

31. januar 2022

Robuste grise med funktionelle ingredienser i foderet- status

Rådgivningsnotat fra DCA – National Center for Fødevarer og Jordbrug

Af Maiken Christina N Engelsmann, Tina Skau Nielsen og Jan Værum Nørgaard

Institut for Husdyrvidenskab

Datablad

Titel:	Robuste grise med funktionelle ingredienser i foderet - status
Forfatter:	PhD-studerende Maiken Christina N Engelsmann, Adjunkt Tina Skau Nielsen og Lektor Jan Værum Nørgaard, Institut for Husdyrvidenskab
Fagfællebedømmelse:	Seniorforsker Nuria Canibe, Institut for Husdyrvidenskab
Kvalitetssikring, DCA:	Specialkonsulent Klaus Horsted, DCA Centerenheden
Rekvirent:	Fødevarestyrelsen
Dato for levering:	31.01.2022
Journalnummer:	2021-0244511
Finansiering:	Finansieringen til AU's projekter i regi af Veterinærforlig III forskningsprojekter hentes delvist fra "Rammeaftalen om forskningsbaseret myndighedsbetjening" indgået mellem Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri (FVM) og Aarhus Universitet dækkende perioden fra 2019-2022 og delvist fra midler finansieret af Landbrugsstyrelsen jvf. tilsagn om tilskud til: Forskningsaktiviteter vedr. MRSA jvf. Veterinærforlig III (af 9. december 2019 - journalnummer 33010-NIFA-19-738) og jvf. samarbejdsaftale mellem Aarhus Universitet og Miljø- og Fødevareministeriet - Fødevarestyrelsen (underskrevet 19. august 2020)
Ekstern kommentering:	Nej.
Eksterne bidrag:	Nej.
Kommentarer til besvarelse:	<p>Nedenstående afrapportering er en status med foreløbige resultater for projektet der ventes afsluttet ultimo 2022</p> <p>Afrapporteringen præsenterer resultater, som ved udgivelse ikke har været i eksternt peer review eller er publiceret andre steder. Ved en evt. senere publicering i tidsskrifter med eksternt peer review vil der derfor kunne forekomme ændringer.</p>
Citeres som:	Engelsmann, M.C.N, Nielsen, T.S, Nørgaard, J.V. 2022. Robuste grise med funktionelle ingredienser i foderet - status. 15 sider. Rådgivningsnotat fra DCA – Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug, Aarhus Universitet, leveret: 31. januar 2022.
Rådgivning fra DCA:	Læs mere på https://dca.au.dk/raadgivning/

1. Projekttitle:

AU5: Robuste grise med funktionelle ingredienser i foderet

2. Resumé:

Formål

Formålet er at anvende ernæringsmæssige (threonin, tryptofan og fermenterbare kulhydrater) tiltag til at gøre fravænnede grise mere robuste, således at de i mindre grad får behandlingskrævende diarré, og på den måde reducere forbruget af antibiotika.

Resultater

Tildelingen af (analyseret) 17,8 % ekstra threonin (**THR**), 12,2 % ekstra tryptofan (**TRP**) eller 19,6 % ekstra threonin og 17,5 % tryptofan (**THR+TRP**) viste ingen forskel ($P>0,10$) i det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst eller foderudnyttelse sammenlignet med de to kontrolblandinger; en standard-blanding (**Standard**, 241g råprotein/kg tørstof) og en basalblanding med mindre råprotein (**Skåne**; 203g råprotein/kg tørstof). Der blev ikke observeret nogen forskel i forekomsten af diarré mellem foderblandingerne, men grise i THR+TRP gruppen havde et lavere ($P=0,01$) antal af antibiotika-behandlingsdage (4,96 dage/gris) i forhold til THR (8,88 dage/gris) med de andre diæter liggende i mellem. I forhold til tarmsundhed, blev der ikke observeret forskel ($P>0,10$) mellem diæterne for biomarkørerne diaminoxidase og D-laktat, men grise i THR+TRP havde et større areal i tarmens krypter med såkaldte bægerceller, der producerer neutrale tarmbeskyttende muciner.

Erstatning af 2 % (**RPS2**) eller 8 % (**RPS8**) hvede i standardblandingen med rå kartoffelstivelse, viste ingen forskel ($P>0,10$) i det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst eller foderudnyttelse. Tilsætning af rå kartoffelstivelse havde ingen effekt ($P>0,10$) på sandsynligheden for diarré eller antallet af dage grisene blev behandlet med antibiotika mod diarré. I forhold til tarmsundhed, blev der ikke observeret nogen forskel i diaminoxidase ($P>0,10$), men grise der fik 8 % RPS havde en lavere koncentration af D-laktat ved dag 14 og 21 i forhold til grise på Standard diæten ($P<0,05$), samt en øget produktion af visse kortkædede fedtsyrer ($P<0,05$). Der blev ikke observeret nogen forskel mellem diæterne på antallet af to evaluerede bakteriegrupper i hverken blindtarmen eller tyktarmen ($P>0,10$).

Inddelingen af grise på tværs af diæter efter det gennemsnitlige daglige foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænnning (**LAV** vs. **HØJ**), viste, at grise i LAV gruppen havde lavere ($P<0,05$) foderoptag og tilvækst på alle registreringsdage og for hele forsøgsperioden. Sandsynligheden for diarré var 12,7 % højere for grise i HØJ gruppen, sammenlignet med grise i LAV gruppen. Derudover havde grise i HØJ gruppen 2,55 flere antibiotikabehandlingsdage mod diarré per gris end grise i LAV gruppen ($P=0,009$). Der blev ikke observeret forskel i tarm permeabilitets biomarkørerne D-laktat eller diaminoxidase ($P>0,10$) mellem grupperne.

