

Zeitschrift für Ernährungswissenschaft

Journal of Nutritional Sciences · Journal des Sciences de la Nutrition

Band 6

Heft 2-3

November 1965

*Aus dem Institut für Tierzucht und Tierfütterung der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. Havermann)*

Kobalt- und Vitamin B₁₂-Stoffwechsel

VI. Einfluß von Chlortetracyclin und 5,6-Dimethylbenzimidazol auf die bakterielle Corrinoidsynthese beim Huhn

Von K. H. MENKE und B. MARQUERING

Mit 4 Tabellen

(Eingegangen am 31. Mai 1965)

Berichte über Vitamin B₁₂-sparende Wirkungen von Antibiotika (1-4) haben die Frage offengelassen, ob ein solcher Effekt über eine Förderung der intestinalen Synthese oder der Resorption des in der Nahrung enthaltenen Vitamins zu erklären ist. CHOW u. a. (5, 6) fanden zwar einen verstärkten Einbau von markiertem Kobalt in Butanol-extrahierbare Corrinoide beim Huhn und bei der Ratte, doch konnte der Anteil an biologisch vollwertigem Vitamin B₁₂ in diesen Versuchen nicht ermittelt werden. Mit Hilfe weiterentwickelter Trennverfahren (7) wurde später gezeigt, daß im normal ernährten Huhn weniger als 0,5% der kobalthaltigen Syntheseprodukte der Darmflora als Vitamin B₁₂, aber 50-60% als Purincobamide vorliegen. Erste eigene Versuche mit Chlortetracyclin (CTC) beim Huhn ergaben zwar eine Erhöhung der caecalen Kobaltgehalte, aber keinen Einfluß auf die Vitamin B₁₂-Synthese (8), obwohl z. B. *P. shermanii* unter dem Einfluß von CTC vermehrt B₁₂ bildet (9).

Im folgenden Beitrag wird versucht, unter Heranziehung weiterer Untersuchungsergebnisse eine Deutung der CTC-Wirkung auf den Kobalt- und Corrinoidstoffwechsel zu finden. Des weiteren soll gezeigt werden, ob in Analogie zur gelenkten Synthese in Reinkulturen (10) durch Verabreichung von 5,6-Dimethylbenzimidazol (DMBIA) die Vitamin B₁₂-Synthese gefördert werden kann.

Methodik

Männliche Küken der Rasse NICHOLS-LOHMANN wurden mit einem handelsüblichen, vollwertigen Futter, enthaltend 0,04 µg Co/g, aufgezogen. Die Versuchsgruppen erhielten zusätzlich 20 bzw. 110 mg CTC/kg Futter. Die erwachsenen Hennen (Weiße Leghorn) wurden 4 Wochen vor dem Versuch mit einem optimal zusammengesetzten Legemehl, mit oder ohne Zusatz von 100 mg CTC/kg, gefüttert.

Im Benzimidazol-Versuch erhielten erwachsene Hennen das gleiche Legemehl und in den Versuchsgruppen 5 Tage vor Versuchsbeginn 100 mg DMBIA/kg Futter. Da DMBIA in Wasser völlig unlöslich ist und nur bei äußerst feiner Verteilung oder nach Überführung in eine wasserlösliche Form für die Bakterien des Darms verfügbar ist, wurden je 1 g DMBIA

- a) in 20 ml Äthanol gelöst und gleichmäßig in 10 kg Futter eingesprührt,
 b) in 200 ml 0,1-n-HCl gelöst, bei 30° im Vakuum bis zur Trockene eingeengt, in 20 ml Äthanol aufgenommen und ebenfalls in 10 kg Futter eingesprührt.

In einer dritten Gruppe erhielten 3 Hennen die gleiche Menge DMBIA in kristalliner, fein gemahlener Form.

An sämtliche Tiere wurde in dem angegebenen Alter (Tab. 1-4), jeweils zur gleichen Tageszeit (10⁰⁰), 16 μ C $^{60}\text{CoCl}_2$ in 50 m μ Mol Co per os verabreicht. Die Analyse der Darmabschnitte und Organe auf ihren Gehalt an markiertem Kobalt und Corrinoiden geschah nach den an anderer Stelle beschriebenen Methoden (7, 11).

