



Statens Husdyrbrugsforsøg 1989

Meddelelse

4. AUGUST

NR. 752

Mælkesyreproducerende bakterier i smågrisefoder

Viggo Danielsen og Ellen-Margrethe Vestergaard
Afdelingen for forsøg med svin og heste

Bent Borg Jensen
Afdelingen for dyrefysiologi og biokemi

Et probiotikum indeholdende *Streptococcus faecium* er afprøvet som tilsætningsstof i foderet til smågrise. Effekten på foderoptagelse, foderudnyttelse og sundhedstilstand er målt. Grisene startede i forsøg ved fravæning, 4 uger gamle og sluttede forsøget 8 uger gamle. De blev delt i to hold, hvoraf det ene fik kontrolfoder, det andet fik foder tilsat 0,4% premix indeholdende *S. faecium*. Der blev indsat 25 gentagelser med et samlet antal grise på 100 i forsøget.

Resultaterne viste ikke nogen gunstig effekt af produktet på foderoptagelsen, foderudnyttelsen eller diarréfrekvensen hos grisene. I de første 1–2 uger havde grisene på probiotikumholdet signifikant lavere foderoptagelse og tilvækst end grisene på kontrolholdet, men ved forsøgets afslutning var denne forskel udlignet. I alt 25 grise på kontrolholdet og 29 grise fra probiotikumholdet havde behandlingskrævende diarré, hvilket svarede til henholdsvis 50% og 56% af grisene på de respektive hold. Ved undersøgelse af gødningsprøver fra 4 grise på hvert hold fandtes 56 gange flere streptokokker i prøverne fra probiotikumholdet. Set i relation til det totale antal bakterier i tarmkanalen hos grisene, har det sandsynligvis ikke haft nogen afgørende betydning for sammensætningen af bakteriefloraen.

Indledning

Anvendelse af forskellige bakteriekulturer som probiotika benyttes som alternativ til brugen af antibiotika eller kemoterapeutika som vækstfremmere til grise. Begrebet probiotika omfatter bakterier, der givet i foderet i effektive doser kan etablere sig i fordøjelseskanalen og opretholde eller forstærke tarmfloraens evne til at forhindre etablering af sygdomsfremkaldende organismer og til at sikre optimal foderudnyttelse. De fleste

probiotika indeholder bakteriekulturer af *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. eller *Bacillus* spp.

Kriterierne, for at bakterier kan anvendes som probiotika, er følgende: 1. Bakterierne må være i stand til at nå frem til mavetarmkanalen og der danne stabile populationer. 2. Bakterierne må kunne aktiveres hurtigt og have en høj vækstrate. Der må være et tilstrækkeligt højt antal bakterier i tarmen til at kunne konkurrere effektivt mod patogene bakterier herunder *E. coli* og *Cl. perfrin-*

gens. 3. Bakterierne må kunne udskille metabolitter, der virker hæmmende på væksten af patogenerne. 4. Bakterierne må kunne dyrkes under industrielle forhold, og produkterne må være veldefinerede og holdbare.

Virkningsmekanismen ved anvendelse af probiotika er baseret på en mikrobiel konkurrence i tarmen. Man tilstræber at påvirke og kontrollere sammensætningen af tarmens mikroorganismer, således at de patogene bakteriers forhold og vækst minimeres.

Der er beskrevet forskellige teorier for måden, hvorpå probiotika udøver anti-*E. coli* effekt. Her skal nævnes følgende: 1. Produktion af mælkesyre, der sænker pH, så aktiviteten af bakteriedræbende stofskifteprodukter øges (tilstedeværelsen af syre alene hæmmer ikke *E. coli*). 2. Dannelse af brintoverilte og thiocyanat, der har antibakteriel virkning. 3. Produktion af naturlige antibiotika (nisin fra streptokokker og acidophyllin fra laktobaciller). 4. Modvirkning af bakterielt dannede enterotoksiner, især aktivitet mod enterotoksin fra *E. coli*. 5. Fasthæftning til tarmslimhinden så de patogene bakterier forhindres i at kolonisere.

Den bedste effekt af probiotikaanvendelse til smågrise må forventes i perioder, hvor grisene er uden stabil mave-tarmflora. Det drejer sig især om perioden umiddelbart efter fødslen eller i forbindelse med fravæning, ved miljø- og foderskift samt efter behandling med antibiotika i terapeutiske doser.

På Sjælland III er gennemført et forsøg med et probiotikum, der indeholder en frysetørret bakteriekultur af *Streptococcus faecium* (SF-68). Produktet blev givet til smågrise i perioden efter fravæning. Formålet med forsøget var at undersøge, om tilskud af denne mælkesyreproducerende bakterie i foderet påvirkede grisenes foderoptagelse, foderudnyttelse og sundhedstilstand.

Materiale og metode

Det afprøvede produkt bestod af en premix i pulverform, der indeholdt en renkultur af *Streptococcus faecium*. Bakteriekulturen var frysetørret, og der var deklareret et mindsteindhold af leve-

dygtige bakterier svarende til $3,5 \times 10^8$ pr. gram. Ved dyrkning på Slanetz agar blev antallet af levedygtige bakterier bestemt til $11,0 \times 10^8$ pr. gram premix. Produktet blev opblandet i foderet med 0,4%.