Konklusion

Det konkluderes at tildelingen af ca. 20 % ekstra threonin og tryptofan over den danske norm, potentielt vil kunne reducere antibiotikaforbruget og stimulere tarmsundheden ved

at øge produktionen af muciner i tarmen. Derudover kan det konkluderes, at tilsætning af 2 % eller 8 % rå kartoffelstivelse ikke påvirker forekomsten af diarré, men har nogle gavnlige effekter på tarmsundheden, ved at sænke D-laktatkoncentrationen i blodet. Grise med et højt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravæning, har større risiko for at få diarré og det kan derfor være en idé at have fokus på restriktiv fodring i den første periode efter fravæning, som et værktøj til at reducere diarréforekomsten og nedbringe forbruget af antibiotika.

3. Oversigt over projektets samlede resultater:

Der blev gennemført et forsøg med 7 foderblandinger til at svare på 3 hypoteser. Formidlingen af forsøget deles op i 3 dele, der hver adresserer en hypotese.

3.1 Resultater for tildeling af ca. 20% ekstra threonin og tryptofan i foderet 0-28 dage efter fravæning

3.1.1. Produktionsparametre

I tabel 1 ses det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for grise på 5 diæter i forsøgsperioden 0-28 dage efter fravæning. Der blev ikke observeret nogen statistisk sikker forskel mellem diæterne for hverken daglig foderoptag ($P=0,67$) eller daglig tilvækst ($P=0,30$). Foderudnyttelsen var til gengæld i gennemsnit 8,9 % højere (dårligere) ($P<0,05$) for grise tildelt skåneblandingen i forhold til grise på de øvrige diæter.

Tabel 1. Det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for hele forsøgsperioden 0-28 dage efter fravæning.

	Standard	Diæt ¹			P-værdi	
		Skåne	THR	TRP		THR+TRP
Daglig foderoptag, g	446	422	414	419	449	0,67
Daglig tilvækst, g	361	307	323	320	346	0,30
Foderudnyttelse, g foder/g tilvækst	1,27 ^b	1,41 ^a	1,30 ^b	1,29 ^b	1,32 ^b	0,001

¹Standard = Standard blanding med 24,1 % råprotein, Skåne = Standard blanding med 20,3 % råprotein, THR = Standard blanding med 17,8 % ekstra threonin, TRP = Standard blanding med 12,2 % ekstra tryptofan, THR+TRP = Standard blanding med 19,6 % ekstra threonin og 17,5 % ekstra tryptofan. Alle ekstra tildelinger af aminosyrer er i forhold til normen for 7-9 kg grise (Tybirk et al., 2019).

3.1.2. Diarré forekomst;

Forekomsten af diarré blev registreret dagligt ved hjælp af en visuel gødningscore (score 1, 2 = normal; score 3, 4 = diarré) (Pedersen and Toft, 2011). Sandsynligheden for at få diarré i uge 1, 2, 3 eller 4 efter fravæning var ikke påvirket af de forskellige diæter ($P > 0,10$). Der var heller ikke forskel i sandsynligheden for diarré når data blev analyseret på tværs af hele forsøgsperioden 0-28 dage efter fravæning ($P=0,15$). Sandsynligheden for at få diarré for hver diæt for hele forsøgsperioden var; Standard = 31,8 %, Skåne = 27,0 %, THR = 33,2 %, TRP = 41,3 % og THR+TRP = 27,3 %.

I tabel 2 ses det gennemsnitlige antal diarré behandlingsdage per gris på tværs af hele forsøgsperioden på hver af de fem diæter. Det gennemsnitlige antal diarré behandlingsdage per gris var højere for grise der modtog TRP diæten (8,88) sammenlignet med grise på THR+TRP diæten (4,96) (P=0,01), mens de øvrige diæter ikke resulterede i forskelle i forhold til hverken TRP eller THR+TRP diæten.

Tabel 2. Gennemsnitlig antal dage en gris er blevet behandlet med antibiotika for diarré i forsøgsperioden.

Dage per gris	Diæt ¹				P-værdi	
	Standard	Skåne	THR	TRP		
	7,53 ^{ab}	6,32 ^{ab}	6,42 ^{ab}	8,88 ^a	4,96 ^b	0,012

¹Standard = Standard blanding med 24,1 % råprotein, Skåne = Standard blanding med 20,3 % råprotein, THR = Standard blanding med 17,8 % ekstra threonin, TRP = Standard blanding med 12,2 % ekstra tryptofan, THR+TRP = Standard blanding med 19,6 % ekstra threonin og 17,5 % ekstra tryptofan. Alle ekstra tildelinger af aminosyrer er i forhold til normen for 7-9 kg grise (Tybirk et al., 2019).

3.1.3. Biomarkører for tarmens permeabilitet

Tarmvæggens permeabilitet blev undersøgt ved at analysere blod udtaget på dag 4, 14, 21 og 28 efter fravæning for diaminoxidase (markør for integritet af tyndtarm) og D-laktat (markør for tarmens permeabilitet i hele tarmen). Jo højere indhold af begge markører, jo dårligere permeabilitet. Koncentrationen af diaminoxidase var ikke påvirket af diæten (P>0,10), men steg (P <0,05) fra dag 4 (68,9 U) til dag 28 (116,0 U) efter fravæning. Der blev ikke observeret nogen forskel (P=0,33) i D-laktat på tværs af diæterne.

