



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Mekanismer hos tillväxtfrämjande antibiotika

Mechanisms of growth promoting antibiotics

Miranda Blad

Uppsala
2019

Mekanismer hos tillväxtfrämjande antibiotika

Mechanisms of growth promoting antibiotics

Miranda Blad

Handledare: *Erik Pelve, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

Examinator: *Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig institution: *Institutionen för biomedicin och
veterinär folkhälsvetenskap*

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *tillväxtfrämjande, antibiotika, produktionsdjur*

Keywords: *growth promoters, antibiotics, animal production*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsvetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	4
Bakgrund	4
Teorier för mekanismer.....	4
<i>Hämmande av subkliniska infektioner</i>	5
<i>Större tillgång till näringsämnen</i>	6
<i>Förtunnad tarmvägg</i>	6
<i>Minskad mängd toxiska metaboliter</i>	7
<i>Anti-inflammatorisk effekt</i>	8
Diskussion.....	8
Litteraturförteckning	12

SAMMANFATTNING

Antibiotika har använts inom djurproduktion i tillväxtfrämjande syfte sedan den effekten uppdagades för över 50 år sedan. Med en ökande resistensproblematik har dock användningen ifrågasatts och i stora delar av världen även förbjudits. Letandet efter substanser som kan ersätta tillväxtfrämjande antibiotika har pågått länge men ett stort hinder har varit, och är, att mekanismerna med vilka antibiotika verkar tillväxtfrämjande inte är klarlagda. Målet med denna litteraturstudie är att beskriva några av de mekanismer som finns föreslagna för antibiotikas tillväxtfrämjande effekt.

Det har framförts fem huvudsakliga teorier: att antibiotika i tillväxtfrämjande syfte leder till minskad mängd tillväxthämmande toxiska metaboliter producerade av bakterier; att de leder till en förtunnad tarmvägg och därigenom möjliggör större näringsupptag; att de ger ökad mängd tillgängliga näringsämnen; att det har en anti-inflammatorisk effekt samt, slutligen, att subkliniska infektioner hämmas och därigenom ökar tillväxt genom minskad energiåtgång till sjukdomsbekämpning. På senare år har det fastställts att det sker en förändring i sammansättning, men inte en minskning, av tarmfloran vid givande av tillväxtfrämjande antibiotika. Det är antagligen den förändringen som ligger till grund för mekanismerna för tillväxtfrämjning, och mest troligt verkar det att alla nämnda effekter samverkar för att leda till en ökad foderomvandlingsförmåga och/eller en ökad tillväxt.

Antibiotika tycks både minska förekomsten av bakterier som producerar toxiska metaboliter samt verkar inhiberande på skadliga enzymer som vissa bakterier kan bilda. Det verkar även i sub-MIC koncentrationer (koncentrationer under Minimum Inhibitory Concentration) kunna förhindra subkliniska infektioner genom att hämma vissa patogener. Det är fastställt att djur som får tillväxtfrämjande antibiotika får en förtunnad tarmvägg men där verkar inte mekanismerna för ett potentiellt ökat upptag av näringsämnen vara fastställt. Tillväxtfrämjande antibiotika verkar leda till att vissa bakteriearter som bryter ner exempelvis cellulosa främjas vilket ger större andel upptagbara näringsämnen och därmed leder till ökad tillväxt. Den mest omdiskuterade teorin är den om mekanismen bakom tillväxtfrämjning egentligen inte är antimikrobiell utan anti-inflammatorisk; där tycks vissa antibiotika ha direkt anti-inflammatorisk verkan samtidigt som det också ger en förändring i tarmfloran som inte verkar utlösa ett lika stort inflammatoriskt stimuli. Men framtiden ligger mest troligt inte inom mer studier av antibiotikas tillväxtfrämjande effekt utan istället inom fältet för alternativa substanser. Några av de mest undersökta inom det området är pro- och prebiotika vilka också verkar genom att förändra tarmfloras sammansättning och därmed potentiellt kan ha en likvärdig effekt som tillväxtfrämjande antibiotika.

SUMMARY

Growth promoting antibiotics have been used in animal production since that effect was discovered more than 50 years ago. But with the spreading of antibiotic resistance worldwide this use has been widely questioned as well as forbidden in many countries. The search for substances to replace antibiotics in growth promotion purposes has been going on a while but is hindered by the lack of knowledge of what mechanisms give the growth promoting effect. The aim of this literature study is therefore to summarize the most common theories in this area.

Five main theories were found to be most brought up in the literature: the reduction of subclinical infections; facilitation of uptake of nutrients from the gut due to thinning of the intestinal wall; the reduced production of toxic bacterial metabolites; enhanced availability of nutrients; and, finally, the presence of an anti-inflammatory effect. It has been shown that antibiotics given in sub-MIC concentrations (concentrations below minimum inhibitory concentration) changes the composition of the intestinal microbiota, but not the total number of bacteria. It is most likely this change that leads to all the proposed mechanisms for growth promotion.

It seems likely that sub-MIC concentrations of antibiotics can hinder pathogens and thereby subclinical infections. A thinning of the intestinal wall has been seen in a lot of studies but its role in growth promoting mechanisms is not clear. Antibiotics have been shown to decrease the number of bacteria that produces toxic metabolites as well as enzymes, which leads to a less toxic content in the gut. It also seems to lead to a promoting effect on some bacteria that are responsible for enzymatic degradation of cellulose which makes more nutrients available to the animal. And lastly, and most debated, it seems like growth promoting antibiotics has an anti-inflammatory effect on the intestinal wall as well as on the animal in general which leads to a less catabolic state. However, the way onwards from here may not lie in more studies on the effects of antibiotics but rather on the studies of other substances that might have the same, or similar, effects – of which there are many. Of those, pro- and prebiotics might be most discussed as they also seem to change the composition of the intestinal microbiota.

