

ABLACTO+ REDUCERER FRAVÆNNINGSDIARRÉ

Sabine Stoltenberg Grove, Jeanett Snitgaard Pelck og Niels J. Kjeldsen

SEGES Innovation P/S, Den rullende Afprøvning

STØTTET AF

Svineafgiftsfonden



Hovedkonklusion

Fodertilsætningsstoffet Ablacto+ (under klargøring til myndighedsgodkendelse og kommercialisering) reducerede antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag i den periode, det blev tildelt (enten fase 1 (6-9 kg) eller fase 1+2 (6-15 kg) i de to forsøgsgrupper). Der var ikke signifikant effekt af Ablacto+ på antal igangsatte diarrébehandlinger i hele perioden (fra 6-30 kg).

Sammendrag

Tildeling af Ablacto+ i foderet reducerede antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag i den periode, det blev givet. Efter endt tildelingsperiode var der flere igangsatte diarrébehandlinger i forsøgsgrupperne i forhold til kontrolgruppen, hvilket betød, at der i den samlede forsøgsperiode 6-30 kg (tre faser) ikke var statistisk forskel i antallet af igangsatte diarrébehandlinger mellem de tre grupper. Grisene, der fik tildelt Ablacto+ i foderet i fase 1+2 havde højere daglig tilvækst og foderoptagelse i hele forsøgsperioden sammenlignet med kontrolgruppen samt de grise, der kun fik tildelt Ablacto+ i fase 1.

Ablacto+ er et fodertilsætningsstof, som består af et mix af tre bindingsproteiner, som hæftes til fimbriae F4+ og toksinerne LT og stx2e på Enterotoksogene *E. coli* (ETEC) og dermed forhindrer, at bakterierne kan binde til tarmvæggen og udkonkurrere det sunde tarmmikrobiom. Fodertilsætningsstoffet er tidligere testet i grise i mindre skala på Aarhus Universitet, og denne afprøvning er den første storskalatest af Ablacto+.

Afprøvningen foregik på Grønhøj Forsøgsstation og inkluderede 4.307 grise fordelt på tre grupper: gruppe 1 (kontrolgruppe), gruppe 2 med tildeling af Ablacto+ i høj dosis i fase 1 (6-9 kg) og derefter kontrolfoder, og gruppe 3 med tildeling af Ablacto+ i høj dosis i fase 1 samt lavere dosis i fase 2 (9-15 kg) og derefter kontrolfoder. Den primære parameter var enkeltdyrsbehandlinger for diarré, idet der ikke blev anvendt flokbehandling i afprøvningen.

Ved at tildele Ablacto+ i høj dosis i fase 1 blev antallet af igangsatte diarrébehandlinger i samme periode reduceret pr. foderdag og pr. gris. Tildeling af Ablacto+ i høj dosis i fase 1 og i lavere dosis i fase 2 reducerede antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag i tildelingsperioden fase 1+2. Der blev ikke fundet signifikante effekter af tildeling af Ablacto+ i hele perioden (alle tre faser) på antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag og pr. gris, idet antallet af igangsatte behandlinger var højere i forsøgsgrupperne, når tildelingen af Ablacto+ stoppede sammenlignet med kontrolgruppen.

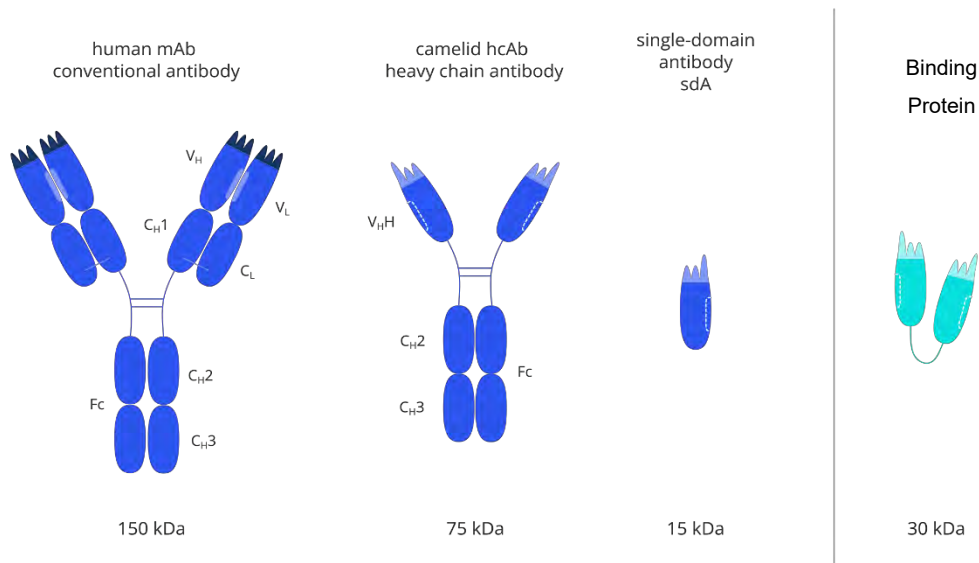
Daglig tilvækst, foderoptagelse og dermed også foderudnyttelse i forsøgsgrupperne var bedre end kontrolgruppen i fase 1, hvor begge forsøgsgrupper fik Ablacto+ i høj dosering. I fase 1+2 var foderoptagelsen også højere i begge forsøgsgrupper, mens daglig tilvækst kun var højere for forsøgsgruppe 3 med høj tildeling af Ablacto+ i fase 1 og lav tildeling af Ablacto+ i fase 2. For den samlede vækstperiode (6-30 kg) var der en højere foderoptagelse og daglig tilvækst i gruppe 3, der fik Ablacto+ i fase 1+2, mens gruppe 2, der fik Ablacto+ i fase 1, ikke opnåede en signifikant højere tilvækst eller foderoptagelse sammenlignet med kontrolgruppen. Set over hele perioden (6-30 kg) var der ikke forskel på produktionsværdi-indeks mellem grupperne.

