

Olika administreringsmetoder av probiotika till smågrisar och dess effekt på tillväxt, hälsa och mikrobiota

*Different methods of administration of probiotics to piglets and
their effect on growth, health and microbiota*

Sara Hammarberg



Examensarbete • 30 hp

Agronomprogrammet - Husdjur

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Uppsala 2019

Olika administreringsmetoder av probiotika till smågrisar och dess effekt på tillväxt, hälsa och mikrobiota

Different methods of administration of probiotics to piglets and their effect on growth, health and microbiota

Sara Hammarberg

Handledare: Johan Dicksved, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Bitr. handledare: Else Verbeek, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Examinator: Torbjörn Lundh, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i husdjursvetenskap
Kursansvarig inst.: Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Kurskod: EX0872
Program/utbildning: Agronomprogrammet - husdjur

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2019
Omslagsbild: Sara Hammarberg

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

Nyckelord: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, mikrobiota, matsmältningskanal, administrering

Sammanfattning

Spädgrisen föds utan ett utvecklat immunsystem och direkt vid födseln koloniserar olika sorters bakterier grisens tarmkanal. Upprätthållandet av en hälsosam mikrobiota i tarmkanalen är viktigt för att smågrisen ska kunna vara motståndskraftig mot patogena bakterier och på så vis minska förekomsten av diarré och samtidigt främja tillväxt.

I detta examensarbete undersöktes ifall probiotiska bakteriestammar av arterna *Lactobacillus plantarum* och *Lactobacillus reuteri* kunde ha en positiv effekt på tillväxt, hälsa och mikrobiota hos smågrisar. Olika administreringsmetoder jämfördes för att utvärdera vilken som gav bäst effekt på ovanstående parametrar. I försöket användes 599 grisar som delades in i sex olika grupper. Administreringsmetoderna som jämfördes var oral giva till smågris, oral giva till sugga, spray på suggans juver samt tillskott i smågristorven. Smågrisarna fick probiotika under digivningsperioden och grisarna som fick probiotika i torv fick det även under två veckor efter avvänjning. Utöver dessa administreringsgrupper fanns två kontrollgrupper: en grupp som inte fick något tillskott alls och en kontrollgrupp som endast fick probiotika efter avvänjning (i torven). Smågrisarnas vikt registrerades vid 15, 36, 43 och 49 dagars ålder och ett hälsoformulär fylldes i på individnivå vid samtliga mätningar. Vid 49 dagars ålder togs även träckprover från 35 av grisarna för att analysera om det var någon skillnad i antalet *Lactobacillus* och *Enterobacteriaceae* mellan de olika administreringsgrupperna.

Resultatet visade inga tydliga skillnader mellan administreringsgrupperna gällande daglig tillväxt eller mikrobiota. Vid 49 dagars ålder hade gruppen som fått probiotika via spray på suggans juver under digivningsperioden en signifikant högre medelvikt jämfört med gruppen som endast fått probiotika efter avvänjning. Grisarna som fick probiotika i torven efter avvänjning hade en signifikant lägre daglig tillväxt jämfört med smågrisarna som inte fått tillskott i torven efter avvänjning. Det fanns ingen signifikant skillnad i antalet *Lactobacillus* och *Enterobacteriaceae* mellan administreringsgrupperna. Sammanfattningsvis kunde ingen positiv effekt visas på tillväxt eller mikrobiota hos grisarna som fått tillskott av probiotika. I dagsläget saknas studier som jämför olika administreringsmetoder av probiotika till smågrisar under digivningsperioden. Mer forskning om probiotikas effekt på smågrisens hälsa samt hur probiotikan mest tidseffektivt kan administreras behövs.

Nyckelord: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, mikrobiota, matsmältningsskanal, administrering

Abstract

Piglets are born without a developed immune system and different types of bacteria colonize the piglets' gastrointestinal tract directly at birth. Maintaining a healthy microbiota in the intestinal tract is important for the piglet to be resistant to pathogenic bacteria and thus reduce the incidence of diarrhea as well as promoting growth.

This study investigated whether probiotic bacterial strains of the species *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus reuteri* could have a positive effect on growth performance, health and microbiota in piglets. Different methods of administration were compared to evaluate which gave the best effect on the above parameters. The study involved 599 pigs which were divided into six different groups. The methods of administration compared were oral supplementation to the piglets, oral supplementation to the sow, spray on the sow's udder and supplementation in piglets' peat. The piglets were supplemented with probiotics during the suckling period, the pigs that received probiotics in peat also obtained it for two weeks after weaning. In addition to these administration groups, there were two control groups: one group that received no supplement at all and a control group that only received probiotics after weaning (in the peat). The weight of the piglets was documented at 15, 36, 43 and 49 days of age and a health form was filled out for each piglet at each time of observation. At 49 days of age, fresh faecal samples were taken from 35 of the pigs to analyze if there was any difference in the number of *Lactobacillus* and *Enterobacteriaceae* between different administration groups.

The results showed no clear pattern between the administration groups regarding growth performance or microbiota. At 49 days of age, the group that received probiotics by spray on the sow's udder during the suckling period had significantly higher mean weights than the group that received probiotics only after weaning. The pigs who received probiotics in the peat after weaning had a significantly lower daily growth compared to the pigs who did not receive supplementation in the peat after weaning. There was no significant difference in the number of *Lactobacillus* and *Enterobacteriaceae* between administration groups. In conclusion, no visible effect could be seen in piglets' growth performance or microbiota receiving probiotic supplement. At present, there are no studies comparing different methods of administration of probiotics to piglets during the suckling period. More research on the effect of probiotics on piglet's health and how probiotics can be most efficiently administered is needed.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, microbiota, gastrointestinal tract, administration

Innehållsförteckning

1	Inledning	7
2	Litteraturstudie	9
2.1	Utveckling av smågrisens matsmältningskanal	9
2.2	Spädgrisdarré	10
2.3	Avvänjningsdiarré	11
2.4	Fodrets påverkan	11
2.5	Probiotika	12
	2.5.1 <i>Lactobacillus</i>	13
	2.5.2 Betydelse av dosering	14
	2.5.3 Försöksmodeller i tidigare studier	15
2.6	Hälsa och stress	16
3	Material och metoder	17
3.1	Försöksmodell	17
3.2	Preparation av bakteriestammar	17
3.3	Administreringsgrupper	18
3.4	Datainsamling	19
3.5	Kvantifiering av <i>Lactobacillus</i> och <i>Enterobacteriaceae</i>	21
3.6	Statistisk analys	22
4	Resultat	23
4.1	Utslagna grisar	23
4.2	Hälsomätningar	23
4.3	Diarréförekomst	24
4.4	Tillväxt	25
4.5	<i>Lactobacillus</i> och <i>Enterobacteriaceae</i> i träck	26
5	Diskussion	28
5.1	Hälsomätningar	28
5.2	Diarréförekomst	29
5.3	Tillväxt	30
5.4	<i>Lactobacillus</i> och <i>Enterobacteriaceae</i> i träck	31
5.5	Administreringsmetoder	31
5.6	Försöksmodell	32
5.7	Övriga felkällor	33

5.8	Slutsats	34
	Referenser	35
	Populärvetenskaplig sammanfattning	39
	Tack	40
	Bilaga 1. Manual för hälsoregistreringar	41

1 Inledning

En lönsam livsmedelsproduktion kräver friska och högproducerande djur. Hälsoproblem kan leda till en lägre produktion och därmed ett sämre ekonomiskt resultat för lantbrukaren (Amezcuca *et al.*, 2002). Trots omgångsuppfödning och rutinmässig vaccination av suggor och gyltor är diarré ett utbrett problem för såväl nyfödda späddgrisar som för nyavvanda smågrisar. Enligt en studie i Sverige stod diarré för 24 % av dödligheten under smågrisens fem första levnadsdagar (Westin *et al.*, 2015). Späddgrisen föds helt utan antikroppar och skydd mot smittoämnen (Svendsen *et al.*, 2008). Suggans råmjölk är livsnödvändig för smågrisen då den innehåller antikroppar som succesivt hjälper till att bygga upp immunsystemet. Vid födseln sker en kraftig exponering av olika typer av mikroorganismer från omgivningen som är relevant för immunsystemets mognad, men som också gör smågrisen mottaglig för smitta genom kontakt med patogena bakterier (Hopwood & Hampson, 2003; King *et al.*, 2003). Mikrobiotans etablering påbörjas vid födseln och påverkas av bland annat genetik, diet, stress och den omgivande miljön (Bauer *et al.*, 2006). Att upprätthålla en hälsosam mikrobiota är väsentligt för att smågrisen ska kunna smälta och tillgodogöra sig näringsämnen i fodret och samtidigt kunna vara motståndskraftig mot patogena bakterier (Liao & Nyachoti, 2017).

I Sverige avvänjs smågrisarna från suggan i de flesta fall från fyra veckors ålder medan de i många länder i övriga Europa avvänjs när smågrisarna är tre veckor gamla (Jordbruksverket, 2018). Smågrisarna tas abrupt från suggan och sätts ofta in i en ny avdelning där de sorteras efter storlek, får nya boxkamrater och kommer därmed i kontakt med nya smittoämnen (Jacobson, 2019). Från att ha haft suggmjölk med hög smältbarhet som huvudsaklig föda går smågrisarna över till att endast äta fast föda som till stora delar består av spannmål (SVA, 2018). Både miljöombytet och foderomställningen innebär en ökad stress för smågrisen, vilket kan leda till ett nedsatt immunsystem med en ökad risk för hälsoproblem. Inom dagens grisproduktion är diarré orsakad av enterotoxiska *Escherichia coli*, även kallad ETEC, den främsta anledningen till dödlighet efter avvänjning (Liao & Nyachoti, 2017).

Förr gavs antibiotika i tillväxtfrämjande syfte och för att reducera patogena bakterier, vilket kan minska problem med avvänjningsdiarré. På grund av risken för antibiotikaresistens är det förbjudet att använda antibiotika i tillväxtfrämjande syfte i Sverige sedan 1986 (Livsmedelsverket, 2018) och inom EU sedan 2006 (European Commission, 2005). Efter förbudet mot tillväxtfrämjande antibiotika blev det vanligt inom kommersiell grisproduktion att använda zinkoxid i fodret till nyavvanda grisar för att förebygga avvänjningsdiarré och främja tillväxt. Zinkoxid har dock en negativ inverkan på miljön då en stor andel av zinkoxiden inte tas upp av smågrisen utan kommer ut med träck och urin (Poulsen, 1998; Heo *et al.*, 2013). Det finns också en oro över att zinkoxid kan gynna antibiotikaresistenta bakterier (Heo *et al.*, 2013; European Medicines Agency, 2017). EU har därför beslutat att förbjuda zinkoxid i fodret från 2022 (European Medicines Agency, 2017). Utfasningen av zinkoxid kan leda till en ökad användning av antibiotika i samband med avvänjning på grund av att fler grisar kan komma att drabbas av avvänjningsdiarré (Heo *et al.*, 2013). För att motverka denna utveckling behövs mer kunskap om alternativa lösningar och verktyg som kan gynna smågrisens tarmhälsa och förebygga hälso- och tillväxtproblem.

Ett möjligt alternativt är probiotika, vilket definieras som levande bakterier som om de tillsätts i tillräckligt stor mängd kan ge positiva hälsoeffekter på värdorganismen (Liao & Nyachoti, 2017). Inom animalieproduktionen är mjölksyreproducerande bakterier såsom *Lactobacillus* (LB) en av de vanligaste kategorierna av mikroorganismer att använda som probiotika (Stein & Kil, 2006). *Lactobacillus* förekommer normalt i tarmen hos såväl människor som grisar (Rojas & Conway, 1996). Tidigare studier av probiotika i gnagarmodeller har visat positiva effekter på såväl mikrobiota (Eaton *et al.*, 2011) som på socialt beteende (Buffington *et al.*, 2016). I studier av barn med spädbarnskolik har tillskott av probiotika haft en positiv effekt på koliksymptom (Savino *et al.*, 2010).

Syftet med den här studien var att undersöka om probiotika av arterna *Lactobacillus plantarum* och *Lactobacillus reuteri* kunde ha en positiv effekt på tillväxt, hälsa och mikrobiota hos smågrisar. Studien syftade också till att undersöka vilken administreringsmetod som gav bäst effekt på ovan nämnda parametrar. Hypotesen var att smågrisar som fått tillskott av probiotika skulle ha en mer fördelaktig mikrobiota och en bättre tillväxt jämfört med kontrollgruppen.

2 Litteraturstudie

2.1 Utveckling av smågrisens matsmältningskanal

Uppbyggnaden av matsmältningskanalen ser ungefär likadan ut från luftstrupe till ändtarm och består av fyra olika lager: innerst mot lumen finns mukosa (slemhinnan), därefter submukosa (bindvävssikt), följt av muskularis (muskelceller) och ytterst serosa (bindväv täckt av epitelceller, även en del av bukhinnan) (Sjaastad *et al.*, 2010). Under smågrisens första levnadsveckor genomgår tarmen stora strukturella förändringar (Xu *et al.*, 1992). Redan efter första dygnet har tunntarmen expanderat med cirka 50 % av sin storlek och totalt under de första tio dagarna expanderar den till sin dubbla storlek. Matsmältningskanalen skyddas av epitelceller som sitter i mukosan och utgör en barriär mot lumen, vilket förhindrar att bakterier och toxiner passerar förbi tarmväggen ut i blodet (Sjaastad *et al.*, 2010). Genomsläppligheten hos epitelcellerna styrs av täta sammanslutningar som ser till att stora molekyler och mikroorganismer inte kan passera. Tunntarmens mukosa är veckad och täckt av fingerlika utskott, villi, som ger tunntarmen en stor yta vilket bidrar till att den huvudsakliga absorptionen av näringsämnen sker i tunntarmen (Sjaastad *et al.*, 2010). Långa villi är önskvärt för en optimal absorptionsförmåga (Bontempo *et al.*, 2006; Heo *et al.*, 2013).

