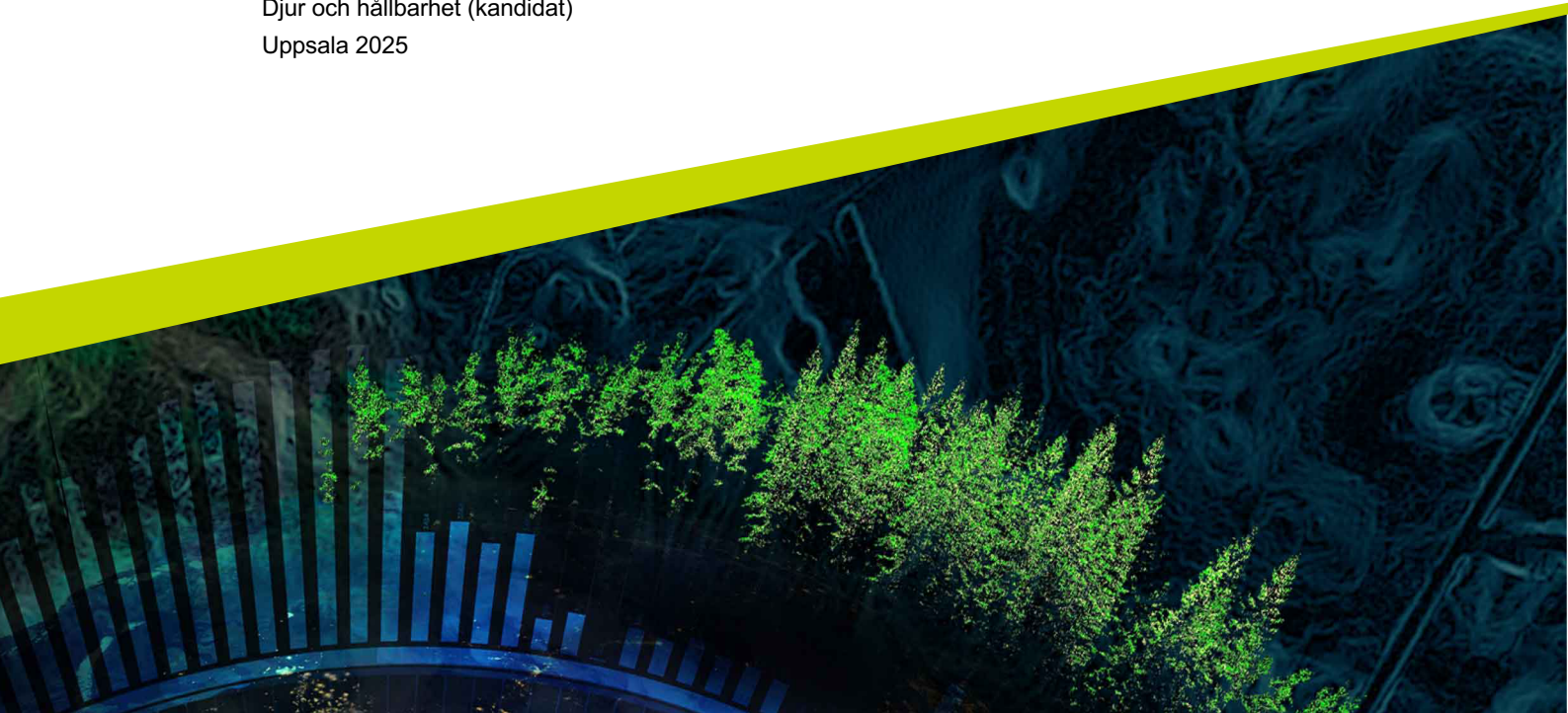




Identifikation av potentiella probiotiska bakterier för odlad fisk

Matilda Hallman

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd
Djur och hållbarhet (kandidat)
Uppsala 2025



Identifikation av potentiella probiotiska bakterier för odlad fisk

Identification of potential probiotic bacteria for farmed fish

Matilda Hallman

Handledare:	Johan Dicksved, Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd; Enkelmagade
Examinator:	Aleksandar Vidakovic, Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd; Aquakultur
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i husdjursvetenskap, G2E
Kurskod:	EX0865
Program/utbildning:	Djur och hållbarhet (kandidat)
Kursansvarig inst.:	Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2025
Nyckelord:	Fiskodling, fisk, probiotika, mjölksyrabakterier, akvakultur

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd

Sammanfattning

Fiskodling är en snabbt växande industri inom livsmedelssektorn och har en betydande roll för att möta den globala efterfrågan på livsmedel. Trots dess potential så kommer även akvakultur med sina problem. Överanvändning av antibiotika inom fiskodling bidrar till utvecklingen av antibiotikaresistens och är ett växande problem både för djurhälsan och folkhälsan. Ett lovande alternativ till antibiotika är probiotika, som kan hämma tillväxten av patogena bakterier och stärka fiskens immunförsvar. Denna studie syftar till att identifiera och odla potentiellt probiotiska bakterier från tarmmikrobiotan hos regnbåge, med särskilt fokus på mjölksyrabakterier (LAB) och deras antagonistiska effekt mot kända fiskpatogener. Totalt isolerades 28 bakterieisolat från de insamlade tarmproverna och dessa artbestämdes med MALDI-TOF MS, där majoriteten identifierades som *Pediococcus acidilactici*. Åtta stammar av mjölksyrabakterier testades mot fem patogener: *Vibrio campbelli* BB120, *Vibrio campbelli* LMG, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli* och Enterotox *E. coli* (ETEC) genom inhibitionstester. Resultaten visade att flera LAB, särskilt *P. acidilactici* och *L. plantarum* uppvisade tydlig antagonistisk effekt mot båda stammarna av *V. campbelli*, men inte gentemot *E. coli*, ETEC eller *Y. ruckeri*. Resultaten bekräftar studiens hypotes och visar att LAB isolerad från fiskens tarm kan ha probiotisk potential, vilket kan bidra till att minska behovet av antibiotika inom akvakultur. Resultaten understryker dock även att fortsatt forskning krävs innan praktisk tillämpning.

Nyckelord: Fiskodling, fisk, probiotika, mjölksyrabakterier, patogener

Abstract

Aquaculture is a rapidly growing industry within the food sector and plays a significant role in meeting global food demand. Despite its potential, aquaculture also presents challenges. The overuse of antibiotics in fish farming contributes to the development of antibiotic resistance, posing a growing threat to both animal and public health. A promising alternative to antibiotics is the use of probiotics, which can inhibit the growth of pathogenic bacteria and enhance the fish's immune response. This study aimed to identify and cultivate potentially probiotic bacteria from the intestinal microbiota of rainbow trout, with a particular focus on lactic acid bacteria (LAB) and their antagonistic effects against known fish pathogens. A total of 14 bacterial isolates were obtained from collected intestinal samples and identified using MALDI-TOF MS, with the majority classified as *Pediococcus acidilactici*. Eight LAB strains were tested against five pathogens: *Vibrio campbelli* BB120, *Vibrio campbelli* LMG, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli* and Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), through inhibition assays. The results showed that several LAB, especially *P. acidilactici* and *L. plantarum*, exhibited clear antagonistic effects against *V. campbelli* BB120 and *V. campbelli* LMG, but not against *E. coli*, ETEC or *Y. ruckeri*. These findings support the study's hypothesis and indicate that LAB isolated from fish intestines may hold probiotic potential, which could help reduce antibiotic use in aquaculture. However further research is required before practical implementation.