INLEDNING

Antibiotika har använts till produktionsdjur i tillväxtfrämjande syfte sedan 1950-talet när det godkändes i både EU och USA för tillblandning i foder utan recept utskrivet av veterinär (Castanon, 2007). Det har i första hand använts inom fjäderfä- och grisproduktion, men även till nötkreatur för köttproduktion i viss utsträckning. I och med en ökande resistensproblematik i hela världen har restriktioner successivt införts och användningen ifrågasätts i många länder. Att antibiotikaresistens på humansidan skulle drivas framåt av en stor antibiotikaanvändning på djursidan är inte klarlagt även om det finns studier som tyder på att det kan ske överföring av resistenta bakterier mellan djur och människor (Harrison *et al.*, 2013). Generellt är just införandet av förbud mot tillväxtfrämjande antibiotika väldigt omdiskuterat (Chattopadhyay, 2014) men den lagstiftning som infördes i bland annat Europa och USA gjordes för att ta det säkra före det osäkra (Huyghebaert *et al.*, 2011). Sverige var 1986 det första landet som förbjöd antibiotika till produktionsdjur i tillväxtfrämjande syfte, och var även en stark bidragande kraft till att ett liknande förbud trädde i kraft i resterande delar av EU 2006 (Jordbruksverket, 2018). Men det finns fortfarande stora jordbruksländer som inte har förbjudit antibiotika i tillväxtfrämjande syfte, bland andra Brasilien, Indien och Kina (Schar *et al.*, 2018).

Trots att antibiotika använts aktivt i tillväxtfrämjande syfte under lång tid är dess mekanism inte helt klarlagt och denna litteraturstudie kommer därför sammanfatta de mest framförda teorierna i dagsläget. Att förstå verkningsmekanismerna är första steget till att försöka efterlikna de tillväxtfrämjande egenskaperna med andra substanser, något som är högst önskvärt av producenter världen över.

MATERIAL OCH METODER

Sökorden mechanism, antibiotics, growth promotion, anti-inflammatory, AGP, growth, nutrients, infection har i olika kombinationer använts på pubmed, web of science, google scholar och scopus.

Sökorden har använts för att försöka hitta artiklar som beskriver mekanismerna bakom antibiotika i tillväxtfrämjande syfte. Med dessa sökord har många artiklar kunnat hittas, varvid det varit möjligt att följa upp refererade artiklar och på så sätt hitta sådant material som inte upptäcktes direkt vid sökningar i databaserna. Genom att göra samma sökningar på flera databaser minskar risken att relevant material inte upptäcks då dessa riktar sig mot något olika tidskrifter.

Det har inte funnits anledning att specificera sökningarna till djurslag eftersom det, trots djurslagsskillnader i tillväxt och bakterieflora, går att se liknande effekter hos de djurslag tillväxtfrämjande antibiotika använts hos och det finns därför ingen anledning att tro att mekanismerna fungerar olika.

Mycket av källorna i litteraturstudien är äldre grundläggande studier, men då dessa refereras till i många nya review-publikationer, bland annat Gaskins *et al* (2002), Huyghebaert *et al*

(2011) och Broom (2017), och nyare studier där lyst med sin frånvaro i referenslistorna har även jag känt mig trygg i att referera till dessa äldre studier.

LITTERATURÖVERSIKT

Bakgrund

Tillväxtfrämjande antibiotika (antimicrobial growth promoters, AGP) är ingen homogen grupp eftersom substanserna som använts kommer från många olika antibiotikaklasser. Detta innebär att de har olika verkningsmekanismer när de används i terapeutiska syften. Vidare är vissa av substansernas terapeutiska verkningsfönster mot grampositiva bakterier medan andra är bredspektrum, vilket innebär att de terapeutiskt har användningsområden mot olika bakteriesläkten. (Gaskins *et al.* 2002; Dibner & Richards 2005). Att antibiotika som används i tillväxtfrämjande syfte kan komma från olika klasser gör att det inte direkt går att se att deras terapeutiska effekt enbart skulle vara synonym med den tillväxtfrämjande effekten, eftersom effekten är samma oavsett substans. Den effekt som ses vid användning av AGP är i vissa fall en ren förbättring i viktökning genom ett ökat foderintag, och i vissa fall en effektivare foderomvandling, det vill säga att samma mängd foder ger en större viktökning hos djur som ges AGP. Hos fjäderfä ses framförallt en ökad förmåga till foderomvandling (Dibner & Richards, 2005) medan det hos gris verkar vara viktökningen som påverkas i högre grad, och då framförallt hos yngre individer (Cromwell, 2002). Enligt både Niewold (2007) och Anderson *et al.* (1999) talas det om ”growth permitting” istället för ”growth promotion” då tillväxten tros ligga i att trycka ner eller förändra tarmfloran för att möjliggöra ett effektivare och större upptag av näringsämnen hos djuret.

AGP blandas ut i foder och flera av substanserna som används tas inte upp från mag-tarmkanalen (Gaskins *et al.*, 2002). Detta gör att teorierna om AGP:s mekanismer framförallt handlar om påverkan på mikrobiomet eftersom det endast är mag-tarmkanalen alla klasser av AGP kommer att finnas i kontakt med och därmed kunna påverka. Doserna av AGP ligger i storleksordningen 10–40 mg/kg foder, beroende på substans, (Knarreborg *et al.*, 2004). Det är viktigt eftersom det därmed inte går att förvänta sig att det ska ha samma effekt som antibiotika som ges för att behandla sjukdomar, men har också relevans vid diskussioner kring resistensutveckling och AGP:s koppling till den utvecklingen eftersom resistenstrycket i varje enskilt djur blir mindre.

Teorier för mekanismer

Det är i dagsläget inte helt klarlagt vilka mekanismer som bidrar till att subterapeutiska doser, det vill säga doser som är mycket lägre än de som används för att behandla sjukdom, av antibiotika verkar tillväxtbefrämjande. Men det finns ett stort antal teorier, varav flera kan antas samverka för att ge den önskade effekten. Eftersom många av antibiotikasorterna som används tillväxtfrämjande inte tas upp från magtarmsystemet menar bland annat Dibner & Richards (2005) att de troligaste teorierna är att tarmfloran är det som påverkas.

