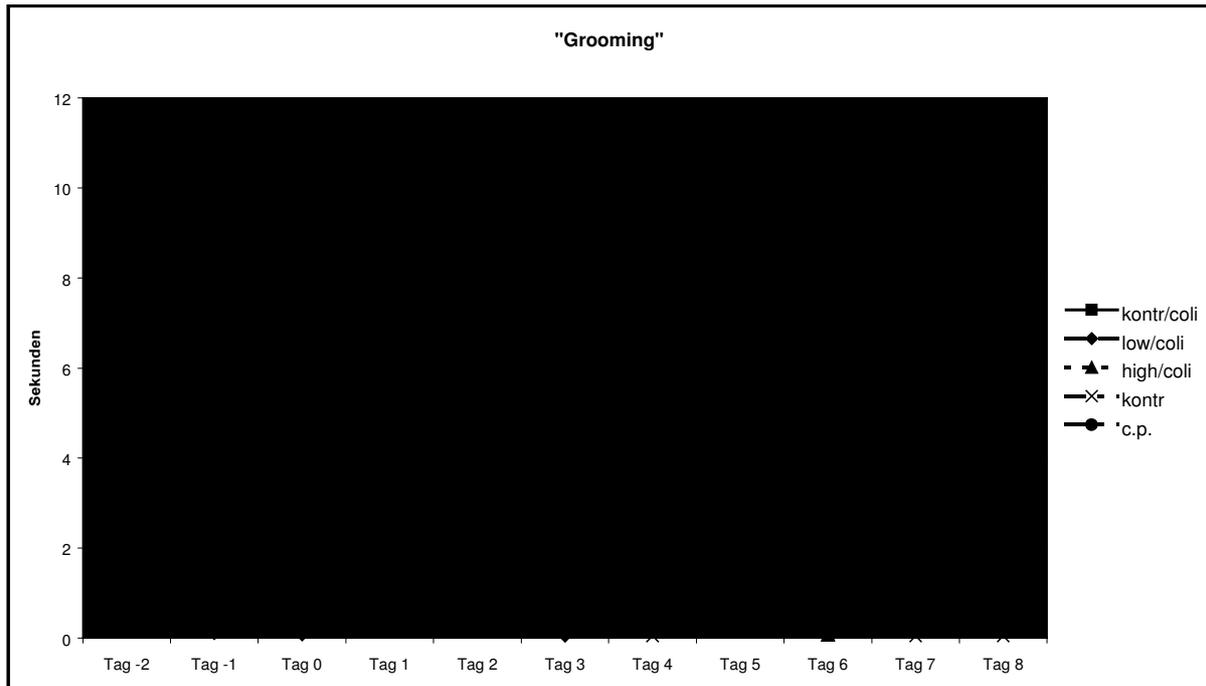
### 3.7.2.3.5 Grooming Dauer

**Tabelle 21: Durchschnittliche Zeit in Sekunden, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird (MW  $\pm$ SD); (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|                | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|----------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|                | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag -10</b> | 1          | $\pm$ 2  | 2        | $\pm$ 2  | 32        | $\pm$ 68 | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag -9</b>  | 5          | $\pm$ 7  | 1        | $\pm$ 1  | 5         | $\pm$ 6  | 0     | $\pm$ 0  | 3    | $\pm$ 8  |
| <b>Tag -8</b>  | 8          | $\pm$ 14 | 1        | $\pm$ 2  | 7         | $\pm$ 6  | 2     | $\pm$ 2  | 2    | $\pm$ 4  |
| <b>Tag -7</b>  | 4          | $\pm$ 9  | 1        | $\pm$ 1  | 7         | $\pm$ 7  | 2     | $\pm$ 2  | 2    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag -6</b>  | 5          | $\pm$ 11 | 0        | $\pm$ 0  | 2         | $\pm$ 4  | 2     | $\pm$ 2  | 1    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag -5</b>  | 5          | $\pm$ 8  | 1        | $\pm$ 1  | 1         | $\pm$ 2  | 0     | $\pm$ 1  | 1    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag -4</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 1        | $\pm$ 1  | 4         | $\pm$ 7  | 1     | $\pm$ 0  | 1    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 1        | $\pm$ 3  | 2         | $\pm$ 5  | 0     | $\pm$ 0  | 1    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag -2</b>  | 0          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 6  | 0         | $\pm$ 1  | 0     | $\pm$ 1  | 1    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag -1</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 0</b>   | 0          | $\pm$ 1  | 0        | $\pm$ 0  | 1         | $\pm$ 2  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 1</b>   | 1          | $\pm$ 1  | 5        | $\pm$ 9  | 10        | $\pm$ 12 | 0     | $\pm$ 1  | 2    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag 2</b>   | 1          | $\pm$ 2  | 1        | $\pm$ 1  | 8         | $\pm$ 6  | 0     | $\pm$ 0  | 1    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 3</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 1         | $\pm$ 1  | 0     | $\pm$ 0  | 1    | $\pm$ 2  |
| <b>Tag 4</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 1         | $\pm$ 2  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 5</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 6</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 7</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 1         | $\pm$ 2  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag 8</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 1         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 9</b>   | 0          | $\pm$ 1  | 0        | $\pm$ 0  | 1         | $\pm$ 2  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 10</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 1         | $\pm$ 1  |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 1  | 0         | $\pm$ 1  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 2         | $\pm$ 3  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In der Tabelle 21 ist die durchschnittliche Dauer der Putzvorgänge eines Durchlaufs dargestellt. Bei der High/coli-Gruppe fällt ein deutlicher Anstieg der Dauer an den Tagen 1 bis 2 auf, bei den Low/coli-Tieren nur an Tag 1. Die Dauer des Putzens weist an den Tagen -3 bis 8 zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede auf (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Die High/coli-Gruppe weist gegenüber allen anderen Gruppen am Tag 2 einen signifikanten Unterschied auf.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 24: Dauer des Putzens pro Durchlauf in Sekunden (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3.6 Aufrichten

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Häufigkeit des Aufrichtens auf die Hinterbeine während eines Durchlaufs werden in Tabelle 22 dargestellt. Sie weisen keine signifikanten Veränderungen auf.

**Tabelle 22: Durchschnittliche Anzahl des “männchen-machens” während eines Durchlaufs (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-10</b> | 2,5        | $\pm$ 1,6 | 1,9      | $\pm$ 0,6 | 3,8       | $\pm$ 1,2 | 0,5   | $\pm$ 0,4 | 1,5  | $\pm$ 0,9 |
| <b>Tag -9</b> | 1,8        | $\pm$ 1,2 | 2,1      | $\pm$ 1,8 | 2,2       | $\pm$ 2,0 | 0,7   | $\pm$ 0,9 | 2,1  | $\pm$ 1,0 |
| <b>Tag -8</b> | 1,1        | $\pm$ 0,9 | 1,3      | $\pm$ 1,5 | 3,0       | $\pm$ 1,6 | 3,5   | $\pm$ 5,0 | 1,6  | $\pm$ 1,4 |
| <b>Tag -7</b> | 0,7        | $\pm$ 0,6 | 1,4      | $\pm$ 1,2 | 2,6       | $\pm$ 2,8 | 2,9   | $\pm$ 3,3 | 1,2  | $\pm$ 1,2 |
| <b>Tag -6</b> | 0,8        | $\pm$ 0,5 | 1,3      | $\pm$ 1,1 | 2,3       | $\pm$ 2,0 | 1,3   | $\pm$ 1,2 | 0,8  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag -5</b> | 1,1        | $\pm$ 0,6 | 0,8      | $\pm$ 0,6 | 1,2       | $\pm$ 0,5 | 0,8   | $\pm$ 0,4 | 0,7  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag -4</b> | 0,6        | $\pm$ 0,3 | 0,5      | $\pm$ 0,3 | 1,2       | $\pm$ 0,7 | 0,7   | $\pm$ 0,0 | 0,7  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 0,7        | $\pm$ 0,5 | 0,5      | $\pm$ 0,4 | 2,0       | $\pm$ 2,8 | 0,6   | $\pm$ 0,4 | 0,7  | $\pm$ 0,8 |
| <b>Tag -2</b> | 0,5        | $\pm$ 0,6 | 0,6      | $\pm$ 0,3 | 1,2       | $\pm$ 1,0 | 0,5   | $\pm$ 0,5 | 0,5  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag -1</b> | 0,6        | $\pm$ 0,7 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,3       | $\pm$ 0,3 | 0,8   | $\pm$ 0,9 | 0,5  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 0</b>  | 0,6        | $\pm$ 0,3 | 0,8      | $\pm$ 0,8 | 0,8       | $\pm$ 0,7 | 0,8   | $\pm$ 0,8 | 0,4  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 1</b>  | 0,6        | $\pm$ 0,5 | 0,8      | $\pm$ 0,9 | 1,0       | $\pm$ 0,6 | 0,3   | $\pm$ 0,4 | 0,4  | $\pm$ 0,5 |
| <b>Tag 2</b>  | 0,6        | $\pm$ 0,3 | 0,5      | $\pm$ 0,5 | 0,8       | $\pm$ 0,9 | 0,7   | $\pm$ 0,7 | 0,5  | $\pm$ 0,6 |
| <b>Tag 3</b>  | 0,3        | $\pm$ 0,2 | 0,7      | $\pm$ 0,5 | 0,4       | $\pm$ 0,5 | 0,5   | $\pm$ 0,6 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 4</b>  | 0,5        | $\pm$ 0,3 | 0,3      | $\pm$ 0,3 | 0,6       | $\pm$ 1,0 | 0,4   | $\pm$ 0,3 | 0,3  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag 5</b>  | 0,4        | $\pm$ 0,4 | 0,5      | $\pm$ 0,5 | 0,6       | $\pm$ 1,3 | 0,4   | $\pm$ 0,4 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 6</b>  | 0,5        | $\pm$ 0,5 | 0,5      | $\pm$ 0,4 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,8   | $\pm$ 0,8 | 0,2  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag 7</b>  | 1,0        | $\pm$ 0,7 | 0,6      | $\pm$ 0,7 | 0,5       | $\pm$ 0,6 | 0,4   | $\pm$ 0,4 | 0,1  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 8</b>  | 0,5        | $\pm$ 0,3 | 0,3      | $\pm$ 0,2 | 0,3       | $\pm$ 0,3 | 0,4   | $\pm$ 0,2 | 0,1  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 9</b>  | 0,5        | $\pm$ 0,4 | 0,4      | $\pm$ 0,4 | 0,4       | $\pm$ 0,5 | 0,5   | $\pm$ 0,4 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag 10</b> | 0,2        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,2 | 0,6       | $\pm$ 0,7 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 0,1        | $\pm$ 0,2 | 0,2      | $\pm$ 0,3 | 0,8       | $\pm$ 1,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,3      | $\pm$ 0,9 | 0,3       | $\pm$ 0,4 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 0,2        | $\pm$ 0,1 | 0,1      | $\pm$ 0,1 | 0,6       | $\pm$ 0,4 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 0,3        | $\pm$ 0,2 | 0,3      | $\pm$ 0,4 | 0,4       | $\pm$ 0,4 |       |           |      |           |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.3.7 Bolus

In Tabelle 23 wird die Häufigkeit des Kotabsatzes während eines Durchlaufs angegeben. Von Tag – 4 an zeigen die Tiere keine Tendenz, mehr Kot abzusetzen. Lediglich bei der High/coli-Gruppe kommt es von Tag 1 an bis zum Versuchsende vermehrt zum Kotabsatz. Für den Kotabsatz ergibt sich zwischen den Gruppen keine Signifikanz.

**Tabelle 23: Durchschnittliche Anzahl der abgesetzten Kotballen während eines Durchlaufs (MW  $\pm$ SD)**

|               | Kontr/coli |           | Low/coli |           | High/coli |           | Kontr |           | C.p. |           |
|---------------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|------|-----------|
|               | MW         | $\pm$ SD  | MW       | $\pm$ SD  | MW        | $\pm$ SD  | MW    | $\pm$ SD  | MW   | $\pm$ SD  |
| <b>Tag-10</b> | 0,0        | $\pm$ 0,1 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,2       | $\pm$ 0,5 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag -9</b> | 0,2        | $\pm$ 0,4 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,2       | $\pm$ 0,6 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag -8</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,0  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag -7</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,2       | $\pm$ 0,3 | 0,1   | $\pm$ 0,2 | 0,1  | $\pm$ 0,4 |
| <b>Tag -6</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,1   | $\pm$ 0,3 | 0,1  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -5</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,1 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,2 |
| <b>Tag -4</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag -3</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,1  | $\pm$ 0,3 |
| <b>Tag -2</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,1 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,1 | 0,0  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag -1</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 0</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,1      | $\pm$ 0,2 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 1</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,2       | $\pm$ 0,5 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 2</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,2 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,1 |
| <b>Tag 3</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 4</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 5</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,3       | $\pm$ 0,5 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 6</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 7</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,3 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 8</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,2       | $\pm$ 0,4 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 9</b>  | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 | 0,0   | $\pm$ 0,0 | 0,0  | $\pm$ 0,0 |
| <b>Tag 10</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 11</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 |       |           |      |           |
| <b>Tag 12</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 |       |           |      |           |
| <b>Tag 13</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,1       | $\pm$ 0,3 |       |           |      |           |
| <b>Tag 14</b> | 0,0        | $\pm$ 0,0 | 0,0      | $\pm$ 0,0 | 0,0       | $\pm$ 0,0 |       |           |      |           |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