Mukosans insida täcks av två lager slem som kallas mukos (Montagne *et al.*, 2004). Mukos består av muciner, vilka utgörs av glykoproteiner, som skyddar slemhinnan samt epitelcellerna från direktkontakt med bakterier och kroppsfrämmande antigener. Det finns indikationer på att probiotikas skyddande effekt i tarmen är medierad genom dess förmåga att stimulera mucinerna i mukuslagret till att bilda mer slem (Mack *et al.*, 1999). Det har även visat sig att dieten spelar roll för hur pass välfungerande mukuslagret är. Smågrisar som fått dia mjölk från suggan under sina första levnadsveckor har ett mer välutvecklat mukuslager jämfört med smågrisar som fått dia artificiell mjölk (Turck *et al.*, 1993).

Mikrobiotans etablering påbörjas vid födseln och fortsätter att utvecklas i takt med att smågrisen utsätts för olika miljöer och kommer i kontakt med träck och andra smittoämnen (Heo *et al.*, 2013). Eftersom smågrisen föds helt utan antikroppar är ett intag av råmjölk under grisens första levnadsdygn nödvändigt för att smågrisen ska bygga upp en passiv immunitet och skydd mot smittoämnen (Thacker *et al.*, 1999; King *et al.*, 2003; Lallès *et al.*, 2007; Svendsen *et al.*, 2008). Intaget av råmjölk behöver ske under det första levnadsdygnet eftersom tarmbarriärens epitelceller vid denna tidpunkt har en ökad genomsläpplighet för större molekyler (King *et al.*, 2003). Genom råmjölken erhålls näringsämnen, antikroppar, immunceller och tillväxtstimulerande peptider.

Mikrobiotans påverkan på smågrisars hälsa kan skilja sig åt beroende på vilken ålder som smågrisarna avvänjs (Franklin *et al.*, 2002). I ett försök jämfördes antalet LB i träcken på smågrisar som avvandades vid 17 respektive 24 dagars ålder. Båda grupperna hade en minskad andel LB efter avvänjning jämfört med innan. Däremot drabbades smågrisarna som avvandades vid 17 dagars ålder i högre utsträckning av diarré.

Tjocktarmens huvudsakliga uppgift är att absorbera vatten och joner samt att spjälka komplexa näringsämnen som inte spjälkats och absorberats av tunntarmen (Sjaastad *et al.*, 2010). Tjocktarmen har inga villi och innehåller, till skillnad från tunntarmen, ett stort antal bakterier. Den största utvecklingen av tjocktarmen sker först efter avvänjning då smågrisen intar en mer spannmålsbaserad diet (Montagne *et al.*, 2007).

2.2 Spädgrisdiarré

Direkt efter födseln börjar bakterier kolonisera smågrisens tarm, vilket gör smågrisen mottaglig för smitta (Hopwood & Hampson, 2003). Under smågrisens första levnadsdagar är den som mest sårbar eftersom immunsystemet ännu inte byggts upp. Det är också under de första dagarna som smågrisen drabbas av spädgrisdiarré (Paul, 2015). Inom svensk grisproduktion låg den genomsnittliga smågrisdödligheten under år 2018 på 17,6 % (Gård & Djurhälsan, 2019). En rapport från Sverige visar att en besättning med 10 % dödlighet orsakad av enbart spädgrisdiarré kan kosta lantbrukaren cirka 1425 kr per sugga och år (Sjölund *et al.*, 2014).

E. coli finns naturligt i smågrisens tarm hos både sjuka och friska djur; de flesta stammar är inte patogena (Paul, 2015). Det är ofta specifika stammar av *E. coli*, ETEC, som orsakar diarré genom att bakterier fäster vid tarmslemhinnan och producerar enterotoxin (Paul, 2015; Jacobson, 2019). Toxinet skadar tarmslemhinnan vars barriärfunktion försämras, vilket minskar tarmens upptagning av vätska och näringsämnen samtidigt som utsöndringen av vätska ökar. Detta leder till diarré och

uttorkning. Från cirka två veckors ålder börjar smågrisens eget immunsystem producera antikroppar, så kallad aktiv immunitet, vilket ger smågrisen ett bättre skydd mot smittoämnen (Thacker *et al.*, 1999; Svendsen *et al.*, 2008).

2.3 Avvänjningsdiarré

I Sverige avvänjs smågrisarna från fyra veckors ålder (Jordbruksverket, 2018) och avvänjningsdiarré uppstår vanligen inom de två första veckorna från avvänjning (Jacobson, 2019). Smågrisar som drabbas av diarré får ofta en lägre tillväxt, vilket drabbar lantbrukaren ekonomiskt (Amezcuca *et al.*, 2002; Lallès *et al.*, 2004). En del grisar får endast lindrig diarré medan andra drabbas allvarigare och kan i värsta fall avlida. Förutom den gulbruna, vattniga diarrén kan smågrisen få insjunkna flanker och ögon (Amezcuca *et al.*, 2002; Jacobson, 2019). Grisar med kliniska symptom behandlas med antibiotika (Jacobson, 2019). Precis som vid spädgrisdarré är det ofta specifika stammar av enterotoxinbildande *E. coli* som orsakar diarré hos smågrisen (Hopwood & Hampson, 2003). Vanligen har smågrisen en ökad andel *E. coli* i tunntarmen första veckan efter avvänjning (Jensen, 1998). Ett oroväckande problem är att många stammar av *E. coli* har visat sig vara resistenta gentemot flera olika typer av antibiotika (Amezcuca *et al.*, 2002).

2.4 Fodrets påverkan

När grisarna blandas efter avvänjning uppstår ofta slagsmål under de första dagarna, vilket innebär en ökad stress hos smågrisarna (Jacobson, 2019). Slagsmål till följd av omgruppering kan förutom sårskador resultera i ett lägre foderintag som försätter smågrisen i en negativ energibalans (Lallès *et al.*, 2004). Energiunderskottet kan leda till avmagring, diarré och en minskad tillväxt (Lallès *et al.*, 2004; Lallès *et al.*, 2007).

Avvänjningen innebär även en stor förändring i dieten för smågrisen, från att ha levt i huvudsak på suggmjolk till att endast äta fast föda som är stärkelserik och har en lägre smältbarhet (Lalles *et al.*, 2007; SVA, 2018). Skiftet av diet bidrar till en förändring av tarmkanalen gällande dess struktur och mikrobiota (Hopwood & Hampson, 2003; Heo *et al.*, 2013). Vid tidpunkten för avvänjning är smågrisens matsmältningskanal inte fullständigt utvecklad (Pluske *et al.*, 1996; Thacker *et al.*, 1999). Produktionen av matsmältningsenzymer och saltsyra som ska smälta födan är inte tillräcklig och tarmvilliss struktur påverkas negativt av foderbytet, vilket minskar absorptionsytan i tarmen (Pluske *et al.*, 1996; Thacker *et al.*, 1999; Lallès *et al.*, 2004). Det kan vara en bidragande orsak till att smågrisen har svårt att bryta ner fodret i början av avvänjningsperioden. När osmält foder ansamlas i tarmen höjs pH

och därmed gynnas tillväxten av patogena bakterier (Hopwood & Hampson, 2003; Moeser *et al.*, 2007). Det osmälta fodret binder vatten, vilket kan leda till uttorkning.

Smågrisfoder bör introduceras till smågrisarna efter deras första levnadsvecka som komplement till suggmjölken (Pluske *et al.*, 1996). Om smågrisen äter torrfoder med god aptit innan avvänjning kan produktionen av syra och enzymer i matsmältningsskanalen i viss mån öka, vilket minskar risken för problem med diarré och avtagande tillväxt i anslutning till avvänjning (Thacker *et al.*, 1999). Foder som innehåller fiskmjöl och mjölkprotein är mer fördelaktigt jämfört med foder som innehåller vegetabiliskt protein då animaliskt protein har en högre smältbarhet jämfört med vegetabiliskt protein (Li *et al.*, 1990). Soja ska undvikas i smågrisfodret då det är svårsmält och kan göra villi i tunntarmen kortare samt framkalla allergiska reaktioner hos smågrisen som uttrycks i form av diarré.

2.5 Probiotika

Probiotika definieras som levande fördelaktiga bakterier som om de tillsätts i tillräckligt stor mängd kan ge positiva hälsoeffekter på värdorganismen (Liao & Nyachoti, 2017). De fördelaktiga bakterierna fäster vid receptorer på tarmslemhinnan och kan på så vis konkurrera ut de patogena bakterierna från att binda in till receptorena (Bajagai *et al.*, 2016). De tre vanligaste kategorierna av mikroorganismer som används som probiotika inom animalieproduktionen är *Bacillus*, mjölk-syraproducerande bakterier som *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* och *Enterococcus* samt jäst från *Saccharomyces boulardii* (Stein & Kil, 2006). I magsäcken hålls pH lågt runt cirka 3,0 (Heo *et al.*, 2013), vilket är nödvändigt för att matsmältningssenymer ska fungera optimalt (Göransson, 2009). Mikroorganismer som används som probiotika måste därför kunna överleva i magsäckens sura miljö (Bajagai *et al.*, 2016). I tunntarmen höjs pH till cirka 6,0–7,0 (Heo *et al.*, 2013), men där frisläpps istället antimikrobiella peptider och gallsalter som probiotikan också måste kunna tolerera (Bajagai *et al.*, 2016). Produktionen av mjölksyra sänker pH i tunntarmen, vilket ger ett ökat skydd mot patogena bakterier som oftast trivs vid ett högre pH (Göransson, 2009; Heo *et al.*, 2013; Liao & Nyachoti, 2017). Probiotika har visat en positiv effekt på tillväxt under både diperioden (Abe *et al.*, 1995) och efter avvänjning (Abe *et al.*, 1995; Bontempo *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2014) samt ge en lägre förekomst av diarré (Pieper *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2014). Det finns dock studier där ingen effekt kunnat ses på tillväxten (Pieper *et al.*, 2010; Zhao & Kim, 2015; Eriksson, 2019). I en studie av Baum *et al.* (2002) utvecklade grisar, som två veckor efter avvänjning fått tillskott av *Saccharomyces boulardii* under åtta dagars tid respektive *Bacillus cereus* var. *toyoi* under tre veckors tid, längre tarmvilli jämfört med grisar som inte fått någon probiotika. Försöket utfördes på en försöksstation i

Tyskland och totalt 15 grisar deltog i studien. Smågrisarna som tillhörde kontrollgruppen hölls gruppvis medan smågrisarna som fick probiotika hölls individuellt. Liknande resultat sågs i en studie av Liu *et al.* (2014) där tillskott av *L. reuteri* gavs oralt dagligen under 4–18 dagars ålder.

Effekten av probiotika är stamspecifik och skiljer sig därför mellan olika stammar inom samma art (Bontempo *et al.*, 2006). Forskning tyder på att probiotika har bäst effekt när mikrobiotan är instabil, som exempelvis direkt efter födseln (Jensen, 1998; Siggers *et al.*, 2008) eller i samband med avvänjning (Jensen, 1998; Pieper *et al.*, 2010). Om probiotika kan ha en positiv inverkan på grisens mikrobiota och därmed bidra till en bättre tarmhälsa kan det vara lönsamt att ge tillskott av probiotika under smågrisens första levnadsveckor eller/och vid avvänjning för att undvika hälsostörningar såsom spädgris- och avvänjningsdiarré.

2.5.1 *Lactobacillus*

Lactobacillus är grampositiva, icke-sporulerande bakterier som producerar mjölk-syra som slutprodukt vid kolhydratsjäsnings (Liao & Nyachoti, 2017). *Lactobacillus* utgör normalt en stor del av bakterierna i grisens mikrobiota (Rojas & Conway, 1996). *L. reuteri* är en av de mest väldokumenterade probiotiska arterna och har i många år använts för att främja tarmhälsa hos både människor och djur (Hou *et al.*, 2015).

På en försöksgård i Kina undersöktes probiotikas effekt på daglig tillväxt genom att en oral giva av 6×10^9 cfu *L. reuteri* gavs en gång dagligen till smågrisar vid 4–18 dagars ålder (Liu *et al.*, 2014). Grisarna hölls individuellt i boxar med helpalt från tre dagars ålder och föddes upp på mjölkersättning, totalt deltog 36 grisar i försöket. Smågrisarna som fått probiotika hade en högre genomsnittlig daglig tillväxt jämfört med kontrollgruppen. Skillnaden var som störst under de sex sista dagarna i försöket. Förekomsten av diarré var något lägre för smågrisarna som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen.