Tabelle 1. Kobaltverteilung (in m μ Mol) und Corrinoidanteile (in Mol-% des jeweiligen Kobaltgehaltes) nach einmaliger Verabreichung von 50 m μ Mol $^{60}\text{CoCl}_2$ an Legehennen

| Stunden nach Appl. | Futterzusatz | 6 | | 12 | | 24 | | |
|----------------------------------|--------------|------|--------|-------|--------|------|----------|-----------|
| | | O | A | O | A | O | DMBIA | |
| | | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | -OH 2 | -HCl 2 |
| Magen-Inhalt | Co | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | — | — | — |
| Duodenum-Inhalt | Co | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | — | — | — |
| Jejunum-Inhalt | Co | 0,6 | 1,5 | 0,1 | 0,2 | 0,5 | 0,1 | 0,1 |
| | % Corr. | 8,2 | 21,5** | 19,5 | 35,2° | — | — | — |
| Caecum-Inhalt | Co | 6,2 | 14,7* | 12,2 | 19,5° | 9,6 | 7,6 | 9,3 |
| | % Corr. | 29,4 | 23,9 | 45,9 | 36,1* | 84,2 | 81,1 | 76,3 |
| Rectum-Inhalt | Co | 0,8 | 0,6 | 1,0 | 0,7 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Faeces | Co | 35,3 | 25,6** | 33,8 | 25,4 | 31,0 | 38,3 | 34,0 |
| | % Corr. | 16,3 | 9,7** | 14,8 | 11,7 | 46,7 | 45,1 | 47,4 |
| Dünndarmgewebe | Co | 0,4 | 0,5 | 0,2 | 0,2 | — | — | — |
| | % Corr. | 17,4 | 13,6 | 17,0 | — | — | — | — |
| Caecum-gewebe | Co | 0,7 | 2,0** | 1,1 | 1,7 | — | — | — |
| Leber | Co | 0,17 | 0,12 | 0,22 | 0,23 | 0,07 | 0,18 | 0,17 |
| | % Corr. | 16,3 | 11,1 | 4,2 | 2,0 | — | — | — |
| Niere | Co | 0,05 | 0,03 | 0,07 | 0,07 | — | — | — |
| Ovar | Co | 0,10 | 0,19 | 0,23 | 0,12 | — | — | — |
| Blut | Co | 0,05 | 0,07 | 0,07 | 0,03 | — | — | — |
| Restkörper | Co | 1,43 | 1,12 | 1,42 | 1,85 | — | — | — |
| Gesamt-Corrinoide in m μ Mol | | 8,25 | 6,48° | 11,75 | 10,69* | — | — | — |
| | ± SD | 0,99 | 0,93 | 0,54 | 0,37 | — | — | — |

A = 100 mg Chlortetracyclin/kg; DMBIA = 100 mg 5,6-Dimethylbenzimidazol/kg, -OH = in Äthanol eingebracht, -HCl = als Hydrochlorid; ** = p < 0,02; * = p < 0,05; o = p < 0,1 (nicht signifikant).

Ergebnisse und Diskussion

Chlortetracyclin. Die Tab. 1 und 2 geben den Einfluß des CTC auf die Verteilung des Kobalts im Darmtrakt und in den wichtigsten Organen wieder. Wegen der zu erwartenden individuellen Schwankungen in der Durchgangsgeschwindigkeit des Darminhalts weisen die Mittelwerte nur in wenigen Fällen

signifikante Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen auf. Die nicht signifikanten Differenzen zeigen jedoch in der Regel die gleiche Tendenz und erhöhen damit den Aussagewert.

Im Jejunum bewirkt CTC in allen Altersstufen eine Erhöhung des Gehaltes an Corrinoiden. Dieser Effekt kann nicht durch eine verlangsame Darmpassage bedingt sein, da die Gesamt-Kobaltgehalte nach CTC-Fütterung nur geringfügig höher liegen oder sogar sinken. CTC scheint daher eine bevorzugte Bindung der Corrinoiden im Dünndarm zu verursachen.