Det finns flera teorier för mekanismerna bakom tillväxtfrämjande antibiotika, men de mest frekvent nämnda är: (1) att subkliniska infektioner hämmas, (2) ökad mängd näringsämnen

finns tillgängligt för värddjuret, (3) ökad möjlighet till upptag av näringsämnen genom den förtunnade tarmväggen, (4) minskad närvaro av tillväxthämmande mikrobiella metaboliter, och (5) anti-inflammatorisk effekt på värddjuret (Gaskins *et al.*, 2002; Niewold, 2007). Förändringar i mikrobiomets sammansättning har setts efter att djur getts foder med antibiotika (Lin *et al.*, 2013), men exakt vilka mekanismer som i slutänden påverkar individen till ökad tillväxt är inte klarlagt.

Hämmande av subkliniska infektioner

Tidiga studier som gjordes mellan bakteriefria, djur som föddes upp i en steril miljö, och konventionella djur visade att bakteriefria djur hade en generellt högre viktökning än konventionella, samt att de bakteriefria individerna inte tycktes få en viktökning av AGP på samma sätt som konventionella (Coates *et al.*, 1963). En förklaring som givits till detta är att det måste finnas en viss mikrobiell (negativ) påverkan på tillväxten, där mikroorganismer som både är känsliga och okänsliga för antibiotika spelar in (Coates *et al.*, 1963). I vidare försök med fjäderfä fann även Eyssen & de Somer (1963) att en grupp djur i steril miljö, som därmed inte tros utsättas för patogener och subkliniska infektioner, inte fick någon viktökning jämfört med en grupp i vanliga stallar vid utfodring med AGP. Att gruppen i rena stallar inte uppvisar någon viktökning vid tillsats av AGP tros bero på att de inte har några bakterier som kan ge en subklinisk infektion, och därmed inte har något som kan förändras i och med tillsats av AGP. Vidare sågs i samma försök att djuren i rena stallar kunde ”infekteras” genom överföring av feces från djur i de vanliga stallarna och därmed få en försämrad tillväxt (Eyssen & de Somer, 1963).

AGP kan även hindra märkbara infektioner från att bryta ut. Brennan *et al.* (2003) visade att subterapeutiska koncentrationer av ett visst antibiotikum minskade skadorna och påverkan vid sjukdom med nekrotisk enterit i en fjäderfäbesättning – något som tyder på att AGP inte bara är tillväxtfrämjande utan även kan minska sjukdomsfall, åtminstone av nekrotisk enterit (Brennan *et al.*, 2003). Nekrotisk enterit är hos fjäderfä en vanlig besättningssjukdom som kan vara både klinisk och subklinisk och orsaka stort produktionsbortfall till följd av kassationer (Poultry world, 2015).

I en experimentell studie på möss visade Kamada *et al* (2012) att bakteriefria djur inte kunde bli av med en inducerad infektion med en patogen bakterie, vilket djuren med tarmflora kunde. Detta kan förklaras med att tarmfloran konkurrerar ut patogenerna genom att varken ge dem näringsämnen eller plats nog i tarmen för att etablera sig (Kamada *et al.*, 2012). Vidare visade Konstantinov *et al* (2008) i en studie på grisar att probiotika, innehållande en specifik bakterie, kunde hjälpa de djuren att bli av med vissa patogener i tarmen. Eftersom mikrobiomet förändras i och med AGP (Lin *et al.*, 2013) borde det alltså vara möjligt att den förändringen leder till en sådan tarmflora som får lättare att stå emot koloniseringsförsök av patogener, vilket leder till minskade subkliniska infektioner och möjlighet till ökad tillväxt.

Niewold (2007) ifrågasätter teorin att subkliniska infektioner skulle kunna hämmas eftersom doserna antibiotika som ges tillväxtfrämjande är under MIC-värdet för patogener (Minimum

Inhibitory Concentration). Men antibiotika har i flertalet studier visats ha effekt på olika bakterier även om det ges så att koncentrationer aldrig överstiger MIC-värdet (Broom, 2017). Vidare skriver Broom (2017) att det är viktigt att komma ihåg att MIC bara är koncentrationen vid vilken synlig tillväxt av bakterier hämmas, men att det inte betyder att bakterierna inte påverkas alls. Frågan som diskuteras är snarare om sub-MIC koncentrationer faktiskt rent praktiskt kan driva på resistensutvecklingen (Andersson & Hughes, 2014) vilket då oundvikligen skulle innebära att antibiotika kan ha effekt under MIC.

Större tillgång till näringsämnen

Eyssen & de Somer (1963) fann att både fodrets innehåll men även AGP påverkade förmågan för individerna att ta till sig näringsämnen så som fett och kolhydrater. De kopplade detta till att absorption av näringsämnen stimuleras samt att ett ”snällare” mikrobiom, som inte konkurrerar om de viktigaste näringsämnena med individen i samma utsträckning, selekteras fram (Eyssen & de Somer, 1963).

I en studie av Stanley *et al* (2013) tycktes det finnas ett samband mellan djur som växte snabbt och sammansättning av bakteriesläkten i magtarmkanalen. Ett släkte som verkar påverkas positivt av AGP är *Bacterioides*. Släktet innehåller bakterier som bildar enzym som kan bryta ner stärkelse och cellulosa (Stanley *et al.*, 2013) vilket skulle kunna leda till en ökad mängd upptagbara näringsämnen, och det kan därmed leda till en ökad tillväxt. Även i en studie av Torok *et al* (2011) sågs en förändring av sammansättningen av tarmfloran, framförallt med avseende på *Bacterioides*, men även *Firmicutes*. Förändringar inom dessa grupper av bakterier är även inom humanmedicinen kända för att hänga ihop med ökad tillväxt, men då vid fetma (Turnbaugh *et al.*, 2006).

