

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte an wachsenden Schweinen die Wirkung eines antimikrobiellen (Avilamycin) und eines enzymatischen (Endo-1-4 β -Xylanase) Futterzusatzstoffes allein und in Kombination auf die Mikroflora sowie den mikrobiellen Stoffwechsel im Darmtrakt untersucht werden. Gleichzeitig war ein möglicher Effekt der Zusatzstoffe auf fakultativ pathogene Krankheitserreger, die zu hohen Verlusten in der Schweinemast führen können, zu ermitteln.

Hierzu wurde eine praxisübliche Mischung aus Gerste (40 %), Weizen (34 %), Sojaextraktionschrot (17 %) und Weizenkleie (5 %) eingesetzt. Die Kontrollgruppe erhielt das Futter unsupplementiert. Dem Versuchsfutter der Antibiotikagruppe war 40 mg Avilamycin, dem der Enzymgruppe ein Enzymgemisch mit 4000 U einer Endo1,4- β -Xylanase (EC 3.2.1.8) als Hauptaktivität und dem der kombinierten Gruppe beide Zusatzstoffe in gleicher Konzentration je kg Futtermischung zugesetzt.

24 Tiere der Deutschen Landrasse (23 bis 43 kg LM) wurden gleichmäßig auf die vier Gruppen aufgeteilt und nach 29tägiger Fütterung mit dem Versuchsfutter (12-stündlich, 900 g je Mahlzeit in den letzten 5 Tagen) 4 h ppr. getötet sowie Chymusproben aus Duodenum, Jejunum, Ileum, Caecum und Colon gewonnen. Der Chymus wurde quantitativ mikrobiologisch untersucht, wobei die Anzuchtung der Keime nach Verdünnung in einem Anaerobiermedium über Selektivnährmedien erfolgte. Außerdem war in den Proben der pH-Wert sowie die mikrobiellen Stoffwechselprodukte Ammoniak und flüchtige Fettsäuren zu bestimmen. Daneben konnte aus dem Darmsaft das Vorkommen von mit Anheftungsfaktoren ausgestatteter *E. coli* und *Cl. perfringens* Typ C über PCR ermittelt werden.

Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse herausstellen:

1. Mikroflora:

- Der Zusatz von Avilamycin führte zu einer Senkung der Keimzahlen gram-positiver Keime. Dies zeigte sich in der Keimgruppen der Laktobazillen in Ileum und Colon sowie bei den Enterokokken in allen Darmabschnitten. Gleichzeitig konnte ein tendenzieller Anstieg gram-negativer Keime (*E. coli*, *Megasphaera*, *Bacteroidaceae*) und der Hefepopulation beobachtet werden. Es gelang, die fakultativ pathogenen *E. coli* und *Cl. perfringens* durch Avilamycin im Ileum deutlich zu senken, während im Caecum ein Anstieg zu verzeichnen war. Im Colon trat hingegen wieder eine Verminderung ein.

- Die Xylanase zeigte nur eine geringe Auswirkung auf die Mikroorganismen im Darmtrakt. Lediglich im Ileum konnte eine Zunahme der Laktobazillen und ein insgesamt häufigeres Vorkommen von *Megasphaera* in höheren Keimzahlen im gesamten Darmtrakt nachgewiesen werden. Die Keimzahlen für Hefen stiegen tendenziell an. Eine Beeinflussung der fakultativ pathogenen *E. coli* und *Cl. perfringens* war als Senkung andeutungsweise in Ileum und Colon erkennbar.
- Bei kombiniertem Einsatz von Avilamycin und der Xylanase konnte, wie bei Einzelsupplementation mit Avilamycin, eine verringernde Wirkung auf gram-positive Keime (Laktobazillen, Enterokokken) und ein Anstieg der Hefen im Darmtrakt beobachtet werden. Der hemmende Einfluß auf *Cl. perfringens* Typ C war im Ileum weniger stark ausgeprägt als bei Avilamycin allein. Dagegen zeigte sich in den übrigen Darmabschnitten eine stärkere Senkung der fakultativ pathogenen *E. coli* und *Cl. perfringens* im Gegensatz zur Einzelsupplementation.

2. Mikrobieller Stoffwechsel:

- Die Zusatzstoffe führten weder bei alleinigem noch kombiniertem Einsatz zu einer Veränderung des pH-Wertes.
- Der Einsatz von Avilamycin bewirkte im Ileum eine Verminderung der Ammoniakkonzentration, während die Xylanase und auch die Kombination der Zusatzstoffe keine Veränderungen herbeiführten.
- Die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren blieb von Avilamycin weitgehend unbeeinflusst. Lediglich im Duodenum konnte eine Erhöhung und im Colon eine Verminderung der Gesamtsumme beobachtet werden. Der Anstieg im Duodenum war dabei durch den signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg in der Acetatkonzentration bedingt. Die Xylanase bewirkte im Duodenum und Jejunum eine Verminderung der Propionat- und Butyratkonzentration, während im Colon ein Anstieg sämtlicher flüchtiger Fettsäuren nachgewiesen werden konnte. Der kombinierte Einsatz führte im Jejunum zu einer Zunahme der Propionatkonzentration, wohingegen Butyrat und Valerat im Gegenzug vermindert waren. Im Colon konnte eine noch stärkere Erhöhung der Konzentration flüchtiger Fettsäuren ($p < 0,05$) als bei alleinigem Enzymzusatz festgestellt werden.