Probiotika administreras vanligtvis oralt eller via fodret under flera dagar eller veckors tid (Pieper *et al.*, 2010). För att probiotika ska vara lönsamt behöver det säkerställas att alla smågrisar får i sig tillräckligt antal bakterier för att få en effekt av tillskottet. Därför undersökte Pieper *et al.* (2010), i ett försök med 176 smågrisar, om en enda oral dos kunde ha en inverkan på smågrisens mikrobiota. Dosen gavs vid två olika tidpunkter för att kunna jämföra om det blev någon skillnad på det totala antalet bakterier i tarmen beroende på när dosen gavs. Smågrisar som fick en oral giva av 5×10^9 cfu *L. plantarum* vid avvänjning (28 dagars ålder) hade en större diversitet av bakterier och en högre förekomst av LB i tjocktarmen jämfört med smågrisar som fick samma dos tre dagar innan avvänjning (25 dagars ålder). Undersökningarna av diversiteten bakterier och förekomst av LB skedde samma dag som

smågrisarna fått tillskott av probiotika. Resultatet tyder på att det är mer fördelaktigt att ge tillskottet vid avvänjning jämfört med under slutet av diperioden. Pieper *et al.* (2010) undersökte även om tillskott av *L. plantarum* kunde ha en skyddande effekt på smågrisar som fått en oral dos *E. coli* (3×10^9 cfu O149:K91:F4ac) vid avvänjning. Totalt 120 smågrisar deltog i försöket och två olika doser av probiotika testades, 3×10^9 cfu *L. plantarum* respektive 3×10^{10} cfu *L. plantarum* gavs oralt två timmar efter dosen med *E. coli*. Inga signifikanta skillnader erhöles gällande daglig tillväxt eller antal *E. coli* i träcken, däremot hade smågrisar som fått en giva av 3×10^{10} cfu *L. plantarum* vid avvänjning en lägre förekomst av diarré elva dagar efter avvänjning jämfört med smågrisar som fått en lägre giva *L. plantarum* eller som inte fått någon probiotika alls.

För att se om *L. plantarum* kunde ha en förebyggande effekt på diarré gavs tillskott via fodret till smågrisar i ett försök i Kina (Yang *et al.*, 2014). Fodret bestod av ett mjölkpulver utblandat med vatten och grisarna fick dagligen 5×10^9 cfu *L. plantarum* per kg foder under 18 dagars tid. Försöket startade när grisarna avvants från suggan vid fyra dagars ålder. Totalt deltog 72 grisar som hölls i grupper om tre i boxar med helspalt. När grisarna var 19 dagar gamla fick de en dos ETEC K88 (1×10^8 cfu) oralt. Smågrisarna vägdes vid 4, 19 och 22 dagars ålder. Grisarna som fått *L. plantarum* hade en högre genomsnittlig daglig tillväxt både innan och efter att dosen av ETEC gavs jämfört med kontrollgruppen. Efter dosen av ETEC hade smågrisarna som fått *L. plantarum* en lägre förekomst av diarré jämfört med kontrollgruppen.

2.5.2 Betydelse av dosering

Effekten av två olika doser av probiotika studerades på 168 grisar i ett försök av Zhao & Kim (2015). Studien utfördes i Kina och använde stammar av både *L. plantarum* och *L. reuteri* som tillsattes i fodret till nyavvanda grisar vid tre dagars ålder. Grisarna hölls i grupper om sex djur i boxar med helspalt. Djuren delades in i fyra olika administreringsgrupper. En grupp fick 1 g probiotika per kg foder medan en annan grupp fick dubbla mängden, 2 g probiotika per kg foder. Det fanns även en grupp som fick antibiotika (apramycin) samt en kontrollgrupp. Smågrisarna hade fri tillgång på foder under hela försöksperioden. Försöket pågick under fyra veckors tid och smågrisarna vägdes vid fyra, sex och åtta veckors ålder. Smågrisar som fått 1 g probiotika per kg foder och smågrisarna som fått antibiotika hade signifikant högre tillväxt jämfört med kontrollgruppen. Träckprover togs efter åtta veckor och visade en högre förekomst av LB och en lägre mängd av *E. coli* hos smågrisar som fått 1 g probiotika per kg foder jämfört med de andra grupperna. Ingen positiv effekt kunde ses på grisarna som fått 2 g probiotika per kg foder. Därtill utfördes en jämförelse av träckkonsistens på boxnivå mellan de olika grupperna. Under sju dagar

efter avvänjning registrerades träckkonsistens dagligen enligt en tregradig skala. Smågrisarna som fått 1 g probiotika per kg foder hade en signifikant lägre förekomst av diarré jämfört med kontrollgruppen. Även för träckkonsistens kunde ingen signifikant effekt ses hos grisarna som fått 2 g probiotika per kg foder.

Tre olika doser av *L. reuteri* ($3,2 \times 10^6$, $5,8 \times 10^7$ och $2,9 \times 10^8$ cfu/g foder) jämfördes i en studie av Yu *et al.* (2008). Försöket utfördes i Kina och totalt deltog 240 grisar som hölls i grupper om åtta djur i boxar med helspalt. Smågrisarna fick probiotika i fodret under tre veckors tid efter avvänjning vid 28 dagars ålder och hade fri tillgång på foder under hela försöket. Vid vägning efter tre veckor hade grisarna som fått $5,8 \times 10^7$ cfu/g foder en högre genomsnittlig daglig tillväxt jämfört med de andra två grupperna. Sammanfattningsvis uppnås bäst effekt av probiotika inte nödvändigtvis av den högsta dosen.

2.5.3 Försöksmodeller i tidigare studier

Försöksmodeller från tidigare studier av probiotika skiljer sig ofta från hur smågrisar i Sverige hålls inom kommersiell produktion. Det finns i dagsläget endast ett fåtal studier gällande administrering av probiotika där smågrisen går kvar med suggan under sina första levnadsveckor (Abe *et al.*, 1995). I flertalet studier tas smågrisen från suggan efter att de fått i sig råmjölk och föds därefter upp på mjölkersättning (Liu *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2014). I en del studier hålls smågrisarna i mindre grupper om 3–6 djur per box (Yang *et al.*, 2014; Zhao & Kim, 2015), medan de i andra studier hålls individuellt under försöket (Baum *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2014). När smågrisarna föds upp i grupp exponeras de tidigt i livet för en större diversitet av bakterier jämfört med om de hålls individuellt (Mulder *et al.*, 2009). En tidig mikrobiell kolonisering av tarmen och en större diversitet i mikrobiotan kan leda till ett mer utvecklat immunsystem, vilket kan gynna smågrisens tarmhälsa.

Stammar från *L. reuteri* och *L. plantarum* har getts till smågrisar i en tidigare studie på Sveriges Lantbruksuniversitets (SLU) försöksstation för att undersöka om det kunde ha effekt på tillväxt, mikrobiota och träckkonsistens (Eriksson, 2019). Smågrisarna fick $8 \times 10^7 \pm 3 \times 10^7$ cfu *L. reuteri* och $2 \times 10^9 \pm 5 \times 10^7$ cfu *L. plantarum* oralt tre dagar i veckan från tre dagars ålder fram till avvänjning vid 33 dagars ålder. Resultatet visade ingen signifikant effekt på tillväxt eller träckkonsistens. Träckprover samlades in vid tre tillfällen; vid 14, 28 och 42 dagars ålder. Antalet LB var vid 42 dagars ålder signifikant högre hos smågrisar som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen, däremot skiljde inte antalet *Enterobacteriaceae* märkbart mellan grupperna.

I tidigare studier av probiotika till smågrisar har tillskotten oftast administrerats oralt (Pieper *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2014; Eriksson, 2019) eller via fodret (Yu *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2014; Zhao & Kim, 2015). En utmaning med att ge probiotika

under diperioden är hur probiotikan ska administreras till smågrisen. Att ge orala doser till varje smågris under flera veckors tid är tidskrävande för lantbrukaren (Pieper *et al.*, 2010). I Sverige är det inte möjligt att ge probiotika med fodret under diperioden eftersom smågrisarna främst föds upp på suggmjolk (SVA, 2018). Hos slaktkyckling har administrering av probiotika via vattnet visat positiva effekter i form av lägre förekomst av campylobakter (Aho *et al.*, 1992) och ett förebyggande skydd mot salmonellautbrott (Wierup *et al.*, 1988). För grisar har det ännu inte genomförts studier som undersöker administrering av probiotika via vattnet. I dagsläget saknas också studier som jämför olika administreringsmetoders effekt av probiotika till smågrisar under diperioden.

2.6 Hälsa och stress

Att använda probiotika till grisar syftar till att förebygga hälsoproblem och att förbättra tillväxt (Zimmerman *et al.*, 2016). Efter avvänjning omgrupperas smågrisarna ofta efter storlek i tillväxtavdelningen (Turner *et al.*, 2006), vilket kan ge upphov till en ökad mängd stress och slagsmål. Slagsmålen resulterar i hudskador av olika grad, vilket kan påverka grisens välfärd och tillväxt. Mängden hudskador används ofta som en indikator för att mäta aggression hos grisar som blandats. Det är sedan tidigare känt att mikrobiotan påverkar tarmhälsan och det finns indikationer på att mikrobiotan kan reglera såväl beteenden som stresskänslighet samt kommunicera med det centrala nervsystemet (Mu *et al.*, 2016). Dessutom visar en studie att det finns ett samband mellan tillskott av probiotika och ett aktivare beteende hos grisar (Barba-Vidal *et al.*, 2017).

Ett annat verktyg som används för att mäta stress hos smågrisar är att studera mängden tårfärgning kring ögat (Telkänranta *et al.*, 2016; Larsen *et al.*, 2018). Tårfärgning beskrivs som rödbrunt sekret i och runt ögat och har visat sig öka med grisens ålder och tillväxt (Larsen *et al.*, 2018). Ökningen kan dels bero på hormonella förändringar eller utveckling av sekretoriska körtlar, dels på att det blir trängre i boxarna i takt med att grisarna växer. Detta har kunnat kopplas till olika stressorer då det visats att grisar som haft en större mängd tårfärgning kring ögat uppvisat ett mer avvaktande beteende och haft fler hudskador jämfört med grisar som haft en mindre mängd tårfärgning (Telkänranta *et al.*, 2016). Mängden tårfärgning är därför ett mått som kan användas för att bedöma grisarnas välfärd.

3 Material och metoder

3.1 Försöksmodell

Försöket utfördes på en konventionell grisgård utanför Västerås under perioden april-juni 2019. Smågrisar från tre uppfödningsomgångar, totalt 599 grisar, deltog i försöket. Inom varje omgång fanns sex olika grupper som tilldelades probiotika genom olika administreringsätt: Juver (J), Munnen (M), Sugga (S), Torv (T), Kontroll+Torv (KT) och Kontroll (K). Mätningar utfördes vid tre tillfällen för omgång 1 och vid fem tillfällen för omgång 2 och 3. Grisarna från omgång 1 togs ur studien efter tre mätningar på grund av att de av misstag fick zinkoxid i fodret efter avvänjning. Alla smågrisar märktes upp individuellt med öronbricka för att mätningar skulle kunna göras på individnivå. Smågrisarna var av korsningsras med en blandning av Lantras, Yorkshire och Duroc.

I försöket fick endast till synes friska grisar delta; smågrisar som behandlats med antibiotika togs ut ur studien. Endast smågrisar som fötts upp hos sin biologiska moder deltog i försöket. Om en sugga behandlats med antibiotika inför eller under digivningsperioden togs hela hennes kull ut ur studien efter det att suggan behandlats. När behandlade och flyttade suggor hade uteslutits från försöket återstod 58 av 104 kullar. Smågrisarna fick jämpasta vid tre dagars ålder, men gavs ingen Baycox® (koccidiostatika). De vaccinerades mot PMWS (Post weaning Multisystemic Wasting Syndrome) och App (*Actinobacillus pleuropneumoniae*). Ingen zinkoxid gavs i fodret efter avvänjning (med undantag för omgång 1).

Smågrisarna hölls i traditionella grisionsboxar enligt svensk standard fram till avvänjning vid 35 ± 5 dagars ålder. Genom hela försöket hade grisarna daglig tillgång till strö och hölls i boxar med delvis gjutet golv. Efter avvänjning flyttades smågrisarna till en ny avdelning och sorterades i boxar efter storlek inom samma administreringsgrupp. Grisarna hölls i grupper om 8–12 per box.

3.2 Preparation av bakteriestammar

Bakterier av stammar från *L. plantarum* och *L. reuteri* odlades separat på medium av de Man, Rogosa and Shape agar (MRS) i 37 °C under cirka 20 timmar. Därefter centrifugerades bakteriesuspensionen och pelleten tvättades i steril 0,9 % koksaltlösning innan de slutligen löstes upp i en lagringslösning bestående av 10 % sukros och 1 % askorbinsyra. Volymen av lagringslösningen var alltid en tjugondel av mängden odlingsmedium som användes för att initialt odla upp bakterierna, det vill säga mängden bakterier blev $\times 20$ koncentrerad i lagringslösningen.

Probiotikan som gavs till smågrisarna hade lagrats under 1–7 dagar i kylskåp. Nyodlad probiotika och en vecka gammal probiotika analyserades vid två tillfällen för att få en uppfattning om hur mycket LB som fanns kvar i proverna på gården samt hur mycket LB som grisarna kan ha fått i sig under försöket. Färska prover av nyodlad probiotika visade ett innehåll av $2,1 \times 10^{11}$ cfu *L. plantarum* per ml och $4,0 \times 10^{11}$ cfu *L. reuteri* per ml, vilket blir totalt $6,1 \times 10^{11}$ cfu per ml. En vecka gammal probiotika innehöll $5,4 \times 10^{10}$ cfu per ml.

3.3 Administreringsgrupper

Juver (J): Suggornas juver sprayades med 15 pumpningar från en sprayflaska bestående av 5 ml av *L. plantarum* respektive *L. reuteri* blandat med cirka en liter vatten. Blandningen sprayades över suggans juver fem dagar i veckan från insättning i grisningsavdelningen fram till avvänjning, totalt 25 tillfällen per sugga. Mängden blandning som användes per tillfälle mättes inte upp, men uppskattningsvis sprayades cirka en deciliter av blandningen på juvret vid varje tillfälle.