Tabelle 2. Kobaltverteilung (in m μ Mol) und Corrinoidanteile (in Mol-% des jeweiligen Kobaltgehaltes) nach einmaliger Verabreichung von 50 m μ Mol $^{60}\text{CoCl}_2$ an Küken. CTC = Chlortetracyclin. Je 2 Versuchstiere.

| Alter Stunden nach Appl. | 10 Tage | | | 38 Tage | | | | | | |
|-----------------------------|------------|------|-------|-----------|------|------|-----------|------|------|------|
| | 4 Stunden | | | 4 Stunden | | | 6 Stunden | | | |
| | CTC, mg/kg | 0 | 20 | 110 | 0 | 20 | 110 | 0 | 20 | 110 |
| Magen | Co | 1,8 | 1,3 | 0,8 | 6,6 | 4,1 | 2,5 | 0,6 | 0,5 | 1,5 |
| | % Corr. | 1,6 | 0,9 | 1,1 | 0,7 | 0,8 | 1,1 | 1,7 | 1,7 | 1,8 |
| Duodenum | Co | 1,1 | 0,5 | 0,6 | 1,5 | 1,1 | 1,3 | 0,7 | 0,6 | 1,0 |
| | % Corr. | 1,7 | 2,1 | 1,7 | 0,4 | 0,6 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,5 |
| Jejunum | Co | 3,7 | 2,4 | 2,3 | 5,1 | 10,1 | 11,6 | 2,2 | 3,5 | 3,0 |
| | % Corr. | 1,6 | 1,7 | 2,0 | 0,5 | 0,7 | 0,9 | 0,8 | 1,2 | 0,7 |
| Caecum | Co | 7,5 | 16,8* | 9,3 | 15,2 | 19,7 | 8,2 | 15,8 | 18,5 | 9,4 |
| | % Corr. | 7,7 | 6,1 | 10,5 | 14,9 | 7,1 | 18,9 | 26,3 | 9,5 | 48,8 |
| Rectum | Co | 0,6 | 0,5 | 0,7 | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 0,3 | 0,5 | 1,1 |
| | % Corr. | 2,1 | 1,8 | 1,8 | 2,9 | 2,1 | 2,8 | 8,7 | 2,1 | 2,6 |
| Faeces | Co | 29,7 | 24,9 | 32,4 | 16,3 | 9,5 | 18,2 | 21,5 | 19,9 | 23,2 |
| | % Corr. | 2,1 | 1,8 | 1,8 | 2,9 | 2,1 | 2,8 | 8,7 | 2,1 | 2,6 |
| Leber | Co | 0,6 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,6 | 1,0 | 1,1 | 0,9 | 1,4 |
| | % Corr. | 1,4 | 0,9 | 0,9 | 1,0 | 0,9 | 1,0 | 1,0 | 0,7 | 0,8 |
| Restkörper | Co | 5,0 | 3,4 | 3,3 | 4,1 | 4,3 | 6,6 | 7,2 | 6,3 | 9,9 |
| Gesamt-Corr. in m μ Mol | | 1,35 | 1,43 | 1,58 | 2,82 | 1,63 | 1,98 | 6,04 | 2,18 | 4,04 |
| \pm SD | | 0,50 | 0,30 | 0,36 | 0,65 | 1,01 | 0,68 | 2,75 | 0,53 | 3,33 |

Im Caecum steigt der nach 4 Stunden gemessene Gehalt an markiertem Kobalt sowohl bei der Henne als auch beim 10 Tage alten Küken signifikant ($p < 0,05$). Da die prozentuale Ausbeute an Corrinoiden jedoch gleichzeitig sinkt, verändert sich die absolute Corrinoidbildung im Caecum nicht eindeutig: Bei der Henne steigt sie auf das 1,5- bis 2fache, beim 38 Tage alten Küken sinkt sie. Höhere Dosen CTC senken beim 38 Tage alten Küken die caecalen Kobaltgehalte, ohne jedoch den Corrinoidgehalt negativ zu beeinflussen (Tab. 3).