Baggrund

Enterotoksigene *E. coli* (ETEC) bakteriestammer er en hyppig årsag til tarminfektioner efter fravæning ved 4-5 ugers alderen i konventionelle grisebesætninger, hvilket samlet kaldes fravænningsdiarré. Grisene er modtagelige overfor infektion, da de er sårbare efter fravæning grundet et umodent tarmsystem og immunforsvar, samt et højt niveau af stress relateret til overgangen fra mælk til fast foder. Det forårsager kliniske symptomer som diarré, feber og væggtab, hvilket i sidste ende kan medføre aflivning eller dødsfald. Indtil juni 2022 blev medicinsk zink brugt til forebyggelse af fravænningsdiarré for blandt andet at begrænse brugen af antibiotika. På nuværende tidspunkt er der ikke kommercielle produkter udover antibiotika, der både ift. pris og effekt er rentable løsninger til håndtering af fravænningsdiarré.

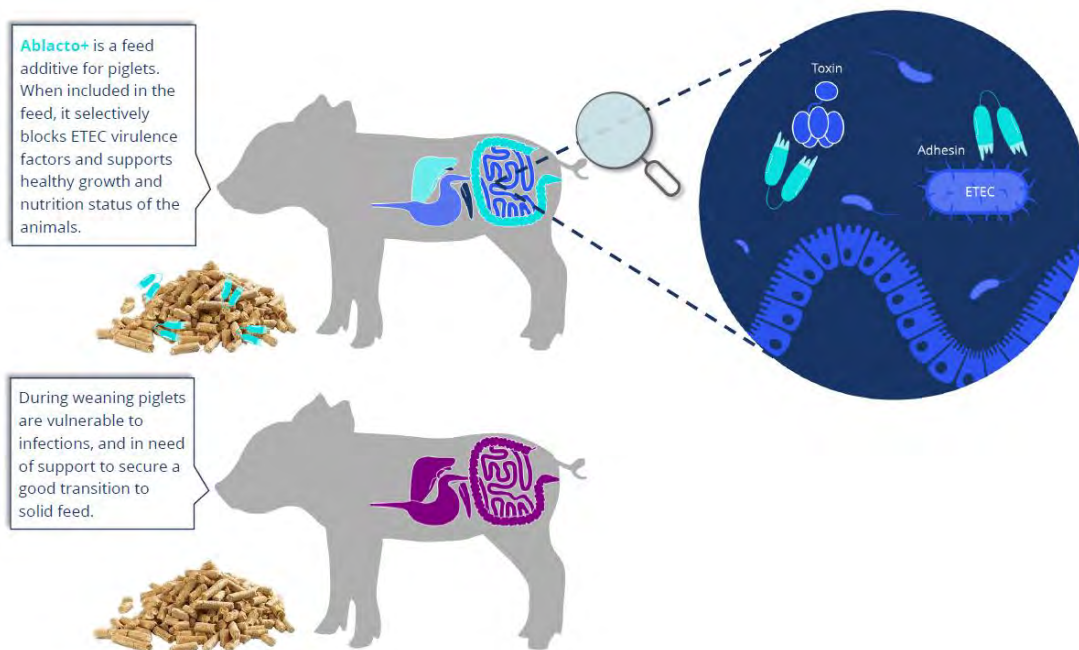
Grisens eget forsvar mod ETEC er dannelse af antistoffer i grisens immunsystem, som binder sig til specifikke fimbriae og toksiner på overfladen af ETEC for på den måde at hindre, at bakterierne kan hæfte til tarmreceptorer og ødelægge tarmoverfladen og give diarré sygdom. En nyfødt gris har et umodent immunsystem, og antistoffer overføres fra soens mælk. Ved fravæning stopper overførslen af antistoffer naturligt, og grisene, der endnu ikke har et fuldt udviklet immunsystem [1], bliver sårbare over for ETEC-infektion. Den mest almindelige coli-stamme i danske grise er F4+ ETEC. Derfor er der i udviklingen af et nyt produkt, Ablacto+, fokus på specifikt at bekæmpe denne stamme.

Formålet med brug af Ablacto+ er at understøtte smågrisene efter fravæning og bibeholde en god ernæringsstatus og sundhed i dyrene, imens deres immunforsvar modnes og de tilvænnenes fast foder. Produktet efterligner effekten af de antistoffer, der naturligt er til stede i soens mælk. Ablacto+ er baseret på bindingsproteiner afledt fra kamelide antistoffer, såkaldte single-domain antistoffer (se figur 1). Det er små og stabile proteiner, der er nemme at håndtere og inkorporere i et foder og som med høj specificitet kan designes til at binde til specifikke overfladeproteiner, der skaber irritation og infektion hos sygdomsfremkaldende bakterier [2].



Figur 1: Skitse over et antistof, som det ser ud hos de fleste pattedyr (til venstre), samt et antistof fra kamelfamilien (nr. 2 fra venstre) og et single-domain antistof (nr. 2. fra højre), der er det antigen-bindende fragment på antistoffet. Bindingsproteiner er sammensatte single-domain antistoffer (til højre). Figur modificeret fra Wang et al. 2021 [3].

Ablacto+ bindes til de to toksiner LT og stx2e samt fimbriae F4+, der sidder på ETEC. Disse virulensfaktorer er specifikke for ETEC stammer, der forårsager fravænningsdiarré i grisebesætninger verden over. Ved at binde sig til toksiner og fimbriae forhindrer Ablacto+, at ETEC-stammer etablerer en infektion, da deres bindingsmekanismer er blokeret og ikke kan binde til receptorer i tarmen (se figur 2). Samtidig begrænses symptomer relateret til ETEC toksinerne, heriblandt væsketab, inflammation og udvikling af nyresvigt og andre systemiske symptomer [2].



Figur 2: Illustration af virkningsmekanisme ved brug af Ablacto+ og andre antistof-baserede produkter, produceret af Bactolife A/S til denne meddelelse.