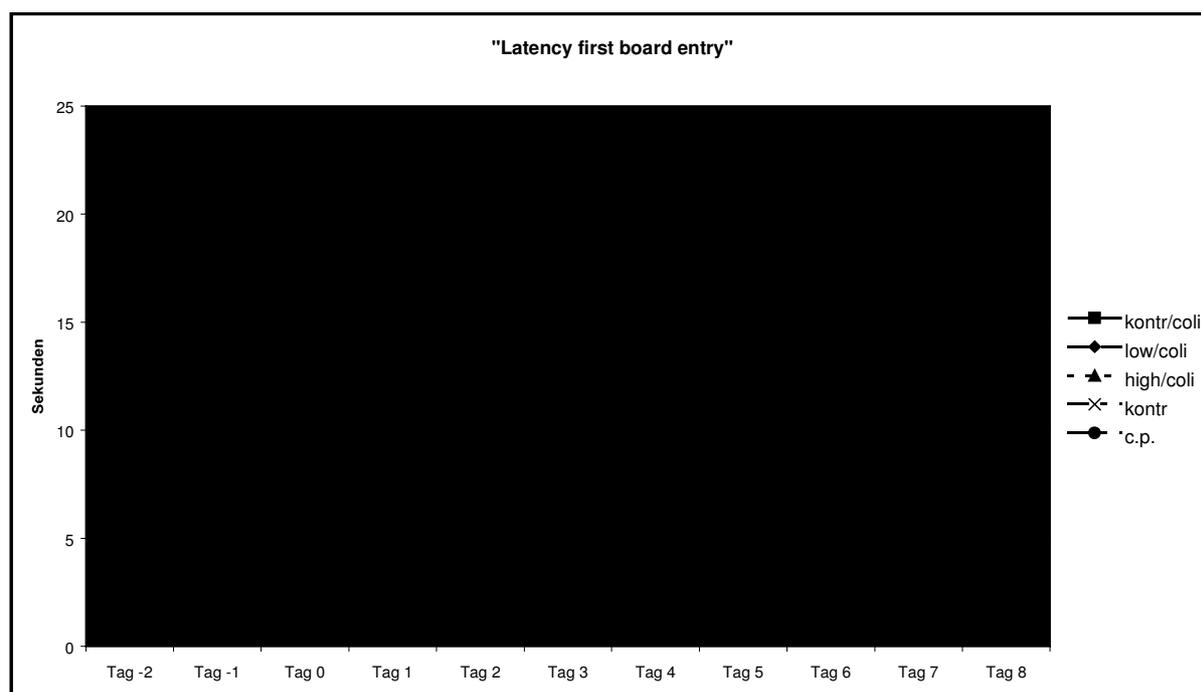
### 3.7.2.3.8 Latency first board entry

**Tabelle 24: Durchschnittliche Zeitspanne in Sekunden bis das Hole-Board erstmals betreten wird (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|        | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|--------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|        | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| Tag-11 | 9          | $\pm$ 1  | 17       | $\pm$ 6  | 17        | $\pm$ 9  | 8     | $\pm$ 2  | 13   | $\pm$ 9  |
| Tag-10 | 11         | $\pm$ 8  | 17       | $\pm$ 20 | 14        | $\pm$ 9  | 7     | $\pm$ 3  | 10   | $\pm$ 8  |
| Tag-9  | 8          | $\pm$ 5  | 9        | $\pm$ 5  | 12        | $\pm$ 11 | 3     | $\pm$ 1  | 8    | $\pm$ 4  |
| Tag-8  | 9          | $\pm$ 10 | 7        | $\pm$ 6  | 9         | $\pm$ 5  | 7     | $\pm$ 4  | 13   | $\pm$ 22 |
| Tag-7  | 5          | $\pm$ 3  | 5        | $\pm$ 3  | 14        | $\pm$ 9  | 10    | $\pm$ 7  | 7    | $\pm$ 5  |
| Tag-6  | 6          | $\pm$ 3  | 5        | $\pm$ 4  | 9         | $\pm$ 6  | 8     | $\pm$ 6  | 6    | $\pm$ 6  |
| Tag-5  | 4          | $\pm$ 4  | 4        | $\pm$ 3  | 9         | $\pm$ 6  | 5     | $\pm$ 2  | 5    | $\pm$ 4  |
| Tag-4  | 4          | $\pm$ 4  | 4        | $\pm$ 3  | 9         | $\pm$ 5  | 5     | $\pm$ 0  | 5    | $\pm$ 0  |
| Tag-3  | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 1  | 5         | $\pm$ 2  | 4     | $\pm$ 3  | 5    | $\pm$ 3  |
| Tag-2  | 2          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 2  | 5         | $\pm$ 2  | 3     | $\pm$ 4  | 3    | $\pm$ 2  |
| Tag-1  | 4          | $\pm$ 4  | 3        | $\pm$ 3  | 3         | $\pm$ 2  | 3     | $\pm$ 3  | 3    | $\pm$ 1  |
| Tag 0  | 4          | $\pm$ 3  | 6        | $\pm$ 5  | 5         | $\pm$ 3  | 4     | $\pm$ 2  | 3    | $\pm$ 2  |
| Tag 1  | 4          | $\pm$ 2  | 5        | $\pm$ 2  | 21        | $\pm$ 15 | 4     | $\pm$ 4  | 3    | $\pm$ 3  |
| Tag 2  | 3          | $\pm$ 2  | 2        | $\pm$ 1  | 12        | $\pm$ 12 | 3     | $\pm$ 2  | 3    | $\pm$ 2  |
| Tag 3  | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 2  | 5         | $\pm$ 5  | 2     | $\pm$ 1  | 3    | $\pm$ 3  |
| Tag 4  | 3          | $\pm$ 2  | 3        | $\pm$ 2  | 5         | $\pm$ 2  | 3     | $\pm$ 2  | 2    | $\pm$ 1  |
| Tag 5  | 2          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 1  | 4         | $\pm$ 3  | 2     | $\pm$ 1  | 2    | $\pm$ 1  |
| Tag 6  | 2          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 3  | 4         | $\pm$ 3  | 2     | $\pm$ 1  | 2    | $\pm$ 1  |
| Tag 7  | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 3  | 4         | $\pm$ 4  | 2     | $\pm$ 1  | 2    | $\pm$ 1  |
| Tag 8  | 2          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 3  | 3         | $\pm$ 2  | 3     | $\pm$ 3  | 1    | $\pm$ 0  |
| Tag 9  | 2          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 1  | 4         | $\pm$ 2  | 3     | $\pm$ 3  | 2    | $\pm$ 1  |
| Tag 10 | 2          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 2  | 3         | $\pm$ 4  |       |          |      |          |
| Tag 11 | 2          | $\pm$ 1  | 1        | $\pm$ 0  | 3         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |
| Tag 12 | 2          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 1  | 2         | $\pm$ 1  |       |          |      |          |
| Tag 13 | 3          | $\pm$ 1  | 3        | $\pm$ 2  | 4         | $\pm$ 3  |       |          |      |          |
| Tag 14 | 2          | $\pm$ 1  | 2        | $\pm$ 1  | 2         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 24 gibt die Dauer in Sekunden an, die die Tiere nach dem Einsetzen in die Versuchsarena benötigen, um das Hole-Board zu betreten. Sie nimmt von Versuchsanfang bis zu Versuchsende bei fast allen Gruppen kontinuierlich ab, lediglich bei den High/coli-Tieren tritt am Tag 1 und am Tag 2 eine deutliche Verzögerung auf. Für den Tag – 3 bis Tag 8 ergibt sich zwischen den Gruppen für die LFBE eine Signifikanz (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). An den Tagen 1 und 2 weist die High/coli-Gruppe gegenüber allen anderen Gruppen signifikante Unterschiede auf.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 25: Zeit in Sekunden bis das Hole-Board erstmals betreten wird (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.7.2.4 Hole-Board Parameter, die das Allgemeinbefinden betreffen

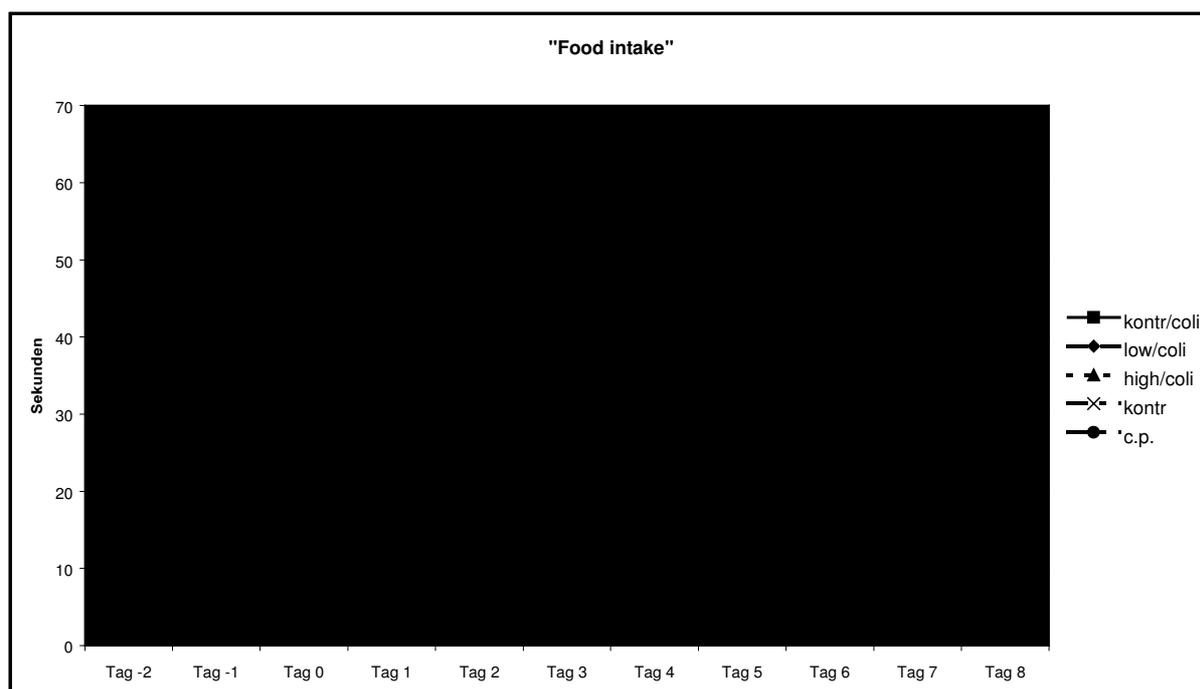
#### 3.7.2.4.1 Food intake

**Tabelle 25: Zeit in Sekunden pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|                | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|----------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|                | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag -10</b> | 36         | $\pm$ 5  | 39       | $\pm$ 11 | 35        | $\pm$ 9  | 29    | $\pm$ 10 | 28   | $\pm$ 5  |
| <b>Tag -9</b>  | 38         | $\pm$ 15 | 49       | $\pm$ 45 | 35        | $\pm$ 7  | 31    | $\pm$ 6  | 29   | $\pm$ 7  |
| <b>Tag -8</b>  | 36         | $\pm$ 17 | 35       | $\pm$ 9  | 46        | $\pm$ 15 | 33    | $\pm$ 16 | 34   | $\pm$ 13 |
| <b>Tag -7</b>  | 35         | $\pm$ 15 | 30       | $\pm$ 8  | 44        | $\pm$ 16 | 34    | $\pm$ 11 | 30   | $\pm$ 18 |
| <b>Tag -6</b>  | 33         | $\pm$ 8  | 29       | $\pm$ 9  | 39        | $\pm$ 13 | 29    | $\pm$ 10 | 33   | $\pm$ 14 |
| <b>Tag -5</b>  | 34         | $\pm$ 13 | 27       | $\pm$ 7  | 36        | $\pm$ 13 | 30    | $\pm$ 12 | 31   | $\pm$ 13 |
| <b>Tag -4</b>  | 32         | $\pm$ 8  | 31       | $\pm$ 10 | 33        | $\pm$ 11 | 28    | $\pm$ 0  | 28   | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b>  | 28         | $\pm$ 6  | 28       | $\pm$ 7  | 36        | $\pm$ 21 | 27    | $\pm$ 9  | 28   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag -2</b>  | 30         | $\pm$ 5  | 35       | $\pm$ 32 | 31        | $\pm$ 8  | 28    | $\pm$ 9  | 28   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag -1</b>  | 30         | $\pm$ 8  | 33       | $\pm$ 13 | 36        | $\pm$ 11 | 27    | $\pm$ 7  | 25   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag 0</b>   | 31         | $\pm$ 6  | 32       | $\pm$ 8  | 30        | $\pm$ 10 | 24    | $\pm$ 8  | 24   | $\pm$ 8  |
| <b>Tag 1</b>   | 38         | $\pm$ 7  | 50       | $\pm$ 10 | 48        | $\pm$ 23 | 28    | $\pm$ 8  | 33   | $\pm$ 13 |
| <b>Tag 2</b>   | 38         | $\pm$ 7  | 37       | $\pm$ 8  | 63        | $\pm$ 29 | 28    | $\pm$ 11 | 28   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag 3</b>   | 33         | $\pm$ 5  | 30       | $\pm$ 8  | 53        | $\pm$ 18 | 27    | $\pm$ 8  | 39   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag 4</b>   | 32         | $\pm$ 6  | 28       | $\pm$ 6  | 41        | $\pm$ 13 | 28    | $\pm$ 8  | 30   | $\pm$ 17 |
| <b>Tag 5</b>   | 28         | $\pm$ 6  | 30       | $\pm$ 5  | 35        | $\pm$ 11 | 25    | $\pm$ 8  | 24   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag 6</b>   | 27         | $\pm$ 4  | 26       | $\pm$ 6  | 34        | $\pm$ 11 | 25    | $\pm$ 7  | 22   | $\pm$ 6  |
| <b>Tag 7</b>   | 27         | $\pm$ 5  | 27       | $\pm$ 5  | 32        | $\pm$ 9  | 23    | $\pm$ 7  | 23   | $\pm$ 11 |
| <b>Tag 8</b>   | 29         | $\pm$ 7  | 27       | $\pm$ 5  | 32        | $\pm$ 12 | 27    | $\pm$ 8  | 22   | $\pm$ 9  |
| <b>Tag 9</b>   | 30         | $\pm$ 8  | 27       | $\pm$ 6  | 32        | $\pm$ 11 | 23    | $\pm$ 6  | 23   | $\pm$ 10 |
| <b>Tag 10</b>  | 32         | $\pm$ 7  | 25       | $\pm$ 6  | 31        | $\pm$ 9  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b>  | 29         | $\pm$ 7  | 27       | $\pm$ 6  | 29        | $\pm$ 13 |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b>  | 32         | $\pm$ 7  | 28       | $\pm$ 5  | 29        | $\pm$ 6  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b>  | 33         | $\pm$ 8  | 32       | $\pm$ 7  | 32        | $\pm$ 5  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b>  | 28         | $\pm$ 6  | 24       | $\pm$ 3  | 33        | $\pm$ 8  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In Tabelle 25 ist die durchschnittliche Zeitdauer dargestellt, die ein Tier an einem Tag während eines Durchlaufs mit dem Fressen der Futterbelohnung verbringt. Sie liegt im allgemeinen zwischen 25 und 40 Sekunden. Bei den Tieren der Gruppe Low/coli steigt sie am Tag 1 sprunghaft auf 50 Sekunden an. Die High/coli-Gruppe weist von Tag 1 bis zum Tag 3 eine deutliche Verlangsamung der Futteraufnahme mit einem Höchstwert von 62 Sekunden am Tag 2 auf. Die C.p.-Tiere benötigen an den Tagen 1, 3 und 4 mit 33 Sekunden, 39 Sekunden und 30 Sekunden etwas länger für die Futteraufnahme als an den anderen Tagen. Zwischen den Gruppen ergibt sich an den Tagen – 3 bis 8 eine Signifikanz (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Signifikante Unterschiede ergeben sich am Tag 1 zwischen der Kontrollgruppe verglichen mit der Low/coli-Gruppe und der Kontrollgruppe verglichen mit der High/coli-Gruppe sowie zwischen der Low/coli und der C.p.-Gruppe. Am Tag 2 weist die High/coli-Gruppe signifikante Unterschiede gegenüber allen anderen Gruppen auf. Am Tag 3 ist sie gegenüber der Kontrollgruppe, der Low/coli- und der Kontrolle/coli-Gruppe signifikant unterschiedlich.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 26: Zeit in Sekunden pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

