

## Zur Wirkung des Probiotikums ToyoCerin in der Geflügelmast

Anke Jadamus, Dr. W. Vahjen (Berlin) und Dr. Imke Kühn (Cuxhaven)

Unter üblichen Produktionsbedingungen schlüpfen Broiler- und Putenküken in Brütereien, so daß eine Weitergabe der bei den Elterntieren im Verdauungstrakt etablierten Mikroorganismen nicht gegeben ist. Um so wichtiger ist es, mit der beginnenden mikrobiellen Besiedelung des Verdauungstraktes, die erwünschte Mikroflora zu unterstützen und damit der Vermehrung unerwünschter Keime entgegenzuwirken. Dies kann ebenso wie in der Aufzucht anderer landwirtschaftlicher Nutztiere über den Einsatz von Probiotika erfolgen. Jedoch sind die Besonderheiten der Futterproduktion und der kurzen Verweildauer des Nahrungsbreies im Verdauungstrakt des Mastgefüglens zu berücksichtigen.

Im Hinblick auf die relativ hohen Temperaturen bei der Pelletierung von Geflügelfutter bietet sich auf Grund der guten Hitzestabilität der Einsatz von probiotischen Bacillussporen im Geflügelfutter an. Bei Bacillussporen muß sichergestellt sein, daß diese im Verdauungstrakt des Geflügels schnell auskeimen, da im wesentlichen die vegetative Form wirksam ist. Zwar wurde die schnelle Auskeimungsrate von *B. toyoi* beim Ferkel nachgewiesen (Thelen und Pallauf, 1996), beim Geflügel lagen hierzu jedoch bisher keine Ergebnisse vor.

In Grundlagenuntersuchungen wurde deshalb die Auskeimungsrate von *B. toyoi* in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes von Broilern untersucht.

### Keimt ToyoCerin im Verdauungstrakt von Broilern schnell aus?

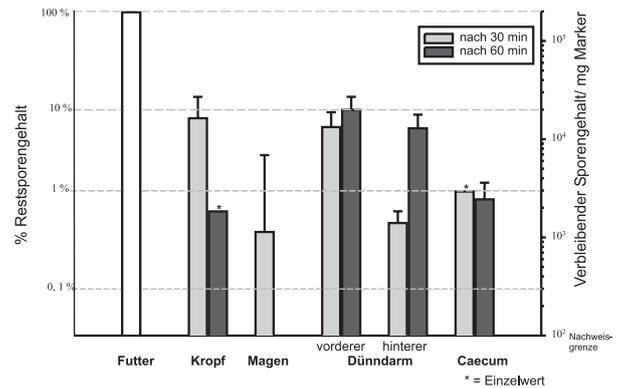
Um das Keimungsverhalten von *Bacillus cereus* var. *toyo* zu untersuchen, wurde 3 Wochen alten Broilern, die zuvor Futter ohne ToyoCerin erhalten hatten, über die Dauer von 30 Minuten Futter mit dem Probiotikum ( $1 \times 10^9$  KBE/kg) verabreicht. Das Futter enthielt als Marker Titandioxid (5g/kg), um die nach Schlachtung im Darminhalt gemessene ToyoCerin-Menge auf die verabreichte Menge beziehen zu können. Die Broiler wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der ToyoCerin-Aufnahme geschlachtet (30 min, 60 min, 120 min, 7 Tage; n=3) und aus den einzelnen Abschnitten des Verdauungstraktes der Darminhalt unter aeroben Bedingungen entnommen. Die Darminhalte wurden vor und nach Hitzebehandlung (80°C, 15 min.) zur Bestimmung von *B. toyoi* verdünnt, auf Selektivagarplatten ausgetropft und 18 h bei 37°C bebrütet. Die Hitzebehandlung ermöglicht die Unterscheidung zwischen der *B. toyoi* - Gesamtkeimzahl (vor Hitzebehandlung: Sporen + stoffwechselaktive Zellen) und der reinen Sporenzahl (nach Hitzebehandlung).