Munnen (M): Smågrisarna fick en oral dos probiotika vid två tillfällen under deras första levnadsvecka. 1,8 ml av vardera probiotikastam blandades med en deciliter vatten. Av blandningen fick varje smågris 2,5 ml, vilket ger en dosering på cirka $4,8 \times 10^9$ – $5,5 \times 10^{10}$ cfu probiotika per tillfälle. Doserna gavs i samband med hantering (öronmärkning/vägning dag ett samt järntillskott dag tre).

Sugga (S): Suggorna fick en oral dos fem dagar i veckan från insättning i grisningsavdelningen fram till avvänjning, totalt 30 tillfällen per sugga. Blandningen som gavs var densamma som till smågrisarna men suggorna fick 5 ml per gång, vilket ger en dosering på cirka $9,7 \times 10^9$ – $1,1 \times 10^{11}$ cfu probiotika per tillfälle.

Torv (T): Fem gånger i veckan under hela digivningsperioden samt under två veckor i tillväxtavdelningen fick smågrisarna en blandning av probiotika och vatten i torven, totalt 35 givor. Under digivningsperioden användes järnberikad torv (TorvoJärn Extra, Lantmännen) och i tillväxten användes strörtorv (Aros Handelshus AB). Blandningen var utspädd på samma sätt som för grupp J, en deciliter av blandningen gavs per tillfälle, vilket ger en dosering på cirka $5,8 \times 10^9$ – $3,1 \times 10^{10}$ cfu probiotika per tillfälle.

Kontroll+Torv (KT): Gruppen fick ingen probiotika under digivningsperioden, men under tillväxtperioden gavs en blandning av probiotika och vatten i strörtorv (Aros Handelshus AB) fem dagar i veckan under två veckors tid, totalt 10 givor. Bland-

ningen var utspädd på samma sätt som i grupp J och T, en deciliter per tillfälle gavs, vilket ger en dosering på cirka $5,8 \times 10^9 - 3,1 \times 10^{10}$ cfu probiotika per tillfälle.

Kontroll (K): Fick ingen probiotika.

Totala antalet smågrisar som deltog vid varje mätningstillfälle visas i Tabell 1. I försöket deltog 58 kullar varav 8–11 kullar per administreringsgrupp. För att en smågris ska räknas som att den deltagit i försöket ska den ha funnits kvar i studien till minst 15 dagars mätningen. Smågrisar som vägdes vid födseln, men som innan 15 dagars ålder togs ur studien på grund av behandling av antibiotika eller flytt från moderssuggan, har inte räknats med. Vid 43 dagars mätningen missades elva grisar från omgång 2. Dessa grisar deltog återigen i mätningen vid 49 dagars ålder. 349 smågrisar deltog i alla mätningar, från födsel till 49 dagars ålder.

Smågrisarna fick probiotika av stammarna *L. plantarum* och *L. reuteri*. Dessa stammar valdes ut för att de tidigare använts i ett grisförsök vid SLU under 2018 (Eriksson, 2019). Probiotikan förvarades i ett kylskåp på gården och byttes ut till nyodlad probiotika en gång i veckan. Smågrisar inom samma kull hörde till samma administreringsgrupp. All administrering av probiotika sköttes av personalen på gården.

Tabell 1. Antal smågrisar som deltog i försöket per administreringsgrupp vid olika åldrar

Ålder	J	M	S	T	KT	K	Totalt
15 dagar	97	97	109	95	107	94	599
36 dagar	91	89	103	88	95	88	554
43 dagar	58	56	51	59	63	62	349
49 dagar	58	56	54	63	63	62	356

3.4 Datainsamling

Ett hälsoformulär fylldes i vid fyra tillfällen per gris (två tillfällen för grisarna i omgång 1): ett tillfälle under digivningsperioden och tre tillfällen efter avvänjning. Grisarnas vikt registrerades individuellt vid födseln samt vid 15 och 36 dagars ålder för omgång 1 (Tabell 2) och vid 15, 36, 43 och 49 dagars ålder för omgång 2 och 3 (Tabell 3). Exakt ålder på smågrisarna vid mätningarna varierade; alla grisar befann sig inom ett spann på ± 5 dagar. Uträkningar för tillväxt per dag korrigerades till exakt hur många dagar varje smågris var vid mätningstillfället.

Tabell 2. Mätningar för grisarna i omgång 1 vid olika åldrar

Registrering	Födelse	15 dagar	36 dagar
Vikt	X	X	X
Hälsomätning		X	X

Tabell 3. Mätningar för grisarna i omgång 2 och 3 vid olika åldrar

Registrering	Födelse	15 dagar	36 dagar	43 dagar	49 dagar
Vikt	X	X	X	X	X
Hälsomätning		X	X	X	X
Träckprov					X
Träckkonsistens på boxnivå			X	X	X

I försöket undersöktes om probiotikatillskott kunde ha någon inverkan på aggressivt beteende. För att mäta aggressivt beteende användes mängden hudskador som en indikator. Utöver hudskador registrerades allmäntillstånd, träckkonsistens, tårfärgning, svansbitning, övrig sjukdom samt juverhälsa hos suggan. För varje bedömningspunkt fanns en manual över hur bedömningen skulle värderas; manualen bestod av olika graderingar för respektive parameter (Bilaga 1). Fem olika observatörer användes för att göra hälsomätningarna, vid varje tillfälle deltog tre observatörer. Inför starten av försöket träffades observatörerna vid två tillfällen för att se hur gårdens såg ut och för att komma överens om graderingen kring de olika bedömningspunkterna.

För att underlätta registrering av hudskador delades smågrisens kropp in i fem olika regioner: fram (huvud till bakom skuldra), mitt (bakom skuldra till flank), rumpa, ben och öron. För varje del bedömdes mängden hudskador enligt en skala mellan 0–3 modifierad från Welfare Quality[®] protokoll (2009) där; 0 = inga hudskador; 1 = 1–5 ytliga, färsk rivsår; 2 = fler än fem färsk rivsår alternativt ett sår som blöder eller har skorpa, mindre än 2 cm; 3 = sår som blöder eller har skorpa, större än 2 cm.

Tårfärgning bedömdes genom att uppskatta mängden rödbrunt sekret i och runt ögat på smågrisen enligt en skala mellan 0–5 som beskrivs i Larsen *et al.* (2018) där; 0 = inget sekret runt ögat; 1 = sekret runt ögat kan anas; 2 = mindre än halva ögat är täckt av sekret; 3 = 50–100 % av ögat täcks av sekret; 4 = 100 % av ögat täcks av sekret, men tårvätska rinner ej ner under grisens mun; 5 = 100 % av ögat täcks av sekret och tårvätska rinner ner under grisens mun. Registreringar av hudskador och tårfärgning bedömdes endast utifrån smågrisens vänstra sida.

Smågrisens allmäntillstånd bedömdes utifrån en skala mellan 0–3 modifierad från Welfare Quality[®] protokoll (2009) där; 0 = fin i kroppen, uppmärksam, pigg; 1 = tunn, insjunka flanker, mindre uppmärksam och aktiv; 2 = tunn, blek, pälsen börjar synas/sticka ut, inte lika uppmärksam, okänslig mot omgivningen, svag; 3 = avmagrad, grå i huden, päls syns tydligt, mycket svag.

Suggans juver bedömdes visuellt och via palpering beskrivet i samma protokoll från Welfare Quality[®] (2009). Vid onormal färg, svullnad eller styvhet noterades det vid hälsomätningen där smågrisarna var 15 dagar gamla. Suggor som utvecklade juverinflammation behandlades med antibiotika och hennes smågrisar togs ut ur studien.

Vid fall av svansbitning skulle en bild tas på den bitna svansen för att sedan jämföras med bilderna i bedömningsmanualen (Bilaga 1) som använts i en studie av Sutherland *et al.* (2009) för att avgöra vilken gradering på en skala mellan 1–5 som skadan hade.

Parametern övrig hälsa syftade till att notera om några avvikelser på grisens hälsa fanns utöver de som nämns i hälsomanualen. Var det avvikelser som behövde behandlas med antibiotika togs smågrisen ut ur studien.

Träckkonsistensen bedömdes visuellt och delades in i fyra nivåer som beskrivs i Liu *et al.* (2010) där; 0 = normal; 1 = kladdig/mjuk; 2 = delvis vattnig; 3 = vattnig. Grisarna bedömdes ha diarré när träckkonsistensen var på nivå 2 eller 3. Träckkonsistens registrerades på individnivå vid 15 dagars ålder i de fall en smågris sågs defektera samt på boxnivå vid åldern 36, 43 och 49 dagar för omgång 2 och 3 (Tabell 3).

Färska träckprov samlades in vid 49 dagars ålder för omgång 2 och 3 i samband med att en smågris sågs defektera. Om det fanns färskt träck från flera smågrisar inom samma box samlades deras träck i samma behållare, för att sedan blandas vid laboratorieanalysen. Träckproverna hölls på is tills de kom fram till laboratoriet cirka fem timmar senare samma dag, därefter hölls de i kylskåp under 1–2 dygn innan analys. Totalt samlades 35 träckprover in, 16 från omgång 2 och 19 från omgång 3. Tillsammans från de båda insamlingarna fanns minst fem träckprover från varje administreringsgrupp.

3.5 Kvantifiering av *Lactobacillus* och *Enterobacteriaceae*

Ett till två dygn efter insamling analyserades träckproverna i laboratorium. 0,1 g träck togs från varje avföringsprov och späddes i en ringerlösning som bestod av; 130 mmol natrium, 4 mmol kalium, 2 mmol kalcium, 1 mmol magnesium, 110 mmol klorid och 30 mmol acetat per liter. Spädningar av 10^{-6} , 10^{-7} och 10^{-8} odlades i Rogosa Agar för att identifiera bakterier från LB. Spädningarna valdes baserat på

ett tidigare försök på SLU som visat att dessa spädningar gav ett tillförlitligt antal bakterier att räkna på plattorna (Eriksson, 2019). Plattorna inkuberades i en anaerob miljö i 37 °C under 48 timmar innan antalet kolonier räknades. Samma spädningar odlades i Violet Red Bile Dextrose (VRBD) för att identifiera *Enterobacteriaceae*. Efter inkubering i aerob miljö i 37 °C under 48 timmar räknades antalet kolonier. För både LB och *Enterobacteriaceae* räknades ett medelvärde ut från de agarplattor med spädningar som innehöll 15–500 kolonier.

3.6 Statistisk analys

Registreringar från försöket fördes in i dataprogrammet Microsoft Excel och analyserades med hjälp av statistiska beräkningar i programmet Past. För jämförelser användes envägs-ANOVA och Tukey's pairwise test. Administreringsgrupperna och ålder för provtagning (15, 36, 43 och 49 dagar) jämfördes gällande daglig tillväxt, medelvikt och hälsoparametrar. Förekomsten av LB och *Enterobacteriaceae* i träckproverna jämfördes vid 49 dagars ålder. P-värden $\leq 0,05$ ansågs statistiskt signifikanta.

4 Resultat

4.1 Utslagna grisar

Antalet utslagna smågrisar och utslagningsorsak för varje administreringsgrupp sett över hela försöksperioden visas i Tabell 4. Resultatet visade ingen signifikant skillnad mellan administreringsgrupperna. Utslagna smågrisar delades in efter orsakerna; död eller avlivad, behandlad, flyttad eller okänd anledning. Av de utslagna grisarna togs 129 av 197 grisar ut ur försöket innan mätningen vid 15 dagars ålder. Högst antal döda och utslagna smågrisar fanns hos grupp S. Smågrisdödligheten under försöket var 10,5 %. Totalt togs 31 smågrisar ut ur studien på grund av diarré, varav 16 avled/avlivades. Smågrisar till suggor som togs ut ur studien finns inte med i denna tabell. De smågrisar som av misstag fick zinkoxid i fodret efter avvänjning (175 smågrisar från omgång 1) är också exkluderade ur tabellen.

Tabell 4. Antal utslagna smågrisar samt utslagningsorsaker per administreringsgrupp

Orsak	J	M	S	T	KT	K	Totalt
Död/avlivad	11	10	17	9	10	6	63
-diarré	1	7	2	2	4	0	16
-övrigt	10	3	15	7	6	6	47
Behandlad	13	8	9	12	11	10	63
-diarré	1	7	1	5	1	0	15
-övrigt	12	1	8	7	10	10	48
Flyttad	2	1	5	4	4	0	16
Okänd anledning	13	8	10	8	7	9	55
Totalt	39	27	41	33	32	25	197

4.2 Hälsomätningar

Sju parametrar registrerades vid varje hälsomätning. Parametrarna allmäntillstånd, juverhälsa och svansbitning hade för lite variation bland registreringarna för att kunna analyseras (0–4 smågrisar per administreringsgrupp med anmärkning sett över alla mätningar). Ingen gris i försöket var svansbiten och ingen smågris hade nivå 2 eller 3 som anmärkning på allmäntillstånd. Övriga anmärkningar på smågrisens hälsa var 0–4 i antal per administreringsgrupp och mätningstillfälle. Eftersom dessa anmärkningar inte krävde behandling med antibiotika hölls smågrisarna kvar i studien.

Mängden hudskador vid olika åldrar visas i Tabell 5. Vid 36 dagars ålder var mängden hudskador som störst. Grupp S hade mer hudskador än grupperna K och T ($P \leq 0,05$). Vid 49 dagars ålder hade grupp J mer hudskador än grupperna KT och M ($P \leq 0,05$). Resultatet från mätningarna vid 15 och 43 dagars ålder visade ingen signifikant skillnad mellan administreringsgrupper.