3.1.4. Tarmens form og opbygning (morfologi)

Der blev kun udtaget tarmvæv fra grise på THR+TRP, Standard og Skåne behandlingerne. Der var ingen effekt af diæt (P>0,10) på tarmkrypternes dybde eller densiteten af krypterne i den forreste del af tyktarmen. Grise tildelt THR+TRP diæten havde til gengæld et større areal i krypterne med såkaldte bægerceller som producerer neutrale muciner, sammenlignet med Standard blandingen (3415 μm^2 vs. 1862 μm^2 , P=0,04). Mucin er en hovedkomponent af det slimede sekret, der beskytter tarmvæggen mod indtrængende sygdomsfremkaldende mikroorganismer (Specian and Oliver, 1991). Et større areal er derfor favorabel. Mucin opdeles i neutrale og sure, men deres forskellige funktioner vides endnu ikke, men det menes at de sure beskytter mod bakteriers fæstning til epitelet (Deplancke and Gaskins, 2001). Der var ingen forskel i arealet af bægerceller, som producerer sure muciner (P=0,62).

3.2 Resultater for tildeling af resistent stivelse i form af to niveauer af rå kartoffelstivelse i foderet 0-35 efter fravæning.

3.2.1. Produktionsparametre

I tabel 3 ses det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for hver af de 4 diæter opgjort for hele forsøgsperioden på 35 dage. Der blev observeret en tendens

($P=0,09$) for højere daglig foderoptag for grise fodret med RPS2 end RPS8. Der var en tendens ($P=0,052$) til højere daglig tilvækst for grise fodret med RPS2 (451 g) end Skåne (383 g). Diæt havde en effekt på foderudnyttelsen ($P=0,001$), hvor Skåne diæten resulterede i 11,8 % ringere foderudnyttelse end grise tildelt Standard diæten og 8,4 % ringere foderudnyttelse end blandingen med 8 % rå kartoffelstivelse (RPS8). Der var en tendens ($P=0,09$) til at foderudnyttelsen for blandingen med 2 % rå kartoffelstivelse (RPS2) var bedre i forhold til Skåne blandingen.

Table 3. Det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for hele forsøgsperioden 0-35 dage efter fravænning.

	Diæt ¹				P-værdi
	Standard	Skåne	RPS2	RPS8	
Daglig foderoptag, g	552	544	601	505	0,09
Daglig tilvækst, g	435	383	451	387	0,052
Foderudnyttelse, g foder/g tilvækst	1,27 ^b	1,42 ^a	1,34 ^{ab}	1,31 ^b	0,001

¹Standard = Standard blanding, Skåne = Standard blanding med lavere råprotein, RPS2 = Standard blanding med 2 % rå kartoffelstivelse, RPS8 = Standard blanding med 8 % rå kartoffelstivelse.

3.2.2. Diarré forekomst

Forekomsten af diarré blev observeret ved visuel scoring af gødning (score 1,2 = normal, 3,4 = diarré) hver dag i hele forsøgsperioden. Sandsynligheden for at få diarré i uge 1, 2, 3 eller 4 efter fravænning var ikke statistisk sikker forskellig blandt diæterne ($P > 0,10$). I uge 5 var der forskel ($P=0,02$) i sandsynligheden for diarré mellem Standard (48,7%) og Skåne (13,3%), med de to rå kartoffelstivelses diæter liggende imellem (RPS2; 38,5% og RPS8; 21,5%). I tabel 4 ses det gennemsnitlige antal diarré behandlingsdage per gris på tværs af hele forsøgsperioden på hver af de fire diæter. Der var ingen forskel ($P=0,28$) blandt diæterne.

Table 4. Gennemsnitlig antal af dage en gris er blevet behandlet med antibiotika for diarré i forsøgsperioden.

	Diæt ¹				P-værdi
	Standard	Skåne	RPS2	RPS8	
Dage per gris	7,79	5,33	6,62	6,46	0,28

¹Standard = Standard blanding, Skåne = Standard blanding med lavere råprotein, RPS2 = Standard blanding med 2 % rå kartoffelstivelse, RPS8 = Standard blanding med 8 % rå kartoffelstivelse.

3.2.3. Biomarkør for tarmens permeabilitet

Blod udtaget på dag 4, 14, 21 og 28 blev analyseret for diaminoxidase (markør for permeabiliteten af tyndtarm) og D-laktat (markør for tarmens permeabilitet). Jo højere indhold af begge markører, jo dårligere permeabilitet. Koncentrationen af diaminoxidase var ikke forskellig mellem diæterne ($P>0,10$), men steg ($P < 0,05$) fra dag 4 (65,6 U) til dag 28 (116,7 U) efter fravænning. Koncentrationen af D-laktat var ikke forskellig mellem dagene ($P=0,61$), men på dag 14 resulterede Standard diæten i højere koncentration af D-

laktat (16.9 mM) i blodet i forhold til RPS8 diæten (3,93 mM) ($P=0,05$), hvilket indikerer en mere gennemtrængelig tarm hos grise på Standard diæten i forhold til RPS8. De øvrige diæter resulterede i D-laktat niveauer mellem Standard og RPS8 grisenes. På dag 21 havde Standard stadig ($P=0,001$) højere D-laktat niveau i blodet (18,8 mM), end RPS8 (7,1 mM), men også i forhold til Skåne (5,8 mM) og RPS2 (4,3 mM). Ingen forskel blev observeret ved dag 28 ($P=0,78$).