Ablacto+ er produceret som et fodertilsætningsstof, der kan gives i smågrisefoderet efter fravæning. Produktet er udviklet af Bactolife A/S, en dansk biotekvirksomhed, som arbejder med fodertilsætningsstoffer og fødevaringredienser til oral indtagelse, der beskytter de sunde bakterier i maven og reducerer risikoen for mave-tarminfektioner hos dyr og mennesker. Fordelen ved at bruge bindingsproteiner er, at de har mange af de samme egenskaber som grisens almindelige antistoffer samt at de er meget stabile ift. temperatur, pH, proteaseaktivitet mm. [3]. Bindingsproteiner kan produceres billigt og har ikke uhensigtsmæssige egenskaber i forhold til immunsystemet.

Det igangværende projekt har til formål at understøtte produktudviklingen af Ablacto+ igennem proof of concept; dette gøres ved at teste dosis og tildelingsmetode i storskalaforsøg. Indledningsvist er Ablacto+ blevet testet i infektionsforsøg med ETEC på Aarhus Universitet, hvor grise fik tildelt Ablacto+ i forbindelse med inducerede udfordringer med ETEC. Grise, som fik Ablacto+ i foderet, havde en reduceret forekomst af ETEC i tarmen og en højere tilvækst sammenlignet med kontrolgruppen [2]. Desuden blev der udført et forsøg, som var med til at fastlægge, hvor stor mængde af produktet, der skulle bruges for succesfuldt at binde ETEC-bakterier. Forsøget blev udført in vitro og det blev estimeret, at en ETEC-bakterie kunne binde mellem 10.000 og 15.000 bindingsproteiner. Effektiviteten af Ablacto+ er dermed påvist i dosis-respons studier [2] og formålet med denne afprøvning var at undersøge, om Ablacto+ fungerede i storskala i en grisebesætning under almindelige produktionsforhold.

Materialer og metoder

Indsættelse og gennemførelse

Forsøget blev gennemført på Forsøgsstation Grønhøj (blå SPF + PRRS2) i perioden marts til november 2022. Alle grise i forsøget blev fravænnet direkte fra soen og havde adgang til foder i farestalden. Ved indsættelse blev alle grise vaccineret med 1,0 ml Circoflex mod PCV2. I alt indgik 4.307 grise fordelt på tre grupper. Holdene i denne afprøvning bestod af tre stier med 9-15 grise afhængigt af stistørrelse. Der indgik i alt 132 hold i afprøvningen.

Grisene indgik i forsøg fra fravæning til 30 kg, og indsættelsesvægten varierede fra 4,8 til 7,3 kg. Ved indsættelse blev grisene opdelt efter køn og vægt, så alle stier i samme hold havde en ligelig fordeling af galt- og sogrise. Desuden var forskellen i gennemsnitlig startvægt mellem stierne inden for hvert hold maksimalt 0,25 kg pr. gris.

I hver sti var der en tørfoderautomat og én drikkekop. Grisene blev tildelt foder efter ædelyst. Stiadskillelser mellem stierne var lukkede, hvilket er med til at reducere tryne- og gødningskontakt mellem stierne og dermed grupperne. Foderet blev udfodret via et computerstyret fodringsanlæg (Spotmix).

Forsøgsdesign og foder

Forsøget bestod af tre grupper tildelt forskelligt foder. Grisene blev over forsøgsperioden fodret med tre forskellige blandinger i tre faser, hvoraf Ablacto+ var tilsat i den første fase hos gruppe 2 og i de første to faser hos gruppe 3. Doseringen af Ablacto+ i de forskellige faser beregnes ud fra den estimerede foderoptagelse (tabel 1).

Tabel 1: Tilsætning af Ablacto+ til foderet i hhv. fase 1, 2 og 3 samt samlet mængde i grupperne.

Gruppe	1 Kontrol	2 Fase 1	3 Fase 1 + 2
Fase 1, ca. 6-9 kg	Kontrolblanding 6 – 9 kg	Blanding 6-9 kg (Høj tildeling Ablacto+)	
Fase 2, ca. 9-15 kg	Kontrolblanding 9 – 15 kg		Blanding 9-15 kg (Lav tildeling Ablacto+)
Fase 3, ca. 15-30 kg	Kontrolblanding 15-30 kg		
Indtag af Ablacto+ i alt, mg/gris estimeret ud fra tilsat mængde	0	630	945
Dosis fase 1 (gruppe 2+3)	Høj: 45 mg Ablacto+/dag		
Dosis fase 2 (gruppe 3)	Lav: 22,5 mg Ablacto+/dag		

Grisene blev fodret med fase 1 foder fra indsættelse og til dag 13, hvorefter de gradvist over tre dage skiftede til fase 2 foder. Cirka 30 dage efter indsættelse skiftede grisene til fase 3 foder over en periode på tre dage. Grisene fik dette foder til de blev udvejet af forsøget ved ca. 30 kg.

Fodersammensætningen fulgte SEGES Normer for Næringsstoffer (normkolonne 1, 2 og 4 til hhv. fase 1, 2 og 3) [4] og fodersammensætningen kan findes i appendiks 1. Der blev på intet tidspunkt brugt medicinsk zink.

Foderet blev leveret pelleteret fra Danish Agro. Ud fra tidligere forsøg med Ablacto+ blev det besluttet at tilsætte produktet i en mængde, så hver gris i gennemsnit ville få 45 mg Ablacto+/dag med høj dosis og 22,5 mg Ablacto+/dag med lav dosis baseret på estimater for foderindtag i fase 1 og 2. Produktet blev genfundet i foderet efter pelletering ved brug af en Octet® Red96 analyse (Sartorius, Göttingen, Germany) af foderprøver fra afprøvningen fremsendt til Bactolife A/S. Analysen detekterer tilstedeværelsen af bindingsproteinerne, ved at måle deres binding til antigener, immobiliseret på en NTA biosensor (Sartorius, Göttingen, Germany).

Foderanalyser

Foderprøver blev udtaget efter TOS-princippet [5] på foderfabrikken og sendt til analyse på Eurofins Steins Laboratorium A/S. Her blev prøverne analyseret for energi, aminosyrer, zink, kobber, calcium og fosfor.