Die in Abbildung 1 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß mit dem Futter aufgenommene ToyoCerin-Sporen im Verdauungstrakt der Broiler schnell auskeimen. Bereits im Kropf lag 30 Minuten nach der Aufnahme nur noch 10 % des *B. toyoi* als Sporen vor. Nach 60 Minuten waren nur noch bei einem von 3 untersuchten Broilern im Kropf versporte *B. toyoi*-Keime nachweisbar.

Selbst wenn ein Teil der ausgekeimten ToyoCerin-Zellen über den Chymusrückfluß aus weiter hinten gelegenen Verdauungsabschnitten erklärt werden könnte, bedeutet dies für die Wirkung, daß *B. toyoi* bereits in der Kropfregion hauptsächlich als ausgekeimte, stoffwechselaktive Zelle vorliegt.

### Abbildung 1: Keimung von ToyoCerin im Verdauungstrakt von Broilern

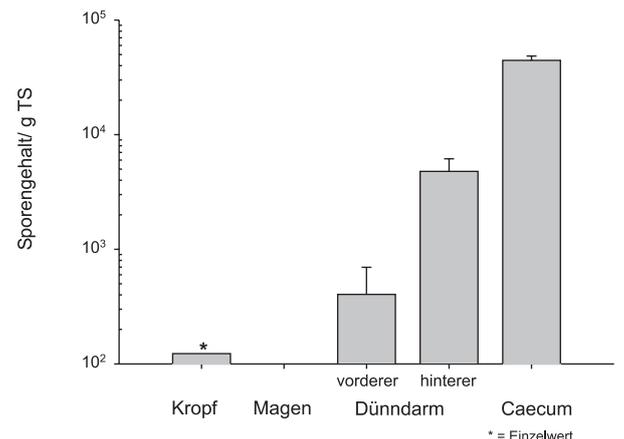
(Restsporengehalt zu verschiedenen Zeiten nach Futteraufnahme (n = 3))



Ab dem Dünndarm nahm der Sporengehalt bis zum Caecum ab. Dies ist voraussichtlich darauf zurückzuführen, daß zu diesem Zeitpunkt der gesamte Nahrungsbrei mit ToyoCerin noch nicht durch den Verdauungstrakt geflossen ist. Dennoch ist erstaunlich, daß bereits 30 Minuten nach Abschluß der Aufnahme *B. toyoi* im Blinddarm ermittelt wurde. Hieraus kann geschlossen werden, daß eine starke Vermischung des Verdauungsbreies vorliegt.

Untersuchungen an 2 Stunden nach der Aufnahme geschlachteten Broilern zeigten, daß im Kropf kein *B. toyoi* mehr vorhanden ist. Eine Etablierung des Probiotikums erfolgt demnach nicht. Daß dies voraussichtlich für den gesamten Verdauungstrakt gilt, zeigen vor allem die eine Woche nach der ToyoCerin-Aufnahme bestimmten Sporengehalte (Abb.2). Nur im Blinddarminhalt lagen zu diesem Meßzeitpunkt noch nennenswerte ToyoCerin-Gehalte vor. Im vorderen Verdauungstrakt hingegen waren keine oder nur noch geringe Sporenmengen zu ermitteln.