3.2.4. Kortkædede fedtsyrer i tarmindehold

Koncentrationen af 6 forskellige kortkædede fedtsyrer blev analyseret i indhold fra blind- og tyktarm. De kortkædede fedtsyrer er produkter af mikrobiel fermentering af hovedsagligt kostfibre men også protein i blind- og tyktarm. Kortkædede fedtsyrer (eddikesyre, propionat og butyrat) har en gavnlig effekt både på tarmcellerne i blind- og tyktarmen (Regassa and Nyachoti, 2018). En høj koncentration af disse kortkædede fedtsyrer er derfor favorabel. Der blev kun observeret effekt af diæt af rå kartoffelstivelse på indholdet af enkelte kortkædede fedtsyrer i blindtarmen. Tildeling af 8 % rå kartoffelstivelse øgede indholdet af iso-smørsyre ($P=0,05$) med 56,7 %, tendens til øget indhold af butyrat ($P=0,07$) med 31,9 % og øgede indholdet af iso-valerianesyre ($P=0,008$) med 56,5 %, sammenlignet med Standard-blandingen. Tildeling af 2 % rå kartoffelstivelse øgede kun produktionen af iso-smørsyre med 46,7 % og iso-valerianesyre med 47,8 % i forhold til Standard-blandingen. Iso-valerianesyre og iso-smørsyre er begge produkter af protein fermentering og en høj koncentration af disse er derfor ikke favorable, da de er kendt for at stimulere væksten af skadelige bakterier (Gilbert et al., 2018).

3.2.5. Tarmmikrobiota

Tilstedeværelsen af total *E. coli* bakterier og total lactobacilli blev analyseret i indhold fra blind- og tyktarm. Diæt havde ingen effekt ($P>0,10$) på hverken det totale antal *E. coli* eller lactobacilli i blind- og tyktarm.

3.3. Resultater for grise opdelt efter foderoptaget mellem dag 0 til 4 efter fravæning

3.3.1. Produktionsparametre

I tabel 5 ses det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for grise med et højt (HØJ) eller lavt (LAV) foderoptag mellem dag 0-4 efter fravæning. Grupperne HØJ og LAV var på tværs af de 7 diæter. Det gennemsnitlige foderoptag dag 0-4 efter fravæning for grise i HØJ vs. LAV gruppen var hhv. 182 g/dag og 29 g/dag. Der var forskel ($P<0,05$) blandt de to grupper på dagligt foderoptag i resten af forsøgsperioden (tabel 5). Den statistiske sikre forskel i det gennemsnitlige foderoptag mellem HØJ og LAV, resulterede i en forskel ($P=0,05$) for den gennemsnitlige daglige tilvækst. Forskellen i tilvækst var både statistisk sikker forskellig for de enkelte uger og for hele forsøgsperioden. Foderudnyttelsen ($P=0,18$) var ikke forskellig blandt HØJ og LAV grupperne.

Table 5. Det gennemsnitlige daglige foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse for hele forsøgsperioden 0-28 dage efter fravænning.

	Foderoptagsgruppe ¹		P-værdi
	LAV	HØJ	
Daglig foderoptag, g	339	522	<0,05
Daglig tilvækst, g	197	359	<0,05
Foderudnyttelse, g foder/g tilvækst	1,35	1,30	0,18

¹LAV = Lavt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænning, HØJ = Højt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænning.

3.3.2. Diarré forekomst

Forekomsten af diarré blev observeret ved visuelt at score gødningen hver dag (score 1,2 = normal; score 3,4 = diarré). Sandsynligheden for at få diarré i uge 1 var forskellig (P=0,011) mellem HØJ (29,7 %) og LAV (12,6 %), ingen forskel blev observeret for uge 2 og 4 (P > 0,10) og kun en tendens blev observeret for uge 3 (P=0,07). For hele forsøgsperioden på 28 dage var der forskel (P=0,011) i sandsynligheden for diarré mellem HØJ (36,8 %) og LAV (24,1 %). I tabel 6 ses det gennemsnitlige antal af dage en gris i HØJ og LAV gruppen, har modtaget antibiotika for diarrébehandling i hele forsøgsperioden 0-28 dage efter fravænning. Der var forskel (P=0,0092) mellem de to fodergrupper, med flest antibiotikabehandlingsdage for grise med højt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænning.

Table 6. Gennemsnitlig antal af dage en gris er blevet behandlet med antibiotika for diarré i forsøgsperioden.

	Foderoptagsgruppe ¹		P-værdi
	LAV	HØJ	
Dage per gris	5,19	7,74	0,0092

¹LAV = Lavt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænning, HØJ = Højt foderoptag mellem dag 0-4 efter fravænning.

3.3.3. Biomarkører for tarmens permeabilitet

Tarmvæggens permeabilitet for grise i grupperne HØJ og LAV blev undersøgt ved at analysere blod udtaget på dag 4, 14, 21 og 28 efter fravænning for diaminoxidase og D-laktat. Koncentrationen af diaminoxidase i blodet var ikke forskellig (P>0,10) mellem de to grupper, men steg (P<0,05) fra dag 4 (66,0 U) til dag 28 (112,8 U) efter fravænning. Koncentrationen af D-laktat var ikke forskellig (P>0,10) mellem de to grupper eller mellem dagene.