Registreringer

Produktivitet

Registreringer af daglig tilvækst, foderoptagelse og foderudnyttelse foregik på stiniveau og blev opgjort for hhv. fase 1, 2, 1+2 og hele perioden (alle tre faser).

Sygdomsbehandlinger

Forud for afprøvningen blev der foretaget obduktion af diarrétilfælde med fund af ETEC F4+. Der blev foretaget resistensundersøgelse på et ETEC F4+ isolat. På baggrund af denne undersøgelse blev diarrétilfælde i forsøget behandlet med injektionsbehandlinger med Borgal eller Linco-Spectin, hhv. fire og tre dages behandling. Alle grupper blev behandlet med den samme type antibiotika, idet skift af præparat skete samtidig for alle tre grupper. Sygdomsbehandlinger blev opgjort som antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag og pr. gris. Der blev ikke foretaget flokbehandlinger.

Grise med diarré blev individuelt behandlet med antibiotika på basis af anvisning fra den praktiserende dyrlæge ud fra følgende symptomer på diarré: tilsvinet bagpart omkring endetarm, indsunke øjne, indfaldne

flanker og nedstemthed. Grisene blev dagligt vurderet af den samme person, som igangsatte behandling ved fund af ovenstående sygdomssymptomer. Forsøget var blindet for stalddpersonalet, så de vidste ikke, hvilke stier, der fik hhv. forsøgs- og kontrolblandinger.

Forebyggende behandlinger med antibiotika mod diarre blev ikke foretaget. Grisene fik heller ikke medicinsk zink.

Produktionsværdi

Ud fra de opnåede produktionsresultater (daglig tilvækst og foderforbrug) blev der beregnet en produktionsværdi. Produktionsværdien er et samlet udtryk for værdien af grisenes biologiske respons på forsøgsbehandlinger ved brug af gennemsnittet af de seneste fem års priser for grise og foder (september 2017 til september 2021). Ved beregning af produktionsværdien i denne afprøvning indgår samme foderpris for alle grupper, idet Ablacto+ ikke er prissat endnu.

Produktionsværdi pr. gris pr. dag er udregnet som gennemsnitlig tilvækst pr. gris pr. dag ganget med udbyttet ved at producere 1 kg tilvækst.

Som simpel formel kan produktionsværdien skrives = (gns. tilvækst pr. gris pr. dag) * (gns. værdi af 1 kg tilvækst - gns. pris pr. FEsv * FEsv pr. kg tilvækst i sti)).

Til at udregne produktionsværdi er følgende 5 års værdier blevet brugt:

- Gennemsnitlig værdi af 1 kg tilvækst = 7,6 kr.
- Pris på smågriseblanding, 1. fase: 3,53 kr.
- Pris på smågriseblanding, 2. + 3. fase: 1,89 kr.
- Notering på smågrise, 30-40 kg: 464,41 kr./stk.

Statistik

De primære parametre i denne afprøvning var antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag og pr. gris samt produktionsværdi-indeks.

Alle analyser blev foretaget i R version 4.2.1. Der blev korrigeret for indsættelsesvægt og hold inden for stald indgik som tilfældig effekt. Yderligere information om statistiske beregninger og dokumentation for anvendte metoder findes i appendiks 3.

Resultater og diskussion

Genfinding af Ablacto+

Foderprøver hos Bactolife A/S blev analyseret for genfinding af Ablacto+, der blev tilsat inden pelletering af foder på foderfabrikken. Resultaterne af genfindingsforsøg viste, at Ablacto+ var inkluderet i de foderblandinger, hvor det var tilsat. På grund af baggrundssignaler ved brug af anvendte analysemetode var det ikke muligt at estimere den nøjagtige mængde Ablacto+, der kunne findes i foderblandingerne efter pelletering, men den tilsatte dosis kendes præcist og denne værdi er brugbar, når fremtidig dosering skal diskuteres.

Foderanalyser

Resultaterne af alle foderanalyserne er samlet i appendiks 2. Der blev udtaget to prøver pr. blanding pr. foderleverance, og der var tre leverancer i afprøvningsperioden. Dette betyder, at resultaterne er gennemsnittet af seks prøver for hver blanding.

Overordnet blev der fundet god overensstemmelse mellem det forventede og analyserede indhold af næringsstoffer.

Diarrébehandlinger

I afprøvningen blev der udelukkende foretaget individuelle injektionsbehandlinger med antibiotika mod diarré. Resultaterne er samlet i tabel 2. I den samlede periode (alle tre faser) var der ikke forskel på igangsatte diarrébehandlinger grupperne imellem. Andelen af behandlede grise var hhv. 28, 26,3 og 26,7 % for hhv. gruppe 1, 2 og 3, og den samme gris kan have været behandlet flere gange.

I fase 1 var der færre igangsatte diarrébehandlinger i gruppe 2 ift. kontrolgruppen. Der var ikke statistisk sikker forskel på antallet af igangsatte diarrébehandlinger mellem gruppe 3 og kontrolgruppen eller mellem gruppe 2 og 3.

I fase 2 var der ingen signifikante forskelle på antallet af igangsatte diarrébehandlinger mellem grupperne, men når fase 1 og 2 blev analyseret sammen, var der et lavere antal igangsatte behandlinger pr. foderdag i gruppe 3 sammenlignet med de to andre grupper.

Overordnet var der ingen forskel mellem grupperne i alle tre faser fra 6 til 30 kg i antallet af udtagne og døde grise; dog en numerisk forskel med det laveste antal udtagne grise i gruppe 2.

Tabel 2: Diarrébehandlingsdata, hele perioden fra 6 til 30 kg.