Eine Deutung dieser Ergebnisse ist erst bei Berücksichtigung der Kobalt- und Corrinoidauscheidung möglich. Die Veränderungen in den caecalen Kobaltgehalten sind in allen Fällen mit entgegengesetzten Veränderungen in den Faeces gekoppelt. 20 mg CTC/kg beim Küken und 100 mg CTC/kg bei der Henne bewirken in den ersten 12 Stunden eine beträchtlich geringere Kobaltausscheidung. Die erhöhten Kobaltgehalte in den Caeca müssen daher auf eine

langsamere Entleerung der Caeca zurückgeführt werden. Diese Deutung wird unterstrichen durch den wesentlich geringeren Corrinoidgehalt der Ausscheidungen in den ersten Stunden, der offenbar mit einem geringeren Gehalt an corrinoidreichem Caecum-Inhalt zusammenhängt. Da mit einer langsameren Entleerung der Caeca auch eine weniger häufige Aufnahme von Darminhalt in die Caeca verbunden sein muß, ist es denkbar, daß überhöhte CTC-Dosen in den ersten Stunden zu geringeren Kobaltgehalten in den Caeca führen. Die hier beobachteten niedrigen Kobaltgehalte nach Verfütterung von 110 mg CTC/kg an Küken widersprechen daher der obigen Deutung nicht, zumal auch die erheblich höheren Corrinoidanteile (10,5; 18,9 bzw. 48,8 % gegenüber 7,7; 14,9 bzw.

Tabelle 3. Zusammensetzung der Corrinoidfraktion in Jejunum, Caecum und Faeces nach Verfütterung von Chlortetracyclin (CTC) an (n) Küken bzw. Hühner. Abweichung von der Kontrolle signifikant $p < 0,02 = **$, $p < 0,05 = *$, $p < 0,1$ (nicht signifikant) = o