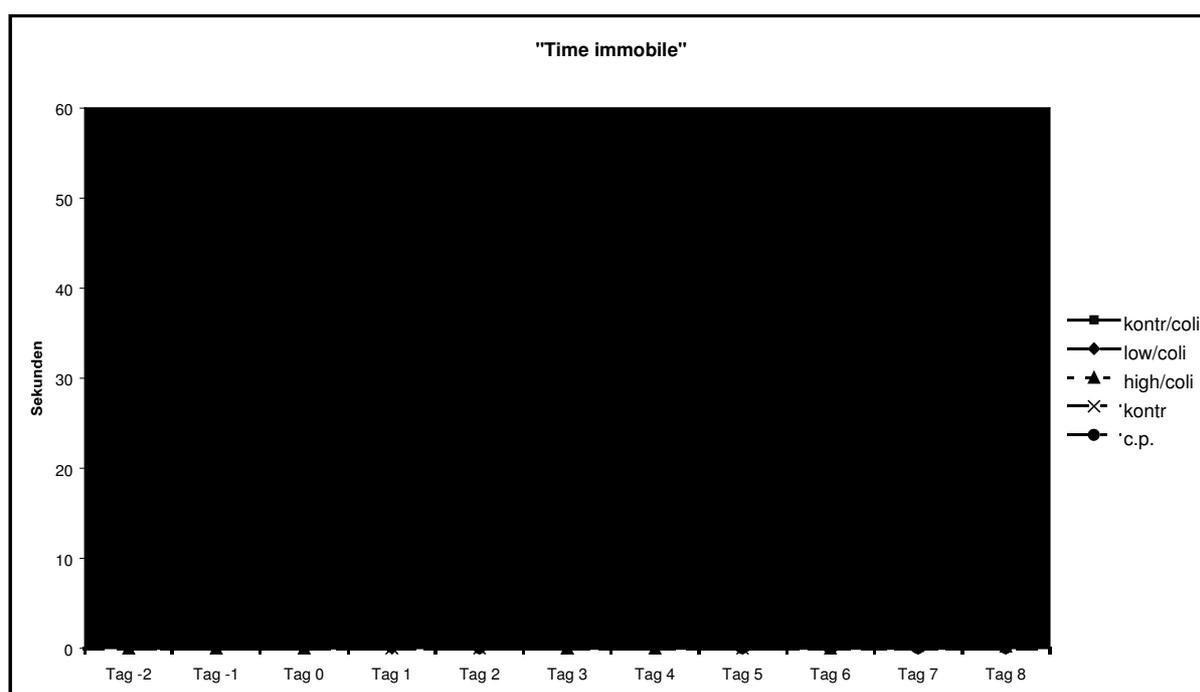
### 3.7.2.4.2 Time immobile

**Tabelle 26: Durchschnittliche Zeit in Sekunden, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen (MW  $\pm$ SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

|                | Kontr/coli |          | Low/coli |          | High/coli |          | Kontr |          | C.p. |          |
|----------------|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|-------|----------|------|----------|
|                | MW         | $\pm$ SD | MW       | $\pm$ SD | MW        | $\pm$ SD | MW    | $\pm$ SD | MW   | $\pm$ SD |
| <b>Tag -11</b> | 1          | $\pm$ 1  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 2     | $\pm$ 4  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -10</b> | 1          | $\pm$ 2  | 0        | $\pm$ 0  | 21        | $\pm$ 44 | 0     | $\pm$ 1  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -9</b>  | 17         | $\pm$ 40 | 1        | $\pm$ 4  | 6         | $\pm$ 12 | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -8</b>  | 5          | $\pm$ 12 | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 3     | $\pm$ 8  | 1    | $\pm$ 3  |
| <b>Tag -7</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 1     | $\pm$ 2  | 2    | $\pm$ 5  |
| <b>Tag -6</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 1     | $\pm$ 3  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -5</b>  | 1          | $\pm$ 3  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -4</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -3</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 1  |
| <b>Tag -2</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag -1</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 0</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 1</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 48        | $\pm$ 63 | 0     | $\pm$ 0  | 2    | $\pm$ 6  |
| <b>Tag 2</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 7         | $\pm$ 18 | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 3</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 4</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 5</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 1  | 0     | $\pm$ 0  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 6</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 0     | $\pm$ 1  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 7</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 6         | $\pm$ 14 | 0     | $\pm$ 1  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 8</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 1  | 1     | $\pm$ 2  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 9</b>   | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  | 2     | $\pm$ 5  | 0    | $\pm$ 0  |
| <b>Tag 10</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 11</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 12</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 13</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 0         | $\pm$ 0  |       |          |      |          |
| <b>Tag 14</b>  | 0          | $\pm$ 0  | 0        | $\pm$ 0  | 1         | $\pm$ 2  |       |          |      |          |

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

„Time immobile“ gibt an, wie viele Sekunden eines Durchlaufs die Tiere desinteressiert und unbeweglich in einer Position verharren. Die Werte sind aus der Tabelle 26 zu entnehmen. Die Tiere zeigen keine Tendenz, sich während eines Durchlaufs für länger als 10 Sekunden nicht zu beschäftigen. Lediglich am Tag 1 kommt es bei der High/coli-Gruppe zu einem Anstieg auf 48 Sekunden. Zwischen den Gruppen ergibt sich an den Tagen – 3 bis 8 eine Signifikanz (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ ). Am Tag 1 weist die High/coli-Gruppe gegenüber allen anderen Versuchsgruppen signifikante Unterschiede auf.



kontr/coli      Mittelwerte der Kontrolle/coli-Gruppe  
low/coli        Mittelwerte der Low/coli-Gruppe  
high/coli       Mittelwerte der High/coli-Gruppe  
kontr            Mittelwerte der Kontrollgruppe  
c.p.              Mittelwerte der C.p.-Gruppe

**Abbildung 27: Zeit in Sekunden, die die Tiere während eines Durchlaufs ohne sich zu bewegen verharren (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe)  $p < 0,05$ )**

### **3.8 Zusammenfassung der Ergebnisse**

#### **3.8.1 Physiologische Parameter**

Die Tiere der High/coli-Gruppe weisen an den ersten zwei bis drei Tagen nach der Infektion eine Reduktion aller physiologischen Parameter auf. Die Low/coli-Gruppe zeigt am Tag 1 eine Reduktion dieser Parameter. Bei den Kontrolle/coli-Tieren ist am Tag 1 nur eine leichte Gewichtsabnahme festzustellen. Die Tiere der C.p.-Gruppe nehmen an den Tagen 1, 3 und 4 ab. Damit korreliert auch eine leichte Reduktion der Wasser- und Futteraufnahme an den entsprechenden Tagen.

#### **3.8.2 Gedächtnisparameter**

Bei den Tieren der Coligruppen treten nach der Lernphase keine signifikanten Schwankungen der Gedächtnisparameter auf. Die Anzahl der Wiederholungen ist bei den C.p.-Tieren signifikant erhöht. Sie machen am Tag 3 die meisten Wiederholungen. Die Fehlerzahl steigt bei dieser Gruppe am Tag 3 leicht.

#### **3.8.3 Explorations- und Motivationsparameter**

Bei den Explorations- und Motivationsparametern der Tiere der Kontrolle und Kontrolle/coli-Gruppe treten keine Veränderungen auf. Die Tiere der C.p.-Gruppe halten sich am Tag 3 signifikant länger auf dem Hole-Board auf als die der Kontrollgruppe. Die Tiere der High/coli-Gruppe sind am Tag 1 bei allen Explorations- und Motivationsparametern, die sich auf eine Zeitmessung beziehen, signifikant langsamer als die anderen Versuchsgruppen.

#### **3.8.4 Angstbezogene Parameter**

Die Tiere der High/coli-Gruppe weisen bei allen angstbezogenen Parametern ausser dem "männchen machen" einen Anstieg der Werte an den Tagen 1 und 2 auf. Signifikante Unterschiede ergeben sich jedoch nur bei der Putzdauer und der LFBE. Die C.p.-Gruppe zeigt keine Veränderungen der angstbezogenen Parameter.

#### **3.8.5 Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen**

Die High/coli-Tiere benötigen an den Tagen 1 bis 3 signifikant länger, um die Futterbelohnung aufzufressen, als die anderen Gruppen. Außerdem ist die „time immobile“ der High/coli-Gruppe am Tag 1 signifikant erhöht. Die Low/coli-Tiere benötigen am Tag 1 signifikant mehr Zeit zur Futteraufnahme als die anderen Gruppen.

### 4 DISKUSSION

#### 4.1 Diskussion der Methode

##### 4.1.1 Der Hole-Board-Test

Der Hole-Board-Test modifiziert nach OHL et al. (1998) wurde ursprünglich für Spitzmäuse (*Tupaia belangeri*), die zur Familie der Insektenfresser gehören, entwickelt, um die kognitiven Fähigkeiten von gestressten Tieren mit denen von nicht gestressten Tieren zu vergleichen. In der vorliegenden Studie wird das Hole-Board für die Testung der kognitiven Fähigkeiten der Ratte, die zur Familie der Nagetiere zählt, verwendet. Es stellt sich die Frage, ob eine Übertragbarkeit des Systems auf Ratten möglich ist. Nach Aussage von STERN et al. (1960), van der STAAY et al. (1990) sowie OLTON und MAKOWSKA (1993) benötigen Nagetiere ein wochenlanges Training, um fehlerfreie und stabile Ausgangswerte bei kognitiven Tests aufzuweisen. Die Spitzmäuse erreichen bei dem modifizierten Hole-Board-Test bereits am zweiten Tag stabile Ausgangswerte (OHL et al. 1998). Die eigenen Untersuchungsergebnisse zeigen, dass Ratten nach etwa sechs Tagen bei allen Hole-Board-Parametern stabile Ausgangswerte aufweisen. Für die praktische Durchführung des Tests ergibt sich bei den Ratten im Vergleich zu den Spitzmäusen eine deutlich längere Lernphase, was den Hole-Board-Test aufwendiger werden lässt.

Bei dem Hole-Board-Test beziehen sich Fehler, also das Öffnen eines nicht markierten Lochs, auf eine von der Ratte erlernte Information, die von Durchlauf zu Durchlauf konstant bleibt. Wiederholungen, definiert als wiederholtes Öffnen eines markierten Lochs innerhalb eines Durchlaufs, beziehen sich auf eine Information, die sich von Durchlauf zu Durchlauf verändert. BENINGER et al. (1989) behaupten, dass eine Information, die von Durchlauf zu Durchlauf variiert, sich auf das Arbeitsgedächtnis bezieht; Informationen, die von Durchlauf zu Durchlauf konstant bleiben, beziehen sich jedoch auf das Langzeitgedächtnis. Bei dem modifizierten Hole-Board-Test beziehen sich die Fehler auf das hippocampusabhängige deklarative Gedächtnis. Die Wiederholungen beziehen sich hingegen auf das Arbeitsgedächtnis (OHL und FUCHS 1999), dessen Sitz dem präfrontalen Kortex zugeordnet wird (DUNNET 1990). Die Möglichkeit, sowohl Aussagen über das Arbeitsgedächtnis als auch über das deklarative Gedächtnis machen zu können, spricht dafür, den modifizierten Hole-Board-Test zur Untersuchung der Auswirkungen von verschiedenen Sepsiserregern auf die kognitiven Fähigkeiten von Ratten anzuwenden. Tests, mit denen das Arbeitsgedächtnis beurteilt wird, zu denen der modifizierte Hole-Board-Test gehört, sind sehr stör anfällig, da sie flexible Reiz-Reaktions-Assoziationen erfordern (OLTON et al. 1979). Aus diesem Grund

## DISKUSSION

---

wurde während der Testdurchführung auf eine ruhige und störungsfreie Umgebung geachtet, da diese für den Test essentiell ist.