Tabell 5. Mängden hudskador hos olika administreringsgrupper vid olika ålder visat i medelvärde \pm standardfel (SE) enligt en bedömningsskala mellan 0–3

Ålder	J	M	S	T	KT	K	P-värde
15 d	0,8 \pm 0,07	0,9 \pm 0,07	0,9 \pm 0,06	0,9 \pm 0,05	1,0 \pm 0,07	0,9 \pm 0,06	0,55
36 d	1,8 ^{ab} \pm 0,11	1,9 ^{ab} \pm 0,11	2,1 ^a \pm 0,11	1,6 ^b \pm 0,12	1,8 ^{ab} \pm 0,10	1,5 ^b \pm 0,12	0,01
43 d	1,1 \pm 0,12	1,3 \pm 0,14	1,2 \pm 0,14	1,3 \pm 0,14	1,1 \pm 0,13	1,5 \pm 0,16	0,49
49 d	0,7 ^a \pm 0,11	0,3 ^b \pm 0,07	0,5 ^{ab} \pm 0,09	0,4 ^{ab} \pm 0,07	0,3 ^b \pm 0,06	0,4 ^{ab} \pm 0,09	0,02

a, b = resultat med olika bokstäver inom samma rad är signifikant skilda ($P < 0,05$)
 ab = ingen signifikant skillnad från övriga administreringsgrupper inom samma ålder

Mängden tårffärgning vid olika åldrar kan ses i Tabell 6. På bedömningsskalan mellan 0–5 konstaterades de flesta smågrisarna att ha nivå 1, ingen smågris hade nivå 3, 4 eller 5 på skalan. Vid 36 dagars ålder hade grupp J mer tårffärgning än grupperna M och T ($P \leq 0,05$). När grisarna var 43 dagar gamla hade grupp KT mer tårffärgning än grupperna J, M och T ($P \leq 0,05$). Vid 49 dagars ålder hade grupp KT mer tårffärgning än grupp M ($P \leq 0,05$). Sett över alla mätningar hade grupp M minst mängd tårffärgning medan grupp KT hade mest. Det fanns ingen signifikant skillnad på mängden tårffärgning mellan grupperna vid 15 dagars ålder.

Tabell 6. Mängden tårffärgning hos de olika administreringsgrupperna vid olika ålder visat i medelvärde \pm SE enligt en bedömningsskala mellan 0–5

Ålder	J	M	S	T	KT	K	P-värde
15 d	1,06 \pm 0,04	0,98 \pm 0,03	1,06 \pm 0,04	1,11 \pm 0,5	1,11 \pm 0,03	1,09 \pm 0,04	0,1
36 d	1,18 ^a \pm 0,05	1,00 ^b \pm 0,04	1,15 ^{ab} \pm 0,04	0,98 ^b \pm 0,04	1,09 ^{ab} \pm 0,04	1,09 ^{ab} \pm 0,04	0,005
43 d	0,91 ^b \pm 0,04	0,91 ^b \pm 0,04	1,02 ^{ab} \pm 0,05	0,83 ^b \pm 0,06	1,16 ^a \pm 0,06	0,98 ^{ab} \pm 0,05	0,0003
49 d	0,74 ^{ab} \pm 0,07	0,55 ^b \pm 0,07	0,78 ^{ab} \pm 0,06	0,76 ^{ab} \pm 0,06	0,81 ^a \pm 0,05	0,77 ^{ab} \pm 0,07	0,07

a, b = resultat med olika bokstäver inom samma rad är signifikant skilda ($P < 0,05$)
 ab = ingen signifikant skillnad från övriga administreringsgrupper inom samma ålder

4.3 Diarréförekomst

Andel boxar med förekomst av diarré för varje administreringsgrupp vid olika åldrar visas i Tabell 7. Det fanns en stor variation inom grupperna och inga signifikanta skillnader mellan olika administreringsgrupper visades. Över tid hade Grupp S lägst

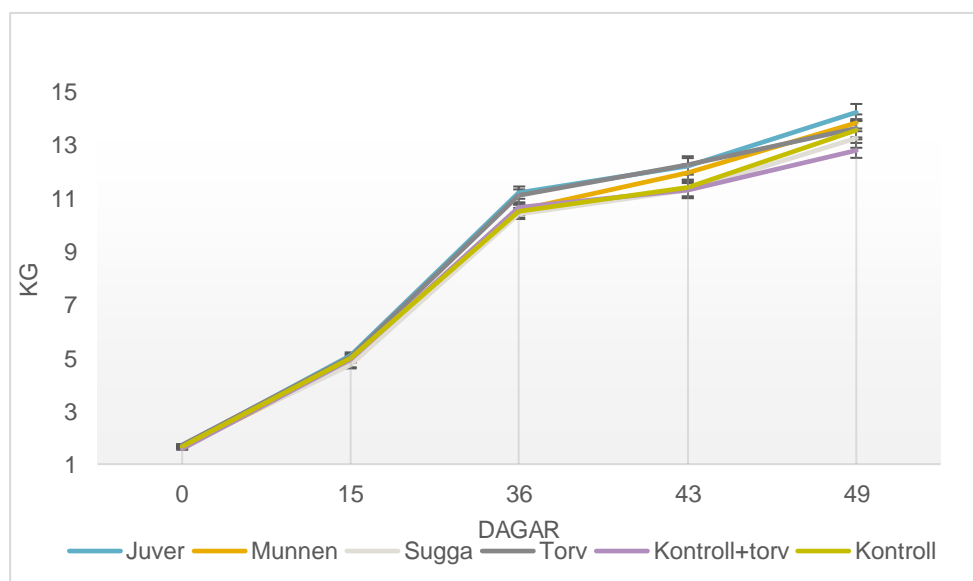
andel boxar med diarré medan grupp M och grupp KT hade högst andel boxar med diarré. Registreringar av träckkonsistens gjordes på boxnivå vid 36, 43 och 49 dagars ålder. Träckkonsistens på individnivå registrerades vid 15 dagars ålder när en smågris sågs defektera i samband med hälsomätningen. Det fanns inga signifikanta skillnader för träckkonsistens på individnivå vid 15 dagars ålder eller på boxnivå efter avvänjning mellan olika administreringsgrupper.

Tabell 7. Andel boxar med förekomst av diarré efter avvänjning vid olika ålder angett i procent (%)

Ålder	J	M	S	T	KT	K
36 d	12,5	40,0	0,0	0,0	57,1	28,6
43 d	12,5	62,5	28,6	44,4	50,0	14,3
49 d	37,5	25,0	14,3	55,6	25,0	28,6
Medel + SE	20,8 ± 8,3	42,5 ± 10,9	14,3 ± 8,3	33,3 ± 17,0	44,0 ± 9,7	23,8 ± 4,8

4.4 Tillväxt

Medelviktarna för de olika administreringsgrupperna vid olika ålder finns redovisat i Figur 1. När vikterna jämfördes vägde grupp J mer ($14,2 \pm 0,3$ kg) än grupp KT ($12,8 \pm 0,3$ kg) vid 49 dagars ålder ($P \leq 0,05$). Det var ingen signifikant skillnad på medelviktarna mellan de olika grupperna vid 15, 36 eller 43 dagars ålder.



Figur 1. Medelvärde av kroppsvikt (kg) vid olika ålder för varje administreringsgrupp. Felstaplar visar SE.

Daglig tillväxt innan (0–36 dagars ålder) och efter (36–49 dagar ålder) avvänjning presenteras i Tabell 8. Administreringsgrupperna är sammanslagna så att smågrisar som fått probiotika jämförs med smågrisar som inte fått probiotika. Innan avvänjning fick fyra av sex grupper probiotika (J, M, S, T), efter avvänjning fick två av sex grupper probiotika (KT, T). Grisarna som tillhörde grupp T var de enda som fick probiotika under hela försöksperioden. Det fanns ingen signifikant skillnad i daglig tillväxt mellan smågrisar som fått probiotika innan avvänjning (J, M, S, T) jämfört med kontrollgrupperna (K, KT). Däremot hade grisarna som inte fick probiotika efter avvänjning (J, K, M, S) en högre daglig tillväxt jämfört med smågrisarna som fått probiotika i torven efter avvänjning (KT, T) ($P \leq 0,05$). Vid en jämförelse av tillväxt per dag mellan olika administreringsmetoder fanns ingen signifikant skillnad mellan grupperna varken innan eller efter avvänjning.

Tabell 8. *Effekt på daglig tillväxt (g/dag) uttryckt som medelvärde \pm SE för smågrisar som fått probiotika jämfört med kontrollgrupper*

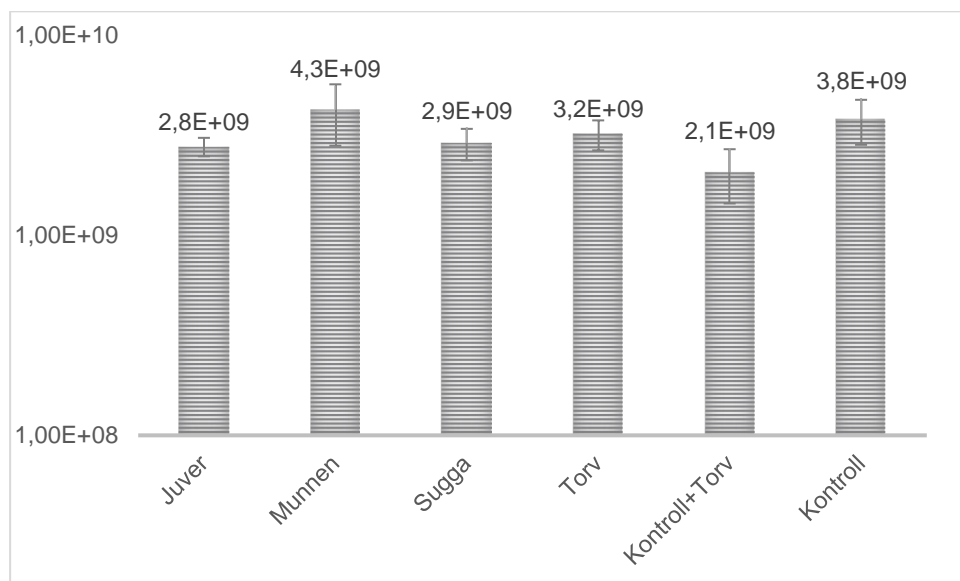
Intervall	Probiotika	N	Kontroll	N	P-värde
0–36 d	250 \pm 0,003	371	246 \pm 0,004	171	0,399
36–49 d	201 \pm 0,01 ^b	126	233 \pm 0,007 ^a	230	0,006

N = antal vägda smågrisar

a, b = resultat med olika bokstäver är signifikant skilda ($P < 0,05$)

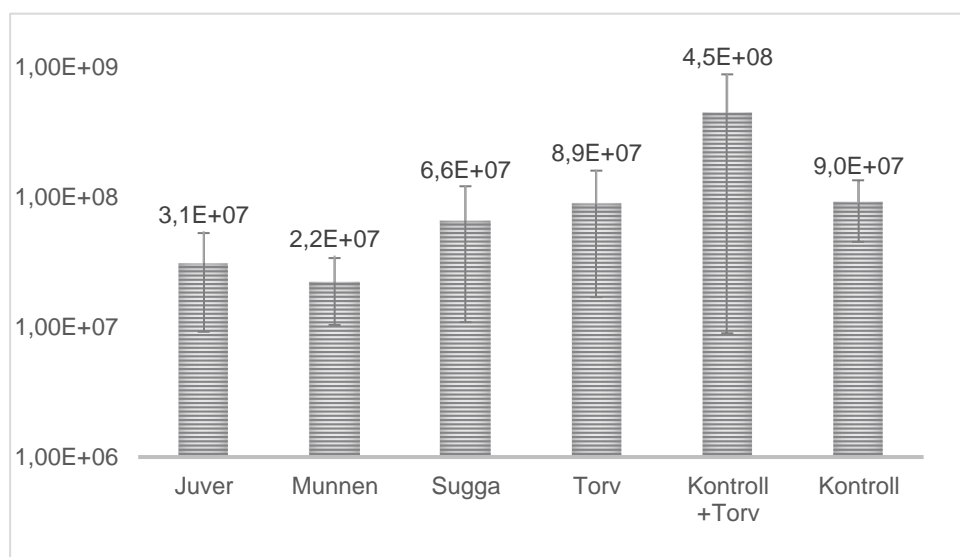
4.5 *Lactobacillus* och *Enterobacteriaceae* i träck

Resultaten från odling av LB i träckprover finns sammanställda i Figur 2. Medelvärdena per administreringsgrupp för antalet LB i proverna varierade mellan 2,1–4,3 $\times 10^9$ cfu/g träck. Det gick inte att se någon signifikant skillnad på antal LB i träck mellan olika administreringsgrupper vid 49 dagars ålder.



Figur 2. Förekomsten av LB (cfu/g träck) för varje administreringsgrupp vid 49 dagars ålder. Medelvärde ovanför staplarna, felstaplar visar SE.

Resultaten från odling av *Enterobacteriaceae* i träckprover finns sammanställda i Figur 3. Medelvärdena per administreringsgrupp för antalet *Enterobacteriaceae* i proverna varierade mellan $2,2 \times 10^7$ – $4,5 \times 10^8$ cfu/g träck. Det gick inte att se någon signifikant skillnad på antal *Enterobacteriaceae* i träck mellan olika administreringsgrupper vid 49 dagars ålder.