Gruppe	1 Kontrol	SEM	2 Ablacto+ i fase 1	SEM	3 Ablacto+ i fase 1+2	SEM	p-værdi
Fase 1, ca. 6-9 kg							
Igangsatte behandlinger pr. foderdag ¹	0,0051 ^a	0,0006	0,0038 ^b	0,0005	0,0044 ^{ab}	0,0005	0,043
Igangsatte behandlinger pr. gris	0,071 ^a	0,0085	0,046 ^b	0,0060	0,056 ^{ab}	0,0070	<0,001
Andel behandlede grise, % ²	7,1 %		4,6 %		5,6 %		
Fase 2, ca. 9-15 kg							
Igangsatte behandlinger pr. foderdag ¹	0,0061	0,0008	0,0067	0,0008	0,0064	0,0008	0,718
Igangsatte behandlinger pr. gris	0,096	0,0117	0,109	0,0123	0,097	0,0124	0,106
Andel behandlede grise, % ²	9,6 %		10,9%		9,7 %		
Fase 1+2, ca. 6-15 kg							
Igangsatte behandlinger pr. foderdag ¹	0,0066 ^a	0,0008	0,0062 ^a	0,0007	0,0050 ^b	0,0008	0,038
Igangsatte behandlinger pr. gris	0,179	0,0185	0,163	0,0160	0,171	0,0197	1,000
Andel behandlede grise, % ²	17,9 %		16,3 %		17,1 %		
Alle faser, ca. 6-30 kg							
Igangsatte behandlinger pr. foderdag ¹	0,0056	0,0006	0,0054	0,0005	0,0057	0,0005	0,827
Igangsatte behandlinger pr. gris	0,280	0,0279	0,263	0,0224	0,267	0,0264	0,060
Andel behandlede grise, % ²	28,0 %		26,3 %		26,7 %		
Udtagne og døde, %	2,33		1,62		2,40		
Heraf døde, %	0,53		0,74		0,85		

Forskellige bogstaver i kolonnerne markerer en signifikant forskel mellem grupperne.

¹ Behandlinger pr. foderdag er antallet af behandlinger i forhold til det totale antal foderdage for alle grise (og dermed ikke periodelængde).

² Andelen af behandlede grise er udregnet som antallet af igangsatte behandlinger i perioden ift. antallet af grise i hver gruppe. Den samme gris kan være behandlet flere gange i perioden, hvilket denne udregning ikke kan tage højde for.

Produktionsresultater

Foderoptagelse og tilvækst blev målt gennem hele afprøvningen og foderudnyttelse blev beregnet. I fase 1 var der signifikant bedre foderudnyttelse i gruppe 2 og 3 sammenlignet med gruppe 1, hvilket skyldtes en højere foderoptagelse og højere daglig tilvækst. I fase 2 var der alene en højere foderoptagelse i gruppe 3 sammenlignet med gruppe 1 og ingen statistisk forskel fra gruppe 2 til de andre to grupper.

Ved at samle data for første og anden fase, blev der fundet en højere foderoptagelse i gruppe 2 og 3 sammenlignet med gruppe 1, og gruppe 3 havde en højere daglig tilvækst i forhold til gruppe 1. Der var ikke forskel i foderudnyttelsen. For hele perioden var foderoptagelse og daglig tilvækst i gruppe 3 signifikant højere end gruppe 1, mens disse produktionsparametre i gruppe 2 lå mellem de to andre grupper uden signifikant forskel til nogen af dem. Den fundne højere tilvækst og foderoptagelse i gruppe 3 førte ikke til et højere produktionsværdi-indeks.

Tablet 3a: Produktionsresultater i fase 1, 2 og 3 samt hele perioden fra 6-30 kg.

Gruppe	1 Kontrol	SEM	2 Ablacto+ i fase 1	SEM	3 Ablacto+ i fase 1+2	SEM	p-værdi
Antal stier	125		125		129		
Antal grise ved indsættelse	1418		1426		1463		
Vægt ved indsættelse, kg	6,07		6,02		6,05		
Vægt ved afslutning, kg	31,63		31,39		31,60		
Fase 1, 6-9 kg							
Daglig tilvækst, g/dag	120 ^a	3,18	132 ^b	3,18	133 ^b	3,15	<0,001
Foderoptagelse, FEsv/dag	0,194 ^a	0,004	0,205 ^b	0,004	0,209 ^b	0,004	<0,001
Foderudnyttelse, FEsv/kg tilvækst	1,69 ^a	0,03	1,59 ^b	0,03	1,59 ^b	0,03	<0,001
Produktionsværdi, pr. gris pr. dag, indeks ¹	100 ^a	5,8	123 ^b	5,8	122 ^b	5,7	<0,001
Fase 2, 9-15 kg							
Daglig tilvækst, g/dag	393	9,13	396	9,13	405	9,11	0,060
Foderoptagelse, FEsv/dag	0,588 ^a	0,011	0,597 ^{ab}	0,011	0,608 ^b	0,011	0,022
Foderudnyttelse, FEsv/kg tilvækst	1,51	0,01	1,51	0,01	1,50	0,01	0,663
Produktionsværdi, pr. gris pr. dag, indeks ¹	100	2,6	100	2,6	102	2,6	0,339

Forskellige bogstaver i kolonnerne markerer en signifikant forskel mellem grupperne.

¹ Produktionsværdi-indeks er baseret på samme foderpris.

Tabel 3b: Fortsat: Produktionsresultater i fase 1, 2 og 3 samt hele perioden fra 6-30 kg.

Gruppe	1 Kontrol	SEM	2 Ablacto+ i fase 1	SEM	3 Ablacto+ i fase 1+2	SEM	p-værdi
Fase 1 + 2, 6-15 kg							
Daglig tilvækst, g/dag	268 ^a	4,39	275 ^{ab}	4,39	282 ^b	4,36	0,001
Foderoptagelse, FEsv/dag	0,408 ^a	0,006	0,419 ^b	0,006	0,427 ^b	0,006	<0,001
Foderudnyttelse, FEsv/kg tilvækst	1,53	0,01	1,53	0,01	1,52	0,01	0,428
Produktionsværdi, pr. gris pr. dag, indeks ¹	100	1,8	102	1,8	103	1,8	0,121
Hele perioden, 6-30 kg							
Daglig tilvækst, g/dag	484 ^a	6,85	489 ^{ab}	6,85	495 ^b	6,83	0,013
Foderoptagelse, FEsv/dag	0,753 ^a	0,009	0,763 ^{ab}	0,009	0,768 ^b	0,009	0,016
Foderudnyttelse, FEsv/kg tilvækst	1,56	0,006	1,56	0,006	1,55	0,006	0,256
Produktionsværdi, pr. gris pr. dag, indeks ¹	100	1,5	100	1,5	101	1,5	0,260

Forskellige bogstaver i kolonnerne markerer en signifikant forskel mellem grupperne.

