

5. ZUSAMMENFASSUNG

In den letzten Jahren kam es zu einem Verbot verschiedener antimikrobieller Leistungsförderer, wobei mit einer weiteren Beschränkung des Antibiotikaeinsatzes im Rahmen der Metaphylaxe zu rechnen ist. Aufgrund dieser Tatsache werden Alternativen für die leistungssteigernde und die Darmflora stabilisierende Wirkung dieser Präparate zunehmend interessant. Neben organischen Säuren, Pre- und Probiotika, Enzymen und anderen Substanzen wurde in diesem Zusammenhang auch die Wirkung verschiedener Gewürze bzw. deren ätherische Öle diskutiert. Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb geprüft werden, ob der Zusatz eines Oreganoöls zum Futter Einfluß auf die Roh Nährstoffverdaulichkeit, N-Bilanz sowie auf die Parameter des mikrobiellen Stoffwechsels im Verdauungstrakt von Absetzferkeln nimmt.

Die eigenen Untersuchungen wurden mit insgesamt 50 Absetzferkeln durchgeführt, wobei immer pelletiertes Ferkelaufzuchtfutter (in % der uS: 17,3 - 18,9 % Rp, 2,50 - 3,43 % Rfe, 3,33 - 4,32 % Rfa) zum Einsatz kam. In den ersten drei Versuchen waren dem Versuchsfutter 0,2 % eines bestimmten Oreganoöls zugesetzt, während das Kontrollfutter keinen Zusatz enthielt. Das verwendete Oreganoölprodukt (WG[®]Ropa, Fa. Ropafarm, Westerstede) wies einen Gehalt an ätherischem Öl von 5 % auf (Gehalt von Carvacrol in diesem Öl 81 %, von Thymol 2 %). Demzufolge waren in einem kg Versuchsfutter 81 mg Carvacrol und 2 mg Thymol enthalten.

In dem ersten Versuch wurde zur Überprüfung möglicher ergotroper Effekte des Oreganoöls die scheinbare Roh Nährstoffverdaulichkeit sowie die N-Bilanz mit insgesamt acht Absetzferkeln ermittelt. Die Ferkel waren für diesen Versuch in Bilanzkäfigen untergebracht und bekamen ihr Futter restriktiv (0,9 MJ ME/kg KM^{0,75}) zugeteilt. Eine einzelne Bilanzphase dauerte zehn Tage, wobei jedes Tier eine Versuchs- und eine Kontrollphase durchlief (cross-over-Prinzip). Zusätzlich wurden in diesem Versuch Futteraufnahme, Tageszunahmen und Futteraufwand bestimmt. Die erforderlichen Futter- und Kotanalysen wurden nach den Vorschriften der Weender-Analyse durchgeführt.

In dem zweiten Versuch wurden zwölf Absetzferkel nach einer Fütterungsphase (ad-libitum) von neun bis elf Tagen, in der Futteraufnahme, Tageszunahmen und Futteraufwand sowie der TS-Gehalt und pH-Wert im Kot bestimmt wurden, sechs Stunden postprandial getötet und der Magen- und Darminhalt aus den verschiedenen Lokalisationen des Verdauungskanal gewonnen. Die Chymusqualität wurde anhand von TS-Gehalt und pH-Wert näher charakterisiert. Um eine mögliche Beeinflussung der gastrointestinalen Mikroflora durch das Oreganoöl zu prüfen, wurden im Chymus als Parameter für die mikrobiellen Umsetzungen die Konzentrationen von L-Laktat (enzymatisch), flüchtigen Fettsäuren (gaschromatographisch) und Ammoniak (ionensensitiv) bestimmt. Zur Information über den Besatz mit gramnegativen Keimen im Chymus wurde der LPS-Gehalt (Limulus-Amoebocyten-Lysat-Test) erfaßt.

In dem dritten Versuch erfolgte die Erhebung der genannten Parameter nach experimenteller Infektion mit *E. coli* (Stamm *E. coli* O139 K82 F107-). Die Inokulation erfolgte oral, indem 10 ml der Infektionsbouillon in eine kleine Menge gemahlene Futters (ohne Zusatz) eingemischt wurden. Die Infektionsdosis betrug $2,7 \times 10^7$ KBE/ml Bouillon im ersten bzw. $9,2 \times 10^7$ KBE/ml Bouillon im zweiten Durchgang dieses Versuchs, wobei in jedem Durchgang jeweils zehn Absetzferkel infiziert wurden. Die Tiere wurden bei Auftreten von klinischen Symptomen der Ödemkrankheit, spätestens aber am 10. Tag p. inf., getötet.