Keywords: Fishfarming, fish, probiotic, lactic acid bacteria, pathogens

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	5
Figurförteckning	6
Förkortningar	7
1. Introduktion.....	8
1.1 Mikrobiotan hos fisk.....	9
1.2 Patogena bakterier i fiskodlingar	10
1.3 Probiotika inom fiskodling.....	11
1.4 Syfte	12
1.5 Frågeställning	13
1.6 Hypotes	13
2. Material och metod.....	14
2.1 Studiepopulation för isolering av bakterier	14
2.2 Bakterieodling.....	14
2.3 Bakteriestammar använda i studien	14
2.4 Inhibitionstest.....	15
3. Resultat	17
3.1 Isolering och identifiering av bakterier	17
3.2 Antagonistisk effekt mot patogener	17
4. Diskussion	19
4.1 Slutsats.....	21
Referenser	22
Populärvetenskaplig sammanfattning.....	25
Tack	26

Tabellförteckning

Tabell 1. Sammanställning av resultat från agarplattor med olika patogener (V. campbelli BB120, V. campbelli LMG, Y. ruckeri, E. coli och ETEC).....	18
--	----

Figurförteckning

Figur 1. Schematisk översikt av testupplägget.	16
Figur 2. Bilden visar en schematisk skiss av en agarplatta med inhibitionszoner	16

Förkortningar

Förkortning	Betydelse
GRAS	Generally recognized as safe
LAB	Mjölksyrabakterier (lactic acid bacteria)
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of flight Mass Spectrometry
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe agar
QPS	Qualified presumption of safety
TSA	Tryptic soy agar

1. Introduktion

Akvakultur syftar till odling av fisk, skaldjur och vattenväxter i inlandssjöar, hav eller i recirkulerande vattenbrukssystem (RAS) och är en av de snabbast växande industrierna inom livsmedelssektorn (European Commission 2025). Akvakultur genererar inte enbart högkvalitativa livsmedel som är rika på protein, vitaminer & mineraler, utan det har även en betydande roll i att minska global hunger, förbättra den nationella och globala ekonomin, samt socialt eftersom det erbjuder många arbetsmöjligheter (FAO 2024).

År 2022 uppnådde den globala produktionen av vattenlevande djur 185 miljoner ton, vilket motsvarar en 4% ökning från 2020. För första gången översteg även mängden odlad fisk (51% av det totala) mängden fångad fisk (49%) (FAO 2024). Den växande konsumentefterfrågan på fisk har gjort att enbart vildfångad fisk inte längre räcker till för att möta behovet. Därför är hållbar fiskodling avgörande, inte bara för att tillgodose efterfrågan, utan också för att minska den negativa inverkan fångstfiske har på miljön (Jennings et al. 2016).

Trots att akvakultur genererar en hel del möjligheter så kommer det också med utmaningar. Att odla fisk i hög täthet för att maximera produktionen resulterar i dålig vattenkvalitet, vilket i sin tur kan förändra tarmens mikrobiella mångfald hos fisken (Govindaraj et al. 2021). Govindaraj et al. (2021) menar att en förändrad tarmflora kan göra fisken mer mottaglig för patogener, vilket ökar risken för sjukdomsutbrott och kan leda till omfattande förluster. I samma studie nämns även att behandling av patogener med hjälp av kemiska tillsatser eller antibiotika kan leda till utveckling av läkemedelsresistenta patogener. Trots att antibiotika är effektivt för att förbättra fiskens överlevnad kan det samtidigt förändra tarmfloran och inducera resistenta bakterier, vilket kan få oförutsägbara långsiktiga konsekvenser för folkhälsan (McEwen & Fedorka-Cray 2002).

För att undvika överanvändning av antibiotika eller andra tillsatser som kan leda till resistensutveckling är det viktigt att identifiera andra alternativa lösningar. Probiotika har fått mycket uppmärksamhet och lyfts som en lovande alternativ metod för en mer hållbar produktion. Probiotika innehåller levande mikroorganismer och är bland annat avsedd för att bibehålla eller förbättra tarmfloran. Probiotika kan dessutom ge flertalet hälsofördelar som att främja matsmältning, förbättra biotillgänglighet av näringsämnen, stärka tarmbarriären, syntetisera biomolekyler, avgifta toxiska föreningar, stärka immunförsvaret, samt bidra till ett bättre försvar mot patogena bakterier (Balcázar et al. 2006; Ridha & Azad 2016).

En av de mest studerade kandidaterna till probiotika är mjölksyrabakterier (LAB). LAB är väldigt lovande eftersom många av stammarna har förmågan att bekämpa bakteriella patogener, svamp, och delvis virala patogener (Chizhayeva et al. 2022). Det framgår även att LAB kan bidra till att öka matsmältningen,

påverka immunförsvaret, främja tillväxt och reproduktion, bortsett från skyddet mot patogener (2022).

Hos friska fiskar kan probiotiska bakterier finnas naturligt förekommande som en del av tarmfloran. Tidigare forskning har visat att mikrobiotan hos vilda laxfiskar ofta naturligt innehåller olika typer av LAB. Detta tyder på att det finns potential att isolera probiotiska bakterier direkt från friska fiskars tarmflora.

1.1 Mikrobiotan hos fisk

Mag- och tarmkanalens bakterieflora, även benämnd mikrobiota, består av mikroorganismer som hör till bakterier, svampar och alger (El-Saadony et al. 2021).

Mikrobiotan har stor betydelse för fiskens hälsa, där förändringar i tarmens mikrobiella sammansättning kan påverka fenotypiska egenskaper, fiskens fitness och immunmekanismer. Dessutom kan mikrobiotan öka produktionen av fettsyror i muskelfävnad, förbättra fiskens utveckling/tillväxt, bidra till att skydda tarmbarriären, förhindra tillväxt av opportunistiska patogener och modulera fiskens immunsystem (Kanika et al. 2025). Kanika et al. (2025) förklarar även att om balansen i tarmfloran skulle rubbas kan detta leda till att skadliga bakterier ökar, vilket ökar risken för sjukdomsutbrott.

Hur fiskens mikrobiota ser ut och vilka mikroorganismer som dominerar beror på flera olika faktorer. Kompositionen av mikrobiotan beror dels på arten av fisk, vattenkvaliteten under uppfödningen, genetik, fiskens utvecklingsstadium samt fodertypen och fodrets sammansättning av näringsämnen (El-Saadony et al. 2021; Luan et al. 2023). Mikrobiotan är även känslig för miljöförhållanden, såsom vattentemperatur, syrenivå, salthalt och pH, såväl som olika livsstadier, födobeteenden och antropogen påverkan (Kanika et al. 2025). Dessutom har man sett att kompositionen av mikrobiotan varierar mellan vild och odlad fisk av samma art, att årstiden och fiskens ålder påverkar, samt att för odlad fisk påverkar valet av inhysningssystem vilka bakterier som dominerar (Wang et al. 2023; Kanika et al. 2025).