### Abbildung 2: Vorkommen von ToyoCerin eine Woche nach der Verabreichung (n = 3)



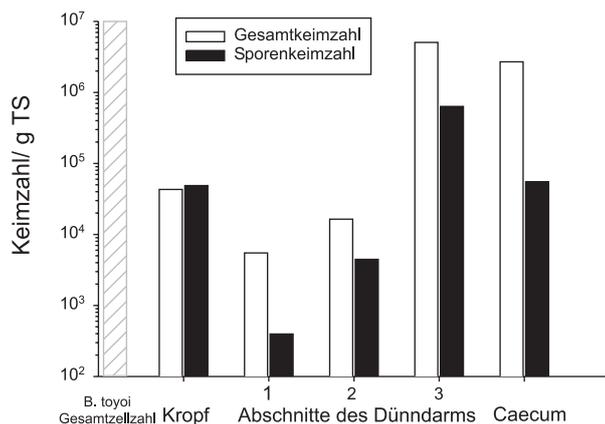
Die Ergebnisse belegen damit, daß *B. toyoi* als transientscher Mikroorganismus mit dem Nahrungsbrei den Verdauungstrakt durchläuft, ohne sich in der Darmflora zu etablieren. Die Wirkung von ToyoCerin ist somit nur bei kontinuierlicher Aufnahme mit dem Futter gegeben.

**Wie verhalten sich die ToyoCerin-Sporen im Verdauungstrakt?**

Da trotz der schnellen Auskeimung im gesamten Darmtrakt ToyoCerin-Sporen nachgewiesen wurden, ist davon auszugehen, daß stoffwechselaktive Zellen im Laufe des Verdauungskanals wieder Endosporen bilden und diese möglicherweise erneut auskeimen. Um dies nachzuweisen, wurden ausgekeimte *B. toyoi* Zellen ( $1 \times 10^7$  KBE) einmalig drei Wochen alten Broilern verabreicht.

Zwei Stunden nach Aufnahme der stoffwechselaktiven ToyoCerin-Zellen wurden die Broiler geschlachtet (n=3) und dem Verdauungstrakt aus verschiedenen Segmenten Darminhalt entnommen. In Abbildung 3 sind die ToyoCerin-Gesamtkeimzahlen sowie die ermittelten Sporengehalte dargestellt. Es wird deutlich, daß 2 Stunden nach der Verabreichung die stoffwechselaktiven *B. toyoi*-Zellen im Kropf bereits wieder Endosporen gebildet haben. Der direkt nach der Magenpassage ermittelte ToyoCerin-Gehalt (Dünndarm 1) lag unterhalb dem der folgenden Darmabschnitte (Dünndarm 2, 3, Caecum). Im hinteren Dünndarm war die *B. toyoi* Gesamtkeimzahl fast so hoch, wie die insgesamt zugeführte Menge stoffwechselaktiver Zellen. Demnach ist zu vermuten, daß es in diesem Darmabschnitt zu einer leichten Vermehrung der Sporen kommt.

**Abbildung 3: Verhalten stoffwechselaktiver *B. toyoi* Zellen im Verdauungstrakt von Broilern (2 Stunden nach Zugabe von insgesamt  $10^7$  vegetativen Zellen)**



Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß *B. toyoi* nach der ersten Keimung wieder versport und diesen Zyklus möglicherweise während seiner Passage durch den Verdauungstrakt mehrfach durchläuft.

**Wirken Probiotika positiv auf die Leistung in der Geflügelmast?**

In der Literatur werden unterschiedliche Probiotikawirkungen beim Geflügel beschrieben (Jin et al., 1997; Barrow, 1992). Über die genauen Wirkmechanismen in der Geflügelmast ist

jedoch noch wenig bekannt. Vermutlich ist die Unterstützung der erwünschten Mikroflora eine der wesentlichen Ursachen für die nach Probiotikagabe häufig gemessene bessere Leistung. Dies würde auch die z.T. unterschiedlichen Ergebnisse bisher durchgeführter Untersuchungen erklären, da das Ausmaß der Probiotikawirkung vor allem davon abhängt, inwieweit sich die Mikroflora bereits in einem Fließgleichgewicht befindet.

**Einfluß von ToyoCerin auf die Leistung von Broilern**

Da die Bildung einer durch Probiotika positiv veränderten Darmflora längere Zeit in Anspruch nimmt, muß insbesondere für die kurzen Mastperioden beim Broiler geprüft werden, ob mit dem Futter verabreichte Probiotika die Leistung verbessern. In einem Mastversuch mit insgesamt 600 männlichen Broilern (Lohmann Meat) wurde der Einfluß unterschiedlicher ToyoCerin-Gehalte im Futter auf die Leistung überprüft.