| Alter | Zusatz CTC mg/kg | (n) | Std. nach Appl. | Co-Corr. mμMol | Zusammensetzung der Corrinide in Prozent (14) | | | | | |
|----------------|------------------|-----|-----------------|----------------|---|----------------|---------|-----------|------------|---------------------|
| | | | | | B ₁₂ | Purin-cobamide | Cobamid | Cobinamid | Cobyrsäure | N. C. ¹⁾ |
| <i>Jejunum</i> | | | | | | | | | | |
| 1 a | 0 | (3) | 6 h | 0,05 | — | 20 ± 8 | 17 ± 3 | 3 ± 2 | 3 ± 1 | 55 ± 10 |
| 1 a | 100 | (3) | 6 h | 0,31 | — | 24 ± 7 | 23 ± 4 | (6) | (6) | 41 ± 4 |
| <i>Caecum</i> | | | | | | | | | | |
| 10 d | 0 | (1) | 4 h | 0,58 | — | 32 | 2 | 1 | 38 | 27 |
| 10 d | 20 | (1) | 4 h | 1,02 | — | 42 | 1 | 3 | 26 | 27 |
| 10 d | 110 | (2) | 4 h | 0,98 | — | 59 ± 7 | 2 ± 1 | 1 ± 1 | 21 ± 1 | 16 ± 5 |
| 38 d | 0 | (2) | 4 h | 2,26 | — | 48 ± 11 | 2 ± 2 | 12 ± 8 | 28 ± 9 | 10 ± 5 |
| 38 d | 20 | (2) | 4 h | 1,40 | — | 60 ± 1° | 4 ± 2 | 3 ± 1° | 15 ± 2° | 19 ± 3 |
| 38 d | 110 | (2) | 4 h | 1,55 | — | 67 ± 6° | 1 ± 1 | 4 ± 1 | 15 ± 4 | 13 ± 2 |
| 38 d | 0 | (2) | 6 h | 4,15 | — | 65 ± 6 | 1 ± 1 | 2 ± 1 | 12 ± 1 | 18 ± 4 |
| 38 d | 20 | (2) | 6 h | 1,76 | — | 73 ± 1** | 1 ± 1 | — | — | 10 ± 3** |
| 38 d | 110 | (2) | 6 h | 4,59 | — | 80 ± 13* | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 10 ± 7 | 10 ± 6* |
| 1 a | 0 | (3) | 6 h | 1,82 | — | 49 ± 9 | 15 ± 12 | 4 ± 2 | 11 ± 5 | 21 ± 2 |
| 1 a | 100 | (3) | 6 h | 3,51 | — | 59 ± 8 | 5 ± 4 | 4 ± 3 | 7 ± 4 | 22 ± 9 |
| 1 a | 0 | (4) | 12 h | 5,59 | — | 53 ± 2 | 16 ± 10 | 3 ± 1 | 4 ± 1 | 22 ± 5 |
| 1 a | 100 | (3) | 12 h | 7,04 | — | 59 ± 5 | 13 ± 3 | 4 ± 2 | 4 ± 2 | 17 ± 4 |
| <i>Faeces</i> | | | | | | | | | | |
| 10 d | 0 | (2) | 4 h | 0,62 | — | 28 ± 4 | 3 ± 2 | 4 ± 1 | 12 ± 3 | 53 ± 4 |
| 10 d | 20 | (2) | 4 h | 0,45 | — | 18 ± 4 | 4 ± 4 | (3) | 10 ± 3 | 65 ± 5 |
| 10 d | 110 | (2) | 4 h | 0,58 | — | 12 ± 1* | (1) | — | (4) | 85 ± 3** |
| 38 d | 0 | (2) | 4 h | 0,47 | — | 43 ± 3 | 3 ± 1 | 2 ± 1 | 16 ± 5 | 36 ± 1 |
| 38 d | 20 | (1) | 4 h | 0,20 | — | 14 | 1 | 1 | 9 | 75 |
| 38 d | 110 | (2) | 4 h | 0,51 | — | 30 ± 26 | 3 ± 1 | 1 ± 1 | 10 ± 2 | 62 ± 32 |
| 38 d | 0 | (2) | 6 h | 1,87 | — | 47 ± 2 | 2 ± 1 | 2 ± 1 | 11 ± 2 | 37 ± 3 |
| 38 d | 20 | (2) | 6 h | 0,42 | — | 26 ± 10° | 5 ± 1 | 1 ± 1 | 8 ± 4 | 59 ± 15 |
| 38 d | 110 | (2) | 6 h | 0,60 | — | 20 ± 7* | 3 ± 1 | 1 ± 1 | 10 ± 2 | 65 ± 10 |
| 1 a | 0 | (5) | 6 h | 5,75 | — | 25 ± 6 | 8 ± 4 | 3 ± 1 | 9 ± 3 | 55 ± 7 |
| 1 a | 100 | (5) | 6 h | 2,48** | — | 26 ± 10 | 6 ± 4 | 4 ± 2 | 11 ± 4 | 53 ± 9 |
| 1 a | 0 | (4) | 12 h | 5,01 | — | 34 ± 18 | 7 ± 6 | 2 ± 1 | 14 ± 10 | 42 ± 14 |
| 1 a | 100 | (3) | 12 h | 2,97 | — | 59 ± 21 | 5 ± 1 | 5 ± 3 | 13 ± 11 | 15 ± 5** |

¹⁾ N. C. = Nicht identifizierte Co-haltige Verbindungen.

26,3%) auf eine längere Inkubationszeit schließen lassen. Die Ergebnisse bestätigen somit die Berichte von REBER (12) und HILLERMANN u. a. (13) über eine die Darmmotilität hemmende Wirkung der Antibiotika.

Die Gesamt-Corrinoidbildung im Darmtrakt und in den Ausscheidungen wird in dem hier untersuchten Zeitabschnitt durch CTC-Fütterung gesenkt. Nur beim 10 Tage alten Küken scheint ein geringer, nicht signifikanter positiver Effekt vorzuliegen. Dieser Befund schließt jedoch nicht aus, daß über einen längeren Zeitraum eine vermehrte Corrinoidsynthese eintritt. In Tab. 3 fällt in allen Altersstufen ein Anstieg des Purincobamidanteils im Caecum nach CTC-Fütterung auf. Die längere Verweildauer in den Caeca führt hier zu höheren Anteilen vollständiger Cobamide. Insofern werden die Ergebnisse von CHOW u. a. (6) bestätigt. Ein Einfluß auf die intestinale Synthese von physiologisch aktivem Vitamin B₁₂ ist jedoch nicht erkennbar. Die Vitamin B₁₂-sparende Wirkung der Antibiotika dürfte daher über eine bessere Ausnutzung des in der Nahrung enthaltenen Vitamins zu erklären sein.