Hos laxfiskar som atlantlax (*Salmo salar*) och regnbåge (*Oncorhynchus mykiss*) har man sett att tre fylum dominerade tarmfloran, där Firmicutes förekom med cirka 59%, Proteobacteria 26% och Actinobacteria med cirka 12% (Cao et al. 2024). På genusnivå såg man även att *Mycoplasma* dominerade, men man hittade även andra bakterier som *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Weissella*, *Oceanobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* och *Bacillus*.

Förutom att arten av fisk har stor inverkan på mikrobiotan så har fodret stor betydelse. Ringø et al. (2006) såg att torsk som utfodrats med fiskmjöl hade mest *Brochothrix* spp. och *Carnobacterium* spp. i tarmfloran, medan torsk som utfodrats med sojamjöl hade mest *Chryseobacterium* spp., *Carnobacterium* spp.

samt *Psychrobacter glacincola*. Man har dessutom sett att växtbaserat foder gjorde att mikrobiotan hos regnbågsfiskar ökade andelen av fylumet Firmicutes, medan animaliebaserat foder (fiskmjöl och fiskolja) ledde till att tarmfloran dominerades av Proteobacteria istället (Ingerslev et al. 2014). Det är alltså väldigt många faktorer som spelar roll i hur kompositionen av mikrobiotan kommer att se ut.

1.2 Patogena bakterier i fiskodlingar

Fiskodlingsindustrin drabbas hårt av sjukdomar, vilket orsakar enorma ekonomiska förluster globalt. I synnerhet har bakteriesjukdomar blivit ett stort hinder för akvakultur eftersom bakterier kan överleva bra i vattenmiljöer utan att vara beroende av värddjuret (Pridgeon & Klesius 2012). Det finns flera olika bakterier som klassas som patogena för fisk, både Gram-positiva och Gram-negativa. Exempel på patogena Gram-positiva bakterier är *Streptococcus*, *Lactococcus* och *Renibacterium*. För de Gram-negativa är de till exempel *Flavobacterium*, *Photobacterium*, *Francisella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Edwardsiella*, *Piscirickettsia* och *Yersinia* (Pridgeon & Klesius 2012). Alla dessa bakterier kan leda till en rad olika sjukdomar, vilket orsakar stora förluster för fiskodlaren (Pridgeon & Klesius 2012).

I fiskodlingar med hög fisktäthet försämras lätt vattenkvalitet, vilket kan gynna opportunistiska patogener. Dessa patogena bakterier som till exempel *Vibrio* spp. kan ta sig in i fisken genom tarmen, gälarna eller huden vilket i sin tur kan orsaka problem (El-Saadony et al. 2021).

De bakterier som är patogena för fisk kan delas in i inhemska och icke-inhemska. De icke-inhemska bakterierna kontaminerar livsmiljön eller fisken på ett eller annat sätt, och exempel på dessa patogener är *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, *Listeria monocytogens* och *Escherichia coli* (Vanamala et al. 2022). I samma artikel talar de om att de inhemska bakterierna finns naturligt förekommande i fiskens miljö, exempel på dessa är *Aeromonas* och *Vibrio*.

De flesta bakterier som orsakar problem och sjukdom inom fiskodling är just de opportunistiska bakterierna. Opportunistiska patogener är mikroorganismer som enbart orsakar sjukdom i värden när den utsätts för stress, påfrestningar eller har ett försvagat immunförsvar (Boutin et al. 2013). Några av de vanligaste patogenerna hos fisk är bakteriesläktena *Aeromonas*, *Flavobacterium* och *Vibrio*, alla dessa är opportunistiska bakterier (Derome et al. 2016). Om balansen mellan de goda och de dåliga bakterierna i tarmen rubbas kan ett tillstånd som kallas dysbios uppstå, vilket kan leda till att skadliga bakterier får fäste och kan orsaka sjukdom (Derome et al. 2016). Ofta kan man hitta dessa potentiellt sjukdomsframkallande bakterier hos fisk som verkar helt frisk, men det är

fortfarande oklart om dessa bakterier alltid är ett latent steg i en sjukdomscykel eller inte (Austin & Austin 2016; Derome et al. 2016). Men när sådana bakterier finns i den normala mikrobiotan hos fisken utan att orsaka sjukdom kallas de för opportunistiska bakterier.

För att minska sjukdomsutbrotten är det därför viktigt att förstå hur mikrobiotan påverkas, då detta potentiellt skulle kunna reducera mängden sjukdomsutbrott och därmed mängden antibiotika som används inom fiskodlingsindustrin.

1.3 Probiotika inom fiskodling

Probiotika definieras som levande mikroorganismer som vid intag främjar god hälsa (Newaj-Fyzul & Austin 2015).

När probiotika ges till fisken via exempelvis foder samverkar de med fiskens egna mikrobiota och producerar metaboliter som stärker fiskens immunförsvar, matsmältning och hormonbalans (Chizhayeva et al. 2022). Det har även visats att probiotika kan ha hämmande effekt på patogena mikroorganismer och immunreglerande effekt i fisken, samt förbättrar tarmens skyddsbarriärer som förhindrar att skadliga ämnen som virus och bakterier tränger in, samt stimulerar tarmens rörlighet och tarmens utsöndringsfunktioner.

Probiotiska mikroorganismer kan producera ämnen som hämmar tillväxten av patogena bakterier. Exempel på sådana ämnen är bakteriociner, lysozymer, sideroforer, väteperoxid och proteaser (El-Saadony et al. 2021). I samma studie tas det även upp att dessa nyttiga bakterier också kan producera olika enzymer som underlättar nedbrytningen av näringsämnen. Det gavs som exempel att bakterier som *Aeromonas* spp., *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Clostridium* spp., *Staphylococcus* sp och Bacteroidaceae producerar enzymet amylas som kan bryta ner stärkelse, samt att *B. subtilis*, *L. plantarum* och *Staphylococcus* sp. producerar proteas och cellulas som kan bryta ned protein respektive cellulosa.

Probiotika har flera olika verkningsmekanismer för att bidra med skydd mot patogener. Dels kan de konkurrera ut patogener genom att producera hämmande föreningar, genom konkurrens om näringsämnen, kemikalier eller energi. De kan också bidra till matsmältningen, bidra till mikro- och makronäringsämnen, konkurrera om adhesionsställen, alltså ta upp plats på tarmväggen så de skadliga mikroorganismerna inte får fäste, förstärkning av värdens immunförsvar, och till sist minskning av virulens genom manipulation av quorum sensing (El-Saadony et al. 2021).

Inom humanmedicin är probiotika i allmänhet inriktat på mjölksyraproducerande bakterier, framför allt *Lactobacillus*-arter. Men även

andra mikroorganismer som exempelvis vissa jästsvampar förekommer. Inom vattenbruk tillförs probiotika antingen via fodret eller direkt i vattnet (Newaj-Fyzul & Austin 2015). Flera bakteriesläkten har diskuterats som potentiella probiotiska kandidater inom fiskodling, däribland *Aeromonas*, *Agarivorans*, *Alteromonas*, *Enterobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* och *Streptomyces* (Newaj-Fyzul & Austin 2015). I samma artikel beskrivs även flera positiva effekter av att använda probiotika. Bland annat har probiotika kopplats till förbättrad tillväxt, effektivare foderomvandling, minskad mängd bakterier i tarmen, ökad motståndskraft mot sjukdomar, samt bidragit till minskad användning av läkemedel & antibiotika.