In dem vierten Versuch wurden wiederum 10 Absetzferkel mit dem o.g. E.-coli-Stamm infiziert ($1,0 \times 10^9$ KBE/ml Bouillon), wobei der Versuch analog dem eben beschriebenen verlief. Hier interessierte die mögliche Wirkung einer kombinierten Anwendung von Oreganoöl und Kalziumformiat. Dem Versuchsfutter war aus diesem Grund 1 %-ig eine Oreganoöl-Kalziumformiat-Kombination (Produkt: LATIBON-O®, Fa. Bayer, Leverkusen) zugesetzt. Der Anteil an ätherischem Öl in diesem Produkt betrug 0,375%, so daß in einem kg Versuchsfutter 30 mg Carvacrol und 0,75 mg Thymol enthalten waren. Dem Kontrollfutter war lediglich Kalziumformiat (Produkt: LATIBON®, Fa. Bayer, Leverkusen) zugesetzt. In beiden Produkten betrug der Anteil des Formiats mindestens 68 %, der des Calciums mindestens 30 %.

Zusätzlich zu den eigenen Untersuchungen charakterisierte GÖSSLING (2001) in ihrer parallel durchgeführten Dissertation die Gastrointestinalflora durch direkte mikrobiologische Verfahren. In dem Versuch ohne jegliche experimentelle Infektion bestimmte die Autorin im Chymus die aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl sowie ausgewählte Indikatorkeime (u.a. Laktobazillen, Streptokokken/Enterokokken, E. coli, gramnegative Anaerobier), in den Infektionsversuchen die kulturell isolierten Keimzahlen des inokulierten Infektionsstammes in Kot und Chymus.

Die eigenen Ergebnisse des Oreganoöl-Zusatzes zum Futter können wie folgt dargestellt werden.

1. Gegenüber entsprechenden Kontrollgruppen konnte keine Verbesserung der Futteraufnahme, der Tageszunahmen und des Futteraufwandes bei restriktiver Fütterung beobachtet werden. Unter den Bedingungen der ad-libitum-Fütterungen waren durch den Oreganoöl-Zusatz die Tageszunahmen tendenziell erhöht, der Futteraufwand tendenziell günstiger.
2. Die scheinbare Verdaulichkeit der Roh Nährstoffe (excl. Rohfaser) und die N-Bilanz der Absetzferkel wurden bei restriktiver Fütterung durch diesen Futterzusatz nicht beeinflusst.
3. Sowohl die Kot- als auch die Chymusqualität blieben vom Oreganoöl-Zusatz zum Futter unbeeinflusst.
4. Die Konzentrationen der wichtigsten organischen Säuren (L-Laktat und flüchtige Fettsäuren), der Ammoniakgehalt und die LPS-Konzentration im Chymus zeigten keine signifikante Veränderung bei dem Einsatz des Oreganoöls.
5. Nach experimenteller Infektion mit E. coli wurde die Frequenz der Ödemkrankheit zwar nicht signifikant reduziert, dennoch verdient Erwähnung, daß in der Kontrollgruppe von 15 infizierten Ferkeln sieben erkrankten (46,6 %), während bei Einsatz dieses Futterzusatzes nur 20 % der Tiere, d.h. 3 von 15 Ferkeln, Symptome der Colienterotoxämie entwickelten.
6. Die kombinierte Anwendung von Oreganoöl und Kalziumformiat führte zu keiner Beeinflussung der Mikroflora im Infektionsgeschehen.

Die in vitro ermittelten antimikrobiellen Eigenschaften des Oregano konnten demnach in vivo nicht bestätigt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem Resultat von GÖSSLING (2001), die parallel zu dieser Arbeit ebenfalls keine gerichtete Einflußnahme des Oreganoöls auf die gastrointestinale Keimflora nachweisen konnte. Von GÜNTHER und BOSSOW (1998) angegebene positive Einflüsse dieses Gewürzes in der Schweinefütterung konnten nur ansatzweise bei ad-libitum-Fütterung bestätigt werden.

Die Ergebnisse nach experimenteller Infektion stimulieren zur Prüfung dieses neuen Futteradditivs mit einer größeren Tierzahl (bei prinzipiell gleichem Vorgehen, d.h. in experimentellen Studien) bzw. unter Praxisbedingungen auf Betrieben, die insbesondere mit E.-coli-bedingter Ödemkrankheit zu tun haben.

6. SUMMARY

Möller, Thomas: Studies on the effect of an oregano-oil-addition to feed towards nutrient digestibilities, N-balance as well as towards the parameters of microbial activity in the alimentary tract of weaned piglets.

In the last years, several antimicrobial growth promoters used in animal nutrition have been banned from the feeding of pigs. Further restrictions on the use of antibiotics in the field of disease prevention can be expected. Owing to this fact the efforts have been increased to discover alternatives to the growth promoting and gut flora stabilizing effect of these additives. Aside from organic acids, pre- and probiotics, enzymes and other substances the effects of several spices as well as of their etheric oil components have been discussed in that context. The purpose of this dissertation was to ascertain, if - by adding an oregano oil to feed- there will be an effect on nutrient digestibilities, N-balance as well as on parameters of microbial activity in the gastrointestinal tract of weaned piglets.