Hierzu wurden je 25 Broiler in 24 Buchten aufgestellt und über die Dauer von 35 Tagen mit einer Mais-Weizen-Soja-Ration gefüttert (siehe Tabelle 1).

Die Ration enthielt 12,8 MJ ME bei 23,2 % Rohprotein, 2,5 % Rohfaser und 6,8 % Rohfett in der Starterphase (Tag 1-14) und ab dem 15. Tag bis zum Ende der Mast 12,9 MJ ME bei 20,9 % Rohprotein, 2,4 % Rohfaser und 7,1 % Rohfett.

**Tabelle 1: Zusammensetzung der im Broilerversuch eingesetzten Ration [g/kg]**

	Starter (1.-14.Tag)	Mast (15.-35. Tag)
Mais	300	300
Weizen	265,7	318
Sojaextraktionsschrot	300	260
Fischmehl	50	30
Sojaöl	47	47
Vormischung *	15	15
CaCO <sub>3</sub>	10,8	14
Monokalziumphosphat	8,7	11
L-Lysin	0,6	2,2
DL-Methionin	2,2	2,8

\* Vormischung: 1.200.000 IE Vit. A; 120.000 IE Vit D<sub>3</sub>; 4.000 mg Vit. E; 200 mg Vit. B<sub>1</sub>; 600 mg Vit. B<sub>2</sub>; 2.500 mg Nikotinsäure; 400 mg Vit. B<sub>6</sub>; 4.000 µg Vit. B<sub>12</sub>; 20.000 µg Biotin; 1.800 mg Pantothenensäure; 50.000 mg Cholinchlorid; 75.000 mg Fe; 7.500 mg Mn; 10.000 mg Zn; 70 mg Co; 150 mg J

Die in Tabelle 2 aufgeführten Leistungsdaten zeigen, daß durch ToyoCerin über den gesamten Versuchsabschnitt der Futteraufwand tendentiell um 3,2 % (ToyoCerin 50); 1,9 % (ToyoCerin 100) bzw. 2,5 % (ToyoCerin 100/20) reduziert wurde. Im 2. Versuchsabschnitt (15.-35. Tag) war dieser Einfluß auf die Futtermittelverwertung in der ToyoCerin 50 Gruppe im Vergleich zur Kontrolle statistisch signifikant (p<0,05). Die Reduktion des Futteraufwands war dabei durch eine geringere Futtermittelaufnahme bedingt. In den beiden anderen Zulage-Gruppen (ToyoCerin 100 bzw. ToyoCerin 100/20) hingegen ergab sich die tendentiell bessere Futtermittelverwertung durch die gegenüber der Kontrolle um 1,8 % bzw. 2 % erhöhte Lebendmassezunahme.

**Tabelle 2: Einfluß unterschiedlicher ToyoCerin-Konzentrationen im Futter auf die Leistung von Broilern**

	Kontrolle	ToyoCerin 50	ToyoCerin 100	ToyoCerin 100 / 20
<b>ToyoCerin Starter</b> [KBE/kg]	0	0,5 x 10 <sup>9</sup>	1,0 x 10 <sup>9</sup>	1,0 x 10 <sup>9</sup>
<b>Grower</b> [KBE/kg]	0	0,5 x 10 <sup>9</sup>	1,0 x 10 <sup>9</sup>	0,2 x 10 <sup>9</sup>
<b>Tierzahl</b> [n]	137	140	135	136
<b>1. - 14. Tag</b>				
Zunahme [g]	394 ± 20	395 ± 16	401 ± 20	400 ± 15
Futtermittelverbrauch [g/g]	1,410 ± 0,05	1,376 ± 0,069	1,359 ± 0,032	1,364 ± 0,081
<b>15. - 35. Tag</b>				
Zunahme [g]	1354 ± 52	1353 ± 43	1378 ± 55	1383 ± 29
Futtermittelverbrauch [g/g]	1,746 <sup>a</sup> ± 0,048	1,688 <sup>b</sup> ± 0,045	1,719 <sup>ab</sup> ± 0,050	1,705 <sup>ab</sup> ± 0,054
<b>1. - 35. Tag</b>				
Zunahme [g]	1747 ± 67	1747 ± 57	1779 ± 71	1782 ± 26
Futtermittelverbrauch [g/g]	1,670 ± 0,048	1,617 ± 0,045	1,638 ± 0,050	1,628 ± 0,054