I en annan studie såg man även där att tillsats av probiotika till fiskfodret, som *Lactococcus lactis*, *B. subtilis* och *Saccharomyces cerevisiae* resulterade i en viktökning, gav bättre överlevnadsgrad samt förbättrade fiskens hälsa (Abareethan & Amsath 2015).

En av de mest studerade och lovande formen av probiotika tillhör Firmicutes phylum, nämligen LAB (El-Saadony et al. 2021). LAB kan vara grampositiva, gomo- och heterofermentativa, eventuellt anaeroba och icke-sporbildande mikroorganismer som är relaterade till släktena *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium* och även *Tetragenococcus* (Rine et al. 2019; Zheng et al. 2020).

LAB anses vara säkert att konsumera både för människor och djur då de fått både GRAS-status (generally recognized as safe) av den Amerikanska livsmedelssäkerhetsmyndigheten FDA, samt QPS-status (qualified presumption of safety) av den europeiska livsmedelssäkerhetsmyndigheten EFSA (EFSA Panel on Biological Hazards 2021; Chizhayeva et al. 2022).

Att identifiera nya bakteriearter med probiotisk potential är en viktig del i utvecklingen av hållbara metoder för att motverka patogener som orsakar sjukdom inom akvakultur. Bakterier som kan främja fiskens hälsa och samtidigt minska behovet av antibiotika är av särskilt intresse för en mer hållbar fiskodling.

1.4 Syfte

Syftet med studien är att försöka isolera och odla upp bakteriestammar från tarmmikrobiota hos laxfiskar, samt att utvärdera potentiella probiotiska egenskaper. Detta utvärderas i denna studie genom att studera inhiberande effekter gentemot patogena bakterier för fisk.

1.5 Frågeställning

De frågeställningar som studien kommer besvara är:

- Kan vi hos friska fiskar identifiera bakterier, framför allt LAB, som potentiellt skulle kunna fungera som probiotiska stammar att använda inom fiskodling?
- Vilka LAB kan vi odla fram från insamlat fiskmaterial/fisktarmar?
- Kan de bakterier som odlas fram konkurrera ut patogena bakterier?

1.6 Hypotes

Hypotesen är att det förväntas kunna hittas LAB från fisken träckprov, och att dessa kommer kunna gå att odla fram. Dessutom antas dessa bakterier ha en probiotisk effekt som kan konkurrera ut patogena bakterier.

2. Material och metod

2.1 Studiepopulation för isolering av bakterier

Träckproven kom från 4 fiskar av arten regnbåge som vägde cirka 1 kg. Träckproverna kom från 4 olika kassodlingar med limnisk miljö, varav alla fanns i Värmland. Från samtliga odlingar förvarades träckproven i flytande kväve direkt efter att proverna samlats in.

2.2 Bakterieodling

Inför odling av bakterier förbereddes två typer av agarplattor, de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS) och Tryptic soy agar (TSA). För att kunna analysera bakterieinnehållet i de olika träckproverna förbereddes agarplattor och provrör med olika spädningar. 0,1 gram träckprov mixades tillsammans med 900 µl NaCl-lösning och proverna homogeniserades med en vortexer och därefter gjordes tiopotensspädningar där 100 µl från varje spädning applicerades på TSA och MRS agarplattor. TSA-plattorna inkuberades aerobt i rumstemperatur medan MRS-plattorna inkuberades i anaerob miljö. Bakteriekolonier som växte på de olika odlingsmedierna identifierades till artnivå med hjälp av Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Mjukvaran för MALDI-TOF MS använder en databas som kan identifiera vilken bakterie det är. När ett okänt bakterieisolat analyseras jämförs den med andra bakterieprofiler i referensdatabasen. Systemet poängsätter även den identifierade bakterien, där ett score-värde mellan 0,000 och 1,699 indikerar att identifieringen inte är möjligt, värde mellan 1,700 och 1,999 tyder på en möjlig identifikation på släktnivå men inte säkert på artnivå, ett värde mellan 2,000 och 3,000 anses ge en tillförlitlig identifiering både på släkt och artnivå (*VetBact* 2024a).

2.3 Bakteriestammar använda i studien

Totalt användes prover från 13 bakteriearter: *Pediococcus acidilactici* (två olika stammar), *Limosilactobacillus reuteri* (två olika stammar), *Lactiplantibacillus plantarum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus särimneri*, *Lactobacillus mucosae*, *Escherichia coli*, Enterotox *E. coli* (ETEC), *Yersinia ruckeri* och *Vibrio campbelli* BB120 samt *Vibrio campbelli* LMG.

2.4 Inhibitionstest

För att testa den potentiella antagonistiska effekten av olika bakteriestammar utfördes ett inhibitionstest. Inför testerna odlades respektive bakteriestam i odlingsmedier som gynnade tillväxt av respektive art och vid optimal tillväxttemperatur för bakterietypen. Alla LAB odlades i MRS buljong vid 37 °C, *V. campbelli* BB120 och *V. campbelli* LMG i marine broth vid 28 °C, *Y. ruckeri* odlades i nutrient broth med beef extract vid 22 °C, samt *E. coli* och ETEC odlades i nutrient broth med beef extract vid 37 °C.

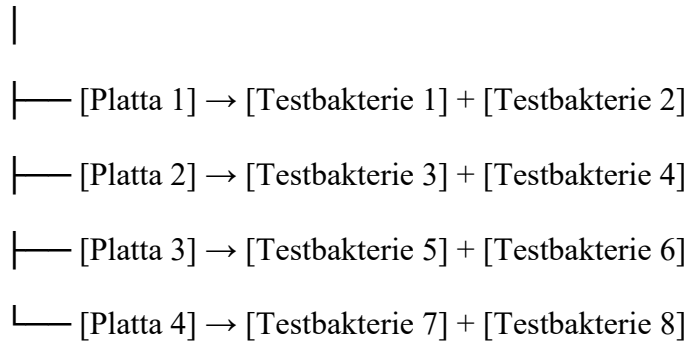
Totalt användes 10 plattor med marine agar och 15 plattor med nutrient agar med beef extract. Fem av marine agar-plattorna inokulerades med 100 µl av *V. campbelli* BB120 och fem med *V. campbelli* LMG. För nutrient agar-plattorna inokulerades fem plattor vardera med *Yersinia ruckeri*, *E. coli* och ETEC. Dessa spreds sedan ut över agarplattornas yta med en steril cellspridare. De bakterier som inokulerades benämns som målbakterier, det vill säga de bakterier vars tillväxt undersöks för eventuell hämning orsakad av testbakterierna.