4. Diskussion og konklusion af resultaterne:

Tildeling af 20% ekstra threonin og tryptofan

Tidligere studier har vist, at når grises immunforsvar er udfordret, som i perioden omkring fravæning, er behovet for aminosyrerne threonin (Trevisi et al., 2015) og tryptofan (Jayaraman et al., 2017) øget. Tryptofan er involveret i reguleringen af appetit (Le Floch and Seve, 2007) og hypotesen var derfor, at tildeling af ekstra tryptofan over behovet til vækst, kan øge foderoptagelsen og dermed få grisen godt i gang efter fravæning med at udvikle et sundt og velfungerende tarmsystem. Zhang et al. (2007) og Jayaraman et al. (2017) har fundet et øget foderoptag ved en fordobling af mængden af tryptofan i foderet i forhold til kontrol-behandlingerne, som var sammensat til at opfylde grisenes behov for tryptofan. I vores studie resulterede ekstra 12,2 % tryptofan ikke i et øget dagligt foderoptag i forhold til hverken Standard- eller skåneblanding. Den daglige tilvækst og foderudnyttelsen var heller ikke påvirket af den øget mængde tryptofan, samt sandsynligheden for diarré.

Antagelsen om at tildeling af ekstra threonin over behov kan fremme tarmsundheden er baseret på det faktum at det beskyttende mucin-lag af tarmens slimhinde indeholder meget threonin (Nichols and Bertolo, 2008). Sandsynligheden for diarré var ikke forskellig mellem THR og THR+TRP, i forhold til de to kontrol-blandinger (Standard og Skåne). Grisene i vores forsøg var opstaldet enkeltvist og derfor smittetrykket have været lavt, trods at der blev påført gødning i stierne hver anden dag, og smittepresset lavt. Dette kan være en medvirkende forklaring på den generelt lave frekvens af diarré blandt grisene, hvilket gør det vanskeligere at detektere en forskel mellem behandlingerne. Trods ingen forskel i sandsynligheden for diarré, havde THR+TRP grisene det laveste antal af antibiotika behandlingsdage mod diarré i forhold til de øvrige grise. Grisene fodret THR+TRP viste en øget mucin-produktion, ved et øget antal af mucin-producerende bægerceller. Grisene i gruppen THR+TRP havde ligeledes et numerisk gennemsnitlig dagligt foderoptag, tilvækst og foderudnyttelse der lå tættest på Standard-blandingen end de andre diæter. Samlet set indikerer dette, at grisen har et øget behov for begge aminosyrer og ved at tildele ekstra threonin og tryptofan øges grisens modstandsdygtighed mod diarré uden bekostning af tilvækst. Dette indikerer et muligt samspil mellem de to aminosyrer i overensstemmelse med Russell et al. (1983) og Fernández and Strathe (2009). Sidstnævnte fandt, at ekstra threonin og tryptofan øgede foderoptaget, tilvæksten og sænkede diarré forekomsten.

Det kan konkluderes at tildeling af både ekstra threonin og tryptofan over grisens behov, havde en gavnlig effekt på tarmsundheden ved at øge produktionen af mucin, samt at det reducerede antallet af dage grisen havde brug for antibiotika til behandling af diarré i forhold til grise tildelt ekstra tryptofan. Det er derfor muligt, at tildeling af ca. 20 % ekstra tryptofan og threonin kan være med til at sænke antibiotika forbruget ude i besætningerne. Afprøvning af denne strategi i et større besætningsforsøg vil kunne estimere den forventede gavnlige effekt mere præcist, men det vil være en fodringsstrategi, som nemt ville kunne implementeres i praksis.

Tildelingen af to niveauer af rå kartoffelstivelse

Baggrunden for at teste effekten af rå kartoffelstivelse med et højt indhold (~55 %) af resistent stivelse (RS) i diæten er, at RS er et komplekst kulhydrat som fermenteres af tyktarmens mikroorganismer. Dette kan være et virkemiddel til at påvirke tarmmikrobiotaens sammensætning ved at fremme en sund mikrobiota som øger modstandsdygtigheden overfor sygdomsfremkaldende bakterier (Regassa and Nyachoti, 2018). Bhandari et al. (2009) fandt at tildeling af 7 % og 14 % rå kartoffelstivelse i diæten reducerede diarré forekomsten med 88 % mellem dag 0-7 efter fravæning, mens der ingen forskel blev observerede for uge 2 og 3 efter fravæning. Grisene tildelt begge niveauer (7 % og 14 %) af rå kartoffelstivelse havde dog også en lavere tilvækst for hele perioden. Heo et al. (2014) derimod, fandt ingen forskel i tilvækst, men en reduceret forekomst af diarré mellem dag 8-14 efter fravæning, når grise blev fodret med enten 0,5 % eller 1 % rå kartoffelstivelse. Vi valgte at tildele 2 % og 8 % rå kartoffelstivelse, som en middelvej i forhold til de to studier.

Sandsynligheden for diarré var ikke påvirket af tildelingen af rå kartoffelstivelse i dette forsøg. Manglen på forskel kunne skyldes et lavt smittepres i de enkelte stier, trods det påførte gødning i stierne, at de fermenterbare kulhydrater i det rå kartoffelstivelse ikke har haft tid nok til at virke eller at mængden af rå kartoffelstivelse der nåede bagtarmen ikke var stor nok til at have nogen indflydelse. Forarbejdning af foderet kan generelt reducere mængden af RS (Sun et al., 2006). I dette forsøg pilleterede vi foderet og det kan have reduceret mængden af RS til under det planlagte.