These studies were conducted with fifty weaned piglets in total, fed with pelleted diet (17.3 - 18.9 % crude protein, 2.50 - 3.43 % crude fat, 3.33 - 4.32 crude fiber)

In the first three experiments, 0.2 % of a specific oregano oil product (Wg²-Ropa, Ropafarm, Westerstede) were added to the diet of the experimental group while the controls were fed without any feed additives. The applied oregano oil component in this product showed an etheric oil content of 5 % (concentration of Carvacrol in this oil 81 %, of Thymol 2 %). In order to verify possible ergotropic effects, the apparent digestibility of crude nutrients was scrutinized and a N-balance was carried out by feeding eight weaned piglets restrictively. Each piglet had to absolve a control phase for a period of ten days as well as an experimental phase for a period of ten days (cross-over-design). In addition, the daily feed intake, daily weight gains as well as the feed conversion rate were proved. The hereto required tests for analysing feed and faeces were conducted according to the Weender analysis.

In the second experiment daily feed intake, daily weight gains as well as the feed conversion rate of 12 weaned piglets fed ad libitum were tested, too. In addition, the quality of faeces (dry matter content and pH-value) were examined. After 9 to 11 days the piglets were sacrificed six hours postprandial to obtain the stomach and gut fill. The chyme quality was characterized by dry matter content and pH-value. A special point of interest was the possible influence of the oregano oil on the gastrointestinal flora. Therefore, the concentration of l-lactate (enzymatic determination), of volatile fatty acids (gas chromatography) and the content of ammonia (ionic-sensitive) have been analysed in chyme as parameters for microbial digestion. Furthermore, the lipopolysaccharide content in chyme (LAL test) was measured, to estimate the mass of gram negative bacteria indirectly.

In the third experiment the identification of these parameters after experimental infection with *E. coli* (ham. *E. coli* 139:K82 F107+) followed. Thereto, 10 piglets were infected orally by adding 10 ml of a liquid broth containing 2.7×10^5 c.f.u./ml to feed in the first run. In the second test 10 piglets were infected by a liquid broth containing 1.2×10^9 c.f.u./ml. The pigs were sacrificed after the outbreak of oedema disease or on the 10th day after infection the latest.

In the fourth experiment 10 weaned piglets were infected also with *E. coli* (as stated above; 1.0×10^9 c.f.u./ml liquid broth), to ascertain the effect of a combination of oregano oil and calcium formate. The experimental group was fed with addition of an oregano-oil-calciumformate-combination (1.0 %) to feed (product: LATIBON-O[®], Bayer, Leverkusen; etheric oil component 0.375 %). The controls were fed with an addition of calciumformate (1.0 %) to diet only (product: LATIBON[®], Bayer, Leverkusen). The percentage of formate in both products was at least 68 %, that of calcium at least 30 %.

Besides the self-conducted experiments GÖSSLING (2001) characterized the gut flora in the framework of her thesis (conducted at the same time) by direct microbiological investigations, in order to determine the number of bacteria of selected bacteria species.

In the experiment without any infection she analysed the total number of aerobe and anaerobe microbial counts as well as some selected indicator counts (a.o. lactobacilli, streptococci/enterococci, *Escherichia coli*, gram negative anaerobic bacteria) In the experiment with infection she determined the bred isolated microbial counts of the inoculated *E. coli* stock culture in faeces and chyme

The own results of the use of this oregano-oil-product as feed additive can be summarized as follows:

1. In comparison to untreated controls, no positive effects on daily feed intake, daily weight gains and feed conversion rate could be shown by feeding piglets restrictively. By feeding pigs ad libitum using the oregano oil the daily weight gains were tendentially higher, the feed conversion rate tendentially lower compared to untreated controls.
2. The apparent digestibility of crude nutrients (exc. crude fibre) and the N-balance of the weaned piglets was not influenced by feeding piglets restrictively with this feed additive
3. A specific tendency towards the faeces and chyme quality could not be identified
4. The concentration of the most important organic acids (l-lactate and volatile fatty acids), the ammonia and the lipopolysaccharide content in the chyme, did not show strict dependency on the addition of this oregano-oil to feed.
5. Towards untreated controls there were no significant differences in the frequency of the outbreak of disease after experimental infection. Nonetheless, it is worth to be stated that in the control group of 15 infected piglets 7 of them fell ill with disease (46.6 %) whereas only 20 % of the piglets, i.e. 3 out of 15 piglets developed symptoms of enterotoxemia when fed with that specific feed additive
6. The combination of oregano oil and calciumformate did not evoke any effect on the gut flora during the infection process.

The in vitro antimicrobial properties of oregano could not be confirmed accordingly. The positive effects of this spice on the feeding of piglets in vivo stated by GUNTHER and BOSSOW (1998), could only be proven partially when feeding ad libitum. Also by direct microbiological methods applied by GÖSSLING (2001) no influence of the additive on the gut flora could be found. Her conclusions support the self-conducted facts.

The results after experimental infection are stimulating to examine this new feed additive with more piglets (same procedure in principal, i.e. by experimental studies) or in practice on farms which have to cope particularly with oedema disease