Efter plattorna torkat applicerades 5 µl av varje testbakterie på de olika plattorna. Totalt testades åtta bakteriestammar: två olika stammar av *P. acidilactici* (prov 1 och 2), två olika stammar av *L. reuteri* (prov 3 och 4), *L. plantarum* (prov 5), *B. adolescentis* (prov 6), *L. särimneri* (prov 7) och *L. mucosae* (prov 8).

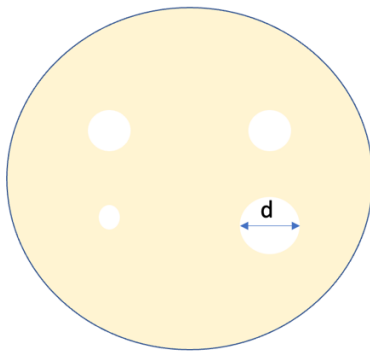
Varje agarplatta delades in i två zoner, där två olika testbakterier applicerades på var sin sida av plattan. För varje målbakterie användes fyra plattor med testbakterierna (två testbakterier per platta) (se Figur 1). På den femte plattan för LMG, *Y. ruckeri* och *V. campbelli* applicerades istället *E. coli* och ETEC på samma sätt som de åtta testbakterierna. För den femte *E. coli* plattan applicerades istället ETEC och *Y. ruckeri* och för den femte plattan ETEC applicerades *E. coli* och *Y. ruckeri*.

Därefter inkuberades alla plattor vid temperaturer som motsvarade respektive bakteriestams optimala tillväxtförhållande. Samtliga plattor inkuberades i 28 °C, med undantag för de fem plattorna med *Y. ruckeri*, som inkuberades i 22 °C. Resultatet lästes av genom att mäta diameter på inhibitionszonerna (se Figur 2).

[Målbakterie X]



Figur 1. Schematisk översikt av testupplägget.



Figur 2. Bilden visar en schematisk skiss av en agarplatta med inhibitionszoner, d =inhibitionszonsdiameter.

3. Resultat

3.1 Isolering och identifiering av bakterier

Efter cirka 72 timmar observerades bakteriekolonier från tre av fyra tarmprover på MRS-plattor. Kolonimorfologin såg likartad ut för de olika kolonierna, men storleken varierade. Bakterietillväxt observerades även på enbart en enskilda TSA-platta. För att identifiera vilka bakterier som fanns på plattorna togs kolonier ut från både MRS- och TSA-plattor, en agarplatta per träckprov valdes ut för vidare analys. Totalt undersöktes och artbestämdes 14 bakterieisolat med hjälp av MALDI-TOF MS. De bakteriearter som identifierades var *P. acidilactici*, *Pseudomonas gessardii*, *Pseudomonas koreensis* och *Stenotrophomonas rhizophila*. Av 14 bakterieisolat visades 12 av dess tillhöra *P. acidilactici* som hade ett score värde mellan 1.76 och 2.31. För resterande fyra isolat föreslogs *P. gessardii* med ett score värde på 1.85, *P. koreensis* med 1.82 och *S. rhizophila* med ett värde mellan 1.88 och 1.89.

3.2 Antagonistisk effekt mot patogener

Resultaten för inhibitionstestet mot de patogena bakterierna *V. campbelli*, *Y. ruckeri*, *E. coli* och ETEC presenteras samlat i tabellen (Tabell 1). Flera av de testade bakterierna visade antagonistisk effekt, men effekten varierade mellan de olika patogenerna.

Mot *V. campbelli* BB120 uppvisade båda stammarna av *P. acidilactici*, båda stammarna av *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. särimneri* och *L. mucosae* tydliga inhibitionszoner, med diametrar i spannet 0,3 cm - 0,9 cm. Även mot *V. campbelli* LMG noterades tydliga inhibitionszoner från båda stammarna av *P. acidilactici*, båda stammarna av *L. reuteri*, *L. plantarum* och *L. särimneri* med ett spann mellan 0,5 cm – 0,8 cm. Vid test mot *Y. ruckeri*, *E. coli* respektive ETEC observerades ingen inhiherande effekt från någon av testbakterierna. I flera fall noterades i stället tillväxt eller ingen tillväxt/påverkan alls.

Tabell 1. Sammanställning av resultat från agarplattor med olika patogener (*V. campbelli* BB120, *V. campbelli* LMG, *Y. ruckeri*, *E. coli* och ETEC). Värdena representerar medelvärden av två olika replikat för zondiameter (cm). De enskilda mätvärdena redovisas inom hakparanteser. En inhibitionszon (I) avser en klar transparent cirkel utan någon bakteriell tillväxt runt den testade bakterien, vilket indikerar en hämmande effekt på patogenen. Tillväxt (T) avser förekomst av en diffus-icke transparent cirkel på agarplattan, vilket antyder att bakterier tillvuxit utan att hämma patogenen. Ingen tillväxt innebär totalt avsaknad av bakteriell tillväxt/aktivitet på plattan. Ingen tillväxt* avser variation där en av testbakterierna fått tillväxt och den andra ingen tillväxt.

Testbakterie	<i>V. campbelli</i> BB120	<i>V. campbelli</i> LMG	<i>Y. ruckeri</i>	<i>E. coli</i>	ETEC
	Zon (cm)	Zon (cm)	Zon (cm)	Zon (cm)	Zon (cm)
<i>P. acidilactici</i> (stam 1)	0,9 (I) [0,9; 0,8]	0,8 (I) [0,8; 0,7]	0,8 (T) [0,8; 0,8]	Ingen tillväxt* [1,5; 0]	Ingen tillväxt
<i>P. acidilactici</i> (stam 2)	0,8 (I) [0,8; 0,7]	0,6 (I) [0,6; 0,6]	0,7 (T) [0,7; 0,7]	1,3 (T) [1,5; 1,0]	Ingen tillväxt
<i>L. reuteri</i> (stam 1)	0,3 (I) [0,3; 0,3]	0,6 (I) [0,6; 0,6]	Ingen tillväxt	1,0 (T) [1,1; 0,8]	Ingen tillväxt
<i>L. reuteri</i> (stam 2)	0,4 (I) [0,4; 0,3]	0,7 (I) [0,7; 0,6]	Ingen tillväxt* [1,2; 0]	0,8 (T) [0,9; 0,7]	Ingen tillväxt
<i>L. plantarum</i>	0,5 (I) [0,5; 0,5]	0,5 (I) [0,5; 0,5]	0,8 (T) [0,8; 0,8]	0,6 (T) [0,6; 0,6]	Ingen tillväxt
<i>B. adolescentis</i>	0,5 (T) [0,5; 0,5]	0,7 (T) [0,7; 0,7]	Ingen tillväxt	0,7 (T) [0,7; 0,7]	Ingen tillväxt
<i>L. särimneri</i>	0,6 (I) [0,6; 0,6]	0,6 (I) [0,6; 0,6]	1,2 (T) [1,2; 1,1]	Ingen tillväxt	Ingen tillväxt
<i>L. mucosae</i>	0,5 (I) [0,5; 0,5]	0,5 (T) [0,5; 0,5]	1,0 (T) [1,0; 0,9]	Ingen tillväxt	Ingen tillväxt
<i>E. coli</i>	0,8 (T) [1,0; 0,6]	Ingen tillväxt	Ingen tillväxt* [1,0; 0]	–	0,2 (T) [0,2; 0,2]
ETEC	0,9 (T) [0,9; 0,8]	Ingen tillväxt	Ingen tillväxt	1,2 (T) [1,5; 0,9]	–
<i>Y. ruckeri</i>	–	–	–	1,4 (T) [1,5; 1,2]	0,6 (T) [0,6; 0,6]