Tabelle 4. Zusammensetzung der Corrinoidfraktion in Jejunum, Caecum und Faeces von Hennen nach Verfütterung von 100 mg 5,6-Dimethylbenzimidazol (DMBIA)/kg Futter, als Hydrochlorid (-HCl), in Äthanol gelöst (ETOH) oder in kristalliner Form (krist.) in das Futter eingemischt bzw. gesprüht. (n) = Zahl der Versuchstiere

| DMBIA-Zusatz | (n) | Std. nach Appl. | * ⁶⁰ Co-Corr. m μ Mol | Zusammensetzung der Corrinoide in Prozent (14) | | | | | |
|----------------|-----|--------------------|--------------------------------------|--|--------------|---------|-----------|-------------|---------------------|
| | | | | B ₁₂ | Purin-cobam. | Cobamid | Cobinamid | Cobyr-säure | N. C. ¹⁾ |
| <i>Jejunum</i> | | | | | | | | | |
| 0 | (3) | 6 h | 0,05 | — | 20 ± 8 | 17 ± 3 | 3 ± 2 | 3 ± 1 | 55 ± 10 |
| krist. | (1) | 6 h | 0,09 | — | 19 | 40 | 2 | 2 | 37 |
| <i>Caecum</i> | | | | | | | | | |
| 0 | (4) | 12 h | 5,59 | — | 53 ± 2 | 16 ± 10 | 3 ± 1 | 4 ± 1 | 22 ± 5 |
| krist. | (3) | 12 h | 3,52 | 2 ± 1 | 56 ± 15 | 14 ± 15 | 3 ± 1 | 4 ± 1 | 19 ± 7 |
| 0 | (2) | 24 h | 6,32 | 0,5 | 57 ± 6 | 23 ± 8 | 3 ± 1 | 3 ± 1 | 12 ± 1 |
| -ETOH | (2) | 24 h | 4,69 | 7 ± 1 | 48 ± 3 | 33 ± 3 | 1 ± 1 | 5 ± 1 | 5 ± 1 |
| -HCl | (2) | 24 h | 5,56 | 8 ± 2 | 54 ± 1 | 21 ± 9 | 3 ± 1 | 8 ± 4 | 5 ± 3 |
| <i>Faeces</i> | | | | | | | | | |
| 0 | (4) | 12 h | 2,00 | — | 39 ± 3 | 33 ± 6 | 3 ± 2 | 7 ± 3 | 16 ± 2 |
| krist. | (2) | 12 h | 1,45 | 1 | 30 ± 3 | 14 ± 1 | 2 ± 1 | 5 ± 1 | 48 ± 1 |
| -ETOH | (2) | 12 h | 2,60 | 4 ± 2 | 31 ± 8 | 30 ± 1 | 4 ± 1 | 12 ± 2 | 20 ± 9 |
| -HCl | (2) | 12 h | 2,43 | 7 ± 2 | 37 ± 14 | 34 ± 14 | 3 ± 2 | 7 ± 2 | 12 ± 3 |
| 0 | (2) | 12-24 | 9,37 | 1 | 50 ± 9 | 33 ± 8 | 2 ± 1 | 3 ± 2 | 8 ± 6 |
| -ETOH | (2) | 12-24 | 7,70 | 5 ± 1 | 44 ± 7 | 32 ± 11 | 5 ± 1 | 7 ± 2 | 8 ± 5 |
| -HCl | (2) | 12-24 | 11,90 | 7 ± 1 | 53 ± 11 | 29 ± 5 | 3 ± 1 | 4 ± 2 | 4 ± 3 |
| -ETOH | (1) | 0-15 ¹⁾ | 2,0 | 38 | 35 | 2 | 3 | 5 | 15 |
| -ETOH | (1) | 15-17 | 0,4 | 11 | 49 | 23 | 4 | 5 | 8 |

¹⁾ N. C. = Nicht identifizierte Co-haltige Verbindungen.

²⁾ Probe hat über diese Zeit an der Luft gelegen.