¹ Produktionsværdi-indeks er baseret på samme foderpris.

Virkningen af at tildele foder med bindingsproteiner afhænger af disses evne til at binde til bakterier og dermed hindre, at disse kan hæfte til tarmvæggen. Single-domain antistoffer, som bindingsproteinerne er baseret på, er små, binder kraftigt til bakterier og de fleste er stabile gennem dyrets tarmsystem [6]. Stabiliteten af single-domain antistoffer ved foderproduktion og gennem tarmsystemet kræver resistens mod både temperatur, pH-forskelle og enzymatisk aktivitet [7]. Et nyere studie med IgA påsat single-domain antistof (figur 1) påviste, at det modificerede IgA-molekyle var i stand til at binde og udskille F4+ ETEC med gødningen på linje med den beskrevne effekt for Ablacto+, hvilket tilskrives den robusthed, som single domain antistoffet har [7].

Tidligere har et mindre studie med immunoglobulin G (pplgG) i grise vist, at både en kortvarig, høj dosering af pplgG samt en langvarig lav dosering havde effekt mod ETEC-diarré, og det blev også konkluderet, at der ikke er en forebyggende effekt, hvis grisene tildeles pplgG før fravænning [8].

I denne afprøvning blev det vist, at der kun er effekt af Ablacto+ i den periode, hvor det tildeles grisene. Når grisene efter forsøgsfoder kommer over på kontrolfoder uden Ablacto+, ses en stigning i antallet af igangsatte diarrébehandlinger, hvilket betyder, at der ikke opnås reduktion af forekomsten af diarré over den samlede forsøgsperiode.

De bindingsproteiner, der bruges i Ablacto+, er målrettede fimbriæ F4+ og toksinerne LT og stx2e. F4+ ETEC er den mest udbredte stamme i Danmark, men der ses også F18 og andre varianter i de danske

besætninger [9]. Det understøtter, at man som griseproducent bør få lavet en stibundsprøve og en resistenstest, før besætningens behandlings- og fodringsstrategi besluttet.

Konklusion

Tildeling af Ablacto+ som sundhedsfremmende tilsætningsstof mod diarré efter fravæning i foder i fase 1 (6-9 kg) og fase 2 (9-15 kg) var virksomt til at sænke antallet af igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag i de første to faser, når det blev tildelt i både fase 1 og 2 i hhv. høj og lav dosis. Tildeling af høj dosis udelukkende i fase 1 førte til lavere antal igangsatte diarrébehandlinger pr. foderdag og pr. gris i denne periode for den ene af de to forsøgsgrupper. Efter endt tildelingsperiode var der flere igangsatte diarrébehandlinger i forsøgsgrupperne i forhold til kontrolgruppen, hvilket betød, at der i den samlede forsøgsperiode 6-30 kg (tre faser) ikke var statistisk forskel i antallet af igangsatte diarrébehandlinger mellem de tre grupper. Produktiviteten hos grisene i begge forsøgsgrupper, der fik tildelt Ablacto+, var højere i fase 1 sammenlignet med kontrolgruppen, idet der blev fundet højere foderoptagelse, højere daglig tilvækst og bedre foderudnyttelse i denne fase. Ved tildeling af Ablacto+ i både fase 1 og 2 blev der fundet højere foderoptagelse og højere tilvækst, men ikke bedre foderudnyttelse end kontrolgruppen i denne periode. Set over hele perioden 6-30 kg var der ikke forskel på produktionsværdi-indeks mellem grupperne.

Referencer

- [1] Levast, B. et al. (2014): *Development of gut immunoglobulin A production in piglet in response to innate and environmental factors*. Dev Comp Immunol, 44(1): p. 235-44.
- [2] Fiil, B.K. et al. (2022): *Orally active bivalent VHH construct prevents proliferation of F4+ enterotoxigenic Escherichia coli in weaned piglets*. iScience, 25(4): p. 104003-104003.
- [3] Wang, W. et al. (2021): *Applications of nanobodies in plant science and biotechnology*. Plant Mol Biol, 105(1-2): p. 43-53.
- [4] Tybirk, P. et al. (2021): *Normer for Næringsstoffer*. Den rullende afprøvning.
- [5] Jørgensen, L. og Fisker, B. (2006): *Udtagning af foderprøver*. Den rullende afprøvning.
- [6] van der Linden, R.H. et al. (1999): *Comparison of physical chemical properties of llama VHH antibody fragments and mouse monoclonal antibodies*. Biochim Biophys Acta, 1431(1): p. 37-46.
- [7] Virdi, V. et al. (2019): *Yeast-secreted, dried and food-admixed monomeric IgA prevents gastrointestinal infection in a piglet model*. Nature Biotechnology, 37(5): p. 527-530.
- [8] Hedegaard, C.J. et al. (2017): *Purified natural pig immunoglobulins can substitute dietary zinc in reducing piglet post weaning diarrhoea*. Vet Immunol Immunopathol, 186: p. 9-14.
- [9] Grove, S.S. et al. (2021): *Produktivitet hos grise behandlet for diarré i smågrisestalden*. Den Rullende Afprøvning.