4. Diskussion

Syftet med denna studie var att undersöka om potentiella probiotiska bakterier, i synnerhet LAB, kan isoleras från träckprov samt att utvärdera deras antagonistiska effekt mot några utvalda patogena bakterier. Resultaten visade att en övervägande majoritet av de bakterieisolaten som isolerades från tarmen från regnbågslox tillhörde bakteriearten *P. acidilactici*, vilket är en LAB som är känd för sina probiotiska egenskaper och används bland annat i fiskfoder och inom livsmedelsindustrin. *In vitro*-tester har visat att vissa stammar av *Pediococcus* spp. som till exempel *P. acidilactici* har förmåga att motstå de tuffa förhållandena i mag-tarmkanalen (Holland et al. 2011). Detta gör den intressant eftersom en probiotisk bakterie måste kunna överleva passagen genom matsmältningssystemet för att nå tarmen och där kunna utöva sin gynnsamma effekt.

Att *P. acidilactici* vuxit fram i sådan hög grad beror med högst sannolikhet på att fiskodlingarna där träckproverna är samlade ifrån har utfodrat med foder som innehåller BACTOCELL®. Detta är en probiotisk fodertillsats som innehåller specifikt *P. acidilactici* och är den enda godkända probiotikan av den Europeiska unionen för användning på vattenlevande arter (Lallemant 2017). En möjlig förklaring till varför *P. acidilactici* inte återfanns i ett av proverna kan vara att just den anläggningen inte använde foder med detta probiotiska tillskott.

För att få något att jämföra med och därigenom stärka tolkningen av resultatet i inhibitionstestet valdes även några andra LAB att inkluderas i testet. Dessa LAB hade isolerats tidigare, men inte från fisk. Resultaten från inhibitionstestet visade att flera av testbakterierna uppvisade antagonistisk effekt mot specifika patogener. *P. acidilactici*, *L. reuteri*, *L. plantarum* och *L. särimneri* hade antagonistisk effekt mot båda *V. campbelli*-stammarna. Dessutom visade även *L. mucosae* en antagonistisk effekt mot *V. campbelli* BB120. Inhibitionszonerna för dessa varierade i diameter mellan 0,3 cm – 0,9 cm, vilket indikerar att dessa LAB har direkt hämmande effekt på tillväxten av dessa patogena bakterier. Storleken på inhibitionszonen kan indikera skillnader i den inhibitoriska effekten. Exempelvis uppvisade en av stammarna av *P. acidilactici* en zon på 0,9 cm, medan vissa andra bakterier som *L. reuteri* uppvisade en zon på 0,3 cm. Denna variation i zonstorlek tyder på att vissa LAB-stammar kan vara mer effektiva än andra i att hämma tillväxten av en viss patogen.

Dessa resultat är delvis förväntade då flera studier har visat att LAB har flera olika verkningsmekanismer och kan producera bakteriociner, lysozymer, sideroforer, proteaser, acetylaldehyd och väteperoxider, vilket kan hämma tillväxten av *Vibrio*-bakterier (Nguyen Thi Truc et al. 2019; El-Saadony et al. 2021). Därför är det logiskt att majoriteten av testbakterierna kunde hämma båda *V. campbelli*-stammarna, men inte nödvändigtvis *E. coli*, ETEC och *Y. ruckeri* på samma sätt. Trots att enbart *P. acidilactici* gick att odla fram från träckproven i

denna studie så stödjer fortfarande resultaten hypotesen om att LAB från fiskens mag-tarmkanal har en probiotisk effekt som kan konkurrera ut patogena bakterier.

För en del testbakterier uppvisades även tillväxt, det vill säga en diffus icke-transparent cirkel på agarplattan. Varför detta förekom är oklart, men det skulle kunna bero på att testbakterierna hade förmåga att växa på samma odlingsmedium som patogenen. Detta gör det därför svårt att bedöma om någon inhibitionszon uppstod. För att bättre kunna undersöka den antagonistiska effekten för de testbakterier som uppvisade tillväxt hade man exempelvis kunnat använda ett odlingsmedium som testbakterierna inte kan växa på, eller alternativt använda supernatant för att se om dessa producerar någon metabolit med hämmande effekt.

Att *E. coli* och ETEC inte inhiberades skulle kunna betyda att dessa patogener har större motståndskraft mot de LAB som testades, eller att de testade LAB saknade specifika verkningsmekanismer för att ge en antagonistisk effekt. Det är även möjligt att det skulle krävas en annan miljö, metod eller koncentration för att effekten skulle bli märkbar. Andra studier har nämligen sett att vissa LAB har en inhiberande effekt mot olika stammar av *E. coli*. Bakterierna *L. plantarum* och *P. acidilactici* lyftes som de med bäst antagonistisk effekt mot *E. coli* (Rodriguez-Palacios et al. 2009). Däremot kunde man i samma studie även se att i vissa fall stimulerades tillväxten av *E. coli* vid tillsats av LAB. Detta skulle kunna förklara en del av resultaten i denna studie, men orsaken till varför vissa LAB har en stimulerande effekt på olika stammar av *E. coli* och ETEC är fortfarande oklar och behöver fortsatt undersökas (Rodriguez-Palacios et al. 2009).

Även *L. reuteri* har i tidigare studier visat producera reuterin, vilket är en substans som har en antagonistisk effekt mot ETEC (Cleusix et al. 2007).

För *Y. ruckeri* finns det begränsad forskning om hur olika LAB interagerar med patogenen. I en studie såg man dock att LAB som *L. plantarum*, *Lactobacillus fermentum* och *Lactobacillus brevis* hade en antagonistisk effekt mot *Y. ruckeri* (Fečkaninová et al. 2019). En annan studie lyfte specifikt tre LAB tillhörande släktet *Enterococcus* (*E. thailandicus*, *E. durans* och en obestämd *Enterococcus* sp.) som visats ha inhiberande effekt mot *Y. ruckeri* (Amin et al. 2023), men däremot inget om de LAB som testades i denna studie. Då det inte finns så många studier som gjort liknande försök krävs det fortsatt forskning för att se hur olika LAB påverkar *Y. ruckeri*.

Något som är intressant är även att mellan stammar inom samma art, exempelvis för de två olika *P. acidilactici*-stammarna så fanns det variation mellan storleken på inhibitionszonerna. Detta skulle kunna betyda att de probiotiska/antagonistiska effekterna inte bara är art-specifika utan även stam-specifika. Men variationen i zonstorleken skulle även kunna vara en effekt av metodiken som användes.