Werte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben unterschieden sich signifikant ( $p < 0,05$ ; Sheffe-Test)

Verluste traten in allen Versuchsgruppen auf. Sie lagen mit Ausnahme der ToyoCerin-Gruppe 50 (3,7 %) bei 5,7-5,9 %.

Die Ergebnisse zeigen, daß die bereits in der Kontrollgruppe ohne Leistungsförderer und Kokzidiostatikum gemessene gute Leistung durch ToyoCerin weiter verbessert werden konnte. Dabei ließ sich kein gerichteter Einfluß der Dosierung feststellen. Der Effekt des Probiotikums äußerte sich insbesondere in dem geringeren Futtermittelverbrauch. Dies bestätigen die von Richter 1999 veröffentlichten Ergebnisse, die eine Verbesserung des Futtermittelverbrauchs durch ToyoCerin um 1,4 % - 4,8 % zeigten. Im Gegensatz zu der hier dargestellten Untersuchung ermittelte Richter (1999) jedoch bei zunehmender ToyoCerin-Dosierung eine Reduktion der Verluste.

In einem Anfang 1999 mit insgesamt 45.540 Cobb-Broilern durchgeführten Praxisversuch konnte die Futtermittelverwertung durch ToyoCerin (1x10<sup>9</sup> KBE/kg Starterfutter ; 0,2x10<sup>9</sup> KBE/kg Mastfutter) gegenüber der Kontrollgruppe um 5,1 % verbessert werden (LAH, 1999). Dies war vornehmlich durch die höhere Lebendmasse der Broiler der ToyoCerin-Gruppe am Ende der 34-tägigen Mastperiode bedingt. Auch hier konnten die Verluste durch ToyoCerin von 2,02 % auf 1,47 % reduziert werden. Im Gegensatz zu den oben genannten Institutsversuchen enthielt das im Praxisversuch eingesetzte Futter in beiden Behandlungen ein Kokzidiostatikum aus der Gruppe der Ionophoren. Demnach kann ToyoCerin auch in Kombination mit leistungsfördernden Substanzen die Leistung steigern.

### Einfluß von ToyoCerin auf die Leistung von Puten

In den meisten bisher durchgeführten Versuchen zur Wirksamkeit von Probiotika bei Puten wurden konventionelle Leistungsförderer, zumindest aber Kokzidiostatika mit leistungsförderndem Effekt (Ionophore), eingesetzt. Einige dieser Untersuchungen zeigten, daß durch Probiotika ein zu-

sätzlicher Effekt auf die Leistung erzielt werden kann. So wurde bereits 1988 in Kartzföhner Versuchen durch ToyoCerin (1x10<sup>9</sup> KBE/kg) in Kombination mit Virginiamycin (20 mg/kg) die Lebendmasse um 2 % verbessert und der Futtermittelverbrauch um 2,5 % reduziert.

Bedingt durch die wachsende Kritik am Einsatz klassischer Leistungsförderer ist jedoch zunehmend von Interesse, inwieweit durch Probiotika ohne Zulage klassischer Leistungsförderer hohe Leistungen in der Putenmast abgesichert werden können.