Det är inte bara konkurrens om näringsämnen som är en bidragande faktor när det gäller mekanismen att förändra sammansättningen av bakterier i tarmkanalen utan även mikroorganismernas blotta existens påverkar. För att skydda slemhinnan produceras en stor del mucus och epitelcellerna får en väldigt snabb omsättning eftersom de hela tiden är utsatta för mikroorganismer i tarmkanalen. Det är inte bara patogener som bidrar till dessa effekter utan även kommensaler behöver hållas borta från cellerna eftersom de också ger en ökad produktion av mukus och en snabbare omsättning av tarmepitelet – något som är mycket energikrävande. (Dibner & Richards, 2005).

Förtunnad tarmvägg

Redan 1955 upptäckte Coates *et al* att fjäderfä som gavs penicillin i låga koncentrationer fick en lättare magtarmkanal, där minskningen i vikt framförallt låg i en förtunning av tarmväggen. Det klarades inte varför effekten var tillväxtfrämjande, men antogs handla om att näringsämnen lättare kunde tas upp. Vidare studier gjordes under samma försök där effekten av penicillin på magtarmkanalens vikt mättes både på bakteriefria och konventionella djur. Det uppmärksammades då att bakteriefria djur inte tycktes få någon förtunning av tarmväggen och den förtjockning som ses i tarmväggen hos konventionella djur antogs bero på ett ökat smittryck samt ett försvar mot att absorbera mikrobiologiska toxiska produkter. (Coates *et al.*, 1955).

Även senare studier har visat på en förtunning av tarmväggen hos fjäderfä givna AGP, men också andra morfologiska förändringar så som förändringar i villi-struktur, längd av tarmkanalen och tjocklek av vissa lager i tarmväggen har setts både av Miles *et al* (2006) och Teirlinck *et al* (2009). I studien av Miles *et al* (2006) förtydligar de också att det inte sker en försvagning av tarmväggen i och med att den blir tunnare. Vidare diskuterar de både att förändring i villi-struktur kan ge ökad yta för näringsupptag så väl som att förtunningen av tarmväggen kan vara till följd av ett minskat inflammatorisk stimuli och att båda dessa faktorer potentiellt kan spela in i tillväxtfrämjande effekten.

Denna teori som mekanism för tillväxtfrämjning ifrågasätts av Niewold (2007) då det inte direkt är bevisat att en tunnare tarmvägg skulle ge ett ökat upptag av näringsämnen. Och även om denna teori tas upp som trolig i flertalet review-artiklar (Menconi *et al* 2014.; Modi *et al* 2011), hänvisas det inte till någon studie som bevisat att koppling mellan tillväxtfrämjning och tunnare tarmvägg skulle finnas.

Minskad mängd toxiska metaboliter

Det finns ett flertal typer av bakterier vanliga i tarmfloran som fermenterar aminosyror till toxiska metaboliter, däribland ammoniak, aminer, fenoler och inoler. Alla dessa har en negativ påverkan på tarmslemhinnan och minskar individens näringsupptag så väl som att öka det totala energibehovet till magtarmkanalen (Dibner & Richards, 2005). Vid hydrolys av urea bildas ammoniak av ureasproducerande bakterier vilka är vanligt förekommande i tarmen. Ammoniak har en skadlig effekt på tarmepitelcellerna och frånvaron av det tros ge en tillväxtfrämjande effekt (Anderson *et al.*, 1999). I en tidig studie av Levenson *et al* (1959) påvisades att bakteriefria möss som injicerades med kol14-märkt urea andades ut en betydligt mindre mängd av det radioaktivt märkta kol14 än de konventionella mössen som injicerats med samma substans. Detta förklaras med att en mindre metabolism av urea skett hos de bakteriefria individerna och det kommer därmed inte vara möjligt för djuren att andas ut det märkta kolet (Levenson *et al.*, 1959). Den koppling som dras till den tillväxtfrämjande effekten är att AGP måste hämma en stor del av de ureasproducerande bakterierna och därmed minska mängden ammoniak i tarmen vilket i sin tur ger mindre skada på epitelcellerna.

Vissa toxiska fenoler bildas av bakterier i tarmen vid nedbrytning av tyrosin och tryptofan. (Anderson *et al.*, 1999). Det har visats att vissa av dessa fenoler inte går att hitta i urinen hos bakteriefria djur (Bakke & Midtvedt, 1970), vilket skulle innebära att tarmen på dessa djur inte utsätts för substansernas skadliga verkan. P-cresol är en annan liknande metabolit som bildas av bakterier i tarmen och utsöndras i urinen. I en studie av Yokoyama *et al* (1982) sågs tydliga skillnader i utsöndring av P-cresol mellan grisar givna AGP och grisar givna vanligt foder, där grisar som fått AGP hade betydligt lägre nivåer. De diskuterade därför att minskade mängder av P-cresol möjligtvis kan vara en bidragande faktor till ökad tillväxt (Yokoyama *et al.*, 1982).

Vissa bakterier bildar även enzymer som kan ha negativ påverkan på individen. Ett enzym som bildas av vissa typer av bakterier, framförallt *Lactobacillii* hos fjäderfä, är gallsalhydrolas som dekonjugerar gallsalter. Detta leder till en sämre förmåga att hålla fetter lösliga vilket ger försämrad metabolism av fetter och därmed även ett minskat upptag av dessa (Knarreborg *et*

al., 2004). AGP har på fjäderfä visats ge större mängd konjugerade gallsalter i träcken (Guban *et al.*, 2006), detta genom att ha negativ effekt på bakteriestammar som producerar gallsalthydrolas, samt via en inhiberande effekt på enzymet i sig (Smith *et al.*, 2014). Minskad mängd av detta enzym ger alltså även en större mängd näringsämnen möjliga för upptag.