Beim Hole-Board-Test wird im Gegensatz zum Radial-Arm-Maze auf Futterentzug und ein Umsetzen in den ungewohnten Versuchskäfig verzichtet. Beides führt zu einer Störung während der Testdurchführung. Folglich ist der Hole-Board-Test dem Radial-Arm-Maze, der ebenfalls Rückschlüsse auf das Arbeitsgedächtnis zulässt, vorzuziehen. Die Testdurchführung ohne Zwangsmaßnahmen im Heimatkäfig ermöglicht es, den Stress der Tiere gering zu halten. So ist eine objektivierte Beurteilung von Motivation und Angst der Ratten gewährleistet. Denkbare Zwangsmaßnahmen zur Motivationssteigerung sind zum Beispiel das Schwimmen-lassen der Tiere beim MORRIS-Water-Maze oder der fast routinemäßig eingesetzte Futter- oder Wasserentzug bei vielen anderen Verhaltenstests. Bei dem modifizierten Hole-Board-Test erfolgt die Motivation lediglich dadurch, dass die Tiere eine zusätzliche Futterbelohnung erhalten. Die Untersuchungen ergeben, dass selbst klinisch hochgradig erkrankte Tiere, trotz ihres deutlich reduzierten Allgemeinbefindens, aus eigenem Antrieb den Hole-Board-Test absolvieren. Der Hole-Board-Test ist dem natürlichen Futtersuchverhalten der Ratten angepasst, da das Öffnen der Löcher des modifizierten Hole-Boards dem natürlichen Futtersuchverhalten mit den Pfoten und der Schnauze am Boden entspricht. Chronischer Stress beeinflusst das deklarative Gedächtnis der Tiere, selbst Tage nachdem der Stressfaktor entfernt wurde, noch negativ (OHL und FUCHS 1999). Die Testdurchführung in vertrauter Umgebung mit ständigem Geruchs- und Sichtkontakt zu den bekannten Artgenossen trägt zur Stressreduzierung bei. So haben Vergleichsstudien an Ratten in Einzelhaltung und Gruppenhaltung ergeben, dass Tiere mit sozialen Kontakten mehr an ihrer Umwelt teilhaben und ein ausgeprägteres Erkundungsverhalten sowie eine höhere motorische Aktivität aufweisen als Tiere in Einzelhaltung (STERN et al. 1960; THIESSEN et al. 1962).

Es fällt auf, dass der Ausgangswert der Fehler bei allen E. coli-Gruppen höher ist als bei der C.p.- und der Kontrollgruppe. Der Grund hierfür liegt darin, dass bei den E. coli-Käfiggruppen täglich nur zwei Tiere infiziert werden können. Aus Zeitgründen werden an drei aufeinander folgenden Tagen jeweils nur den zwei Tieren eines Käfigabteils die Jugulariskatheter implantiert. Um zu gewährleisten, dass trotz der unterschiedlichen OP-Zeitpunkte alle Tiere an den entsprechenden Tagen vor und nach der Infektion die gleichen Lochkombinationen haben, wechselt bei den E. coli-Käfiggruppen jeweils nach den zwei Tieren eines Käfigabteils die Markierung der Löcher. Trotz des Auswischens der Löcher mit Johannisbeeraroma könnte eine gewisse Geruchsorientierung beim Absolvieren des Tests

nicht ausgeschlossen werden. Eine andere Erklärung für die erhöhte Fehlerzahl wäre, dass der Untersucher durch das notwendige Umkleben der Markierung der Löcher die Tiere irritiert.

Der modifizierte Hole-Board-Test ist für die Untersuchung des deklarativen und des Arbeitsgedächtnisses besonders gut geeignet, weil durch den Verzicht auf Zwangsmaßnahmen, der Berücksichtigung des natürlichen Futtersuchverhaltens und der Haltung in vertrauter Umgebung zusammen mit Artgenossen den natürlichen Lebensbedingungen der Ratten weitestgehend entsprochen wird. Die Tatsache, dass sowohl die Gedächtnisparameter als auch die Motivations- und Angstparameter bei der Kontrollgruppe im Anschluss an die Lernphase keine Schwankungen zeigen, spricht dafür, dass die Haltungs- und Testbedingungen während der gesamten Versuchsphase konstant sind und keinen Einfluss auf die Durchführung des Hole-Board-Tests haben.

### **4.1.2 Intravenöse Injektion durch Hitze abgetöteter Corynebakterien**

Durch die intravenöse Injektion von durch Hitze abgetötetem C.p. wird bei Nagetieren eine granulomatöse Leberentzündung induziert (BILLIAR et al. 1990b). C.p. exprimiert in der Leber die induzierbare NO-Synthase, wodurch es zu einer vermehrten Freisetzung von NO kommt. Dieses hat einen Anstieg der Endprodukte Nitrit und Nitrat im Plasma zur Folge. Die Plasmakonzentration von Nitrit und Nitrat steigt innerhalb von drei Tagen auf das Hundertfache der Ausgangswerte an, wobei eine erhöhte NOS-Aktivität bis zu sieben Tage nach der C.p.-Injektion nachzuweisen ist (GELLER et al. 1993). Die C.p.-Injektion führt zu einem Entzündungsverlauf, der über mehrere Tage hinweg anhält (BILLIAR et al. 1990A, VEIHELMANN et al. 1997). Die eigenen Untersuchungen bestätigen diese Aussage anhand des Verlaufes der Gewichtskurve als Indikator für das Allgemeinbefinden. Die Tiere der C.p.-Gruppe zeigen an den Tagen 1, 3 und 4 eine Gewichtsreduktion. Für die Untersuchung mit Hilfe des Hole-Board-Tests ist die C.p.-Injektion gut geeignet, da die Tiere keiner Belastung wie einem operativen Eingriff ausgesetzt sind, die den Verhaltenstest negativ beeinflusst. Die Tatsache, dass die Kontrollgruppe keine Veränderungen der untersuchten Parameter aufweist, spricht dafür, dass die kurze Betäubung mit Sevofluran während der Injektion die Tiere nicht negativ beeinflusst.

### **4.1.3 Bakterieninjektion über einen Venenverweilkatheter in der V. jugularis**

Nach der Injektion von E. coli-Keimen in die laterale Schwanzvene zeigen die Tiere einen Gewichtsverlust und erreichen erst nach acht bis zehn Tagen ihr Ausgangsgewicht wieder. Zudem nehmen sie weniger Nahrung auf (BREUILLE et al. 1999). Mit dem in der vorliegenden Studie verwendeten Modell soll durch einen Jugulariskatheter eine

## DISKUSSION

---

Kathetersepsis imitiert werden, wie sie in der Humanmedizin häufig auftritt. Der Katheter soll einen streuenden Sepsisherd darstellen, der zu einer lang anhaltenden Sepsis führt und so die Untersuchung der CIP als chronische Folgeerkrankung der Sepsis ermöglicht. Die eigenen Untersuchungen ergeben jedoch, dass die Tageszunahmen, die Futter- und Wasseraufnahme und das Allgemeinbefinden der infizierten Tiere lediglich in den ersten drei bis vier Tagen reduziert ist. Die Tiere erreichen nach zehn bis elf Tagen wieder ihr Ausgangsgewicht. BREUILLE et al. (1999) haben festgestellt, dass Ratten, denen  $2,5 \times 10^8$  lebende E. coli in die Schwanzvene injiziert wurden, für acht bis zehn Tage einen septischen Zustand erreichen und dass keine Ratte nach der Injektion dieser Dosierung gestorben ist. Das Erreichen des Ausgangskörpergewichts dient bei den Versuchen von BREUILLE et al. (1999) ebenfalls als Indikator für die Dauer der Erkrankung. In der vorliegenden Studie soll der in der V. jugularis liegende Katheter einen streuenden Sepsisherd darstellen. Deshalb erwartet man bei dem in der eigenen Untersuchung verwendeten Modell bei gleicher Bakteriendosierung wie bei den Versuchen von BREUILLE et al. (1999) eine deutlich länger anhaltende Sepsis. Diese Vermutung konnte nicht bestätigt werden. Eine Injektion von E. coli über einen nach der Injektion liegen bleibenden Jugulariskatheter führt zu einer ähnlich lang andauernden Sepsisausprägung wie eine direkte Injektion der Erreger in die Schwanzvene. Ein möglicher Grund hierfür könnte eine Obliteration der V. jugularis mit einer Abkapselung des Sepsisherdes sein. Der Schweregrad der Sepsis ist nach der Katheterimplantation jedoch höher, da im Gegensatz zur Injektion in die Schwanzvene ein Teil der Tiere innerhalb der ersten zwei Tage stirbt. Mögliche Ursachen hierfür sind die Bakteriengabe in ein zentrales Gefäß, und der mit der Implantation verbundene operative Eingriff unter Vollnarkose. Die Injektion in ein zentrales Gefäß führt wahrscheinlich zu einer schnelleren und gleichmäßigeren Verteilung der Bakterien im gesamten Organismus als die Injektion in die Schwanzvene. Bei der Operation und der Narkose treten unter anderem Blutverlust, Reduktion der Körpertemperatur und ein Reiz der Trachea und des Kehlkopfes durch den Tubus auf. Man kann sich gut vorstellen, dass all diese Faktoren einen negativen Einfluss auf das Immunsystem haben.

Bei 25 % der High/coli-Tiere tritt eine Beeinträchtigung des Bewegungsapparates auf. Es handelt sich um eine reversible, palpatorisch schmerzfreie und über mehrere Tage anhaltende Lahmheit der Hintergliedmaßen. Als Ursache hierfür kommt eine infektiöse Polyarthritits in Betracht. Sie geht allerdings mit einer Schwellung und vermehrten Füllung der Gelenke einher, die nicht beobachtet wurde. Auch eine Lahmheit als Reaktion auf die Lagerung der Tiere während der Operation ist auf Grund der Rückenlage auszuschließen. Zudem würden

## DISKUSSION

---

die Lahmheiten bereits direkt nach dem Erwachen aus der Narkose auftreten. Die an den Hintergliedmaßen beobachteten Beschwerden können eventuell mit den in der Literatur beschriebenen Paresen der unteren Extremitäten bei CIP-Patienten in der Humanmedizin verglichen werden (YOUNG 1995). Ob die Tiere eine CIP ausbilden, wird anhand der histologischen Auswertung der Muskelbiopsien, der Muskelkontraktionskraftmessung und der Untersuchung von Blutparametern im Rahmen der Studie an den gleichen Tieren (GORDON und FRICK, in Vorbereitung) untersucht.

Die Kontrolle/coli-Gruppe weist nach der Katheterimplantation keine Veränderungen der Hole-Board-Parameter auf. Daraus kann abgeleitet werden, dass der operative Eingriff keine Auswirkungen auf den Hole-Board-Test hat.

### **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

#### **4.2.1 Physiologische Parameter**

Die Kontrollgruppe weist bei allen physiologischen Parametern während des gesamten Versuchszeitraums gleichbleibende Werte auf. Die Tiere der Kontrolle/coli-Gruppe zeigen lediglich bei der Tagesgewichtszunahme am Tag 1 eine deutliche Abweichung von den Grundwerten. Sie nehmen bei konstanter Futter- und Wasseraufnahme im Durchschnitt 6,4 g ab. Die Gewichtsreduktion der Kontrolle/coli-Gruppe muss mit der Katheterimplantation oder der damit verbundenen Narkose zusammenhängen. So kommt es wegen der Inhalationsnarkose mit Beatmung zu einem erhöhten Flüssigkeitsverlust. Bei der Operation tritt während des Implantierens des Katheters ein leichter Blutverlust auf. Ausserdem hält die Narkose und der damit verbundene Nachschlaf die Tiere von der Wasser- und Futteraufnahme ab.

Bei nur 67 % der Tiere der Low/coli-Gruppe ist das Allgemeinbefinden beeinträchtigt. Die Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens sowie eine Reduzierung des Gewichts und der Futter- und Trinkmenge zeigt sich lediglich in den ersten zwei Tagen nach der Infektion. Die Tiere erholen sich nach der E. coli-Infektion wieder sehr schnell und 33 % der Tiere zeigen keine Störung des Allgemeinbefindens. Dies spricht dafür, dass die niedrige E. coli-Dosierung nicht ausreicht sicher eine Sepsis auszulösen, und dass sie auf keinen Fall geeignet ist, einen chronischen Sepsisverlauf hervorzurufen. Bei der hohen E. coli-Dosierung von  $3 \times 10^8$  E. coli erkranken alle Tiere. In den ersten drei bis vier Tagen nach der Infektion zeigen die Tiere ein deutlich gestörtes Allgemeinbefinden, einen signifikanten Gewichtsverlust sowie eine signifikante Reduktion der Futter- und Wasseraufnahme. Das gestörte Allgemeinbefinden zeigt sich durch struppiges Fell, einen aufgekrümmten Rücken, verkrustete Augenränder,

## DISKUSSION

---

angestrengte Atmung und kühle Extremitäten. Versuchsbedingt ist es nicht möglich, die Körpertemperatur der Tiere zu bestimmen, da diese Manipulation einen Einfluss auf den Hole-Board-Test haben könnte. Es sind lediglich 3 Tiere spontan gestorben, die eine hohe E. coli-Dosierung erhalten haben. Die Sektion ergibt, dass alle diese Tiere in Folge eines Kreislaufversagens gestorben sind, das teilweise mit einer DIC einhergegangen zu sein scheint. Beides spricht für die Ausprägung einer Sepsis mit MODS. Es kann folglich davon ausgegangen werden, dass es sich bei der schweren Erkrankung der coli/high-Gruppe um eine Sepsis mit MODS handelt. Die Tiere genesen jedoch und erreichen am Tag 11 ihr Ausgangskörpergewicht wieder.

Die C.p.-Gruppe zeigt während der ersten drei bis vier Tage nach der Injektion ebenfalls ein reduziertes Allgemeinbefinden. Dies ist jedoch bei weitem nicht so stark reduziert wie das der High/coli-Gruppe. Eine i.v.-Injektion von durch Hitze abgetöteten Corynebakterien (60 mg/kg) führt nach fünf Tagen zu deutlich erhöhten Nitrit/Nitrat-Werten im Plasma und zu einer Leberentzündung (GELLER et al. 1993; BLOBNER et al. 1999). Die Ausbildung der Leberentzündung ist eine Erklärung für die verringerte Futteraufnahme an den Tagen 4, 5 und 6 sowie die Reduzierung des Körpergewichts an Tag 3 und 4.