Zu dieser Fragestellung führten Jeroch und Mitarbeiter (1998) einen Versuch mit unterschiedlichen ToyoCerin-Dosierungen im Vergleich zu einem Leistungsförderer (Zink-Bacitracin) an insgesamt 540 männlichen Puten der Herkunft Big 6 über die Dauer von 22 Wochen durch. Die Tiere wurden in 36 Abteilen mit je 15 Puten aufgestellt und in Anlehnung an die vom Züchter erstellten Empfehlungen für eine 6-Phasenmast aufgezogen (Informationen zur Putenmast, Hrsg. Moorgut Karzfehn). Alle Puten erhielten die gleiche Standardration, die in den Phasen 1 - 4 ein Mittel gegen Kokzidiose (2,5 mg/kg Halofuginon) und gegen Histomoniasis (50 mg/kg Nifursol) enthielt.

Die Futter der Versuchsgruppen unterschieden sich lediglich in der Zulage der Zusatzstoffgehalte:

Gruppe 0:	Kontrolle
Gruppe ZBA:	P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub> : 50 mg/kg; P <sub>3</sub> -P <sub>6</sub> : 20 mg/kg
Gruppe ToyoCerin 100:	P <sub>1</sub> -P <sub>6</sub> : 1 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg
Gruppe ToyoCerin 50:	P <sub>1</sub> -P <sub>6</sub> : 0,5 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg
Gruppe ToyoCerin 20:	P <sub>1</sub> -P <sub>6</sub> : 0,2 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg
Gruppe ToyoCerin 100/50/20:	P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub> : 1 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg; P <sub>3</sub> -P <sub>4</sub> : 0,5 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg; P <sub>5</sub> -P <sub>6</sub> : 0,2 x 10 <sup>9</sup> KBE/kg

Die Ergebnisse zur Leistung der Puten sind in Tabelle 3 aufgeführt. Es wird deutlich, daß durch alle Zusatzstoff-Zulagen im Vergleich zur Kontrollgruppe ein um 4,3 % - 7,4 % verringerter Futtermittelverbrauch erreicht werden konnte. Dabei wurden die besten Ergebnisse in den Gruppen ToyoCerin 50 und ToyoCerin 20 erzielt. Die verbesserte Futtermittelverwertung gegenüber der Kontrollgruppe war in fast allen Gruppen sowohl durch eine erhöhte Lebendmasse als auch durch den um 2 % - 4,5 % reduzierten Futtermittelverzehr bedingt. Lediglich in der Gruppe ToyoCerin 100/50/20 wurde die Lebendmasse durch ToyoCerin nicht verbessert. Da diese Gruppe jedoch den geringsten Futtermittelverzehr aufwies, lag der Futtermittelverbrauch auf dem Niveau des Leistungsförderers. Alle anderen ToyoCerin-Gruppen schnitten diesbezüglich etwas besser als der Leistungsförderer ab.

Die Mortalität betrug über den gesamten Versuchszeitraum nur 0,9 %, wobei die Verluste nur in den Phasen 1 und 2

**Tabelle 3: Einfluß unterschiedlicher ToyoCerin-Konzentrationen oder eines Leistungsförderers (Zink-Bacitracin) auf die Leistung von Puten**

	Kontrolle	ZBA	ToyoCerin 100	ToyoCerin 50	ToyoCerin 20	ToyoCerin 100/50/20
Lebendmasse [kg]	19,92 ± 1,66	20,05 ± 1,88	20,37 ± 1,38	20,69 ± 1,96	20,30 ± 1,58	19,90 ± 1,69
Futteraufnahme [kg]	56,43 ± 1,62	54,32 ± 1,41	55,29 ± 1,53	54,32 ± 1,79	54,02 ± 1,80	53,87 ± 1,19
Futteraufwand [kg/kg]	2,84 ± 0,12	2,72 ± 0,11	2,72 ± 0,10	2,63 ± 0,09	2,67 ± 0,08	2,72 ± 0,07

Jeroch, Strobel und Matzke, 1998 -unveröffentlicht-

auftraten. Daneben wurden weibliche Tiere sowie Puten mit Flügelbrüchen und Kropfbildung selektiert. Ein Einfluß der Behandlung lag bei den Verlusten nicht vor. Die Ergebnisse zeigen keinen deutlichen Einfluß der ToyoCerin-Dosierung.