Effekten af rå kartoffelstivelse på tarmsundheden blev evalueret ved biomarkører for tarmvæggens permabilitet og tilstedeværelsen af to bakterie grupper. D-laktat koncentrationen ved dag 14 og 21 viste begge en forbedret tarmvæg for grise tildelt 8 % rå kartoffelstivelse (RSP8) sammenlignet med grise tildelt Standard-blandingen. Den rå kartoffelstivelse havde altså en positiv effekt på tarmvæggen. Mængderne af rå kartoffelstivelse var dog ikke store nok eller tildelt længe nok til at have en effekt på antal af hverken *E. coli* eller lactobacilli. Begge niveauer af rå kartoffelstivelse resulterede i øget koncentration af iso-smørsyre i blindtarmen og indikerer dermed at der har været proteolytisk aktivitet og ikke fermentering af det resistent stivelse. Men denne effekt forsvinder i tyktarmen.

Det kan konkluderes, at tildeling af 2 % eller 8 % rå kartoffelstivelse havde nogle gavnlige effekter på visse tarmsundhedsmarkører. Mængderne af rå kartoffelstivelse var formodentlig ikke store nok til at have en gavnlig effekt på forekomsten af diarré og antallet af dage en gris blev behandlet med antibiotika for diarré. Derudover var effekten på koncentrationen af kortkædede fedtsyrer minimal.

Foderoptag mellem dag 0 til 4 efter fravæning

Baggrunden for at opdele grise efter deres foderoptag, var at undersøge om foderoptaget lige efter fravæning har en effekt på tarmens modstandsdygtighed overfor smittepreset i ugerne efter fravæning. Et lavt (81 g/dag vs. 133 g/dag) foderoptag den første uge efter

fravænning har vist at resultere i kortere tarmvilli (Thymann et al., 2007) og at tarmslimhinden er mere gennemtrængelig for sygdomsfremkaldende mikroorganismer (McCracken et al., 1999). Grise i HØJ gruppen havde 6 gange så højt foderoptag i løbet af de første 4 dage, som dem i LAV gruppen. Grisene i LAV blev ved med at have et lavere foderoptag i hele forsøgsperioden. Det lavere foderoptag for LAV gruppen resulterede også i et væsentligt lavere gennemsnitlig daglige tilvækst. Foderoptaget havde også en effekt på sandsynligheden for diarré, hvor HØJ gruppen havde 52,7 % højere risiko for at få diarré og 2,55 antibiotikabehandlingsdage mere per gris end grise i LAV gruppen. Dette kan muligvis skyldes at grise lige efter fravænning har en lav fordøjelighed (Engelsmann et al., 2022) og at det ufordøjede foder vil være substrat for bakterier eller at et højt foderoptag resulterer i et langt større flow af næringsstoffer til tarmen, hvilket kan påvirke osmolariteten og dermed resulterer i en mere vandig konsistens af tarmindholdet. Tarmens permeabilitet (diaminoxidase og D-laktat) var heller ikke forskellig blandt de to grupper, hvilket understøtter, at tarmens permeabilitet var intakt.

Det kan konkluderes, at et højt foderoptag lige efter fravænning fremmer forekomsten af diarré. Det kan derfor være hensigtsmæssigt at have fokus på at regulere grisenes foderoptagelse og eventuelt benytte restriktiv fodring i en vis periode efter fravænning, som et tiltag for at forebygge diarré og forbrug af antibiotika.

Referencer

- Bhandari, S. K., C. M. Nyachoti, and D. O. Krause. 2009. Raw potato starch in weaned pig diets and its influence on postweaning scours and the molecular microbial ecology of the digestive tract. *Journal of Animal Science* 87(3):984-993. (Article) doi: 10.2527/jas.2007-0747
- Deplancke, B., and H. R. Gaskins. 2001. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *The American journal of clinical nutrition* 73(6):1131S-1141S.
- Engelsmann, M., L. Jensen, M. van der Heide, M. Hedemann, T. Nielsen, and J. Nørgaard. 2022. Age-dependent development in protein digestibility and intestinal morphology in weaned pigs fed different protein sources. *Animal* 16(1):100439.
- Fernández, J. A., and A. Strathe. 2009. Dietary tryptophan and threonine supply to 28 days old weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 154(3-4):265-270. (Article) doi: 10.1016/j.anifeedsci.2009.09.003
- Gilbert, M. S., N. Ijssennagger, A. K. Kies, and S. W. van Mil. 2018. Protein fermentation in the gut; implications for intestinal dysfunction in humans, pigs, and poultry. *Am. J. Physiol.-Gastroint. Liver Physiol.* 315(2):G159-G170.
- Heo, J. M., A. K. Agyekum, Y. L. Yin, T. C. Rideout, and C. M. Nyachoti. 2014. Feeding a diet containing resistant potato starch influences gastrointestinal tract traits and growth performance of weaned pigs. *Journal of Animal Science* 92(9):3906-3913. (Article) doi: 10.2527/jas.2013-7289