### 4.2.2 Gedächtnisparameter

An den Tagen 1, 2, 3 und 4 machen die Tiere der C.p.-Gruppe mehr Wiederholungen als an den übrigen Tagen. Die Anzahl der Wiederholungen der C.p.-Gruppe ist im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen signifikant erhöht. Die C.p.-Gruppe weist am Tag 3 mit durchschnittlich 0,8 Wiederholungen pro Durchlauf ein Maximum auf (MANNING 2001). Bei der High/coli-Gruppe ist die Zahl der Wiederholungen an Tag 2 kaum erhöht. Eine i.v.-Injektion von durch Hitze abgetöteten C.p. führt demnach zu einer Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses. Das Arbeitsgedächtnis hat seinen Sitz im präfrontalen Kortex. Eine Blockade der NMDA-Rezeptoren des präfrontalen Kortex führt zu einer Verschlechterung der räumlichen Leistung des Arbeitsgedächtnisses (AURA und RIEKKINEN 1999). NMDA-Rezeptoren sind für die Informationsverarbeitung essentiell und an einer funktionierenden Gedächtnisbildung beteiligt. Die nNOS ist NMDA-rezeptorenabhängig (PONTECORVO et al. 1991). Eine lang andauernde Verabreichung des nNOS- und iNOS-Inhibitors L-NAME führt zu einer Verschlechterung der Leistungen des Arbeitsgedächtnisses (COBB et al. 1995). Die beobachtete Wirkung der C.p.-Injektion auf das Arbeitsgedächtnis beruht wahrscheinlich auf einer gesteigerten NO-Bildung in den anatomischen Strukturen des Arbeitsgedächtnisses in Folge einer iNOS-Induktion. Diese Ansicht wird dadurch bestätigt, dass mit C.p. injizierte Ratten, die den iNOS-spezifischen Inhibitor NIL erhalten haben, eine signifikant geringere

## DISKUSSION

---

Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses aufweisen als mit C.p. „infizierte“ Tiere (MAYER et al. 2001). Die Induktion der NO-Synthase findet in Abhängigkeit der Bakterienart oder Endotoxingabe innerhalb von Stunden bis Tagen nach der Infektion statt (BOGDANSKI et al. 1999). Die vorliegenden Untersuchungen ergeben, dass am dritten Tag nach der C.p.-Injektion die kognitiven Leistungen der Ratten verschlechtert sind. Die kognitiven Störungen treten zeitgleich mit der von GELLER et al. (1993) beschriebenen hundertfachen Erhöhung der Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat am Tag 3 im Serum auf.

Als Ursache für Defizite der kognitiven Fähigkeiten von Ratten während einer systemischen iNOS-Induktion gibt es noch weitere Möglichkeiten. Eine ist die Bildung von Methämoglobin (MetHb) durch NO, welche einen allgemeinen Sauerstoffmangel auslösen kann, da MetHb keinen Sauerstoff binden kann. In diesem Fall hätten die Tiere allerdings nicht nur eine spezifische Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses, sondern allgemeine kognitive Defizite und Veränderungen in der Motivation aufweisen müssen. Es konnten bisher keine direkten Auswirkungen von MetHb auf Transportvorgänge an den Synapsen des Gehirns nachgewiesen werden (YIP und SASTRY 2000). Außerdem führt eine direkte Injektion von LPS in das Gehirn zu Mängeln bei der kognitiven Wahrnehmung. Um die Injektionsstellen herum treten nekrotische Neuronen auf, die mit dem direkten zytotoxischen Effekt von hohen NO-Mengen, die zur Bildung des zytotoxischen Peroxynitrits führen, vergleichbar sind (YAMADA et al. 1999). Bei Untersuchungen der Rattengehirne nach C.p.-Injektion konnten jedoch keine Nekrosen nachgewiesen werden (MAYER et al. in Vorb.).

### 4.2.3 Explorations- und Motivationsparameter

Die C.p.-Gruppe zeigt am Tag 3 einen Anstieg der „number of hole visits“, der mit der erhöhten Wiederholungszahl an diesem Tag zu erklären ist. Bei allen anderen Motivations- und Explorationsparametern weist diese Gruppe nur leichte Veränderungen auf. Der signifikante Unterschied der TOB zwischen der C.p.- und der Kontrollgruppe am Tag 3 könnte auf das reduzierte Allgemeinbefinden der C.p.-Gruppe an diesem Tag zurückzuführen sein. Alles in allem betrachtet kann man wohl davon ausgehen, dass eine Beeinträchtigung des Motivationszustands nicht die Ursache der beobachteten kognitiven Schwächen des Arbeitsgedächtnisses ist, und die C.p.-Injektion alleine den Grund der kognitiven Defizite darstellt.

Die Low/coli-Gruppe zeigt bei allen zeitbezogenen Motivations- und Explorationsparametern, also der „time complete“, der „time on board“ und der TOB/NHV, am Tag 1 eine Verlangsamung. Bei der High/coli-Gruppe ist diese Verzögerung am Tag 1 signifikant ausgeprägt und zeigt sich auch am Tag 2 noch. Keine der beiden Gruppen weist

## DISKUSSION

---

Veränderungen bei der „number of board entries“ und der „number of hole visits“ auf. Die schwerkranken Tiere der High/coli-Gruppe, die kaum mehr die Kraft besitzen, die Löcher des Hole-Boards zu öffnen, sind immer noch motiviert den Hole-Board-Test zu absolvieren. Hierbei machen die todkranken Tiere keine Fehler und Wiederholungen. Sie sind aber insgesamt wesentlich langsamer als die anderen Versuchsgruppen.

### **4.2.4 Angstbezogene Parameter**

Wie auch bei den Explorations- und Motivationsparametern zeigen die Low/coli- und die High/coli-Gruppe bei allen zeitbezogenen Angstparametern an den Tagen 1 und 2 eine Reduktion der Geschwindigkeit. Die Ratten der High/coli-Gruppe setzen von Tag 1 an während des Versuchs teilweise vermehrt Kot ab. Aufgeregte Tiere zeigen eine quantitativ höhere Kot- und Urinabsatzrate als weniger erregte Tiere (HALL 1934). Erregte Tiere bleiben seltener zum Putzen sitzen als weniger erregte Tiere (DOYLE und YULE 1959). An den Tagen 1 und 2 putzen sich die Tiere der Gruppe High/coli signifikant länger, die der Low/coli-Gruppe putzen sich lediglich an Tag 1 häufiger und länger als an den anderen Tagen. Wenn man aufgrund des Putz- und Kotabsatzverhaltens Rückschlüsse auf den Erregungszustand der Tiere ziehen würde, so würde das Kotabsatzverhalten für eine Erregung der Tiere sprechen und die Dauer des Putzens für ruhige Tiere. Der Widerspruch könnte auf das stark reduzierte Allgemeinbefinden der mit E. coli infizierten Tiere zurückzuführen sein, das sowohl zu einem erhöhten Grundumsatz mit erhöhter Kotabsatzrate als auch zu langsameren Bewegungsabläufen führt.

Die „number of group contacts“ ist bei der High/coli-Gruppe am Tag 1 leicht erhöht und bleibt bis zum Ende des Versuchs verglichen mit den anderen Versuchsgruppen etwas erhöht. Die Erhöhung ist eventuell damit zu begründen, dass die Ratten als soziale in einer Gemeinschaft lebende Tiere sich um kranke und Einzeltiere kümmern. Bei den Tieren, die mit der hohen E. coli-Dosierung infiziert wurden, sind drei Tiere innerhalb der ersten zwei Tagen nach der Infektion gestorben. Dies hat zur Folge, dass der überlebende Abteilpartner für den Rest des Versuchs alleine gehalten wird. Eventuell sucht das im Einzelabteil gehaltene Tier während des Verhaltenstests sowohl aus der Arena als auch von der Käfigseite aus vermehrt Kontakt zu seinen Artgenossen.

### **4.2.5 Hole-Board-Parameter, die das Allgemeinbefinden betreffen**

Die Tiere der High/coli-, Low/coli-, und C.p.-Gruppe zeigen an den Tagen, an denen ihr Allgemeinbefinden reduziert ist, auch eine Verlängerung der Fresszeit. Dies weist auf reduzierten Appetit und eventuelle Kau- und Schluckbeschwerden im Verlauf einer

septischen Erkrankung hin. Der Anstieg der „time immobile“ bei der High/coli-Gruppe ist ebenfalls mit dem deutlich beeinträchtigten Allgemeinbefinden an Tag 1 zu erklären.

### 4.2.6 Schlussfolgerung

Durch die Katheterimplantation mit *E. coli*-Infektion in die V. jugularis kommt es bei Ratten zur Ausbildung einer septischen Erkrankung mit MODS. Hierfür sprechen der schlechte klinische Zustand der Tiere der High/coli-Gruppe nach der Infektion, die Tatsache, dass ein Teil der High/coli-Tiere in den ersten Tagen nach der Operation gestorben ist, sowie die Sektionsbefunde dieser Tiere (siehe Tabelle 9). Untersuchungen von BREUILLE et al. (1999) bestätigen, dass durch die Injektion von lebenden *E. coli*-Erregern in die laterale Schwanzvene eine langanhaltende Sepsis mit Multi-Organ-Versagen auslösbar ist. Ein Vergleich mit den eigenen Untersuchungen zeigt, dass durch die Katheterimplantation in die V. jugularis keine länger andauernde Erkrankung der Tiere zu erzielen ist, als durch die Injektion der Erreger in die laterale Schwanzvene. Eine Erklärung hierfür wäre die Obliteration der V. jugularis mit der Ausbildung eines abgekapselten Abszesses um den Katheter herum. Folglich liegt kein streuender Sepsisherd vor, so dass im Prinzip die Katheterimplantation einer zentralen i.v.-Injektion der *E. coli*-Keime gleichgesetzt werden kann. Die bei einem Teil der High/coli-Tiere beobachtete Lahmheit unklarer Genese könnte auf die Ausbildung einer CIP hindeuten. Dem widersprechen jedoch die klinischen Beobachtungen, dass eine septische Enzephalopathie oft einer CIP vorausgehen soll (JACKSON et al. 1985; YOUNG et al. 1990; BOLTON et al. 1993, BOLTON 1996). Die vorliegenden Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass die Injektion von lebenden *E. coli*-Erregern keine kognitiven Funktionsstörungen, wie sie bei der septischen Enzephalopathie beobachtet werden, verursacht. Die kranken mit *E. coli* infizierten Ratten, die sich in einem äußerst kritischen Zustand befinden, absolvieren den Hole-Board-Test ohne vermehrt Fehler oder Wiederholungen zu machen. Die Tiere benötigen lediglich wesentlich mehr Zeit für den Hole-Board-Test. Mit dem äußerst kritischen Allgemeinzustand der Tiere lässt sich die Verlangsamung bei der Ausführung des Hole-Board-Tests erklären.

Die C.p.-Gruppe zeigt im Gegensatz zur High/coli-Gruppe beim Hole-Board-Test einen signifikanten Anstieg an Wiederholungen. Dies bedeutet, dass durch die i.v.-Injektion von hitzeabgetöteten C.p. die kognitiven Leistungen des Arbeitsgedächtnisses gestört werden.

Die Unterscheidung zwischen einem akuten und einem chronischen Tiermodell ist zur Entstehung der septischen Enzephalopathie wichtig, da ein Endotoxineffekt nur vorübergehende Veränderungen auslöst. Ein ständig streuender Herd stellt hingegen einen

## DISKUSSION

---

lang andauernden chronischen Schädigungsmechanismus dar, der als ursächlich für das Entstehen der zerebralen Funktionseinschränkungen angesehen werden muss (BOGDANSKI et al. 1999). Vergleicht man das Katheterimplantationsmodell mit E. coli-Infektion mit der i.v.-Injektion von hitzeabgetöteten C.p., so führt die E. coli-Infektion zu einem akuterem Krankheitsverlauf. Dies zeigt sich sowohl am Allgemeinbefinden als auch am Körpergewichtsverlauf der Ratten. Das Allgemeinbefinden ist ein sehr subjektiver Faktor, da es in starkem Maße durch die Erfahrung und Beobachtungsgabe des Untersuchers beeinflusst wird. Betrachtet man die Körpergewichtskurven, so zeigen die High/coli-Tiere nach der Injektion eine starke zwei Tage anhaltende Gewichtsreduktion. Die C.p.-Gruppe hingegen erholt sich am Tag 2 nach der Injektion wieder und zeigt an den Tagen 3 und 4 eine deutliche, aber nicht so rasante Gewichtsreduktion. Durch eine C.p.-Injektion scheint ein langsam progressiver Sepsisverlauf mit der Ausbildung einer septischen Enzephalopathie hervorgerufen zu werden. Durch die Katheterimplantation wird hingegen ein eher akuter Sepsisverlauf ohne kognitive Störungen verursacht. Diese Beobachtungen sprechen dagegen, dass durch die Katheterimplantation in die V. jugularis ein streuender Sepsisherd erzeugt wird.

Die Ausbildung einer septischen Enzephalopathie in Verbindung mit einem Multi-Organ-Versagen scheint vom Sepsiserreger abhängig zu sein. Sowohl die High/coli-Gruppe als auch die C.p.-Gruppe entwickeln eine septische Erkrankung mit generalisierten Infektionszeichen. Die i.v.-Injektion von hitzeabgetöteten C.p. führt jedoch zu Störungen der kognitiven Leistungen des Arbeitsgedächtnisses. Die i.v.-Injektion mit E. coli-Keimen bewirkt hingegen nur eine Verlangsamung der Umsetzung der motorischen Reaktionen ohne Beeinflussung des Arbeitsgedächtnisses.

### 5 ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe des Hole-Board-Tests modifiziert nach OHL et al. (1998) wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Dosierungen nativer E. coli-Keime auf die kognitiven Fähigkeiten von Ratten untersucht und mit den kognitiven Leistungen von Ratten mit septischer Enzephalopathie, die durch eine Injektion von durch Hitze abgetötetem Corynebacterium parvum hervorgerufen wurde, verglichen.

Männliche Sprague-Dawley Ratten (n=51) wurden randomisiert in fünf Versuchsgruppen eingeteilt, die sich wie folgt zusammensetzten:

- **Kontrollgruppe** (n=11): Tiere, denen 0,5 ml isotoner NaCl-Lösung in die Penisvene injiziert wurde.
- **C.p.-Gruppe** (n=16): Tiere, denen 54 mg/kg Körpergewicht hitzeabgetötetes C.p. in 0,5 ml isotoner NaCl-Lösung gelöst in die Penisvene injiziert wurde.
- **Kontrolle/coli-Gruppe** (n=7): Tiere, denen über einen im Tier bleibenden Jugulariskatheter 0,5 ml isotoner NaCl-Lösung injiziert wurde.
- **Low/coli-Gruppe** (n=9): Tiere, denen über einen im Tier bleibenden Jugulariskatheter  $1 \times 10^8$  E. coli-Bakterien/Tier in 0,5 ml isotoner NaCl-Lösung injiziert wurden.
- **High/coli-Gruppe** (n=8): Tiere, denen über einen im Tier bleibenden Jugulariskatheter  $3 \times 10^8$  E. coli-Bakterien/Tier in 0,5 ml isotoner NaCl-Lösung injiziert wurden.