I forsøget indgik ialt 100 grise, fordelt på 25 blokke á 4 kuldsøskende. Hver blok blev delt i to par, som fik hver sin forsøgsbehandling. Grisene var L × Y zig-zag krydsninger, født på Sjælland III. Forsøgsperioden startede, når grisene blev fravænnet, 4 uger gamle, og sluttede når de var 8 uger gamle.

Table 1. Forsøgsplan

Hold SF-68	1	2
Antal grise pr. blok	2	2
Antal blokke	25	25
Antal grise i alt	50	50

Grisene blev indsat i stier med fuldt perforeret gulv (strækmetal), og placeringen i stalden foregik således, at de to hold fik tildelt hver sin stierække adskilt af en fodergang. Herved elimineres risiko for kontaminering med bakterier fra gødningen mellem de to forsøgshold. Grisene var opstaldet med 2 grise pr. sti og blev fodret med tørfoder i melform efter ædelyst. Foderoptagelsen og tilvæksten blev registreret en gang om ugen. Vurdering af gødningskonsistens blev foretaget dagligt efter skala fra 0 til 3, hvor karakteren 3 svarede til vandig diarré. Ved karakteren 2 blev foretaget individuel behandling af grisene for diarré.

Efter 1 uge på forsøgsfoderet blev der, fra 4 grise på hver behandling, udtaget gødningsprøver i 3 på hinanden følgende dage til bakteriologisk undersøgelse for indhold af streptokokker i fæces. Man fik herved et samlet mål for antallet af streptokokker i tarmkanalen, inkluderende både de naturligt forekommende og den tilførte *Streptococcus faecium* stamme.

Grundfoderet var baseret på hvede og byg som kornfoder samt fiskemel, skummetmælkspulver og sojaskrå som proteinkilder.

Resultater

Af de 100 grise, der indgik i forsøget, døde i kontrolholdet én, mens de øvrige 99 grise gennemførte forsøget. I tabel 2 vises en opgørelse over den gennemsnitlige vægt og foderoptagelse pr. gris i løbet af forsøgsperioden.

Tabel 2. Vægt og foderoptagelse

Hold SF-68	1	2
<i>Gennemsnitsvægt pr. gris, kg</i>		
ved 28 dage	7,6	7,6
ved 35 dage	8,5 ^a	8,2 ^b
ved 42 dage	10,7	10,5
ved 49 dage	13,8	13,8
ved 56 dage	17,7	17,7
<i>Gns. foderoptagelse pr. gris, kg</i>		
uge 5	1,9 ^a	1,7 ^b
uge 6	3,3	3,2
uge 7	4,9	5,1
uge 8	6,3	6,7
Ialt, kg/gris	16,4	16,7
Ialt, FEs/gris	18,7	19,0

* Ved forskellige bogstaver på samme linie er der signifikant forskel på hold ($P < 0,05$).

Ved forsøgets afslutning fandtes gennemsnitsvægten for grisene på begge hold at være den samme. Mens hold 1 voksede signifikant hurtigst i de første 1-2 uger af forsøget, voksede holdet langsommere end hold 2 i de sidste uger, så forskellen blev udlignet. Foderoptagelsen var også signifikant størst hos hold 1 i den første periode, mens den samlede optagelse ved forsøgets afslutning var lidt lavere hos hold 1 end hos hold 2, forskellen var dog ikke signifikant.

Beregning af tilvækst og foderudnyttelse hos grisene er vist i tabel 3, hvor resultaterne er vist dels for de første 2 uger, dels for hele forsøgsforløbet.

Resultaterne viste, at den daglige tilvækst var størst for hold 1 i begyndelsen, men at forskellen blev udlignet, når hele perioden blev betragtet. Foderudnyttelsen var lidt bedre hos hold 1 end hos hold 2, både for de første to uger og betragtet over hele forsøgsperioden. Forskellene mellem holdene var dog ikke signifikante.

Tabel 3. Tilvækst og foderudnyttelse

Hold SF-68	1	2
<i>Perioden 4-6 uger</i>		
Gns. dgl. tilv., g	222	205
FEs/kg tilv.	1,90	1,94
<i>Perioden 4-8 uger</i>		
Gns. dgl. tilv., g	359	360
FEs/kg tilv.	1,86	1,89

Ialt 25 grise på hold 1, og 29 grise på hold 2 havde behandlingskrævende diarré i løbet af perioden, hovedparten indenfor den første uge af forsøget. Den tilsvarende procentvise angivelse svarede til 50% hos hold 1 og 56% hos hold 2, og den gennemsnitlige gødningskarakter til 0,15 og 0,19 for henholdsvis hold 1 og hold 2. Ingen af forskellene mellem holdene var statistisk sikre.