- Jayaraman, B., J. K. Htoo, and C. M. Nyachoti. 2017. Effects of different dietary tryptophan:lysine ratios and sanitary conditions on growth performance, plasma urea nitrogen, serum haptoglobin and ileal histomorphology of weaned pigs. *Anim. Sci. J.* 88(5):763-771. (Article) doi: 10.1111/asj.12695
- Le Floc'h, N., and B. Seve. 2007. Biological roles of tryptophan and its metabolism: Potential implications for pig feeding. *Livest. Sci.* 112(1-2):23-32. (Review) doi: 10.1016/j.livsci.2007.07.002
- McCracken, B. A., M. E. Spurlock, M. A. Roos, F. A. Zuckermann, and H. R. Gaskins. 1999. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. *J. Nutr.* 129(3):613-619. (Article)
- Nichols, N. L., and R. F. Bertolo. 2008. Luminal threonine concentration acutely affects intestinal mucosal protein and mucin synthesis in piglets. *J. Nutr.* 138(7):1298-1303. (Article)
- Pedersen, K. S., and N. Toft. 2011. Intra- and inter-observer agreement when using a descriptive classification scale for clinical assessment of faecal consistency in growing pigs. *Prev. Vet. Med.* 98(4):288-291. (Article) doi: 10.1016/j.prevetmed.2010.11.016
- Regassa, A., and C. M. Nyachoti. 2018. Application of resistant starch in swine and poultry diets with particular reference to gut health and function. *Animal Nutrition* 4(3):305-310.
- Russell, L. E., G. L. Cromwell, and T. S. Stahly. 1983. Tryptophan, threonine, isoleucine and methionine supplementation of 1 12-percent protein, lysine-supplemented, corn-soybean meal diet for growing-pigs. *Journal of Animal Science* 56(5):1115-1123. (Article)
- Specian, R. D., and M. G. Oliver. 1991. Functional biology of intestinal goblet cells. *Am. J. Physiol.* 260(2):C183-C193. (Review)
- Sun, T., H. N. Lærke, H. Jørgensen, and K. E. B. Knudsen. 2006. The effect of extrusion cooking of different starch sources on the in vitro and in vivo digestibility in growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131(1-2):67-86.
- Thymann, T., K. U. Sorensen, M. S. Hedemann, J. Elnif, B. B. Jensen, H. Banga-Mboko, T. D. Leser, and P. T. Sangild. 2007. Antimicrobial treatment reduces intestinal microflora and improves protein digestive capacity without changes in villous structure in weanling pigs. *Br. J. Nutr.* 97(6):1128-1137. (Article) doi: 10.1017/s0007114507691910
- Trevisi, P., E. Corrent, M. Mazzoni, S. Messori, D. Priori, Y. Gherpelli, A. Simongiovanni, and P. Bosi. 2015. Effect of added dietary threonine on growth performance, health, immunity and gastrointestinal function of weaning pigs with differing genetic susceptibility to *Escherichia coli* infection and challenged with *E. coli* K88ac. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99(3):511-520. (Article) doi: 10.1111/jpn.12216

Tybirk, P., N. M. Sloth, N. Kjeldsen, and L. Shooter. 2019. Danish Nutrient Standards. https://svineproduktion.dk/Viden/I-stalden/Foder/Indhold_foder/Naeringsstoffer (Accessed 15.01 2020).

Zhang, H. W., J. D. Yin, D. F. Li, X. Zhou, and X. L. Li. 2007. Tryptophan enhances ghrelin expression and secretion associated with increased food intake and weight gain in weanling pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33(1):47-61. (Article) doi: 10.1016/j.domaniend.2006.04.005

4a. Perspektivering:

Projektet viste at tildeling af ca. 20 % ekstra threonin og tryptofan, ifht. den danske norm, til en standardblanding, reducerede antallet af dage en gris havde behov for at blive behandlet med antibiotika mod diarré, i forhold til en standardblanding med 12,2 % ekstra tryptofan. At øge mængden af threonin og tryptofan vil være en fodringstrategi der potentielt ville kunne reducere antibiotikaforbruget og som ville kunne implementeres nu. Tilsætning af rå kartoffelstivelse (fermenterebar kulhydrat) i to niveauer viste ikke nogen signifikant effekt på hverken diarré eller antallet af antibiotikabehandlingsdage. Derimod indikerede resultater på koncentrationen af biomarkøren D-laktat en positiv effekt på tarmsundhed ved tilsætning af rå kartoffelstivelse. Forsøget kan ikke specificere det optimale niveau af rå kartoffelstivelse, men det antages at være mellem 2 % og 8 %, for at kunne opretholde samme tilvækst, som en standardblanding. Tildeling af rå kartoffelstivelse til ny-fravænnede grise vil kunne implementeres nu.

Opdelingen af grisene baseret på deres foderoptag mellem dag 0-4 viste at et højt foderoptag øgede risikoen for diarré. Det kan derfor være hensigtsmæssigt at have fokus på at regulere grisenes foderoptagelse og eventuelt benytte restriktiv fodring i en vis periode efter fravæning, f.eks. den første uge, som et tiltag for at forebygge diarré og forbrug af antibiotika.

Opfølgende initiativer kunne med fordel undersøge en kombination af de to fodringsstrategier: Ville det være muligt at styrke tarmsundheden gennem effekten af fermenterbare kulhydrater fra rå kartoffelstivelse på tarmens mikrobiota, mens tilsætningen af ekstra threonin og tryptofan ville øge mucin-produktionen og beskytte tarmen?

5. Beskrivelse af projektets formål og hypoteser:

Det overordnede formål er at anvende ernæringsmæssige tiltag til at gøre fravænnede grise mere robuste således at de i mindre grad får behandlingskrævende diarré i den '2. bølge' som ofte ses fra omkring 20 dage efter fravæning.