Figur 3. Förekomsten av *Enterobacteriaceae* (cfu/g) för varje administreringsgrupp vid 49 dagars ålder. Medelvärde ovanför staplarna, felstaplar visar SE.

5 Diskussion

5.1 Hälsomätningar

Resultatet från denna studie visade inget samband mellan antal utslagna grisar och administreringsgrupp. Grisarna som deltog i försöket hade generellt en god hälsa. Smågrisar som uppvisade ett kraftigt nedsatt allmäntillstånd behandlades med antibiotika eller avlivades. Dessa grisar togs därför ut ur studien och deras resultat från den aktuella mätningen ströks. Smågrisdödligheten under försöket var 10,5 %. Siffran går inte att jämföra med den genomsnittliga smågrisdödligheten på en vanlig gård i Sverige, som var 17,6 % under 2018 (Gård & Djurhälsan, 2019). Detta beror dels på att ingen uppföljning gjordes av överlevnaden hos antibiotikabehandlade smågrisar, dels på att alla sjuka sugor togs ut ur studien, och då även hennes smågrisar. Det är troligt att en sjuk suga inte klarar av att ta hand om sina smågrisar i samma utsträckning som en frisk suga, vilket påverkar överlevnaden hos smågrisarna. Dessutom bygger Gård & Djurhälsans siffra på dödlighet från födsel till avvänjning, medan siffran från detta försök sträcker sig från födsel till två veckor efter avvänjning.

Mängden hudskador var som störst i anslutning till mätningen som gjordes dagen efter avvänjning (Tabell 5), vilket överensstämmer med en tidigare studie (Turner *et al.*, 2006). Grupp K som inte fick någon probiotika under försöket hade minst antal hudskador i mätningen dagen efter avvänjning. Det skulle kunna tyda på att probiotika kan göra grisarna mer aktiva och nyfikna, som visats i en tidigare studie (Barba-Vidal *et al.*, 2017). Däremot hade grupp KT, som inte heller fått probiotika innan avvänjning, vid samma mätning ungefär lika mycket hudskador som grupperna J och M vilka hade fått probiotika innan avvänjning. Störst mängd hudskador vid försökets sista mätning (49 dagars ålder) hade grupp J. Att grisarna från grupp J både hade störst mängd hudskador och högst medelvikt jämfört med de andra grupperna vid 49 dagars ålder kan tyda på att det finns ett samband mellan hög kroppsvikt och aggressivt beteende. Det gick utifrån resultaten dock inte att dra någon slutsats kring probiotikas påverkan på aggressivt beteende.

Tårfärgning i ögat hos grisen undersöktes för att få en uppfattning om probiotika kunde ha en inverkan på grisens stressnivå. Mängden tårfärgning varierade mellan grupperna, men var generellt låg i besättningen. De flesta grisar hamnade på nivå 1 på en skala mellan 0–5 (Tabell 6). Sett över alla mätningar var mängden tårfärgning lägst för grupp M. Det kan indikera att ett oralt tillskott av probiotika till smågrisen tidigt i livet kan ha en effekt på grisens hormonella utveckling och förmåga att senare i livet hantera stress (Larsen *et al.*, 2018).

Antalet djur som ingår i en studie påverkar sannolikheten att finna signifikanta skillnader mellan grupper. I försöket deltog 599 smågrisar, men endast 349 smågrisar (58 %) deltog i samtliga mätningar. Intentionen var att alla tre omgångar skulle ingå i försöket till 49 dagars ålder, men då omgång 1 av misstag fick zink i fodret efter avvänjning togs de ut ur försöket efter 36 dagars ålder. Om fler smågrisar varit med genom hela studien hade det eventuellt varit möjligt att hitta fler signifikanta skillnader mellan administreringsgrupperna. Dock var antalet grisar som deltog i den här studien fler än i många tidigare studier som undersökt probiotikas effekt på smågrisars hälsa (Baum *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2008; Pieper *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2014; Zhao & Kim, 2015).

Hälsomätningarna utfördes av fem olika observatörer och vid varje mätningstillfälle närvarade tre observatörer. Observatörerna hade övat på bedömning av grisar vid två tillfällen och använde sig av en bedömningsmanual (Bilaga 1). Det är ändå troligt att individuella bedömningar av olika parametrar varierat, vilket kan ha påverkat resultatet.

5.2 Diarréförekomst

Registreringen av träckkonsistens och andelen boxar med förekomst av diarré visade ingen signifikant skillnad mellan administreringsgrupper (Tabell 7), vilket överensstämmer med ett försök via SLU där smågrisar fick samma stammar av *L. reuteri* och *L. plantarum* under digivningsperioden (Eriksson, 2019). Resultatet stämmer delvis överens med en studie av Zhao & Kim (2015) där ingen signifikant skillnad på träckkonsistens sågs mellan smågrisar som fått 2 g probiotika per kg foder jämfört med kontrollgruppen. Dock hade smågrisar som fått 1 g probiotika per kg foder en signifikant lägre förekomst av diarré efter avvänjning jämfört med kontrollgruppen. Motsatt effekt sågs i en studie av Piper *et al.* (2010), där smågrisar som fått en giva av 3×10^{10} cfu *L. plantarum* vid avvänjning hade en signifikant lägre förekomst av diarré elva dagar efter avvänjning jämfört med smågrisar som fått 3×10^9 cfu *L. plantarum* eller smågrisar som inte fått någon probiotika alls.

Inom flertalet tidigare studier av probiotikas effekt på smågrisars tarmhälsa hölls smågrisarna individuellt (Baum *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2014), vilket kan påverka resultatet då den omgivande miljön har en inverkan på mikrobiotan (Mulder *et al.*, 2009). När smågrisarna föds upp i grupp exponeras de tidigt i livet för en större diversitet av bakterier jämfört med om de hålls i individuella boxar. En tidig mikrobiell kolonisering av tarmen och en större diversitet i mikrobiotan kan leda till ett mer utvecklat immunsystem. Eftersom probiotika tycks ha bäst effekt när mikrobiotan är instabil (Jensen, 1998; Siggers *et al.*, 2008) kan gruppållningen av grisar i

detta försök vara en anledning till att probiotikan inte hade någon signifikant effekt på diarréförekomst.

5.3 Tillväxt

Resultaten från vägningarna visar ingen signifikant skillnad i daglig tillväxt mellan smågrisar som fått probiotika innan avvänjning jämfört med kontrollgrupperna (Tabell 8), vilket även visats i resultat från ett tidigare försök vid SLU där samma probiotikastammar användes (Eriksson, 2019). Grisarna som ej fick probiotika efter avvänjning (J, M, S och K) hade en högre daglig tillväxt jämfört med smågrisarna som fick probiotika i torven efter avvänjning (T och KT) ($P \leq 0,05$). Smågrisarna som fick probiotika via suggans juver under diperioden (J) hade en högre medelvikt vid 49 dagars ålder jämfört med smågrisarna som endast fått probiotika i torv efter avvänjning (KT) ($P \leq 0,05$). Detta kan indikera att stammar från *L. plantarum* och *L. reuteri* inte har någon positiv effekt på tillväxt när de ges efter avvänjning, vilket skiljer sig från resultatet i en studie av Liu *et al.* (2014) där smågrisar som fick *L. reuteri* efter avvänjning hade en högre genomsnittlig daglig tillväxt jämfört med kontrollgruppen. Resultatet skiljer sig också från tidigare forskning som visat att probiotika i allmänhet har bäst effekt när mikrobiotan är instabil, exempelvis i samband med avvänjning (Jensen, 1998). Liknande resultat sågs dock i en studie av Pieper *et al.* (2010) där *L. plantarum* gavs oralt i en enda dos till smågrisar efter avvänjning, vilket inte gav någon signifikant effekt på daglig tillväxt.

Vid en jämförelse av daglig tillväxt mellan olika administreringsmetoder i denna studie fanns det ingen signifikant skillnad mellan grupperna varken innan eller efter avvänjning. Det gick därför inte att dra några slutsatser om vilken administreringsmetod som var mest fördelaktig med avseende på smågrisens tillväxt. När grisarna vägdes var det ibland svårt att få en exakt siffra på vågen då en del smågrisar var väldigt aktiva och rörde sig i vågen. Dessutom gick ena grinden på vågen sönder vid andra vägningen av grisar vid 15 dagars ålder, vilket gjorde det svårare för observatörerna att hålla smågrisarna stilla i vågen under de efterföljande mätningarna. Det kan uppskattningsvis röra sig om en felmarginal på upp till 300 gram per smågris och vägning. Avvänningsvikten (vägningen vid 36 dagar) noterades dagen efter avvänjning för omgång 1 och omgång 2, för omgång 3 noterades vikten tre dagar efter avvänjning. Det medför att det är svårt att veta exakt hur mycket smågrisarna växte under digivningsperioden kontra tillväxtperioden för omgång 3.

5.4 *Lactobacillus* och *Enterobacteriaceae* i träck

Resultatet visade ingen signifikant skillnad för antal LB (Figur 2) eller *Enterobacteriaceae* (Figur 3) i träck mellan olika administreringsgrupper vid 49 dagars ålder. Detta överensstämmer delvis från det tidigare försöket vid SLU, där det inte sågs någon signifikant skillnad på antalet *Enterobacteriaceae* mellan grisar som fick probiotika under digivningsperioden jämfört med kontrollgruppen (Eriksson, 2019). I det tidigare försöket var däremot antalet LB i träcken vid 42 dagars ålder högre hos smågrisar som fått probiotika jämfört med kontrollgruppen. Det är möjligt att eventuella effekter av administreringsmetoden inte fanns kvar vid 49 dagars ålder. Om träckproverna istället tagits vid 36 eller 43 dagars mätningen hade resultatet kunnat se annorlunda ut. Tidigare studier har visat att smågrisar som fått probiotika haft ett högre antal LB i träcken jämfört med kontrollgrupp när proverna tagits i nära anslutning till att smågrisen fått probiotikan (Pieper *et al.*, 2010; Zhao & Kim, 2015).

Eftersom smågrisarna från omgång 1 fick zinkoxid efter avvänjning togs inga träckprover från dessa grisar. Att träckprover endast kunde tas från två av tre omgångar resulterade i en mindre mängd data, 5–6 prover från varje administreringsgrupp. Det är inte känt exakt hur mycket probiotika dessa individuella smågrisar fått i sig, exempelvis kan prov ha tagits från en mindre gris i grupp T som inte fått i sig så mycket torv(=probiotika) på grund av konkurrens från större boxkamrater, vilket inte ger ett representativt resultat för administreringsgruppen som helhet.

Träckproverna hölls på is i cirka fem timmar och hölls därefter i kylskåp under 1–2 dygn innan analys. Detta kan ha haft en påverkan på bakterietillväxten, resultatet hade varit mer tillförlitligt om proverna analyserats samma dag. Vid odlingen av bakterier för omgång 2 användes spädningarna 10^{-6} , 10^{-7} och 10^{-8} på agarplattorna. Spädningarna valdes för att de i det tidigare försöket via SLU visat ett rimligt antal kolonier när samma probiotikastammar som i detta försök använts (Eriksson, 2019). I den första analysen av träck i detta försök visade det sig dock att spädningen behövde vara mindre än 10^{-6} för att få fram ett trovärdigt resultat gällande *Enterobacteriaceae*. Spädningsserien justerades därför till andra analysen där 10^{-5} , 10^{-6} och 10^{-7} användes för att analysera *Enterobacteriaceae* i träckproven.

5.5 Administreringsmetoder

Majoriteten av de studier som undersökt probiotikas effekt på smågrisar har antingen administrerat probiotika oralt (Pieper *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2014; Eriksson, 2019) eller via fodret (Yu *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2014; Zhao & Kim, 2015). I Sverige är det inte möjligt att ge probiotika med fodret under smågrisens första levnadsveckor eftersom smågrisens födoingtag främst består av mjölk direkt från suggan

(SVA, 2018). Administreringsmetoder som undersöktes i denna studie var, utöver oral giva till smågrisen, en oral giva till suggan, spray av probiotika på suggans juver samt tillskott av probiotika i torven. Från resultaten i studien gick det inte att dra några slutsatser kring vilken administreringsmetod som hade bäst effekt på smågrisens hälsa, tillväxt eller mikrobiota.

Administrering av probiotikatillskott måste ge en märkbar positiv effekt och vara lätt att tillämpa för att det ska vara kostnadseffektivt och ekonomiskt försvarbart att investera i. Ett alternativ som ännu inte har studerats för grisar är att administrera probiotika via vattnet. I framtida forskning vore det relevant att studera om tillskott av probiotika via vattennippeln i boxen på sikt kan vara ett kostnadseffektivt administrerings sätt. Om probiotika kan leda till en minskad andel spädgris- och avvänjningsdiarré kan det förutom en ökad tillväxt leda till mindre antibiotikaanvändning och att djurskötaren behöver ägna mindre tid åt att behandla sjuka djur, vilket är fördelaktigt både för djurväl-färden och ur ett ekonomiskt perspektiv. Denna studie undersökte inte hur stor tidsåtgången var för att administrera probiotika till de olika grupperna. Det hade varit relevant att studera för att kunna ta hänsyn till hur mycket kostnaden för arbetstiden skiljer sig mellan olika administreringsmetoder.