Der Einsatz beider Futterzusatzstoffe führte lediglich zu einer geringen Beeinflussung der mikrobiellen Darmbesiedlung. Dennoch war erkennbar, daß durch den Zusatz von Avilamycin eine Veränderung möglich ist, wohingegen ein direkter Einfluß der Xylanase nicht zu beobachten war. Gleichzeitig konnte eine Auswirkung auf den mikrobiellen Stoffwechsel nach-

gewiesen werden. Dieser wirkte sich bei Supplementation mit Avilamycin auf die Ammoniakkonzentration im Ileum aus, während der Enzymzusatz zu einer verstärkten Fermentation flüchtiger Fettsäuren im Colon führte. Es konnte nachgewiesen werden, daß schon im Dünndarm eine beachtliche Menge an flüchtigen Fettsäuren gebildet wird, wobei Propionat, insbesondere im Jejunum, dominiert. Durch kombinierten Einsatz beider Zusatzstoffe konnten die beobachteten Effekte teilweise verstärkt werden, blieben allerdings meist auf dem Niveau der Einzelwirkungen.

6 SUMMARY

Karen Gollnisch

Influence of an antimicrobial feed additive (avilamycin) and a Non-Starch-Polysaccharide (NSP)-hydrolyzing enzyme alone or in combination on the intestinal microflora of pigs

In this trial the influence of an antimicrobial (avilamycin) and an enzymatic (Endo 1,4- β -Xylanase) feed additive alone or in combination on the microflora and microbial metabolism in the intestine of pigs was studied. Besides a possible effect of both supplements on facultative pathogenic microorganisms leading to high losses in swine production was to determine.

The experimental diets consisted of barley (40 %), wheat (34 %), soybean meal (17 %) and wheat bran (5 %). The control group received the diet without additives. The antibiotic feed was supplemented with 40 mg avilamycin, the enzyme feed with 4000 U of an Endo 1,4 β -Xylanase (EC 3.2.1.8) per kg feed and the combined group with both additives, respectively.

A total of 24 male castrated pigs of the german landrace breed (bodyweight 23 to 43 kg) was divided into four groups and were slaughtered after a 29-day feeding period (12-hourly intervals, 900 g per meal during the last five days) 4 h ppr. and contents of duodenum, jejunum, ileum, caecum and colon were collected. The chyme of all segments was brought to quantitative microbiological examination using an anaerobic dilution medium and selective plates for cultivation. Furthermore pH and the microbial metabolites ammonia and volatile fatty acids were measured. The abundance of attaching and effacing *E. coli* and *Cl. perfringens* type C was determined in samples using a PCR assay.

The following results were obtained:

1. Microflora:

- The supplementation of avilamycin led to a decrease in gram-positive colony counts. This was shown in the lactobacilli-fraction in ileum and colon and for the enterococci in all segments. In return a pronounced increase of gram-negatives (*E. coli*, *Megasphaera*, *Bacteroidaceae*) and of the yeast population was observed. Facultative pathogenic *E. coli* and *Cl. perfringens* were decreased in the ileum whereas a rise in the caecum chyme was measured. In the colon again a decrease was seen.
- The xylanase showed only little effect on microorganisms in the intestine. Solely in the ileum a rise of lactobacilli and an increasing abundance of *Megasphaera* in higher counts in the whole intestine could be observed. The yeast colony counts rose in tendency. An in-

fluence on facultative pathogenic *E. coli* and *Cl. perfringens* was seen as a pronounced decrease in ileum and colon.

- The combined supplementation of avilamycin and the xylanase led as well as the single use of avilamycin to a suppression of gram-positive microorganisms (lactobacilli, enterococci) and an increase of yeasts in the intestine. The inhibitory influence on *Cl. perfringens* type C was lower than using avilamycin alone. In return a more marked decrease of facultative pathogenic *E. coli* and *Cl. perfringens* in the other segments of the intestine was observed.

2. Microbial metabolism:

- The use of the additives led neither alone nor in combination to a difference in pH.
- The supplementation of avilamycin caused a decrease in ammonia concentration in the ileum whereas the xylanase and the combination of both additives did not show any effect.
- The concentration of volatile fatty acids was nearly unaffected by avilamycin. Only an increase in total volatile fatty acids in the duodenum and a decrease in the colon could be observed. The rise in the duodenum was caused by a significant ($p < 0,05$) increase in acetate concentration. The xylanase led to a decrease in propionic and butyric acid concentrations in both duodenum and jejunum. In the colon an increase in all fatty acid concentrations could be shown. The combined use of the additives led to a rise in propionate concentration whereas butyrate and valerate were decreased in jejunum. In the colon an even higher increase of volatile fatty acid concentrations in comparison to the single use of the additives could be seen.

The use of both supplements had only little effect on microbial colonization of the intestine. Despite that it could still be recognized that with the use of avilamycin some changes are possible while the inclusion of a xylanase showed no direct influence. Besides an impact on microbial metabolism was proved. As a result a different ammonia concentration in the ileum using avilamycin and a higher fermentation of volatile fatty acids in the colon could be observed. It was shown that in the small intestine already a remarkable amount of volatile fatty acids is produced with propionate dominating especially in the jejunum. The combination of the two additives could sometimes lead to a higher response but remained mostly on the level of single supplementation.