Mit allen Tieren wurde zehn Tage vor dem Eingriff mit dem modifizierten Hole-Board-Test begonnen. Der Test wurde nach dem Eingriff weitere 10 bzw. 14 Tage fortgesetzt. Bei dem modifizierten Hole-Board-Test lernen die Ratten eine Futterbelohnung aus jeweils drei markierten von den insgesamt 15 Löchern des Hole-Boards heraus zu holen. Jedes Tier absolviert täglich vier Durchläufe, wobei jeden Tag die Kombination der markierten Löcher wechselt. Mit dem Test können die kognitiven Fähigkeiten des Arbeitsgedächtnisses und des deklarativen Gedächtnisses getrennt von einander beurteilt werden. Zusätzlich wurden der Gewichtsverlauf, das Allgemeinbefinden sowie die Futter- und Wasseraufnahme der Tiere täglich protokolliert.

Nach der Lernphase von fünf Tagen blieben alle Hole-Board-Parameter der Kontrollgruppe und der Kontrolle/coli-Gruppe bei ungestörtem Allgemeinbefinden konstant.

Das Allgemeinbefinden der Tiere aller anderen Gruppen war nach der Injektion der Bakterien für zwei bis vier Tage deutlich reduziert. Anhand der Hole-Board-Parameter ließ sich feststellen, dass die Injektion von durch Hitze abgetöteten Corynebakterien am Tag 3 nach der Injektion zu einer Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses führte.

## ZUSAMMENFASSUNG

---

Bei einer Sepsis, die auf eine Infektion mit E. coli-Keimen über einen Jugularskatheter zurückzuführen war, wurden die Gedächtnisparameter nicht beeinträchtigt. Die Tiere zeigten jedoch bei stark beeinträchtigtem Allgemeinbefinden in den ersten zwei bis drei Tagen nach der Infektion eine Verlangsamung aller zeitabhängigen Hole-Board-Parameter.

Aus den Untersuchungen ist zu schließen, dass die Ausbildung einer septischen Enzephalopathie erregers- und modellabhängig ist. Nach einer Injektion von durch Hitze abgetöteten Corynebakterien in die Penisvene kam es zur Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses, wie sie auch bei der septischen Enzephalopathie in der Humanmedizin beobachtet wird. Eine Jugularskatheterimplantation mit Injektion von nativen E. coli-Bakterien verursacht hingegen ein septisches Multi-Organ-Versagen, bei dem die Leistungen des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnis nicht beeinträchtigt werden.

### 6 SUMMARY

#### **Comparison of the cognitive abilities of rats after an infection with native *E. coli* compared to an injection of heat-killed *C. parvum***

The cognitive performance of rats that received different doses of native *E. coli* was investigated by using the modified hole-board-test (OHL et al. 1998). These results were compared to the cognitive performance of rats with septic encephalopathy caused by heat-killed *C.p.* Male Sprague-Dawley rats (n=51) were randomised into five groups:

- **Control-group** (n=11) received an injection of 0,5 ml 0,9 % NaCl-solution into the V. dorsalis penis.
- **C.p.-group** (n=16) received 54 mg/kg of heat-killed *C.p.* in a total volume of 0,5 ml 0,9 % NaCl-solution into the V. dorsalis penis.
- **Control/coli-group** (n=7) received an injection of 0,5 ml 0,9 % NaCl-solution through a permanent jugular catheter.
- **Low/coli-group** (n=9) received an injection of 0,5 ml 0,9 % NaCl-solution containing  $1 \times 10^8$  *E. coli* through a permanent jugular catheter.
- **High/coli-group** (n=8) received an injection of 0,5 ml 0,9 % NaCl-solution containing  $3 \times 10^8$  *E. coli* through a permanent jugular catheter.

The daily training with the hole-board started 10 days before the rats were injected with *C.p.*, *E. coli* or NaCl. The modified hole-board-test was continued until day 10 (*C.p.* groups) or day 14 (*E. coli* groups) after the injection. The aim of the modified hole-board-test was that the rats learn that 3 visually marked holes out of 15 contain food. Every day 3 different holes are visually marked. Each rat makes four trails/day. The cognitive abilities of the working memory and the declarative memory can be tested with the modified hole-board-test. Apart from that, the bodyweight, the general body condition and the food and water consumption were noted. After 5 days of learning all hole-board parameters of the control-group and the control/coli-group stayed stable and there were no significant changes in the general body condition. The general body condition of the *C.p.* and *E. coli* groups was reduced for two to four days after the injection. The infection with *E. coli* does not lead to a reduction of the cognitive performance of the rats. But within the first two to three days after the injection all time-dependending hole-board parameters are reduced. An injection of heat-killed *C.p.* leads to cognitive disfunctions of the working memory, similar to cognitive disfunctions of humans with septic encephalopathy. An injection of *E. coli* through a permanent jugular catheter leads

## SUMMARY

---

to a MODS without any significant changes in the working or declarative memory. According to the results the development of a septic encephalopathy depends on the microbiologic substance.

### 7 LITERATURVERZEICHNIS

- ADERKA D, LE JM, VILCEK J (1989)  
IL-6 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor production in cultured human monocytes, U937 cells, and in mice.  
J Immunol 143, 3517-3523
- ATKINSON RC, SHIFFRIN RM (1998)  
The control of short-term memory.  
Sci Am 225, 82-90
- AURA J, RIEKKINEN P JR (1999)  
Blockade of NMDA receptors located at the dorsomedial prefrontal Kortex impairs spatial working memory in rats.  
Neuroreport 10, 243-248
- BADDELEY A (1996)  
The fractionation of working memory.  
Proc Natl Acad Sci U S A 93, 13468-13472
- BADDELEY A (1998)  
Working memory.  
Life Sci 321, 167-173
- BADDELEY A, DELLA SALA S (1996)  
Working memory and executive control.  
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 351, 1397-1403
- BARTELS H, STADLER J, BARTHLEN W, MIEDTKE T, SIEWERT JR (1994)  
Ursachen des Organversagens bei Sepsis.  
Zentralbl Chir 119, 168-174
- BAUER M (1997)  
Stickstoffmonoxid.  
Der Anaesthetist 5, 441-449
- BENINGER R J, WIRSCHING BA, JHAMANDAS K, BOEGMAN RJ (1989)  
Animal studies of brain acetylcholine and memory.  
Arch Gerontol Geriatr Suppl 1, 71-89
- BEREK K, MARGREITER J, WILLEIT J (1998)  
Die Polyneuropathie des kritisch kranken Patienten – critical illness polyneuropathy.  
Wien Klin Wschr 110, 243-252
- BERNARD C, TEDGUI A (1992)  
Zytokine network and the vessel wall Insights into septic shock pathogenesis.  
Eur Zytokine Netw 3, 19-33
- BILLIAR TR, CURRAN RD, FERRARI FK, WILLIAMS DL, SIMMONS RL (1990A)  
Kupffer cell:hepatocyte cocultures release nitric oxide in response to bacterial endotoxin.  
J Surg Res 48, 349-353

## LITERATURVERZEICHNIS

---

BILLIAR TR, CURRAN RD, STUEHR DJ, STADLER J, SIMMONS RL, MURRAY S A (1990 B)

Inducible cytosolic enzyme activity for the production of nitrogen oxides from L-arginine in hepatocytes.

Biochem Biophys Res Commun 168, 1034-1040

BLACKWELL TS, CHRISTMAN JW (1996)

Sepsis and zytokines: current status.

Br J Anaesth 77, 110-117

BLOBNER M, KOCHS E, FINK H, MAYER B, VEIHELMANN A, BRILL T, STADLER J (1999)

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium in rats with systemic inflammatory response syndrome: treatment with NG-monomethyl-L-arginine.

Anesthesiology 91, 999-1005

BOGDANSKI R, BLOBNER M, HÄNEL E, KOCHS E (1999)

Die septische Enzephalopathie.

Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 34, 1-8

BOISSIER JR, TARDY J, DIVERRES JC (1960)

Une nouvelle methode simple pour explorer l'action "tranquillisante": le test de la cheminee. Med Exp

BOLTON CF (1996)

Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome: neuromuscular manifestations.

Crit Care Med 24, 1408-1416

BOLTON CF, YOUNG GB, ZOCHODNE DW (1993)

The neurological complications of sepsis.

Ann Neurol 33, 94-100

BONE RC, FISHER C J JR, CLEMMER TP, SLOTMAN GJ, METZ CA, BALK RA (1989)

Sepsis syndrome: a valid clinical entity.

Crit Care Med 17, 389-393

BORDEN EC, CHIN P (1994)

Interleukin-6: a zytokine with potential diagnostic and therapeutic roles.

J Lab Clin Med 123, 824-829

BOWTON DL, BERTELS NH, PROUGH DS, STUMP DA (1989)

Cerebral blood flow is reduced in patients with sepsis syndrome.

Crit Care Med 17, 399-403

BRETT DS, SNYDER SH (1994)

NITRIC OXIDE: a physiologic messenger molecule.

Annu Rev Biochem 63, 175-195

## LITERATURVERZEICHNIS

---

BRESLOW MJ, MILLER CF, PARKER SD, WALMAN AT, TRAYSTMAN RJ (1987)  
Effect of vasopressors on organ blood flow during endotoxin shock in pigs.  
Am J Physiol, 252, H291-H300

BREUILLE D, ARNAL M, RAMBOURDIN F, BAYLE G, LEVIEUX D, OBLED C (1998)  
Sustained modifications of protein metabolism in various tissues in a rat model of long-lasting sepsis.  
Clin Sci (Colch) 94, 413-423

BREUILLE D, VOISIN L, CONTREPOIS M, ARNAL M, ROSE F, OBLED C (1999)  
A sustained rat model for studying the long-lasting catabolic state of sepsis.  
Infect Immun 67, 1079-1085

BROADHURST PL (1957)  
Determinants of emotionality in the rat I Situational factors.  
Br J Psychol, 1-12

CAVE CB, SQUIRE LR (1992)  
Intact verbal and nonverbal short-term memory following damage to the human Hippokampus.  
Hippokampus 2, 151-163

COBB BL, RYAN K L, FREI MR, GUEL, GOMEZ V, MICKLEY GA (1995)  
Chronic administration of L-NAME in drinking water alters working memory in rats.  
Brain Res Bull 38, 203-207

COHEN J, GLAUSER MP (1991)  
Septic Shock: treatment.  
Lancet 338

COHEN NJ, EICHENBAUM H (1991)  
The theory that wouldn't die: a critical look at the spatial mapping theory of hippocampal function.  
Hippokampus 1, 265-268

COMBS DJ, D'ALECY LG (1987)  
Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol.  
Stroke 18, 503-511

CUMMINS CS (1985)  
Corynebacterium parvum and its fractions.  
In: Fenichel RL, Chirigos MA (Hrsg): Immune Modulation Agents and Their Mechanisms  
Immunology series 25, 163-190

DINARELLO CA (1991)  
Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism.  
Blood 77, 1627-1652

## LITERATURVERZEICHNIS

---

DINARELLO CA, THOMPSON RC (1991)

Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro.  
Immunol Today 12, 404-410

DOYLE G, YULE EP (1959)

Grooming activities and freezing behaviour in relation to emotionality in albino rats.  
Anim Behav 7, 18-22

DUNNETT SB (1990)

Role of prefrontal cortex and striatal output systems in short-term memory deficits associated with ageing, basal forebrain lesions, and cholinergic-rich grafts.  
Can J Psychol 44, 210-232

ELIAS JA, FREUNDLICH B, KERN J A, ROSENBLOOM J (1990)

Zytokine networks in the regulation of inflammation and fibrosis in the lung.  
Chest 97, 1439-1445

FREUND HR, MUGGIA-SULLAM M, LAFRANCE R, HOLROYDE J, FISCHER J E  
(1986)

Regional brain amino acid and neurotransmitter derangements during abdominal sepsis and septic encephalopathy in the rat The effect of amino acid infusions.  
Arch Surg 121, 209-216

FRICK C (IN VORB)

E. coli Injektion über einen Jugulariskatheter - Hämatologische Veränderungen.  
Med Diss TU München

GELLER DA, DI SILVIO M, NUSSLER AK, WANG SC, SHAPIRO RA, SIMMONS RL,  
BILLIAR TR (1993)

Nitric oxide synthase expression is induced in hepatocytes in vivo during hepatic inflammation.  
J Surg Res 55, 427-432

GOLDMAN-RAKIC PS (1988)

Topography of cognition: parallel distributed networks in primate association cortex.  
Annu Rev Neurosci 11, 137-156

GONCE SJ, PECK MD, ALEXANDER JW, MISKELL PW (1990)

Arginine supplementation and its effect on established peritonitis in guinea pigs.  
J Parenter Enteral Nutr 14, 237-244

GORDAN L (IN VORB)

E. coli Injektion über einen Jugulariskatheter - Neuromuskuläre Auswirkungen.  
Med Diss TU München

GRAHAM DI, BEHAN PO, MORE IA (1979)

Brain damage complicating septic shock: acute haemorrhagic leucoencephalitis as a complication of the generalised Schwartzman reaction.  
J Neurol Neurosurg Psychiatry 42, 19-28