Det har inom forskningen varit svårt att dra några slutsatser kring vilka doser av probiotika som behövs för att uppnå en positiv effekt då doser och resultat varierar mellan olika studier. Denna studie har utgått från en dos av $5,4 \times 10^{10}$ – $6,1 \times 10^{11}$ cfu probiotika per ml som gavs i olika mängd och i olika antal givor beroende på administreringsmetod. Det är svårt att uppskatta hur stor mängd probiotika varje individuell smågris fått i sig. Exempelvis resulterar sprayningen på suggans juver antagligen inte i samma intag av probiotika per smågris eftersom varje spene inte får exakt samma mängd probiotika och att antalet spenar som används varierar beroende på hur många smågrisar som finns i kullen. Hur suggans intag av probiotika påverkar smågrisen är ännu okänt. Probiotikans effekt kan därför variera kraftigt mellan smågrisar inom samma kull och administreringsgrupp. För noggrannare mätningar av probiotikas effekt vore det relevant att följa individuella grisar och mäta hur mycket probiotika varje smågris fått i sig för att studera sambandet mellan mikrobiota, hälsa och tillväxt. Att grisarna hölls i grupp under försöket begränsar denna möjlighet. Studier kring vilken administreringsmetod av probiotika som ger bäst effekt är relevant för framtida forskning då det i dagsläget saknas jämförande studier inom området.

5.6 Försöksmodell

En svårighet i att bedöma ifall tillskott av probiotika är lönsamt inom grisproduktionen är att materialet som använts i olika studier varierat gällande exempelvis hur

många djur som involverats och vid vilken ålder som grisarna har avvants. En fördel med detta försök är att det utförts på en kommersiell gård under grisens normala levnadsförhållanden och miljö istället för på en försöksstation där miljön kan skilja sig mycket från hur det ser ut på en vanlig gård. Detta gör att resultaten från studien kan förväntas vara mer applicerbara på grisgårdar i Sverige. Grisarna i studien avvandes vid 35 ± 5 dagars ålder och hölls i grupper om 8–12 grisar i boxar med delvis gjutet golv och med en daglig tillgång till strö. Totalt deltog 599 grisar i försöket. I försök från tidigare studier utförda i Kina avvandes grisarna från suggan vid tre-fyra dagars ålder, föddes upp på mjölkersättning och hölls i boxar på helspalt individuellt (Liu *et al.*, 2014) eller i grupper om tre grisar (Yang *et al.*, 2014). I dessa studier deltog 36 respektive 72 grisar. Probiotikans effekt på smågrisens hälsa kan skilja sig åt beroende på vid vilken ålder som smågrisarna avvänjs (Franklin *et al.*, 2002). Ju tidigare i livet de tas från suggan desto mindre utvecklad matsmältningskanal har smågrisarna (Jensen, 1998; Siggers *et al.*, 2008), vilket ger ett större behov av insatser som kan gynna smågrisens tarmhälsa. Orsaker till att resultaten i denna studie inte visade några större skillnader mellan administreringsgrupperna kan vara att smågrisarna fått gå med suggan under en längre tid jämfört med tidigare studier och att de hölls i grupp genom hela försöket. Samtidigt är det relevant att probiotika visar en effekt när det används på kommersiella grisgårdar för att uppnå en bättre djurvälstånd och för att det ska vara lönsamt att investera i. Eftersom effekten av probiotika är stamspecifik (Bontempo *et al.*, 2006) hade eventuellt ett val av andra probiotiska bakteriestammar till försöket kunnat generera en positiv effekt på smågrisarnas hälsa, tillväxt och mikrobiota.

Grisarna i besättningen hade generellt en god hälsa, vilket kan skilja sig från miljön i tidigare studier. Det vore relevant att se om resultaten i försöket hade skiljt sig om smågrisar från olika gårdar hade deltagit då faktorer som genetik, miljö och skötselrutiner kan påverka. Exempelvis är det möjligt att en effekt av probiotikan hade visats om samma försök utförts på en gård som hade ett högre smittryck, om grisarna hade avvants vid en tidigare ålder eller om de hade fötts upp individuellt.

5.7 Övriga felkällor

Vid utformandet av försöket planerades även en mätning av hälsa, vikt, diarréförekomst och träckprovtagning vid 28 dagars ålder. Första mätningen vid 28 dagars ålder drog ut på tiden eftersom smågrisarna fortfarande gick med suggan och det var därmed mer tidskrävande att samla in dem. Mätningen tog mer än en dag och vid den uppföljande mätningen nästkommande dag råkade en sugga få tag på och äta upp resultatformulären från mätningen. På grund av tidsbrist beslutades det då att hoppa över mätningar vid 28 dagars ålder i försöket.

Smågrisarna sorterades efter storlek inom samma administreringsgrupp när de sattes in i tillväxtavdelningen. För omgång 2 blandades dock grisar från olika administreringsgrupper av misstag i ungefär hälften av boxarna vid avvänjning. Detta korrigerades ett dygn senare, men kan ha gett upphov till en ökad mängd stress och slagsmål eftersom grisarna flyttades ytterligare en gång. Det finns också en risk att stressen bidragit till en avtagande tillväxt och att diarré kan ha överförts mellan olika boxar och administreringsgrupper.

Ytterligare en felkälla är att det finns en risk att personalen på gården kan ha missat att journalföra och ta bort öronbrickan på alla smågrisar som skulle ha tagits ut ur studien, vilket betyder att det kan ha funnits grisar kvar i studien som fått antibiotika eller som flyttats från modersuggan efter födseln. Dessa faktorer kan ha påverkat probiotikans effekt på smågrisen.

För ett mer tillförlitligt resultat borde samma observatörer ha använts vid samtliga mätningar. Det hade också varit en fördel om alla observatörer var vana vid att hantera grisar och att bedöma hälsa på smågrisar. En robustare våg hade gjort att observatörerna kunnat lägga mer tid på att upptäcka avvikelser hos grisarna, få en mer tillförlitlig siffra på vågen och ha en bättre överblick på när smågrisar defekterade för att anteckna fler träckkonsistenser på individnivå. Mycket tid gick åt till att få smågrisen att inte bryta sig ut ur vågen under vägningarna. Analys av träckprover samma dag som de samlades in hade kunnat ge ett säkrare resultat av antalet bakterier i träcken.

5.8 Slutsats

Syftet med den här studien var att undersöka om probiotika av *L. plantarum* och *L. reuteri* kunde ha en positiv effekt på tillväxt, hälsa och mikrobiota hos smågrisar. Studien syftade också till att undersöka vilken administreringsmetod som gav bäst effekt på ovan nämnda parametrar. Hypotesen var att smågrisar som fått tillskott av probiotika skulle ha en mer fördelaktig mikrobiota och en bättre tillväxt jämfört med kontrollgruppen. Resultaten från denna studie visade inte att probiotika av arterna *L. plantarum* och *L. reuteri* kunde förbättra smågrisarnas tillväxt, hälsa eller mikrobiota innan eller efter avvänjning. Det gick inte heller att avgöra vilken administreringsmetod som gav bäst effekt. Fler studier som undersöker olika administreringsmetoder, probiotikastammar och doser under digivningsperioden och som är utförda på gårdar i Sverige behövs eftersom försöksmodeller från tidigare studier både inom och utanför Europa skiljer sig från hur grisar vanligtvis föds upp i Sverige.

Referenser

- Abe, F., Ishibashi, N. & Shimamura, S. (1995). Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *Journal of dairy science*, 78 (12), ss. 2838-2846.
- Aho, M., Nuotio, L., Nurmi, E., & Kiiskinen, T. (1992). Competitive exclusion of campylobacters from poultry with K-bacteria and Broilact®. *International journal of food microbiology*, 15 (3-4), ss. 265-275.
- Amezcuca, R., Friendship, R.M., Dewey, C.E., Gyles, C. & Fairbrother, J.M. (2002). Presentation of postweaning Escherichia coli diarrhea in southern Ontario, prevalence of hemolytic E. coli serogroups involved, and their antimicrobial resistance patterns. *Canadian Journal of Veterinary Research* 66 (2), ss. 73–78.
- Bajagai, Y.S., Klieve, A.V., Dart, P.J. & Bryden, W.L. (2016). *Probiotics in animal nutrition: production, impact and regulation*. Rome: FAO. (Animal Production and Health: 179) Tillgänglig: <http://www.fao.org/3/a-i5933e.pdf> [2019-06-22]
- Barba-Vidal, E., Roll, V. F. B., Castillejos, L., Guerra-Ordaz, A. A., Manteca, X., Mallo, J. J., & Martín-Onié, S. M. (2017). Response to a Salmonella Typhimurium challenge in piglets supplemented with protected sodium butyrate or Bacillus licheniformis: effects on performance, intestinal health and behavior. *Translational Animal Science*, 1 (2), ss. 186-200.
- Bauer, E., Williams, B. A., Smidt, H., Mosenthin, R., & Verstegen, M. W. (2006). Influence of dietary components on development of the microbiota in single-stomached species. *Nutrition research reviews*, 19 (1), ss. 63-78.
- Baum, B., Liebler-Tenorio, E. M., Enß, M. L., Pohlenz, J. F. & Breves, G. (2002). Saccharomyces boulardii and Bacillus cereus var. Toyoi influence the morphology and the mucins of the intestine of pigs. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 40 (05), ss. 277-284.
- Bontempo, V., Di Giancamillo, A., Savoini, G., Dell'Orto, V. & Domeneghini, C. (2006). Live yeast dietary supplementation acts upon intestinal morpho-functional aspects and growth in weanling piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 129 (3–4), ss. 224-236.
- Buffington, S. A., Di Prisco, G. V., Auchtung, T. A., Ajami, N. J., Petrosino, J. F., & Costa-Mattioli, M. (2016). Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. *Cell*, 165 (7), ss. 1762-1775.
- Eaton, K. A., Honkala, A., Auchtung, T. A., & Britton, R. A. (2011). Probiotic Lactobacillus reuteri ameliorates disease due to enterohemorrhagic Escherichia coli in germfree mice. *Infection and immunity*, 79 (1), ss. 185-191.
- European Commission (2005). *Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect*. Brussels, Belgium (Press Release Database, IP/05/1687)

- European Medicines Agency (2017) *Zinc Oxide*. Tillgänglig: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/referrals/zinc-oxide> [2019-06-25]
- Franklin, M. A., Mathew, A. G., Vickers, J. R. & Clift, R. A. (2002). Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. *Journal of Animal Science*, 80 (11), ss. 2904–2910.
- Gård & Djurhälsan (2019). *Smågrisproduktion årsmedeltal*. Tillgänglig: <https://www.gardochdjurhalsan.se/wp-content/uploads/2019/06/smagrisprod-medel-2018-25.pdf> [2019-08-23]
- Göransson L. (2009). *Foder – utfodring och hälsa*. Tillgänglig: https://www.gardochdjurhalsan.se/upload/documents/Dokument/Startsida_Gris/Kunskapsbank/Foder/Utfodring/Foder-utfodring_och_halsa.pdf [2019-04-16]
- Eriksson, A. (2019). *The effect of probiotic administration on piglets performance and intestinal microbiota*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Agronomprogrammet, husdjur. (Examensarbete)
- Heo, J. M., Opapeju, F. O., Pluske, J. R., Kim, J. C., Hampson, D. J. & Nyachoti, C. M. (2013). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97 (2), ss. 207–237.
- Herpin, P., Damon, M. & Le Dividich, J. (2002). Development of thermoregulation and neonatal survival in pigs. *Livestock Production Science*, 78 (1), ss. 25–45.
- Hopwood, D. E. & Hampson, D. J. (2003). Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhoea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period. *Weaning the pig: concepts and consequences*, ss. 199–217.
- Hou, C., Zeng, X., Yang, F., Liu, H., & Qiao, S. (2015). Study and use of the probiotic *Lactobacillus reuteri* in pigs: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 6 (1), ss. 14.
- Jacobson, M. (2019). *Månadens sjukdom - Avvänjningsdiarré*. Tillgänglig: https://www.gardochdjurhalsan.se/upload/documents/Dokument/Startsida_Gris/Kunskapsbank/Halsa_och_sjukdomar/Manadens_sjukdom_fran_SLU/Avvanjningsdiarre.pdf [2019-04-16]
- Jensen, B. B. (1998). The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 7 (Suppl 1), ss. 45–64.
- Jordbruksverket (2018). *Nya regler för uppfödning av grisar*. Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/olikaslagsdjur/grisar/nyaregleruppfodning.4.357ab84415e008ca0bd7d1de.html> [2019-06-06]
- King, M. R., Kelly, D., Morel P. C. H. & Pluske, J. R. (2003). Aspects of intestinal immunity in the pig around weaning. *Weaning the pig: concepts and consequences*, ss. 219–244.
- Lallès, J.-P., Boudry, G., Favier, C., Le Floch, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C. & Sève, B. (2004). Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Animal Research*, vol. 53 (4), ss. 301–316.
- Lallès, J. P., Bosi, P., Smidt, H. & Stokes, C. R. (2007). Weaning—a challenge to gut physiologists. *Livestock Science*, 108 (1–3), ss. 82–93.
- Larsen, M. L. V., Gustafsson, A., Marchant-Forde, J. N., & Valros, A. (2019). Tear staining in finisher pigs and its relation to age, growth, sex and potential pen level stressors. *Animal*, ss. 1–8.
- Li, D. F., Nelssen, J. L., Reddy, P. G., Blecha, F., Hancock, J. D., Allee, G. L., Goodband, R. D. & Klemm, R. D. (1990). Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. *Journal of Animal Science*, 68 (6), ss. 1790–1799.
- Liu, H., Zhang, J., Zhang, S., Yang, F., Thacker, P. A., Zhang, G., Qiao, S. & Ma, X. (2014). Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62 (4), ss. 860–866.