5,6-Dimethylbenzimidazol. Die nach 24 Stunden im Caecum vorliegenden Corrinoidgehalte werden durch DMBIA negativ beeinflußt. Sie fallen von 6,3 m μ Mol in der Kontrolle über (5,6-DMBIA-HCl) auf 4,7 m μ Mol (DMBIA

in Äthanol). Kristallines, gemahlenes DMBIA bewirkt nach 12 Stunden ein Absinken des Corrinoidgehaltes von 5,6 auf 3,5 μMol . Da in der gleichen Reihenfolge die Teilchengröße des eingemischten DMBIA steigt und aus anderen Versuchen bekannt ist, daß DMBIA in höheren Konzentrationen auf Bakterien toxisch wirkt, liegt es nahe, hierin die Ursache für die herabgesetzte Corrinoidsynthese zu suchen.

Diese negativen Begleiterscheinungen werden jedoch mehr als aufgewogen durch die eindeutige Förderung des Vitamin-B₁₂-Anteils sowohl im Caecum als auch in den Ausscheidungen. Am wirksamsten zeigt sich DMBIA in Hydrochlorid-Form, gefolgt von dem in Äthanol feindispers eingebrachten DMBIA, während kristallines Benzimidazol nur einen geringen Anstieg im B₁₂-Gehalt bewirkte. Welche Fraktion als Vorstufe gedient hat, läßt sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht eindeutig entnehmen. Am ehesten scheint noch der Abfall in der Fraktion der nicht identifizierten kobalthaltigen Stoffe mit der B₁₂-Synthese in Beziehung zu stehen. Andererseits ist zu erwarten, daß eine toxische Wirkung des DMBIA sich in einer Erhöhung im Anteil dieser nicht identifizierten Stoffe auswirkt, wodurch der extrem hohe Gehalt in der mit kristallinem DMBIA gefütterten Gruppe erklärt werden könnte.

Erhebliche Umsetzungen finden in den Fäces während der Lagerung an der Luft statt (14). Verfütterung von DMBIA verstärkt diese B₁₂-Synthese, so daß der B₁₂-Gehalt nach 15 Stunden auf das 3- bis 4fache steigt. Dabei tritt eine Verminderung im Gehalt an Cobamid und an Purincobamiden ein, die offenbar durch Anlagerung des DMBIA oder Basenaustausch (15) in Vitamin B₁₂ überführt werden.

Aus den Versuchen geht somit hervor, daß die Darmflora nicht in der Lage ist, DMBIA zu synthetisieren und aus diesem Grunde auch kein Vitamin B₁₂ bilden kann, solange nicht die Nahrung DMBIA enthält. Durch Verfütterung dieser Base kann die intestinale Synthese des B₁₂ um den Faktor 10-15 verstärkt werden. Bei einem Kobaltgehalt des Futters von 0,04 $\mu\text{g/g}$ entstehen damit – je nach Verabreichungsform – 2-3 μg B₁₂ pro Henne und Tag. Der durchschnittliche Gehalt der Caeca an B₁₂ kann bei Berücksichtigung der in (14) aufgestellten Beziehung:

Corrinoidgehalt der Caeca = 15 Mol-% der Kobalt-Tagesaufnahme mit etwa 1 μg beziffert werden.

Eine Resorption von Vitamin B₁₂ aus dem Caecum ist jedoch nicht zu erwarten (16, 17). Andererseits entstehen in der Tiefstreu ohnehin beträchtliche Mengen Vitamin B₁₂ (7-8 $\mu\text{g}/\text{Tier und Tag}$) (14), so daß eine Verfütterung von DMBIA in der Praxis nur bei Haltung auf Drahtrosten sinnvoll sein kann. Es ist bekannt, daß Küken auch bei dieser Haltungsform koprophagieren (18). Weitere Versuche müssen zeigen, ob DMBIA-Fütterung unter diesen Umständen einen Wachstumseffekt haben kann.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Zusammenfassung

Chlortetracyclin (20-100 mg/kg) senkt in den ersten Stunden nach oraler Verabreichung von 50 μMol $^{60}\text{CoCl}_2$ die Ausscheidung von Kobalt und Corrinoiden beim Huhn. Dieser Befund und die veränderten Kobalt- und Corrinoidgehalte in den Caeca lassen den Schluß zu, daß Chlortetracyclin die Zahl der Teilentleerungen des Caecums pro Zeiteinheit ver-

ringert. Infolgedessen steigt in den Caeca der Anteil vollständiger Purinocobamide. Ein Einfluß auf die Bildung von Vitamin B₁₂ konnte nicht nachgewiesen werden.