Det specifikke formål er at undersøge tarmsundhed, tilvækst og fodereffektivitet hos grise:

- Fodret med 2 % eller 8 % rå kartoffelstivelse.

- Fodret med 20 % ekstra threonin, 20 % ekstra tryptofan eller 20 % ekstra threonin og 20 % ekstra tryptofan i foderet.
- Med et højt eller lavt foderoptag de første 4 dage efter fravæning.

Projektets hypoteser:

1. Kulhydrater der fermenteres i grisens blind- og tyktarm stimulerer væksten af ikke-skadelige bakterier og gør dermed grisene mere modstandsdygtige over for det smittepres de møder efter fravæning.
2. Grisen har et øget behov for threonin og tryptofan lige efter fravæning, hvor grisens immunsystem udvikles. Threonin udgør desuden en stor andel af aminosyrerne i mucin, som beskytter tarmen. Tryptofan er en aminosyre som kan stimulere foderoptaget.
3. Et højt foderoptag de første dage efter fravæning stimulerer tarmens funktion, udvikling og modstandsdygtighed i ugerne efter fravæning.

6. Beskrivelse af projektets materialer og metoder:

Forsøget foregik i smågrisestaldene på AU Foulum. Forsøget blev gennemført med 168 kastrerede hangrise fordelt på 7 diæter (24 grise per diæt). De 7 diæter tog udgangspunkt i de gældende danske normer for protein- og aminosyrer til smågrise. En foderblanding med 241 g råprotein/kg tørstof blev anvendt som en kontrolblanding (Standard), samt en foderblanding sammensat efter gældende skånenormer, der reducerer risiko for diarréforekomst (**Skåne**), ved at sænke mængden af råprotein til 203 g råprotein/kg tørstof. To forsøgsbehandlinger blev sammensat ved at tilsætte 2% (**RPS2**) eller 8% (**RPS8**) rå kartoffelstivelse til Standard-blandingen på bekostning af hvede. Derudover blev der sammensat yderligere tre forsøgsbehandlinger ved tilsætning af enten 20 % ekstra threonin (**THR**), 20 % ekstra tryptofan (**TRP**) eller en kombination af 20 % ekstra threonin og 20 % ekstra tryptofan (**THR+TRP**). Aminosyreanalyserne viste et lavere indhold af aminosyrer end planlagt: 17,8 % threonin i THR, 12,2 % tryptofan i TRP, samt 19,6 % threonin og 17,5 % tryptofan i THR+TRP. Alle foderblandingerne blev tildelt i 28 dag efter fravæning, hvorimod foderblandingerne med rå kartoffelstivelse (RPS2 og RPS8) og de to kontrolblandinger (Standard og Skåne) blev tildelt yderligere i en uge.

Sanitære forhold

For at opnå hygiejnemæssige forhold der minder om forholdene hos gruppeopstaldede grise i konventionelle produktionsbesætninger, blev grisens nærmiljø tildelt et mix af gødning ved at påføre dette på en væg i stien. Gødningen blev indsamlet fra smågrisestaldene på AU Foulum, fra jævnalderen smågrise. Dette blev gjort hver anden dag fra dag 3 i forsøget.

Registreringer

Gødningskonsistens/diarréfrekvens blev evalueret dagligt ved at kigge på frisk gødning i stien og scoret ved hjælp af et visuelt 4-skala scoringssystem (score 1 = normal til score 4 = vandig diarré) (Pedersen and Toft, 2011). Grisenes vægt (tilvækst) og foderoptag (foderforbrug, foderudnyttelse) blev registreret ved dag 4, 7, 14, 21, 28 og 35 efter fravænning.

Sub-gruppe til undersøgelse af forsøgsbehandling og effekten af foderoptag

Grisene blev endvidere opdelt efter deres gennemsnitlige daglige foderoptag mellem dag 0 og 4 efter fravænning. De 25% af grisene med det laveste foderoptag (**LAV**; n = 42) og de 25% af grisene med det højeste foderoptag (**HØJ**; n = 42) blev udvalgt. Grisene blev udvalgt således at grupperne HØJ og LAV var balanceret i forhold til alle 7 forsøgs-diæter. Blodprøver blev udtaget fra grise i begge grupper (n = 84; n = 12 grise/behandling) på dag 4, 14, 21 og 28 efter fravænning. Ved dag 28 efter fravænning blev grise i grupperne HØJ og LAV, der havde fået foderblandinger Standard, Skåne, THR+TRP, RPS2 og RPS8, slagtet.

7. Projektstart og afslutning:

01.01.2019 – 30.06.2022

8. Kontaktperson på projektet:

Lektor, Jan Værum Nørgaard, Blichers allé 20, 8830 Tjele, Institut for husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, 87157816, janvnoergaard@anis.au.dk

9. Offentliggørelse:

Resultaterne forventes offentliggjort som en del af en Ph.d. afhandling og formidlet i tre videnskabelige artikler med følgende overordnede emner:

- Effekten af tildeling af ekstra threonin og tryptofan på diarré forekomsten (ultimo 2022)
- Effekten af høj og lav foderoptag lige efter fravænning på diarré forekomsten (ultimo 2022)
- Effekten af to niveauer af rå kartoffelstivelse på diarré forekomsten (primo 2023)

Derudover planlægges resultaterne offentliggjort ved konferencen Digestive Physiology in Pigs (Maj 2022), samt ved nationale konferencer som SEGES fodringsseminar 2022 eller SEGES Grisekongres 2022.