De bakteriologiske undersøgelser fra gødningsprøver udtaget hos 4 grise fra hvert hold viste de i tabel 4 angivne resultater. Prøverne fra hver gris repræsenterede et gennemsnit af resultaterne fra opsamling af gødning i 3 på hinanden følgende dage. Kimtallet er i tabellen angivet som 10-tals logaritmeværdier (CFU = Colony Forming Units), der viser antallet af streptokokker pr. gram fæces.

Gennemsnitsværdien for de 4 grise på hold 1 var log CFU 5,68 svarende til $4,79 \times 10^5$ streptokokker pr. gram gødning. Det tilsvarende gennemsnit for hold 2 var på log CFU 7,42 eller $2,69 \times 10^7$ streptokokker pr. gram gødning. Der blev altså fundet 56 gange flere streptokokker i gødningen hos holdet, der fik tilsætning af *Streptococcus faecium* i foderet, end hos kontrolholdet.

Tabel 4. Bakteriologisk undersøgelse på fæcesprøver

Hold SF-68	1	2
Streptokokker		
		log CFU
Gentagelse 1	5,56	7,40
Gentagelse 2	6,39	7,30
Gentagelse 3	5,26	7,36
Gentagelse 4	5,50	7,65
Gns. af 4 gentagelser	5,68	7,42

Tabel 5. Sammensætning af tarmfloraen i forskellige afsnit af fordøjelseskana-len hos grise på ca. 9 kg (kim/gram tarmindhold).

Afsnit	mave	tyndtarm*	blindtarm	tyktarm*
anaerobe, total:	$7,0 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$3,1 \times 10^9$	$4,2 \times 10^9$
lactobaciller:	$6,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$
coliforme:	$2,0 \times 10^4$	$4,9 \times 10^5$	$3,2 \times 10^7$	$8,4 \times 10^7$
fækale streptokokker:	$7,3 \times 10^4$	$7,3 \times 10^4$	$8,9 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5$
gær:	$2,9 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$

* midterste afsnit.

Diskussion og konklusion

I dette forsøg er ikke fundet nogen gunstig effekt af mælkesyreproducerende bakterier i foderet med hensyn til foderoptagelse, foderudnyttelse eller diarréfrekvens hos grise i alderen 4–8 uger. Der kan være flere årsager til dette resultat.

For det første kan den observerede fravænningsdiarré være diætisk betinget, og ikke primært relateret til et øget antal colibakterier i tarmen. For det andet kan streptokokkernes levedygtighed i foderet have været for ringe, således at det antal bakterier, der nåede at kolonisere fordøjelsessystemet var for lavt til at få en afgørende virkning. At streptokokkerne ikke har koloniseret fordøjelsessystemet underbygges af overslagsberegninger, der viste, at antallet af streptokokker udskilt med gødningen pr. dag hos hold 2 var i samme størrelsesorden som den med foderet tildelte mængde streptokokker pr. dag (ca. 3×10^9).

For det tredje kan nølefasen for bakterierne i det frysetørrede præparat have været så lang, at bakteriernes eksponentielle vækstrate først er begyndt i de bageste tarmafsnit, hvor virkningen er minimal.

Fra andre undersøgelser er sammensætningen af tarmfloraen hos grise, der vejede ca. 9 kg ved slagting, illustreret i tabel 5.

Resultaterne repræsenterer et gennemsnit af kimtællinger fra 4 grise. Mave- og tarmindhold blev udtaget 4 timer efter fodring af grisene, og resultaterne illustrerer således et bakterieantal

og en sammensætning, der ikke var begrænset på grund af mangel på næringssubstrat. Generelt fremgår det, at der findes flest bakterier pr. gram tarmindhold i blind- og tyktarmen. I maven og tyndtarmen er mængden af bakterier dog også betydelig, og i disse afsnit udgør de mælkesyreproducerende bakterier (mælkesyrebakterier og streptokokker) langt størstedelen af den totale bakteriepopulation (omkring 90%). Mængden af coliforme bakterier er relativt beskeden i disse afsnit af fordøjelseskana-len, op til ca. 10^4 pr. gram indhold. Indholdet af coliforme bakterier stiger i blind- og tyktarmen til et niveau på ca. 10^7 pr. gram. Streptokokkerne udgør kun en beskeden del af den totale mikroflora både i maven og tyndtarmen (ca. 10^4) samt i blind- og tyktarmen (ca. 10^5).

Selv om der i nærværende forsøg blev påvist markant flere streptokokker (56 gange) i gødningen hos de grise, der fik probiotikum, udgør streptokokkerne dog stadigvæk mindre end 1% af den totale bakterieflora i gødningen hos grisene, hvilket kan udledes af tabel 5.

Når de grise, der fik streptokokker i foderet, havde en lavere foderoptagelse og tilvækst end kontrolholdets i forsøgets start, kunne årsagen måske være, at det tilsatte produkt påvirkede grisenes appetit på foderet.

Præparatet med SF68 fremstilles af Bioferment S. A., Lugano, Schweiz og blev stillet til rådighed af Lenbroch Medicin. Præparatet forhandles siden 1988 af Lundbeck Pharma A/S, Valby.