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- GUTIERREZ EG, BANKS WA, KASTIN AJ (1993)  
Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse.  
J Neuroimmunol 47, 169-176
- HACK CE, HART M, VAN SCHIJNDEL RJ, EERENBERG AJ, NUIJENS JH, HIJS LG, AARDEN LA (1992)  
Interleukin-8 in sepsis: relation to shock and inflammatory mediators.  
Infect Immun 60, 2835-2842
- HALL CS (1934)  
Emotional behavior in the rat I Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality.  
J comp Psychol 18, 385-403
- HEINDEL WC, SALMON DP, BUTTERS N (1991)  
The biasing of weight judgments in Alzheimer's and Huntington's disease: a priming or programming phenomenon.  
J Clin Exp Neuropsychol 13, 189-203
- HEINDEL WC, SALMON DP, SHULTS C W, WALICKE P A, BUTTERS N (1989)  
Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems: a comparison of Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's disease patients.  
J Neurosci 9, 582-587
- HODGES H (1996)  
Maze procedures: the radial-arm and Water-Maze compared.  
Cogn Brain Res 3, 167-181
- HOUTCHENS BA, WESTENSKOW DR (1984)  
Oxygen consumption in septic shock: collective review.  
Circ Shock 13, 361-384
- IBEBUNJO C, MARTYN JA (1999)  
Fiber atrophy, but not changes in acetylcholine receptor expression, contributes to the muscle dysfunction after immobilization.  
Crit Care Med 27, 275-285
- IVRY RB, BALDO JV (1992)  
Is the cerebellum involved in learning and cognition?  
Curr Opin Neurobiol 2, 212-216
- JACKSON AC, GILBERT JJ, YOUNG GB, BOLTON CF (1985)  
The encephalopathy of sepsis.  
Can J Neurol Sci 12, 303-307
- JACKSON PA, KESNER RP, AMANN K (1998)  
Memory for duration: role of Hippokampus and medial prefrontal Kortex.  
Neurobiol Learn Mem 70, 328-348

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- JACOBS RF, KIEL DP, BALK RA (1986)  
Alveolar macrophage function in a canine model of endotoxin-induced lung injury.  
Am Rev Respir Dis 134, 745-751
- JEPPSSON B, FREUND HR, GIMMON Z, JAMES JH, VON MEYENFELDT MF, FISCHER JE (1981)  
Blood-brain barrier derangement in sepsis: cause of septic encephalopathy?.  
Am J Surg 141, 136-142
- JOHNSTON RB JR. (1988)  
Current concepts: immunology monocytes and macrophages.  
N Engl J Med 318, 747-752
- KADOI Y, SAITO S, KUNIMOTO F, IMAI T, FUJITA T (1996)  
Impairment of the brain beta-adrenergic system during experimental endotoxemia.  
J Surg Res 61, 496-502
- KELLEY AE, CADOR M, STINUS L (1985)  
Behavioral analysis of the effect of substance P injected into the ventral mesencephalon on investigatory and spontaneous motor behavior in the rat.  
Psychopharmacology 85, 37-46
- KLATT P, SCHMIDT K, URAY G, MAYER B (1993)  
Multiple catalytic functions of brain nitric oxide synthase Biochemical characterization, cofactor-requirement, and the role of N omega-hydroxy-L-arginine as an intermediate.  
J Biol Chem 268, 14781-14787
- KOCH AE, POLVERINI PJ, KUNKEL SL, HARLOW LA, DIPIETRO LA, ELNER VM, ELNER SG, STRIETER RM (1992)  
Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis.  
Science 258, 1798-17801
- LAININGER M (1989)  
Kann mit einfachen Verhaltenstests das Wohlbefinden von Labortieren beurteilt werden?  
Verhaltensuntersuchung am Beispiel der Ratte.  
Dissertation: Veterinärmedizin, FU Berlin
- MACPHAIL EM (1982)  
Brain and Intelligence in Vertebrates.  
Clarendon, Oxford, OK
- MAEKAWA T, FUJII Y, SADAMITSU D, YOKOTA K, SOEJIMA Y, ISHIKAWA T, MIYAUCHI Y, TAKESHITA H (1991)  
Cerebral circulation and metabolism in patients with septic encephalopathy.  
Am J Emerg Med 9, 139-143
- MANNS M (2001)  
Verursacht die Induktion zerebraler Stickoxidsynthasen kognitive Leistungsstörungen während einer systemischen Infektion?  
Vet med Diss LMU München

## LITERATURVERZEICHNIS

---

MARTY C, MISSET B, TAMION F, FITTING C, CARLET J, CAVAILLON JM (1994)  
Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin.  
Crit Care Med 22, 673-679

MAYER B, MICHAELIS C, OHL F, WERNER C, BLOBNER M (2001)  
Impaired working memory in septic rats can be normalized by inhibiting systemic iNOS.  
Anesthesiol (Okt angenommen)

MAYER B, OHL F, BLOBNER M (VORB)  
Impairment of cognitive performance in rats in a model of a systemic iNOS-induction.  
Anesthesiol (eingereicht)

MELA-RIKER L, ALEXANDER P, BARTOS D, BRYANT RE, CONNELL RS, ERWIN L, GILCHRIST B, HARRISON M, LUALLIN D, OH G, ET AL. (1988)  
Chronic hyperdynamic sepsis in the rat: I Characterization of the animal model.  
Circ Shock 25, 231-244

MEMBERS OF THE AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS/SOCIETY OF CRITICAL CARE MEDICINE CONSENSUS CONFERENCE COMMITTEE (1992)  
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis.  
Crit Care Med 20, 864-874

MICHIE H R, MANOGUE K R, SPRIGGS DR, REVHAUG A, O'DWYER S, DINARELLO CA, CERAMI A, WOLFF SM, WILMORE DW (1988)  
Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration.  
N Engl J Med 318, 1481-1486

MIDGLEY S, GRANT I S, HAYNES WG, WEBB D J (1991)  
Nitric oxide in liver failure.  
Lancet 338, 1590

MILLAR AB, FOLEY NM, SINGER M, JOHNSON N M, MEAGER A, ROOK GA (1989)  
Tumour necrosis factor in bronchopulmonary secretions of patients with adult respiratory distress syndrome.  
Lancet 2, 712-714

MIZOCK BA, SABELLI H C, DUBIN A, JAVAID JI, POULOS A, RACKOW EC (1990)  
Septic encephalopathy Evidence for altered phenylalanine metabolism and comparison with hepatic encephalopathy.  
Arch Intern Med 150, 443-449

MONAGHAN DT, COTMAN CW (1985)  
Distribution of N-methyl-D-aspartate-sensitive L-[3H]glutamate-binding sites in rat brain.  
J Neurosci 5, 2909-2919

MORRIS R (1984)  
Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat.  
J Neurosci Methods 11, 47-60

## LITERATURVERZEICHNIS

---

MORRIS RG (1989)

Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5.  
J Neurosci 9, 3040-3057

MORRIS RG, HAGAN JJ, RAWLINS JN (1986)

Allocentric spatial learning by hippocampectomised rats: a further test of the "spatial mapping" and "working memory" theories of hippocampal function.  
Q J Exp Psychol B 38, 365-395

NAKATANI T, SATO T, MARZELLA L, HIRAI F, TRUMP BF, SIEGEL JH (1984)

Hepatic and systemic metabolic responses to aerobic and anaerobic intra- abdominal abscesses in a highly reproducible chronic rat model.  
Circ Shock 13, 2771-2794

NEUGEBAUER E, DIMMELER S, TROIDL H (1995)

Mediatorsysteme und Sepsis.  
Chirurg 66, 2-10

OHL F, FUCHS E (1999)

Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew.  
Cognitive Brain Res 7, 379-387

OHL F, OITZL MS, FUCHS E (1998)

Assessing cognitive functions in the tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage.  
J Neurosci Methods 81, 35-40

OHLSSON K, BJORK P, BERGENFELDT M, HAGEMAN R, THOMPSON RC (1990)

Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock.  
Nature 348, 550-552

O'KEEFE J, CONWAY DH (1978)

Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire.  
Exp Brain Res 31, 573-590

OLTON DS (1989)

Frontal Kortex, timing and memory.  
Neuropsychologia 27, 121-130

OLTON DS, BECKER JT, HANDELMANN GE (1979)

Hippokampus, space and memory.  
Behav Brain Sci 2, 313-365

OLTON DS, MARKOWSKA AL (1993)

Mazes: their use in delayed conditional discriminations and place discriminations.  
Methods Behav Pharmacol 10, 195-216

## LITERATURVERZEICHNIS

---

OTTER MH, MATTO V, SOUKAND R, SKREBUHHOVAT, ALLIKMETS L, HARRO J (1997)

Characterization of rat exploratory behavior using the exploration box test.  
Methods Find Exp Clin Pharmacol 19, 683-691

PALISSA A, BECKER A (1986)

The chimney test. Experiences with the use of a behavioral test in the evaluation of drugs.  
Z Versuchstierkd 28, 129-134

PALMER RM (1993)

The discovery of nitric oxide in the vessel wall A unifying concept in the pathogenesis of sepsis.  
Arch Surg 128, 396-401

PAN W, BANKS W A, KASTIN AJ (1997)

Permeability of the blood-brain and blood-spinal cord barriers to interferons.  
J Neuroimmunol 76, 105-111

PANG K, MERKEL F, EGETH H, OLTON DS (1992)

Expectancy and stimulus frequency: a comparative analysis in rats and humans.  
Percept Psychophys 51, 607-615

PARRAT JR, STOCLET JC (1991)

Possible role of nitric oxide in refractory hypotension associated with sepsis and endotoxaemia and with multiple organ failure.  
Appl Cardiopulmon Pathophysiol 4, 143-149

PECK MD, ALEXANDER JW (1991)

Survival in septic guinea pigs is influenced by vitamin E, but not by vitamin C in enteral diets.  
JPEN J Parenter Enteral Nutr 15, 433-436

PETRAK RA, BALK RA, BONE RC (1989)

Prostaglandins, cyclo-oxygenase inhibitors, and thromboxane synthetase inhibitors in the pathogenesis of multiple systems organ failure.  
Crit Care Clin 5, 303-314

PINSKY MR, MATUSCHAC GM (1990)

A unifying hypothesis of multiple system organ failure. Failure of host defenses homeostasis.  
J Crit Care 5, 108-114

PONTECORVO MJ, KARBON EW, GOODE S, CLISSOLD DB, BOROSKY SA, PATCH RJ, FERKANY JW (1991)

Possible cerebroprotective and in vivo NMDA antagonist activities of sigma agents.  
Brain Res Bull 26, 461-465

POU S, POU WS, BREDT DS, SNYDER SH, ROSEN GM (1992)

Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase.  
J Biol Chem 267, 24173-24176

## LITERATURVERZEICHNIS

---

PREISER JC, SCHMARTZ D, VAN DER LINDEN P, CONTENT J, VAN DEN BUSSCHE P, BUURMAN W, SEBALD W, DUPONT E, PINSKY MR, VINCENT JL (1991)  
Interleukin-6 administration has no acute hemodynamic or hematologic effect in the dog.  
Zytokine 3, 1-4

SANBERG PR, HAGENMEYER SH, HENAULT MA (1985)  
Automated measurement of multivariate locomotor behavior in rodents.  
Neurobehav Toxicol Teratol 7, 87-94

SCHACTER DL (1987)  
Implicit expressions of memory in organic amnesia: learning of new facts and associations.  
Hum Neurobiol 6, 107-118

SCHINDLER R, MANCILLA J, ENDRES S, GHORBANI R, CLARK SC, DINARELLO CA (1990)  
Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF.  
Blood 75, 40-47

SHALLICE T, WARRINGTON EK (1970)  
Independent functioning of verbal memory stores: a neuropsychological study.  
Q J Exp Psychol 22, 261-273

SPRUNG CL, CERRA FB, FREUND HR, SCHEIN RM, KONSTANTINIDES FN, MARCIAL EH, PENA M (1991)  
Amino acid alterations and encephalopathy in the sepsis syndrome.  
Crit Care Med 19, 753-757

SQUIRE LR (1992)  
Memory and the Hippokampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans.  
Psychol Rev 99, 195-231

SQUIRE LR, KNOWLTON B, MUSEN G (1993)  
The structure and organization of memory.  
Annu Rev Psychol 44, 453-495

STECKLER T, MUIR JL (1996)  
Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds.  
Cognitive Brain Res 3, 299-308

STERN JA, WINOKUR G, EISENSTEIN A, TAYLOR R, SLY M (1960)  
The effect of group vs individual housing on behaviour and physiological responses to stress in the albino rat.  
J Psychosom Res 4, 185-190

THIESSEN DD, ZOLMAN JF, RODGERS DA (1962)  
Relation between adrenal weight, brain cholinesterase activity, and hole-in-wall behavior of mice under different living conditions.  
J Comp Physiol Psychol 55, 186-190

## LITERATURVERZEICHNIS

---

THOMPSON RF (1988)

The neural basis of basic associative learning of discrete behavioral responses.  
Trends Neurosci 11, 152-155

TRACEY KJ, LOWRY SF, CERAMI A (1988)

Cachetin/TNF-alpha in septic shock and septic adult respiratory distress syndrome.  
Am Rev Respir Dis 138, 1377-1379

TULVING E, HAYMAN CA, MACDONALD CA (1991)

Long-lasting perceptual priming and semantic learning in amnesia: a case experiment.  
J Exp Psychol Learn Mem Cogn 17, 596-617

VAN DER STAAY FJ, BLOKLAND A, RAAIJNMAKERS W (1990)

Different time course for age-related changes of behavior in a complex spatial cone-field discrimination task in Lewis rats.  
Psychobiology 18, 305-311

VEIHELMANN A, BRILL T, BLOBNER M, SCHELLER I, MAYER B, PROLLS M, HIMPEL S, STADLER J (1997)

Inhibition of nitric oxide synthesis improves detoxication in inflammatory liver dysfunction in vivo.

Am J Physiol 273, 530-536

VON ALLMEN D, HASSELGREN PO, FISCHER JE (1990)

Hepatic protein synthesis in a modified septic rat model.  
J Surg Res 48, 476-480

WEISKRANTZ L (1990)

Problems of learning and memory: one or multiple memory systems?  
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 329, 99-108

WICHTERMAN KA, BAUE AE, CHAUDRY IH (1980)

Sepsis and septic shock - a review of laboratory models and a proposal.  
J Surg Res 29, 189-201

WILLIAMS DF, WELLS PA (1970)

Differences in home-cage-emergence in the rat in relation to infantile handling.  
Psych Sci 18, 168-169

YAMADA K, KOMORI Y, TANAKA T, SENZAKI K, NIKAI T, SUGIHARA H, KAMEYAMA T, NABESHIMA T (1999)

Brain dysfunction associated with an induction of nitric oxide synthase following an intracerebral injection of lipopolysaccharide in rats.