Deltagere

Tekniker: Henry K. Aalbæk, Grønhøj Forsøgsstation

Afprøvning nr. 1792

NAV nr.: 1362

//KABL//

Dyregruppe: smågrise
Fagområde: fodring
Nøgleord: medicinsk zink, fravænningsdiarre

Appendiks 1

Råvaresammensætning i anvendte foderblandinger, %

Gruppe	1	2 + 3
Fase 1: 6-9 kg	Kontrol	Høj dosis Ablacto+
Hvede	50,5	49,8
Byg	20,0	20,0
Sojaskrå	7,0	7,0
Sojaproteinkoncentrat	2,7	2,8
Kartoffelprotein	4,0	4,0
Fiskemel	2,5	2,5
Vallepulver	6,0	6,0
Fedtsyredestillater	1,7	1,9
Monocalciumfosfat	1,49	1,49
Natriumklorid	0,65	0,65
Lysinsulfat 80%	0,88	0,87
Methionin 98%	0,20	0,20
Treonin 98%	0,25	0,25
Tryptofan 99%	0,09	0,09
Valin 96,5%	0,11	0,11
DA Smågrise 1	0,40	0,40
Ronozyme	0,02	0,02
Benzoesyre	0,50	0,50
Calciumformiat	1,00	1,00
Ablacto+	-	0,396
Gruppe	1 + 2	3
Fase 2: 9-15 kg	Kontrol	Lav dosis Ablacto+
Hvede	55,1	55,0
Byg	20,0	20,0
Sojaskrå	14,0	14,0
Sojaproteinkoncentrat	0,4	0,4
Kartoffelprotein	3,0	3,0
Fedtsyredestillater	1,7	1,7
Monocalciumfosfat	1,27	1,27
Natriumklorid	0,59	0,59
Lysinsulfat 80%	0,89	0,89
Methionin 98%	0,20	0,20
Treonin 98%	0,26	0,26
Tryptofan 99%	0,08	0,08
Valin 96,5%	0,11	0,11
DA Smågrise 2	0,40	0,40
Ronozyme	0,02	0,02

Benzoesyre	0,50	0,50
Calciumformiat	1,00	1,00
Ablacto+	-	0,054
Gruppe	1 + 2 + 3	
Fase 3: 15-30 kg	Kontrol	
Hvede		47,4
Byg		20,0
Sojaskrå		21,0
Sojaproteinkoncentrat		3,8
Calciumcarbonat, kridt		1,5
Fedtsyredestillater		2,4
Monocalciumfosfat		0,94
Natriumklorid		0,53
Lysinsulfat 70%		0,83
Methionin 98%		0,22
Treonin 98%		0,26
Tryptofan 99%		0,06
Valin 96,5%		0,11
DA Smågrise 2		0,40
Ronozyme		0,02
Benzoesyre		0,50

Appendiks 2

Resultater af foderanalyser fra Eurofins Steins Laboratorium A/S (3 leverancer á 2 prøver pr. blanding). F= forventet, A=analyseret og AFV=afvigelse i procent mellem forventet og analyseret værdi. Angivelsen af de fordøjelige aminosyrer pr. FEsv er beregnet ud fra de analyserede aminosyreværdier og den fordøjelighedskoefficient, der indgik i foderoptimeringen.

Gruppe Fase 1: 6-9 kg	1 Kontrol			2 + 3 Høj dosis Ablacto+		
	F	A	AFV	F	A	AFV
FEsv/kg	1,15	1,15	0,1	1,15	1,16	1,3
g råprotein/kg	179	182	1,4	179	184	2,7
g ford. råprotein/FEsv	136	138	1,3	136	138	1,5
g lysin/kg	14,5	14,1	3,0	14,5	14,4	0,8
g ford. lysin/FEsv	11,5	11,2	3,1	11,5	11,3	2,1
g treonin/kg	9,2	8,6	7,0	9,2	8,9	3,7
g ford. treonin/FEsv	7,1	6,6	7,2	7,1	6,8	5,0
g methionin/kg	5,0	4,5	11,0	5,1	4,7	8,3
g ford. methionin/FEsv	4,1	3,7	11,1	4,1	3,8	9,6
g valin/kg	9,5	8,8	7,9	9,5	9,0	6,4
g ford. valin/FEsv	7,2	6,7	8,1	7,2	6,7	7,8
g histidin/kg	4,1	3,8	6,6	4,1	3,8	7,0
g ford. histidin/FEsv	3,1	2,9	6,7	3,1	2,9	8,3
g fenylalanin/kg	8,4	8,3	0,6	8,4	8,4	0,7
g ford. fenylalanin/FEsv	6,4	6,4	0,8	6,4	6,4	0,6
g isoleucin/kg	7,1	6,6	8,8	7,1	6,7	6,7
g ford. isoleucin/FEsv	5,4	5,0	9,0	5,4	5,0	8,0
g leucin/kg	13,1	12,6	3,7	13,1	12,8	1,8
g ford. leucin/FEsv	10,0	9,6	3,8	10,0	9,7	3,0
g met-cys/kg	8,0	7,5	7,6	8,0	7,6	5,7
g calcium/kg	7,4	8,5	13,5	7,4	7,3	0,4
g fosfor/kg	6,7	6,7	0,2	6,7	6,6	1,5
g ford. fosfor/FEsv	3,8	3,8	0,1	3,8	3,7	2,8
Zink, mg/kg	135	133	1,3	135	123	10,1
Kobber, mg/kg	126	112	12,8	126	108	16,9
Gruppe Fase 2: 9-15 kg	1 + 2 Kontrol			3 Lav dosis Ablacto+		
	F	A	AFV	F	A	AFV
FEsv/kg	1,11	1,12	0,6	1,11	1,13	1,5
g råprotein/kg	178	178	0,0	178	179	0,5
g ford. råprotein/FEsv	140	139	0,7	140	138	1,0
g lysin/kg	14,0	13,8	1,4	14,0	13,8	1,3
g ford. lysin/FEsv	11,5	11,3	2,1	11,5	11,2	2,8
g treonin/kg	8,9	8,4	6,1	8,9	8,7	3,3
g ford. treonin/FEsv	7,1	6,7	6,8	7,1	6,8	4,8
g methionin/kg	4,7	4,4	6,8	4,7	4,4	6,5