Anti-inflammatorisk effekt

Det är känt att inflammatoriska tillstånd hos djur ger minskad tillväxt, framförallt via ett minskat foderintag men även genom mindre effektiv metabolism (Humphrey & Klasing, 2004). Vidare är det visat att olika dieter påverkar inflammatorisk status olika mycket, men även att det är effekter som kan kompenseras med AGP (Teirlynck *et al.*, 2009). Det är känt att vissa typer av antibiotika, framförallt i gruppen makrolider, har anti-inflammatoriska egenskaper när det ges i terapeutiskt syfte (Buret, 2010), och kan ackumuleras i fagocyterande celler (Culić *et al.*, 2001). Djur som ges AGP har även visats få lägre nivåer av IL-1 (Interleukin 1) som i normala fall stimulerar immunologisk stress och därmed ger en minskad förmåga till foderomvandling samt generellt sett ett minskat foderintag (Roura *et al.*, 1992). Antimikrobiella substanser kan på detta sätt verka dämpande på immunförsvaret och minska utsöndring av proinflammatoriska cytokiner – något som ger en minskad katabolism och därmed gör det möjligt för individer att växa snabbare (Niewold, 2007).

Anti-inflammatorisk effekt som mekanism bakom tillväxtfrämjning har delvis avfärdats på grund av att många antibiotika som ges i detta syfte inte normalt tas upp över tarmslemhinnan. Men en tarmslemhinna som är inflammerad eller på annat sätt tillfälligt permeabel kan ta upp de antimikrobiella substanserna (Niewold, 2007). Broom (2017) för ett resonemang kring teorin om direkt anti-inflammatorisk effekt av AGP där slutsatsen blir att det inte är troligt som primär mekanism för tillväxtfrämjning, detta eftersom sannolikheten för sådan stor effekt på immunsvaret av låga doser antibiotika är liten samt att det endast är ett fåtal antibiotikaklasser som har visats ha påverkan på immunförsvaret. Däremot nämns det att en sekundär påverkan på immunförsvaret genom en förändring av tarmfloran och därmed en minskad i stimulering av den lymfatiske vävnad som finns i direkt anslutning till tarmen är mer troligt. I en studie av Soler *et al* (2016) sågs både minskade nivåer av akutfasprotein och även andra förändringar i blodserums sammansättning av inflammatoriska protein hos grisar som givits AGP jämfört med de som fått vanligt foder. Dessa förändringar tyder på att djur som får AGP i fodret får en minskad inflammatorisk respons.

DISKUSSION

Det finns flera teorier som försöker förklara mekanismerna bakom tillväxtfrämjande antibiotika. Men trots att det är något som studerats i relativt stor utsträckning har forskningen inte kommit fram till några tydliga resultat. Mest troligt är det en kombination av flera teorier, eller åtminstone delar av dem, som ger påverkan på individerna. Egentligen förefaller det mindre troligt att man kommer kunna fastställa en enskild, universell orsak till viktökning vid tillsats av AGP utan det pekar mer på att det är en kombination av flera mekanismer. Konstaterat är att AGP påverkar sammansättningen av mikrobiomet (Lin *et al.*, 2013), och beroende på dess tidigare sammansättning, vilken substans som tillförs och i vilken miljö djuret finns kommer de

olika faktorer som tagits upp i litteraturstudien vara mer eller mindre bidragande till en viktökning. Förutom den direkta påverkan av ett förändrat mikrobiom kommer det även ge ett minskat inflammatoriskt stimuli (Teirlynck *et al.*, 2009) vilket kommer påverka djuret positivt och ge möjlighet till snabbare viktökning.

Så tidigt som 1955 gjordes studier som visade på att djur med och utan tarmflora reagerar olika på låga doser av antibiotika vilket Coates *et al* såg som ett lovande bevis på att det var just i tarmfloran mekanismerna för tillväxtfrämjningen låg. Men något som upprepar återkommer är att kunskaperna om förhållandet mellan mikrobiom och individ behöver studeras vidare för att inse hur mekanismerna fungerar och påverkar djuret. Detta har senare studier blivit bättre på, men det gör att man eventuellt måste tolka slutsatserna från forskningen som gjordes på 50-talet på ett annat sätt idag i och med de kunskaper vi nu besitter om mikrobiomets stora påverkan på hela individen. Till exempel skulle studien av Eyssen & De somer (1963) när det gäller teorin om ökad tillgång på näringsämnen kanske behöva omtolkas med tanke på de ökade kunskaper fältet nu besitter om kopplingen mellan tarmflora och individ. Det kan även eventuellt finnas en viss problematik i de äldre studierna eftersom man idag har bättre tekniker och metoder för att studera tarmflora, samt för att hålla djur under isolerade och sterila förhållanden – studierna kanske skulle visa på andra, eller åtminstone mer specifika och mätbara, resultat idag. Mycket av litteraturen i denna studie är äldre vilket helt enkelt beror på att mycket forskning gjordes när AGP började användas. Även nyare översikter hänvisar till denna äldre forskning när det kommer till att sammanfatta troliga mekanismer hos AGP (Huyghebaert *et al.*, 2011) vilket gör att även jag känt mig bekväm med att göra det i denna litteraturstudie.

Den forskning som görs i dagsläget ligger inte så mycket i att förstå mekanismerna bakom AGP som i att testa nya substanser och jämföra dem med AGP:s tillväxtfrämjande effekt. Detta gör att det inte direkt kommer fram fler eller mer utvecklade teorier i mekanism, utan snarare kunskap om vilka substanser som kan användas istället. Ur en teoretisk synvinkel förloras en del på det eftersom mekanismerna bakom AGP verkar vara komplexa och värda att studera, inte minst för att det även verkar vara ett bra sätt att studera tarmfloran och dess påverkan på tillväxten på. Men ur en mer praktisk synvinkel är det rimligt att fokus ändras till substanser som kan vara användbara inom djuruppfödning idag och i framtiden. För även om just AGP:s påverkan på resistensutvecklingen är omdiskuterad är antibiotikaanvändning på det stora hela i behov av att minskas, och jag kan tänka mig att ändringar i regelverk kring antibiotikaanvändning blir svårare att genomföra om man samtidigt tillåter en enorm mängd AGP på marknaden.