5,6-Dimethylbenzimidazol (DMBIA) hingegen bewirkt als Hydrochlorid eine Steigerung der B₁₂-Synthese in der Henne von weniger als 0,2 µg auf 3 µg je Tier und Tag, während in Äthanol gelöstes, feindispers eingeschüttetes DMBIA eine B₁₂-Bildung von 2 µg/Tag bewirkt und kristallines DMBIA keinen nennenswerten Effekt aufweist. DMBIA kann offenbar im Darmtrakt nicht synthetisiert werden und ist auch in den üblichen Futtermitteln nicht enthalten.

Summary

Chlortetracycline decreases the excretion of cobalt and corrinooids in the first hours after oral administration of 50 mµMol ⁶⁰CoCl₂. This effect and the altered cobalt- and corrinooid contents of the caeca lead to the conclusion, that chlortetracycline diminishes the number of partial depletions of the caecum per time. There is no influence on the formation of vitamin B₁₂.

5,6-dimethylbenzimidazol (DMBIA) fed as hydrochlorid to hens, causes an increase in B₁₂-synthesis from 0,2 to 3 µg per animal and day. DMBIA in ethanol solution increases B₁₂-formation to 2 µg per day and crystalline DMBIA has only a very small effect. This base certainly is not synthesized in the intestine and is usually not supplied by the feedstuff.

Schrifttum

1. ATKINSON, R. L. und J. R. COUCH, J. Nutrit. **44**, 249 (1951). — 2. GRAVIOTO-MUNOZ, I., H. G. POUCHER und H. A. WAISMAN, Proc. Soc. exper. Biol. Med. **77**, 18 (1951). — 3. JOHANSSON, K. R., G. E. PETERSON und E. C. DICK, Fed. Proc. **12**, 418 (1953). — 4. PETERSON, G. E., E. C. DICK und K. R. JOHANSSON, J. Nutrit. **51**, 171 (1953). — 5. DAVIS, R. und B. F. CHOW, Proc. Soc. exper. Biol. Med. **77**, 218 (1951). — 6. CHOW, B. F., R. L. DAVIS und S. DAVIS, J. Nutrit. **49**, 657 (1953). — 7. MENKE, K. H., J. Chromatography (Amst.) **7**, 86 (1962). — 8. MENKE, K. H., The use of radioisotopes in animal biology and medical sciences, IAEA-Symposium in Mexico-City, 1961, S. 149 (London 1962). — 9. PAWELKIEWICZ, J., Acta biochim. polon. **2**, 321 (1955). — 10. KON, S. K. und J. PAWELKIEWICZ, IV. Int. Congress of Biochem. Wien, 1958, Symp. Nr. 11 (London 1959). — 11. MENKE, K. H., Z. physiol. Chem. **336**, 257 (1964). — 12. REBER, E. F., Amer. J. Vet. Res. **16**, 553 (1955). — 13. HILLERMANN, J. P., F. H. KRATZER und W. O. WILSON, Poultry Sc. **32**, 332 (1953). — 14. MENKE, K. H. und D. GRÄFE, Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermkd. (im Druck). — 15. BERNHAUER, K., O. MÜLLER und F. WAGNER, Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 2. Europ. Symp., Hamburg 1961, S. 37 (Stuttgart 1962). — 16. JACKSON, J., G. F. MANGAN, L. J. MACHLIN und C. DENTON, Proc. Soc. exper. Biol. Med. **89**, 225 (1955). — 17. MENKE, K. H., Z. Ernähr. Wiss. **1**, 200 (1960). — 18. STEFFENS, W. und K. H. MENKE, Atompraxis **10**, 1 (1964).

Anschrift der Verfasser:

Dr. K. H. MENKE und Dr. B. MARQUERING, Inst. f. Tierzucht und Tierfütterung der Univ., 5300 Bonn