g ford. methionin/FEsv	4,0	4,7	7,5	4,0	3,7	8,1
g valin/kg	9,3	8,9	4,8	9,3	8,7	6,8
g ford. valin/FEsv	7,2	6,8	5,5	7,2	6,6	8,4
g histidin/kg	4,1	3,9	3,8	4,1	4,0	3,2
g ford. histidin/FEsv	3,2	3,1	4,5	3,2	3,1	4,7
g fenylalanin/kg	8,4	8,3	0,5	8,4	8,4	0,5
g ford. fenylalanin/FEsv	6,6	6,5	1,2	6,6	6,6	1,0
g isoleucin/kg	6,9	6,5	5,3	6,9	6,5	5,2
g ford. isoleucin/FEsv	5,4	5,1	6,0	5,4	5,0	6,8
g leucin/kg	12,8	12,5	2,6	12,8	12,5	2,2
g ford. leucin/FEsv	10,0	9,7	3,3	10,0	9,7	3,7
g met-cys/kg	7,8	7,5	3,5	7,8	7,5	3,7
g calcium/kg	8,2	9,3	11,9	8,6	8,6	4,1
g fosfor/kg	5,9	6,0	2,3	6,0	6,0	2,3
g ford. fosfor/FEsv	3,4	3,5	1,7	3,4	3,4	0,8
Zink, mg/kg	135	133	1,9	135	129	5,1
Kobber, mg/kg	86	64	33,5	86	64	34,0
Gruppe	1 + 2 + 3					
Fase 3: 15-30 kg	Kontrol					
	F	A		AFV		
FEsv/kg	1,11	1,12		0,7		
g råprotein/kg	196	194		0,8		
g ford. råprotein/FEsv	155	152		1,5		
g lysin/kg	14,6	14,0		4,0		
g ford. lysin/FEsv	12,0	11,5		4,7		
g treonin/kg	9,3	9,1		2,2		
g ford. treonin/FEsv	7,4	7,2		2,9		
g methionin/kg	4,8	4,7		2,3		
g ford. methionin/FEsv	4,2	4,1		3,0		
g valin/kg	9,7	9,0		7,9		
g ford. valin/FEsv	7,6	7,0		8,6		
g histidin/kg	4,7	4,4		7,4		
g ford. histidin/FEsv	3,7	3,5		8,2		
g fenylalanin/kg	9,0	8,7		3,6		
g ford. fenylalanin/FEsv	7,2	6,9		4,3		
g isoleucin/kg	7,5	7,0		7,3		
g ford. isoleucin/FEsv	5,9	5,5		8,1		
g leucin/kg	13,6	13,0		4,9		
g ford. leucin/FEsv	10,8	10,2		5,6		
g met-cys/kg	8,0	7,7		3,2		
g calcium/kg	8,8	9,1		3,7		
g fosfor/kg	5,6	5,6		1,5		
g ford. fosfor/FEsv	3,2	3,2		0,9		
Zink, mg/kg	135	146		7,6		
Kobber, mg/kg	86	73		17,3		

Appendiks 3

Statistisk behandling

I de modeller, hvor det var tydeligt, at den estimerede gaussiske model med rimelighed kunne antages at beskrive data (undersøgt ved hjælp af forskellige modelkontroller bestående af QQ-plots, residual plots, Shapiro-Wilk's test for normalitet af residualer samt modelsimulationer ved brug af pakken DHARMA (version 0.4.5)), blev modellerne reestimeret med maximum likelihood i modelselektions processen for at kunne sammenligne modeller ud fra deres likelihood (modeestimerer er baseret på REML). Parvise sammenligninger mellem grupper er foretaget ved at anvende pakken emmeans (version 1.8.2) der anvender en test baseret på (asymptotiske) fordelingssegenskaber af de estimerede værdier. I estimerede gaussiske modeller, hvor normalitetsantagelsen har været tvivlsom, er pakken pbkrtest (version 0.5.1) anvendt til at foretage modelsammenligninger ved anvendelse af parametrisk bootstrap. Der blev dog ikke fundet afvigelser i p-værdierne sammenlignet med standard likelihood ratio tests baseret på modelantagelser. Parvise sammenligninger blev derfor foretaget som ovenfor beskrevet.

Antallet af igangsatte behandlinger pr. foderdag eller pr. gris blev analyseret ved at anvende hhv. en zero-inflated beta mixed model (logit link for binomial del og for betinget beta del) og en zero-inflated gamma mixed model (logit link for binomial del og log link for betinget gamma del). Disse typer modeller er anvendt på baggrund af det høje antal stier med 0 behandlede grise, hvorfor det er nødvendigt med en model, der kan tage højde for den høje frekvens af 0'er. I alle modeller indgår tilfældige effekter af hold inden for stald samt systematiske effekter af gruppe og indsættelsesvægt (lineært på enten logit eller log skala hhv.) i den betingede del af modellen, hvorimod der kun er fundet signifikant effekt af gruppe på 0-delen i analysen af antal igangsatte behandlinger pr. foderdag i fase 1+2. I de resterende modeller indgår kun indsættelsesvægt og tilfældige effekter i modellerne for 0-delen. Modellerne blev kontrolleret ved anvendelse af pakken DHARMA (version 0.4.5). I disse modeller, foretages tests og parvise sammenligninger som ovenfor og de afrapporterede værdier er et estimat af den ubetingede middelværdi. I modellen for antallet af igangsatte behandlinger pr. foderdag over hele perioden er der en signifikant effekt af gruppe på både 0-delen og den betingede del. Derfor er der anvendt bootstrap til at foretage parvise sammenligninger. Den overordnede test for effekt af gruppe er udført ved anvendelse af maximum likelihood for at teste den samlede effekt af gruppe på både 0-delen og den betingede del.



Tlf.: 87 40 50 00

info@seges.dk

Ophavsretten tilhører SEGES Innovation P/S. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

SEGES Innovation P/S er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.