En potentiell svaghet med studien är att diskdiffusionsmetoden inte användes i inhibitionstestet. Denna metod brukar i regel annars genomföras för att testa antimikrobiell aktivitet/resistens. I denna metod används filterlappar som är impregnerade med en bestämd koncentration av det ämne eller den mikroorganism som ska undersökas (*VetBact* 2024b). Att använda denna metod hade troligtvis gett mer välavgränsade och jämnt formade zoner, eftersom det troligen hade varit högre koncentration av bakterier i filterlapparna. Detta hade underlättat en mer exakt mätning av inhibitionszonens diameter. Den metoden som användes i denna studie under inhibitionstestet går fortare och är lättare att genomföra, men tenderar att ge mindre tydliga och ojämnt formade inhibitionszoner. Om ytterligare tid hade funnits eller om testet hade gjorts om hade man kunnat testa båda metoderna och sedan gjort en jämförande analys för att stärka resultatets tillförlitlighet. Om mer tid och resurser hade funnits hade man även kunnat testa fler LAB mot fler patogener för att få en tydligare bild av deras fulla antimikrobiella potential. Det är dock viktigt att notera att antagonism mot patogener bara är en av flera egenskaper som kan vara relevanta för en potentiell probiotisk bakterie. Andra egenskaper såsom förmåga att påverka mukosabarriären, modulera immunfunktion eller att konkurrera om näringämnen och adhesionsställen kan också spela roll för dess funktion och lämplighet som probiotika.

Trots vissa begränsningar visar studien på möjligheten att identifiera LAB hos friska fiskar med potentiell probiotisk potential. Särskilt *P. acidilactici*, men även *L. plantarum*, *L. särimneri*, *L. mucosae* och *L. reuteri* verkar som lovande kandidater för framtida tillämpning utifrån de tester som gjordes. Att dessa hade en antagonistisk effekt mot den välkända fiskpatogenen *V. campbelli* är särskilt relevant då sjukdomen vibrios orsakar stora problem inom fiskodlingsindustrin. För att resultaten ska kunna tillämpas i praktiken krävs dock fortsatt forskning.

4.1 Slutsats

I studien av identifikation och odling av potentiellt probiotiska bakterier hos regnbåge isolerades *P. acidilactici* från tarmprover och testades vidare för antimikrobiell aktivitet. I inhibitionstestet framkom att flera LAB som *P. acidilactici*, *L. plantarum*, *L. särimneri*, *L. mucosae* och *L. reuteri* visade antagonistisk effekt mot fiskpatogenen *V. campbelli* BB120 och *V. campbelli* LMG. Resultaten indikerar att LAB från friska fiskar har potential som probiotika, vilket är av betydelse inom akvakultur för att bekämpa sjukdomar och minska antibiotikaanvändningen. Däremot visade ingen av de LAB stammarna som utvärderades ingen antagonistisk effekt mot *Y. ruckeri*, *E. coli* eller ETEC. Detta skulle delvis kunna förklaras av metodologiska begränsningar i försöksupplägget, men det belyser också behovet att mer forskning behövs inom området för att förstå deras fulla antimikrobiella potential.

Referenser

- Abareethan, M. & Amsath, A. (2015). Characterization and Evaluation of Probiotic Fish Feed. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PURE AND APPLIED ZOOLOGY*, 3 (2), 148–153
- Amin, M., Adams, M.B., Burke, C.M. & Bolch, C.J.S. (2023). Screening and activity of potential gastrointestinal probiotic lactic acid bacteria against *Yersinia ruckeri* O1b. *Journal of Fish Diseases*, 46 (4), 369–379. <https://doi.org/10.1111/jfd.13750>
- Austin, B. & Austin, D.A. (2016). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*. Springer. https://books.google.se/books?hl=sv&lr=&id=OhRADQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&ots=ooVpKfwCZD&sig=UUL-5d_1xObRE4gz8eULWW1pf6s&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Balcázar, L.J., Decamp, O., Vendrell, D., De Blas, I. & Ruiz-Zarzuela, I. (2006). Health and nutritional properties of probiotics in fish and shellfish. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 18 (2), 65–70. <https://doi.org/10.1080/08910600600799497>
- Boutin, S., Bernatchez, L., Audet, C. & Derôme, N. (2013). Network Analysis Highlights Complex Interactions between Pathogen, Host and Commensal Microbiota. *PLOS ONE*, 8 (12), e84772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084772>
- Cao, S., Dicksved, J., Lundh, T., Vidakovic, A., Norouzitallab, P. & Huyben, D. (2024). A meta-analysis revealing the technical, environmental, and host-associated factors that shape the gut microbiota of Atlantic salmon and rainbow trout. *Reviews in Aquaculture*, 16 (4), 1603–1620. <https://doi.org/10.1111/raq.12913>
- Chizhayeva, A., Amangeldi, A., Oleinikova, Y., Alybaeva, A. & Sadanov, A. (2022). Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. *Aquatic Living Resources*, 35, 10. <https://doi.org/10.1051/alr/2022011>
- Cleusix, V., Lacroix, C., Vollenweider, S., Duboux, M. & Le Blay, G. (2007). Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiology*, 7, 101. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-101>
- Derome, N., Gauthier, J., Boutin, S. & Llewellyn, M. (2016). Bacterial Opportunistic Pathogens of Fish. I: Hurst, C.J. (red.) *The Rasputin Effect: When Commensals and Symbionts Become Parasitic*. Springer International Publishing. 81–108. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28170-4_4
- EFSA Panel on Biological Hazards (2021). Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 13: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2020. *EFSA Journal*, 19 (1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6377>
- El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Patra, A.K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M.A.O., Dhama, K. & Abdel-Latif, H.M.R. (2021). The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & Shellfish Immunology*, 117, 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>
- European Commission (2025) - *Overview of EU aquaculture (fish farming)*. https://oceans-and-fisheries.ec.europa.eu/ocean/blue-economy/aquaculture/overview-eu-aquaculture-fish-farming_en [2025-04-01]
- Fečkaninová, A., Koščová, J., Mudroňová, D., Schusterová, P., Čingel'ová Maruščáková, I. & Popelka, P. (2019). Characterization of two novel lactic acid bacteria isolated from the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Slovakia. *Aquaculture*, 506, 294–301. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.026>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024*. <https://doi.org/10.4060/cd0683en> [2025-04-01]