Neuroscience 88, 281-294

YIP S, SASTRY BR (2000)

Effects of hemoglobin and its breakdown products on synaptic transmission in rat hippocampal CA1 neurons.

Brain Res 864, 1-12

## LITERATURVERZEICHNIS

---

YOUNG GB (1995)

Neurologic Complications of Systemic Critical Illness.  
Neurologic Critical Care 13, 645-657

YOUNG GB, BOLTON CF, AUSTIN TW, ARCHIBALD YM , GONDER J, WELLS GA  
(1990)

The Encephalopathy associated with Septic Illness.  
Clin Invest Med 13, 297-304

ZANTL N, UEBE A, NEUMANN B, WAGNER H, SIEWERT JR, HOLZMANN B,  
HEIDECHE CD, PFEFFER K (1998)

Essential role of gamma interferon in survival of colon ascendens stent peritonitis, a novel murine model of abdominal sepsis.  
Infect Immun 66, 2300-2309

ZOLA-MORGAN S, SQUIRE LR (1993)

Neuroanatomy of memory.  
Annu Rev Neurosci 16, 547-563

ZOLA-MORGAN SM, SQUIRE LR (1990)

The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage.  
Science 250, 288-290

## TABELLENVERZEICHNIS

---

### 8 TABELLENVERZEICHNIS

|  |    |
|--|----|
| <u>Tabelle 1: Zelluläre Auswirkungen einer Injektion von hitzeabgetöteten C.p. (nach CUMMINS in: FENICHEL und CHIRIGOS 1985)</u> .....                                 | 18 |
| <u>Tabelle 2: Versuchsablauf</u> .....   | 38 |
| <u>Tabelle 3: Randomisierte Lochkombination in der Lernphase</u> .....   | 41 |
| <u>Tabelle 4: Randomisierte Lochkombinationan in der Versuchsphase</u> .....   | 42 |
| <u>Tabelle 5: Durchschnittliches tägliches Gewichtsverhalten in Gramm (MW±SD)<br/>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....                           | 52 |
| <u>Tabelle 6: Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge in g pro kg Körpergewicht (MW<br/>±SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....              | 54 |
| <u>Tabelle 7: Durchschnittlicher Wasserverbrauch in ml pro kg Körpergewicht (MW ±SD)<br/>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....                    | 56 |
| <u>Tabelle 8: Übersicht über die Störungen des Allgemeinbefindens der Tiere, die im<br/>Versuchszeitraum ein gestörtes Allgemeinbefindens (AB) gezeigt haben</u> ..... | 59 |
| <u>Tabelle 9: Sektionsbefunde</u> .....  | 60 |
| <u>Tabelle 10: Durchschnittliche Fehleranzahl eines Durchlaufs pro Tag (MW ±SD)</u> .....  | 61 |
| <u>Tabelle 11: Durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen eines Durchlaufs pro Tag (MW<br/>±SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....            | 63 |
| <u>Tabelle 12: Zeit in Sekunden, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (MW ±SD)<br/>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....                   | 65 |
| <u>Tabelle 13: Zeit in Sekunden, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen<br/>(MW ±SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....     | 67 |
| <u>Tabelle 14: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (MW ±SD)</u> .....  | 69 |
| <u>Tabelle 15: Anzahl der pro Durchlauf besuchten Löcher (MW ±SD)</u> .....  | 70 |
| <u>Tabelle 16: Zeit (in Sekunden) auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch (MW ±SD)<br/>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) p&lt;0,05)</u> .....                        | 72 |
| <u>Tabelle 17: Zeit in Sekunden, bis das erste markierte Loch besucht wird (MW ±SD)</u> .....  | 74 |
| <u>Tabelle 18: LFI in Sekunden (MW ±SD)</u> .....  | 76 |
| <u>Tabelle 19: Kontakte zu den Artgenossen während eines Durchlaufs (MW ±SD)</u> .....   | 78 |
| <u>Tabelle 20: Durchschnittliche Anzahl der Putzvorgänge während eines Durchlaufs (MW ±SD)<br/>.....</u>   | 80 |

## TABELLENVERZEICHNIS

---

|  |    |
|--|----|
| <u>Tabelle 21: Durchschnittliche Zeit in Sekunden, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird (MW <math>\pm</math>SD); (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) <math>p &lt; 0,05</math>).....</u>          | 82 |
| <u>Tabelle 22: Durchschnittliche Anzahl des “männchen-machens” während eines Durchlaufs (MW <math>\pm</math>SD).....</u>   | 84 |
| <u>Tabelle 23: Durchschnittliche Anzahl der abgesetzten Kotballen während eines Durchlaufs (MW <math>\pm</math>SD).....</u>  | 85 |
| <u>Tabelle 24: Durchschnittliche Zeitspanne in Sekunden bis das Hole-Board erstmals betreten wird (MW <math>\pm</math>SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) <math>p &lt; 0,05</math>).....</u>                         | 86 |
| <u>Tabelle 25: Zeit in Sekunden pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird (MW <math>\pm</math>SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) <math>p &lt; 0,05</math>).....</u>                                  | 88 |
| <u>Tabelle 26: Durchschnittliche Zeit in Sekunden, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen (MW <math>\pm</math>SD) (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) <math>p &lt; 0,05</math>).....</u> | 90 |

## 9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 1: Flussdiagramm Pathogenese der Sepsis nach Neugebauer (NEUGEBAUER et al. 1995).....  | 6  |
| Abbildung 2: Aufbau des Gedächtnisses nach SQUIRE (1993).....  | 20 |
| Abbildung 3: Flächeneinteilung des Morris-Water-Maze.....  | 27 |
| Abbildung 4: Darstellung des Radial-Arm-Maze .....   | 28 |
| Abbildung 5: 3-Door-Runway.....  | 28 |
| Abbildung 6: Darstellung der Gänge des Elevated-Plus-Maze.....   | 29 |
| Abbildung 7: Aufnahme des Versuchskäfigs.....  | 32 |
| Abbildung 8: Darstellung der verschiedenen Versuchsgruppen .....   | 33 |
| Abbildung 9: Ratte beim Öffnen eines Lochs beim Hole-Board-Test.....   | 34 |
| Abbildung 10: Das Hole-Board mit geöffnetem Loch.....  | 35 |
| Abbildung 11: Protokoll mit Angaben zum Allgemeinbefinden, zum Gewichtsverlauf und zum Futter- und Wasserverbrauch der Ratten .....                    | 45 |
| Abbildung 12: Tägliches Gewichtsverhalten in g (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ).....   | 53 |
| Abbildung 13: Tägliche Futtermengeaufnahme in g pro kg Körpergewicht (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ).....                           | 55 |
| Abbildung 14: Tägliche Wasseraufnahme in ml pro kg Körpergewicht (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....                              | 57 |
| Abbildung 15: Durchschnittliche Anzahl von Wiederholungen pro Tier und Durchlauf (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....              | 64 |
| Abbildung 16: Dauer eines Durchlaufs in Sekunden (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ).....   | 66 |
| Abbildung 17: Zeit in Sekunden, die während eines Durchlaufs auf dem Hole-Board verbracht wird (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ )..... | 68 |
| Abbildung 18: Anzahl der pro Durchlauf besuchten Löcher .....  | 71 |
| Abbildung 19: Zeit in Sekunden auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....                          | 73 |
| Abbildung 20: Zeit in Sekunden, bis das erste markierte Loch besucht wird.....   | 75 |
| Abbildung 21: Zeit in Sekunden bis die erste Futterbelohnung gefunden wird.....  | 77 |
| Abbildung 22: Anzahl der Kontakte zu den Artgenossen .....   | 79 |
| Abbildung 23: Anzahl der Putzvorgänge pro Tier während eines Durchlaufs .....  | 81 |

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 24: Dauer des Putzens pro Durchlauf in Sekunden (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....  | 83 |
| Abbildung 25: Zeit in Sekunden bis das Hole-Board erstmals betreten wird<br>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....                          | 87 |
| Abbildung 26: Zeit in Sekunden pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird<br>(Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ ) .....           | 89 |
| Abbildung 27: Zeit in Sekunden, die die Tiere während eines Durchlaufs ohne sich zu bewegen verharren (Wechselwirkungsfaktor (Tag x Gruppe) $p < 0,05$ )..... | 91 |

### 10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

|                    |   |
|--------------------|---|
| AB                 | Allgemeinbefinden   |
| ARDS               | Acute respiratory distress syndrome                       |
| C.p.               | Corynebacterium parvum, entspricht Propriobakterium arnes |
| C <sub>3,4</sub> . | Komplementfaktor 3, 4...                                  |
| C <sub>3a</sub>    | Aktivierter Komplementfaktor 3                            |
| Ca                 | Kalzium   |
| CASP               | Colon ascendens stent Peritonitis                         |
| cGC                | Catoplasmatische Guanylatcyclase                          |
| cGMP               | Zyklisches Guanosin-Monophosphat                          |
| CIP                | Critical Illness Polyneuropathy                           |
| CLP                | Caecale Ligatur und Punktion                              |
| cNOS               | Konstruktive NO-Synthase                                  |
| D,L-AP5            | 2-amin 5- phosphonopentanoic- Säure                       |
| DIC                | Disseminierte intravasale Koagulopathie                   |
| E. coli            | Escherichia coli  |
| ecNOS              | Endotheliale cNOS   |
| Fe                 | Eisen   |
| FI                 | Food intake   |
| GB                 | Großbritannien  |
| GTP                | Guanosin-Triphosphat                                      |
| High/coli          | High/coli-Gruppe  |
| IL                 | Interleukin   |
| iNOS               | Induzierbare NO-Synthase                                  |
| Kontr              | Kontrollgruppe  |
| Kontr/coli         | Kontrolle/coli-Gruppe                                     |
| LBP                | LPS-Bindungs-Protein                                      |
| LFCHV              | Latency first correct hole visit                          |
| LFEB               | Latency first entry on board                              |
| LFI                | Latency food intake                                       |
| L-NAME             | N <sup>G</sup> -nitro-L-Arginin-Methylester               |
| Low/coli           | Low/coli-Gruppe   |
| LPS                | Lipopolysaccharid   |

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

|                  |   |
|------------------|---|
| LTB <sub>4</sub> | Leukotrien B <sub>4</sub>               |
| Min              | Minute                                  |
| MODS             | Multiple Organ Dysfunction Syndrome     |
| MRNA             | Messenger Ribonukleinsäure              |
| MW               | Mittelwert                              |
| NaCl             | Natriumchlorid                          |
| NBE              | Number of board entries                 |
| NcNOS            | Neuronale cNOS                          |
| NGC              | Number of group contacts                |
| NHV              | Number of hole visits                   |
| NIL              | L-N-(1-iminoethyl)-Lysin                |
| NMDA             | N-methyl-D-aspartat                     |
| NO               | Stickstoffmonoxid                       |
| NOS              | Stickoxidsynthase                       |
| PA-INH1          | Plasma activator inhibitor 1            |
| PVC              | Poly-Vinyl-Chlorid                      |
| RC               | Repeated choices                        |
| SD               | Standardabweichung                      |
| SIRS             | Systemic-Inflammatory-Response-Syndrome |
| TC               | Time complete                           |
| TNF              | Tumor Nekrose Faktor                    |
| TOB              | Time on board                           |
| TOB/NHV          | Time on board per number of hole visits |
| V.               | Vena                                    |
| Vorb.            | Vorbereitung                            |
| WC               | Wrong choices (entspricht Fehler)       |
| ZNS              | Zentrales Nervensystem                  |

# DANKSAGUNG

---

## 11 DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Erhard danke ich für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher bin ich dankbar für die Möglichkeit, die tierexperimentellen Studien an seinem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München durchführen zu können.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. phys. E. Kochs, Direktor des Instituts für Anaesthesiologie der Technischen Universität München, für die Überlassung des Themas.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für die Vermittlung der Dissertation, die sorgfältige Durchsicht der Arbeit und die jederzeit freundliche und geduldige Unterstützung und Beratung.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei PD Dr. med. M. Blobner für die stets freundliche und tatkräftige Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit und bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Frau Dr. B. Mayer für die fachliche Anleitung, die jederzeit gewährte Unterstützung und die Korrektur des Manuskripts, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Sehr herzlich danke ich Frau Dr. med. vet. J. Henke für die gründliche Durchsicht der Ausführungen und die zu jeder Zeit gewährte freundliche Beratung und Hilfe.

Mein Dank gilt überdies Frau L. Gordan und Frau C. Frick sowie Frau K. Binder für die nächtelangen Katheterimplantationen.

Herrn Dipl. Phys. J. Frühauf danke ich ganz herzlich für das Schreiben des Computerprogramms zur Erfassung der Hole-Board-Parameter.

Zudem gilt mein Dank Frau Dr. M. Manns für die freundliche Einführung in die Testdurchführung.

Den Tierpflegern bin ich für die verantwortungsvolle Betreuung der Tiere und ihr rücksichtsvolles Verhalten während der Verhaltenstests sehr verbunden.

An dieser Stelle sei auch den Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung für ihre freundliche Unterstützung gedankt.

Last but not least möchte ich meinen Eltern und meinen Freunden für die psychische Unterstützung und das aufgebrachte Verständnis während der Anfertigung der Arbeit danken.

## LEBENS LAUF

---

### 12 LEBENS LAUF

Name: Christiane Elisabeth Michaelis

Geburtsdatum: 11.07.73

Geburtsort: Bonn

#### Schulbildung:

1980-1984 Grundschulen in Eckental und Ettlingen

1984-1986 Eichendorff Gymnasium, Ettlingen

1986-1990 Gymnasium Karlsbad, Langensteinbach

1990-1993 Albertus-Magnus-Gymnasium, Ettlingen, Abitur

#### Universitätsausbildung:

1993-1994 Universität Hohenheim, Agrarbiologie, Vordiplomprüfungen

1994-1999 Ludwig-Maximilians-Universität München, Tiermedizin, Staatsexamen

seit 1999 Doktorandin am Institut für Experimentelle Onkologie und  
Therapieforschung der TU München

9/1999: Approbation als Tierärztin

#### Berufstätigkeit:

11/99 - 1/00 Assistenztierärztin, Pferdeklinik Dr. K. Bosler, Neumarkt/OPf.

2/00 – 1/01 Nebenberufliche wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für  
Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der TU München

---

Datum, Unterschrift