- Liu, P. P. X. S., Piao, X. S., Thacker, P. A., Zeng, Z. K., Li, P. F., Wang, D., & Kim, S. W. (2010). Chito-oligosaccharide reduces diarrhea incidence and attenuates the immune response of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* K88. *Journal of animal science*, 88 (12), ss. 3871-3879.
- Liao, S.F. & Nyachoti, M. (2017). Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. *Animal Nutrition*, 3 (4), ss. 331-343.
- Livsmedelverket (2018). *Antibiotika*. Tillgänglig: <https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/oonskade-amnen/lakemedelsrester/antibiotika> [2019-06-06]
- Mack, D. R., Michail, S., Wei, S., McDougall, L. & Hollingsworth, M. A. (1999). Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 276 (4), ss. G941-G950.
- Moesser, A.J., Ryan, K.A., Nighot, P.K. & Blikslager, A.T. (2007). Gastrointestinal dysfunction induced by early weaning is attenuated by delayed weaning and mast cell blockade in pigs. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 293 (2), ss. 413-421.
- Montagne, L., Boudry, G., Favier, C., Huërou-Luron, I.L., Lallès, J.-P. & Sève, B. (2007). Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. *British Journal of Nutrition* 97, ss. 45.
- Montagne, L., Piel, C. & Lalles, J. P. (2004). Effect of diet on mucin kinetics and composition: nutrition and health implications. *Nutrition reviews*, 62 (3), ss. 105-114.
- Mu, C., Yang, Y., & Zhu, W. (2016). Gut microbiota: the brain peacekeeper. *Frontiers in microbiology*, 7, ss. 345.
- Mulder, I.E., Schmidt, B., Stokes, C.R., Lewis, M., Bailey, M., Aminov, R.I., Prosser, J.I., Gill, B.P., Pluske, J.R., Mayer, C.-D., Musk, C.C. & Kelly, D. (2009). Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. *BMC Biol.* 7 (1), ss. 79.
- Paul, N. (2015). Review virulence nature of *Escherichia coli* in neonatal swine. *Online Journal of Animal and Feed Research (OJAFR)*, 5 (6), ss. 169-174.
- Pieper, R., Janczyk, P., Urubschurov, V., Hou, Z., Kom, U., Pieper, B. & Souffrant, W. B. (2010). Effect of *Lactobacillus plantarum* on intestinal microbial community composition and response to enterotoxigenic *Escherichia coli* challenge in weaning piglets. *Livestock Science*, 133 (1-3), ss. 98-100.
- Pluske, J.R., Williams, I.H. & Aheme, F.X. (1996). Villous height and crypt depth in piglets in response to increases in the intake of cows' milk after weaning. *Animal Science* 62, ss. 145-158.
- Poulsen, H. (1998). Zinc and copper as feed additives, growth factors or unwanted environmental factors. *Journal of Animal and Feed Science* 7, ss. 135-142.
- Rojas, M. & Conway, P. L. (1996). Colonization by lactobacilli of piglet small intestinal mucus. *Journal of Applied bacteriology*, 81 (5), ss. 474-480.
- Savino, F., Cordisco, L., Tarasco, V., Palumeri, E., Calabrese, R., Oggero, R., ... & Matteuzzi, D. (2010). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*, 126 (3), ss. e526-e533.
- Siggers, R. H., Siggers, J., Boye, M., Thymann, T., Mølbak, L., Leser, T., Jensen B. B. & Sangild, P. T. (2008). Early administration of probiotics alters bacterial colonization and limits diet-induced gut dysfunction and severity of necrotizing enterocolitis in preterm pigs. *The Journal of nutrition*, 138 (8), ss. 1437-1444.
- Sjaaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*, 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sjölund, M., Zoric, M. & Wallgren, P. (2014). *Financial impact of disease on pig production. Part III. Gastrointestinal disorders*. In: Proceedings of 6th European Symposium of Porcine Health Management, Sorrento, Italy, ss. 189.

- Stein, H. H. & Kil, D. Y. (2006). Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2. *Animal biotechnology*, 17 (2), ss. 217–231.
- Sutherland, M. A., Bryer, P. J., Krebs, N., & McGlone, J. J. (2009). The effect of method of tail docking on tail-biting behaviour and welfare of pigs. *Animal Welfare*, 18 (4), ss. 561–570.
- SVA (2018). *Avvänningsdiarré hos gris*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/gris/tarmsjukdomar-gris/avvanningsdiarre-gris> [2019-04-16]
- Svendsen, J., Olsson, A.-C. & Rantzer, D. (2008). *Besättningsimmunitet – viktig för kontroll och begränsande av infektiösa sjukdomar i smågrisproduktionen*. Fakta från Partnerskap Alnarp. Info nr 9.
- Telkänranta, H., Marchant-Forde, J. N., & Valros, A. (2016). Tear staining in pigs: a potential tool for welfare assessment on commercial farms. *animal*, 10 (2), ss. 318-325.
- Thacker, P. A. (1999). Nutritional Requirements of Early Weaned Pigs-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 12 (6), ss. 976-987.
- Turck, D., Feste, A. S. & Lifschitz, C. H. (1993). Age and diet affect the composition of porcine colonic mucins. *Pediatric research*, 33 (6), ss. 564.
- Tumer, S. P., Famworth, M. J., White, I. M., Brotherstone, S., Mendl, M., Knap, P., Penny, P. & Lawrence, A. B. (2006). The accumulation of skin lesions and their use as a predictor of individual aggressiveness in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 96 (3-4), ss. 245-259.
- Welfare Quality® (2009). *Welfare Quality assessment protocol for pigs (sows and piglets, growing and finishing pigs)*. Welfare Quality Consortium, Lelystad, Netherlands.
- Westin, R., Holmgren, N., Hultgren, J., Ortman, K., Linder, A., & Algers, B. (2015). Post-mortem findings and piglet mortality in relation to strategic use of straw at farrowing. *Preventive veterinary medicine*, 119 (3-4), ss. 141-152.
- Wierup, M., Wold-Troell, M., Nummi, E., & Häkkinen, M. (1988). Epidemiological evaluation of the Salmonella-controlling effect of a nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. *Poultry Science*, 67 (7), ss. 1026-1033.
- Xu, R. J., Mellor, D. J., Tungthanathanich, P., Birtles, M. J., Reynolds, G. W., & Simpson, H. V. (1992). Growth and morphological changes in the small and the large intestine in piglets during the first three days after birth. *Journal of developmental physiology*, 18 (4), ss. 161-172.
- Yang, K. M., Jiang, Z. Y., Zheng, C. T., Wang, L., & Yang, X. F. (2014). Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Journal of animal science*, 92 (4), ss. 1496-1503.
- Yu, H. F., Wang, A. N., Li, X. J., & Qiao, S. Y. (2008). Effect of viable *Lactobacillus fermentum* on the growth performance, nutrient digestibility and immunity of weaned pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 17 (1), ss. 61.
- Zhao, P. Y., & Kim, I. H. (2015). Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 200, ss. 86-92.
- Zimmermann, J.A., Fusari, M.L., Rossler, E., Blajman, J.E., Romero-Scharpen, A., Astesana, D.M., Olivero, C.R., Berisvil, A.P., Signorini, M.L., Zbrun, M.V., Frizzo, L.S. & Soto L.P. (2016). Effects of probiotics in swines growth performance: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Animal Feed Science and Technology*, 219, ss. 280–293.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Hur kan tarmfloran påverka smågrisens hälsa och produktion?

Hälsoproblem exempelvis diarré är ett utbrett problem hos smågrisar i olika åldrar. Forskning visar att tarmfloran är avgörande för att smågrisen ska hålla sig frisk. Probiotika är levande, goda bakterier som kan ge positiva effekter på tarmhälsan hos såväl människor som djur om de tillsätts i tillräckligt stor mängd. De goda probiotiska bakterierna tävlar mot de sjukdomsframkallande bakterierna som exempelvis *E. coli* om att fästa till tarmslemhinnan och etableras som en del av tarmfloran. Om grisen håller sig frisk kommer den också växa bättre. Eftersom tillskott av probiotika kan stärka smågrisens tarmflora kan det leda till en bättre djurvälstånd och en ökad tillväxt.

Detta examensarbete genomfördes på en grisgård utanför Västerås under april-juni 2019 och totalt deltog 599 smågrisar. Försöket pågick från födsel till 49 dagars ålder. Grisarna delades in i sex olika grupper som fick probiotika på olika sätt. Metoderna som användes var att ge probiotikatillskott direkt i smågrisens mun, direkt i saggans mun, sprayat över saggans juver eller utblandat i torven som smågrisarna åt. Smågrisarna som fick probiotika i torv fick det även under två veckor efter avvänjning från saggan vid 35 dagars ålder. Utöver dessa administreringsgrupper fanns det två kontrollgrupper. En som inte fick någon probiotika alls och en kontrollgrupp som endast fick probiotikatillskott efter avvänjning från saggan (i torven). Under försöksperioden genomfördes fyra mätningar av grisens vikt och hälsa där bland annat mängden hudskador, träckkonsistens och frekvensen av svansbitning jämfördes. Träckprover togs vid 49 dagars ålder för att undersöka om det var någon skillnad mellan antalet onda och goda bakterier i tarmfloran.

Resultatet visade ingen signifikant skillnad på daglig tillväxt eller tarmflora mellan de olika administreringsgrupperna. Vid 49 dagars ålder hade gruppen som fått probiotika via spray på saggans juver under digivningsperioden en högre medelvikt än gruppen som endast fått probiotika efter avvänjning från saggan. Grisarna som fick probiotika i torven efter avvänjning hade en lägre daglig tillväxt jämfört med smågrisarna som inte fått tillskott i torven efter avvänjning. I dagsläget saknas studier som jämför olika metoder att ge probiotika till smågrisar på. Mer forskning om probiotikas effekt på smågrisens hälsa samt hur probiotikan mest tidseffektivt kan ges till smågrisen behövs.

Tack

Handledare Johan Dicksved som agerat bollplank och hjälpt mig vidare när jag kört fast

Else Verbeek för hjälp kring frågor om det praktiska utförandet av försöket

Tå Gårds personal

Amaury Arnaud, Maria Rodriguez och Theo Dessier för hjälp med datainsamling

Delal Öncü för hjälp i laboratoriet

Klasskamraterna Anna Jansson, Sofia Gundersen och Jessica Berglund för tips, stöd och feedback under arbetets gång

Mina språkbegåvade vänner Annie Möller & Marie Leine

Christoffer Hagenmalm för korrekturläsning

Familjen för mentalt stöd och excelexpertis från lillebror Eric Hammarberg

Bilaga 1. Manual för hälsoregistreringar

Fecal consistency (träckkonsistens):

- score 0: normal stools
- score 1: pasty feces
- score 2: liquid feces with some evidence of solids
- score 3: severe watery diarrhea

General appearance (allmäntillstånd):

- score 0: normal pig, good body condition, normal activity and attention.
- score 1: pig shows mild signs of gauntness, some hollowing at the flanks, skin is duller, pig may be less active and less attentive
- score 2: pig shows significant signs of gauntness, skin is pale and hair is starting to become more apparent, pig shows mild signs of lethargy and less attentive to surroundings, more reluctant to move
- score 3: pig shows major signs of gauntness, grey pallor to skin, hair is pronounced, back may be humped up, pig shows definite signs of lethargy, and dull demeanour.

Tear staining (tårfärgning):

- score 0: no tear staining
- score 1: barely detectable staining
- score 2: staining covering less than 50% of the total eye area
- score 3: staining covering between 50 and 100% of the total eye area
- score 4: severe staining covering 100% of the eye area and does not extend below mouth line
- score 5: severe staining covering 100% of the eye area and extending below the mouth line.

Skin lesion scoring (hudskador):

According to the Welfare Quality® protocol for skin lesion scoring. Each body part will be assigned a score. Observation is done on the left side of the piglet. Lesions on the body can be either scratched (surface penetrations of the epidermis) or wounds (penetration of the muscle tissue). Where scabs have formed, they will be

counted as a single lesion if they form a continuous line. The piglets body is considered as 5 different regions:

- ears
- front (head to back of shoulders)
- middle (back of shoulders to hindquarters)
- ear
- legs

Scores per region

- score 0: no skin lesions or wounds
- score 1: 1-5 scratches, on the surface
- score 2: wound that bleeds or has a scab, smaller than 2 cm or more than 5 scratches
- score 3: wound that bleeds or has a scab, more than 2 cm

Wounds on the nose after fighting of the teets are not counted, but wounds in other parts of the left side of the face counts. Only fresh wounds will be counted.

Tail damage scoring (svansbitning):

A score to the tail will be given according to the severity of the tail damage, the tail length, the injury size and presence/absence of blood (see pictures on the next page).

General udder condition, sow (juverhälsa, sugga):

- score 0: healthy
- score 1: in case of swelling and/or redness.

Other health scoring (övrig sjukdom):

Any other health problems not mentioned before will also be scored (e.g., lameness, respiratory problems etc),

- score 0 for no health problems
- score 1 for existing health problem(s). Indicate on the form the specific health problem.

Tail biting scoring system (värdering för svansbitning):

Tail length



1. Complete tail



2. Three-quarters tail to almost complete



3. Half to 3/4 tail



4. Quarter to 1/2 a tail



5. Less than 1/4 tail

Injuries



1. None



2. 'Bite spots': multiple little spots on tail



3. Small wound(s)



4. A severe wound

Blood



1. None



2. Black in colour (dried scab)



3. A scab, cracked and revealing fresh blood



4. Fresh blood/raw wound