Auch die Auswertung der einzelnen Mastabschnitte läßt nicht erkennen, daß die höhere ToyoCerin-Konzentration im Futter einen zusätzlichen Erfolg brachte. Dies ist sicherlich mit darauf zurückzuführen, daß es im Mastverlauf zu keinen nennenswerten Verdauungsproblemen kam, was an der sehr niedrigen Mortalität deutlich wird. Auch während der sensiblen Wachstumsphase (Phase 4), während der in der Praxis häufiger Probleme beobachtet werden, war die Gruppe ToyoCerin 100 nicht überlegen, sondern lag vielmehr auf dem Niveau der Kontrollgruppe, wohingegen alle anderen Zusatzstoffgruppen eine um 3,3 % bis 6,2 % verbesserte Futterverwertung aufwiesen.

**Zusammenfassung**

In Grundlagenuntersuchungen konnte gezeigt werden, daß *B. toyoi* Sporen im Verdauungstrakt von Broilern schnell auskeimen. Damit ist eine wesentliche Voraussetzung für die Wirksamkeit von ToyoCerin beim Geflügel erfüllt. Zudem konnten nach einmaliger Verabreichung bereits ausgekeimter (stoffwechselaktiver) *B. toyoi* Zellen im Verdauungstrakt versportete Zellen nachgewiesen werden. Hierdurch ergeben sich erstmals Hinweise, daß *B. toyoi* im Verdauungstrakt nach der Auskeimung erneut Endosporen bildet, die ggf. wieder auskeimen. Dies könnte ein interessanter Faktor im Hinblick auf die Stabilisierung des Fließgleichgewichts der Mikroflora im gesamten Verdauungstrakt sein.

Die dargestellten Mastversuche zeigen, daß durch den Einsatz des Probiotikums ToyoCerin die Leistung von Broilern und Mastputen verbessert werden kann. Dabei lagen die Leistungen im Putenversuch mindestens auf dem Niveau des eingesetzten Leistungsförderers, z.T. konnten sogar höhere Effekte als mit dem klassischen Leistungsförderer erzielt werden. Die Versuche zeigen, daß auch unter hygienisch einwandfreien Bedingungen die Zulage von ToyoCerin einen positiven Einfluß auf die Leistung hat. Eine eindeutige Dosierempfehlung läßt sich allerdings nicht ableiten.

Unter Praxisbedingungen sollte jedoch zu Beginn der Mast auf Grund der geringen Futteraufnahme und der noch nicht

im Fließgleichgewicht befindlichen Mikroflora im Verdauungstrakt die ToyoCerin-Dosierung  $1 \times 10^9$  KBE/kg betragen (Starter bzw. Mastphase P<sub>1</sub>-P<sub>2</sub>). Im weiteren Mastverlauf wird nach bisherigen Erfahrungen der Einsatz von  $0,2 \times 10^9$  KBE/ kg ausreichen.

**Literatur**

Barrow, Paul A. (1992): Probiotics for chickens, In: Probiotics Hrsg. E. Fuller Chapman & Hall, 225 - 257

Jeroch, H., E. Strobel und W. Matzke (1998): Einfluß des Probiotikums ToyoCerin auf die Mastleistung von Mastputenhähnen, unveröffentlichter Versuchsbericht

Jin, L.Z., Y.W. Ho; N. Adullah und S. Jalaludin (1997): Probiotics in poultry: modes of action. World's Poultry Science Journal 53, 351-368

LAH (1999): unveröffentlichte Ergebnisse

Richter, G. (1999): Lohnt sich der Einsatz von ToyoCerin? DGS intern 7, 4-5

Thelen, U. und J. Pallauf (1996): Effect of *Bac. cereus* on the composition of the gut flora in early weaned piglets. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 5, 144