Framtiden ligger mest troligt inte i AGP utan i alternativa substanser med liknande mekanismer, eller åtminstone liknande effekter på djuren och produktionen. Mycket av den forskning som har pågått senaste åren har handlat om att klargöra AGP:s mekanismer för att veta inom vilket fält ersättande substanser möjligtvis kan hittas, men mer och mer börjar den handla om att jämföra dessa substansklasser mot AGP när det gäller tillväxtfrämjande förmåga. Några klasser som föreslagits och studerats är probiotika, prebiotika, synbiotika, organiska syror, enzymer, metaller, fytobiotika. Andra klasser som mer nyligen föreslagits är hyperimmuna IgY från äggula, antimikrobiella peptider, lera (clay) och bakteriofager (Gadde *et al.*, 2017).

Pre- och probiotika har länge använts både i foder och mat för djur och människor, men det är först under senare tid som deras tillväxtfrämjande egenskaper har börjat studeras mer intensivt (Patterson & Burkholder, 2003). Probiotika är levande bakterier som ges för att förändra tarmfloran, ge en ökad tillväxt och förbättrad foderomvandling hos djuret samt för att skydda mot vissa patogener (Talebi *et al.*, 2008). Det är antagligen ett av de alternativ till AGP som är mest studerat och det har i vissa studier visats ha effekt (Talebi *et al.*, 2008) men i andra inte (Lee *et al.*, 2010). Detta kan möjligtvis förklaras med att det finns olikheter i stammar, beredningsformer, mängder, diet med mera i de olika försöken (Gadde *et al.*, 2017). Inte heller där har exakta mekanismer för tillväxt kunnat fastställas, men enligt Gadde *et al.* (2017) är de viktigaste mekanismerna att probiotika balanserar både tarmfloran och immunsvaret, detta genom att ge patogena bakterier en mindre chans till kolonisering av tarmslemhinnan. Prebiotika är substanser som inte kan brytas ner eller tas upp av värdjuret utan som påverkar tillväxt eller aktivitet hos en eller flera typer av bakterier i tarmen (Patterson & Burkholder, 2003). Det finns flera olika substanser som räknas som prebiotika, en välstuderad grupp är oligosackarider. Men även med prebiotika, och i detta fall specifikt oligosackarider, finns samma problematik som hos probiotika då vissa studier har påvisat viktökning (Benites *et al.*, 2008), medan andra studier inte kunnat se liknande samband (Houshmand *et al.*, 2012). Även med denna substansklass kan problematiken antas ligga i att det är många andra faktorer som spelar in i dess effekt. En alternativ substans som försöker efterlikna en annan del av AGP:s antagna mekanismer är fytobiotika som är substanser vilka kommer från växtriket. I en studie av Khadem *et al.* (2014) påvisades tillväxtfrämjande effekt av en fytobiotika med antiinflammatoriska egenskaper, denna effekt jämfördes med AGP och en kontrollgrupp. Effekten var inte lika stor som den av AGP men gav fortfarande tydliga resultat. Vidare diskuterade forskarna kring att denna studie visar att alternativa tillsatser bör sökas inom antiinflammatoriska substanser, eftersom det tycks vara en viktig mekanism bakom tillväxtfrämjning (Khadem *et al.*, 2014). Diskussionerna kring alternativa substanser ger även en bättre insikt i mekanismerna kring AGP:s tillväxtfrämjande effekt eftersom det går att se vilka andra typer av substanser som ger liknande resultat. Exemplet med fytobiotika ger tyngd till teorin att AGP skulle verka tillväxtfrämjande genom sina anti-inflammatoriska effekter, och att även probiotika kan ge tillväxtfrämjande effekter gör att man förstår att AGP måste ha flera mekanismer som verkar på väldigt olika sätt.

Wierup (2001) beskriver hur förbudet mot AGP i Sverige inte påverkade produktionen i den utsträckning många hade väntat sig. En bibehållen tillväxtnivå utan AGP kopplas ofta samman med bättre hygien och förhållanden för djuren, vilket skulle kunna förklaras av ett mindre smittryck och ett ökat välmående hos individerna. Det är konsekvent med de jämförande studier som gjorts mellan bakteriefria och konventionellt uppfödda djur där man också sett att AGP inte har någon effekt på de bakteriefria djuren (Coates *et al.*, 1963). Jag tycker i och med detta att fokus i högre grad skulle kunna läggas på djurhållning eftersom renare och bättre förhållanden är sammanlänkade med bättre tillväxt, men det nämns ofta i förbifarten som något mer eller mindre ouppnåeligt trots att det uppenbarligen är möjligt eftersom svenska producenter har lyckats (Wierup, 2001). Självklart är inte heller detta en enkel lösning, och det

måste mest troligt kombineras även med andra tillsatser för att ge en optimal tillväxt. Men jag anser att det åtminstone borde få en större roll i diskussionen.