- Govindaraj, K., Samayanpaulraj, V., Narayanadoss, V. & Uthandakalaipandian, R. (2021). Isolation of Lactic Acid Bacteria from Intestine of Freshwater Fishes and Elucidation of Probiotic Potential for Aquaculture Application. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13 (6), 1598–1610. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09811-6>
- Holland, R., Crow, V. & Curry, B. (2011). Lactic Acid Bacteria | *Pediococcus* spp. I: Fuquay, J.W. (red.) *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. Academic Press. 149–152. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00269-7>
- Ingerslev, H.-C., von Gersdorff Jørgensen, L., Lenz Strube, M., Larsen, N., Dalsgaard, I., Boye, M. & Madsen, L. (2014). The development of the gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is affected by first feeding and diet type. *Aquaculture*, 424–425, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.032>
- Jennings, S., Stentiford, G.D., Leocadio, A.M., Jeffery, K.R., Metcalfe, J.D., Katsiadaki, I., Auchterlonie, N.A., Mangi, S.C., Pinnegar, J.K., Ellis, T., Peeler, E.J., Luisetti, T., Baker-Austin, C., Brown, M., Catchpole, T.L., Clyne, F.J., Dye, S.R., Edmonds, N.J., Hyder, K., Lee, J., Lees, D.N., Morgan, O.C., O'Brien, C.M., Oidtmann, B., Posen, P.E., Santos, A.R., Taylor, N.G.H., Turner, A.D., Townhill, B.L. & Verner-Jeffreys, D.W. (2016). Aquatic food security: insights into challenges and solutions from an analysis of interactions between fisheries, aquaculture, food safety, human health, fish and human welfare, economy and environment. *Fish and Fisheries*, 17 (4), 893–938. <https://doi.org/10.1111/faf.12152>
- Kanika, N.H., Liaqat, N., Chen, H., Ke, J., Lu, G., Wang, J. & Wang, C. (2025). Fish gut microbiome and its application in aquaculture and biological conservation. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1521048. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1521048>
- Lallemand (2017). *Probiotic lactic acid bacteria for monogastrics: BACTOCELL | Lallemand Animal Nutrition*. <https://www.lallemandanimalnutrition.com/en/europe/products/bactocell/> [2025-05-03]
- Luan, Y., Li, M., Zhou, W., Yao, Y., Yang, Y., Zhang, Z., Ringø, E., Erik Olsen, R., Liu Clarke, J., Xie, S., Mai, K., Ran, C. & Zhou, Z. (2023). The Fish Microbiota: Research Progress and Potential Applications. *Engineering*, 29, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2022.12.011>
- McEwen, S.A. & Fedorka-Cray, P.J. (2002). Antimicrobial Use and Resistance in Animals. *Clinical Infectious Diseases*, 34 (Supplement_3), S93–S106. <https://doi.org/10.1086/340246>
- Newaj-Fyzul, A. & Austin, B. (2015). Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases. *Journal of Fish Diseases*, 38 (11), 937–955. <https://doi.org/10.1111/jfd.12313>
- Nguyen Thi Truc, L., Trinh Ngoc, A., Tran Thi Hong, T., Nguyen Thanh, T., Huynh Kim, H., Pham Kim, L., Huynh Truong, G., Truong Quoc, P. & Nguyen Thi Ngoc, T. (2019). Selection of Lactic Acid Bacteria (LAB) Antagonizing *Vibrio parahaemolyticus*: The Pathogen of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Whiteleg Shrimp (*Penaeus vannamei*). *Biology*, 8 (4), 91. <https://doi.org/10.3390/biology8040091>
- Pridgeon, J.W. & Klesius, P.H. (2012). Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 7, 1–16. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20127048>
- Ridha, M.T. & Azad, I.S. (2016). Effect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*, 47 (9), 2757–2767. <https://doi.org/10.1111/are.12726>

- Rine, C.R., Pravas, C.R., Shovon, L.S., Rubayet-Ul, A. & Iqbal, K.J. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC microbiology*, 19 (1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1626-0>
- Ringø, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Refstie, S. & Krogdahl, Å. (2006). Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 261 (3), 829–841. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.030>
- Rodriguez-Palacios, A., Staempfli, H.R., Duffield, T. & Weese, J.S. (2009). Isolation of bovine intestinal *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* with inhibitory activity against *Escherichia coli* O157 and F5. *Journal of Applied Microbiology*, 106 (2), 393–401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03959.x>
- Vanamala, P., Sindhura, P., Sultana, U., Vasavilatha, T. & Gul, M.Z. (2022). Chapter 14 - Common bacterial pathogens in fish: An overview. I: Dar, G.H., Bhat, R.A., Qadri, H., Al-Ghamdy, K.M., & Hakeem, K.R. (red.) *Bacterial Fish Diseases*. Academic Press. 279–306. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85624-9.00010-5>
- VetBact* (2024a). <https://vetbact.org/index.php?displayextinfo=102&vbsearchstring=MALDI-TOF> [2025-05-16]
- VetBact* (2024b). <http://www.vetbact.org/index.php?LANG=sv&displayextinfo=144> [2025-05-10]
- Wang, J., Li, Y., Jaramillo-Torres, A., Einen, O., Jakobsen, J.V., Krogdahl, Å. & Kortner, T.M. (2023). Exploring gut microbiota in adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Associations with gut health and dietary prebiotics. *Animal Microbiome*, 5, 47. <https://doi.org/10.1186/s42523-023-00269-1>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M.A.P., Harris, H.M.B., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, M.G. & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Fiskodling är en av världens mest snabbväxande livsmedelsindustrier och har en viktig roll i att möta den ökande globala efterfrågan på mat för att minska global hunger. Men fiskodlingsindustrin står för stora utmaningar, och en av dessa är överanvändning av antibiotika för att motverka eller förebygga sjukdom hos fisk. Överanvändning av antibiotika bidrar till utveckling av antibiotikaresistens, vilket är ett allvarligt problem både för djurhälsa och folkhälsan. Som alternativ till antibiotika så väcker probiotika allt större intresse. Probiotika består av levande mikroorganismer som vid intag kan främja bättre hälsa genom att bland annat stärka immunförsvaret och motverka tillväxten av sjukdomsframkallande bakterier. Inom fiskodling skulle probiotika därmed kunna bidra till friskare fiskar och samtidigt minska behovet av antibiotikabehandling.

I denna studie undersöktes om tarmbakterier från fisken regnbåge, vilket är en vanlig art som odlas i Sverige, kan ha probiotisk potential. Detta undersöktes då tidigare studier identifierat att vissa mjölksyrabakterier, vilka ofta används i probiotika förekommer naturligt i laxfiskars tarmflora. Bakterier isolerades från tarmprov/träckprov som insamlats från fyra olika anläggningar i Värmland. Totalt isolerades 14 bakterieisolat, varav majoriteten visade sig tillhöra bakteriearten *Pedococcus acidilactici*, vilket är en mjölksyrabakterie. I studien utvärderades även om den isolerade *P. acidilactici*-stammen, samt sju andra mjölksyrabakterier uppvisade antagonistiska effekter mot fem olika patogena bakterier: *Vibrio campbelli* LMG, *Vibrio campbelli* BB120, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli* och Enterotox *E. coli* (ETEC). Resultaten visade att flera av mjölksyrabakterierna, särskilt *P. acidilactici* och *L. plantarum*, kunde hämma tillväxten av patogener som *V. campbelli* och LMG. Däremot visade ingen mjölksyrabakterie någon hämmande effekt mot *E. coli*, ETEC eller *Y. ruckeri*. Studien indikerar att fiskens naturliga tarmflora kan innehålla bakterier med probiotisk effekt, men i detta fall rörde det sig sannolikt om bakterier som tillförts via fodersupplement, vilket ändå pekar på möjligheter att främja en mer hållbar fiskodling med minskad antibiotikaanvändning. Men för att kunna tillämpa resultaten i praktiken så behövs det mer forskning inom området.

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Johan Dicksved för en värdefull handledning och stöd under hela arbetets gång. Ett särskilt tack även för hjälpen och engagemanget under labbarbetet.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

☒ JA, jag, Matilda Hallman har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse till att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.