Sammanfattningsvis kan det sägas att även om mycket studier har gjorts inom området för tillväxtfrämjning och många fysiologiska förändringar kan konstateras vid inkludering av AGP i foder finns det inte tydliga bevis för vilken/vilka av förändringarna, om någon, som är mest bidragande till en viktökning och ökad foderomvandlingsförmåga. Men eftersom antibiotikaresistens är ett ökande hot och det inte går att utesluta AGP som bidragande faktor till den processen är den givna vägen framåt att utforska andra substanser som kan fungera på liknande sätt som antibiotika. En del sådan forskning har gjorts, och många substanser används redan i produktionen i dagsläget, men mycket arbete återstår för att hitta substanser som ger upprepbara resultat inte bara i kontrollerade studier utan även i konventionell produktion.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Anderson, D. B., McCracken, V. J., Aminovi, R. I., Simpson, J. M., Mackie, R. I., Verstegen, M. W. A. & Gaskins, H. R. (1999). Gut Microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Pig News and Information* [online], 20, pp 115–122. Tillgänglig: <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/60393>. [2019-03-01].
- Andersson, D. I. & Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology* [online], 12(7), pp 465–478. DOI: 10.1038/nrmicro3270
- Bakke, O. M. & Midtvedt, T. (1970). Influence of germ-free status on the excretion of simple phenols of possible significance in tumour promotion. *Experientia* [online], 26(5), pp 519–519. DOI: 10.1007/BF01898483
- Benites, V., Gilharry, R., Gernat, A. G. & Murillo, J. G. (2008). Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide from Bio-Mos or SAF-Mannan on Live Performance of Broiler Chickens. *The Journal of Applied Poultry Research* [online], 17(4), pp 471–475. DOI: 10.3382/japr.2008-00023
- Brennan, J., Skinner, J., Barnum, D. & Wilson, J. (2003). The efficacy of bacitracin methylene disalicylate when fed in combination with narasin in the management of necrotic enteritis in broiler chickens. *Poultry Science* [online], 82(3), pp 360–363. DOI: 10.1093/ps/82.3.360
- Broom, L. J. (2017). The sub-inhibitory theory for antibiotic growth promoters. *Poultry Science*, 96(9), pp 3104–3108. DOI: 10.3382/ps/pex114
- Buret, A. G. (2010). Immuno-modulation and anti-inflammatory benefits of antibiotics: The example of tilmicosin. *Canadian Journal of Veterinary Research* [online], 74(1), pp 1–10. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2801304/>. [2019-02-22].
- Castanon, J. I. R. (2007). History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. *Poultry Science* [online], 86(11), pp 2466–2471. DOI: 10.3382/ps.2007-00249
- Chattopadhyay, M. K. (2014). Use of antibiotics as feed additives: a burning question. *Frontiers in Microbiology* [online], 5. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00334
- Coates, M. E., Davies, M. K. & Kon, S. K. (1955). The Effect of Antibiotics on the Intestine of the Chick. *British Journal of Nutrition* [online], 9(01), p 110. DOI: 10.1079/BJN19550016
- Coates, M. E., Fuller, R., Harrison, G. F., Lev, M. & Suffolk, S. F. (1963). A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *British Journal of Nutrition* [online], 17(01), p 141. DOI: 10.1079/BJN19630015
- Cromwell, G. L. (2002). Why and how antibiotics are used in swine production. *Animal Biotechnology*, 13(1), pp 7–27. DOI: 10.1081/ABIO-120005767
- Culić, O., Eraković, V. & Parnham, M. J. (2001). Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *European Journal of Pharmacology*, 429(1–3), pp 209–229. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698042> (2019-02-20)
- Dibner, J. J. & Richards, J. D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* [online], 84(4), pp 634–643. DOI: 10.1093/ps/84.4.634
- Eyssen, H. & de Somer, P. (1963). The mode of action of antibiotics in stimulating growth of chicks. *The Journal of Experimental Medicine* [online], 117(1), pp 127–138. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2180433/>. [2019-02-07].
- Gadde, U., Kim, W. H., Oh, S. T. & Lillehoj, H. S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*, 18(1), pp 26–45. DOI: 10.1017/S1466252316000207

- Gaskins, H. R., Collier, C. T. & Anderson, D. B. (2002). Antibiotics as Growth Promotants:mode of Action. *Animal Biotechnology* [online], 13(1), pp 29–42. DOI: 10.1081/ABIO-120005768
- Guban, J., Korver, D. R., Allison, G. E. & Tannock, G. W. (2006). Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. *Poultry Science*, 85(12), pp 2186–2194. DOI: 10.1093/ps/85.12.2186
- Harrison, E. M., Paterson, G. K., Holden, M. T. G., Larsen, J., Stegger, M., Larsen, A. R., Petersen, A., Skov, R. L., Christensen, J. M., Zeuthen, A. B., Heltberg, O., Harris, S. R., Zadoks, R. N., Parkhill, J., Peacock, S. J. & Holmes, M. A. (2013). Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel *mecA* homologue *mecC*. *EMBO Molecular Medicine* [online], 5(4), pp 509–515. DOI: 10.1002/emmm.201202413
- Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M. H. & Kamyab, A. (2012). Effects of prebiotic, protein level, and stocking density on performance, immunity, and stress indicators of broilers. *Poultry Science* [online], 91(2), pp 393–401. DOI: 10.3382/ps.2010-01050
- Humphrey, B. D. & Klasing, K. C. (2004). Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. *World's Poultry Science Journal* [online], 60(01), pp 90–100. DOI: 10.1079/WPS20037
- Huyghebaert, G., Ducatelle, R. & Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187(2), pp 182–188. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.03.003
- Jordbruksverket (2018) *Viktigt att motverka antibiotikaresistens hos djur*. Tillgänglig: <https://www.jordbruksverket.se/annesomraden/djur/sjukdomarochsmittskydd/antibiotikaresistens/motverkaantibiotikaresistens.4.60778d4f133a753969d8000552.html>. [2019-02-07].
- Kamada, N., Kim, Y.-G., Sham, H. P., Vallance, B. A., Puente, J. L., Martens, E. C. & Núñez, G. (2012). Regulated Virulence Controls the Ability of a Pathogen to Compete with the Gut Microbiota. *Science (New York, N.Y.)* [online], 336(6086), pp 1325–1329. DOI: 10.1126/science.1222195
- Khadem, A., Soler, L., Everaert, N. & Niewold, T. A. (2014). Growth promotion in broilers by both oxytetracycline and *Macleaya cordata* extract is based on their anti-inflammatory properties. *The British Journal of Nutrition*, 112(7), pp 1110–1118. DOI: 10.1017/S0007114514001871
- Knarreborg, A., Lauridsen, C., Engberg, R. M. & Jensen, S. K. (2004). Dietary antibiotic growth promoters enhance the bioavailability of alpha-tocopheryl acetate in broilers by altering lipid absorption. *The Journal of Nutrition*, 134(6), pp 1487–1492. DOI: 10.1093/jn/134.6.1487
- Konstantinov, S. R., Smidt, H., Akkermans, A.D.L., Caisini, L., Trevisi, P., Mazzoni, M., Filippi, S.D., Bosi, P., de Vos, W.M. (2008). Feeding of *Lactobacillus sobrius* reduces *Escherichia coli* F4 levels in the gut and promotes growth of infected piglets. *FEMS Microbiology Ecology*, 66(3), pp 500-607. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00517.x
- Lee, K. W., Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Li, G. X., Jang, S. I., Babu, U. S., Park, M. S., Kim, D. K., Lillehoj, E. P., Neumann, A. P., Rehberger, T. G. & Siragusa, G. R. (2010). Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. *Poultry Science* [online], 89(2), pp 203–216. DOI: 10.3382/ps.2009-00418
- Levenson, S. M., Crowley, L. V., Horowitz, R. E. & Malm, O. J. (1959). The metabolism of carbon-labeled urea in the germ free rat. *The Journal of Biological Chemistry*, 234(8),

- pp 2061–2062. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13673014> (2019-02-07)
- Lin, J., Hunkapiller, A. A., Layton, A. C., Chang, Y. J. & Robbins, K. R. (2013). Response of intestinal microbiota to antibiotic growth promoters in chickens. *Foodborne pathogens and disease* [online], 10(4), pp 331–337. DOI: 10.1089/fpd.2012.1348
- Menconi, A., Bielke, L. R., Hargis, B. M. & Tellez, G. (2014) Immuno-Modulation and Anti-Inflammatory Effects of Antibiotic Growth Promoters Versus Probiotics in the Intestinal Tract. *Journal of Microbiology Research and Reviews*. 2(7) pp 62-67. Tillgänglig: https://www.researchgate.net/publication/270579529_Immuno-Modulation_and_Anti-Inflammatory_Effects_of_Antibiotic_Growth_Promoters_Versus_Probiotics_in_the_Intestinal_Tract (2019-02-09)
- Miles, R.D., Butcher, G.D., Henry, P.R., Littell, R.C. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science* 85 pp 476-485. DOI: 10.1093/ps/85.3.476.
- Modi, C. M., Mody, S. K., Patel, H. B., Dudhatra, G. B. & Kumar, A. (2011) Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(08)= pp 33-36. Tillgänglig: http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/208_pdf.pdf (2019-02-23)
- Niewold, T. A. (2007). The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poultry Science*, 86(4), pp 605–609. DOI: 10.1093/ps/86.4.605
- Patterson, J. A. & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), pp 627–631. DOI: 10.1093/ps/82.4.627
- Poultry world (2015) *The true cost of necrotic enteritis*. Tillgänglig: <https://www.poultryworld.net/Meat/Articles/2015/10/The-true-cost-of-necrotic-enteritis-2699819W/>. [Accessed 2019-03-11].
- Roura, E., Homedes, J. & Klasing, K. C. (1992). Prevention of immunologic stress contributes to the growth-permitting ability of dietary antibiotics in chicks. *The Journal of Nutrition*, 122(12), pp 2383–2390. DOI: 10.1093/jn/122.12.2383
- Schar, D., Sommanustweechai, A., Laxminarayan, R. & Tangcharoensathien, V. (2018). Surveillance of antimicrobial consumption in animal production sectors of low- and middle-income countries: Optimizing use and addressing antimicrobial resistance. *PLoS Medicine* [online], 15(3). DOI: 10.1371/journal.pmed.1002521
- Smith, K., Zeng, X. & Lin, J. (2014). Discovery of Bile Salt Hydrolase Inhibitors Using an Efficient High-Throughput Screening System. *PLOS ONE* [online], 9(1), p e85344. DOI: 10.1371/journal.pone.0085344
- Soler, L., Miller, I., Hummel, K., Razzazi-Fazeli, E., Jessen, F., Escribano, D. & Niewold, T. (2016). Growth promotion in pigs by oxytetracycline coincides with down regulation of serum inflammatory parameters and of hibernation-associated protein HP-27. *ELECTROPHORESIS* [online], 37(10), pp 1277–1286. DOI: 10.1002/elps.201500529
- Stanley, D., Geier, M. S., Denman, S. E., Haring, V. R., Crowley, T. M., Hughes, R. J. & Moore, R. J. (2013). Identification of chicken intestinal microbiota correlated with the efficiency of energy extraction from feed. *Veterinary Microbiology*, 164(1–2), pp 85–92. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.030
- Talebi, A., Amirzadeh, B., Mokhtari, B. & Gahri, H. (2008). Effects of a multi-strain probiotic (PrimaLac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broiler chickens. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.*, 37(5), pp 509–512. DOI: 10.1080/03079450802356995

- Teirlynck, E., Bjerrum, L., Eeckhaut, V., Huygebaert, G., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Dewulf, J., Ducatelle, R. & Van Immerseel, F. (2009). The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. *British Journal of Nutrition* [online], 102(10), p 1453. DOI: 10.1017/S0007114509990407
- Torok, V.A., Hughes, R.J., Mikkelsen, L.L., Perez-Maldonado, R., Baldin, K., MacAlpine, R., Percy, N.J., Ophel-Keller, K. (2011). Identification and Characterisation of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. *Applied and environmental microbiology*. 77(17) pp5868-5878 DOI: 10.1128/AEM.00165-11
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R. & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), pp 1027–1031. DOI: 10.1038/nature05414
- Wierup, M. (2001). The Swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 7(2), pp 183–190. DOI: 10.1089/10766290152045066
- Yokoyama, M. T., Tabori, C., Miller, E. R. & Hogberg, M. G. (1982). The effects of antibiotics in the weanling pig diet on growth and the excretion of volatile phenolic and aromatic bacterial metabolites. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 35(6), pp 1417–1424. DOI: 10.1093/ajcn/35.6.1417