

Animal Sciences Group

Divisie Veehouderij, kennispartner voor de toekomst



process for progress

Rapport 86

Effect van gistcultuur op de technische resultaten, darmgezondheid en immuunfunctie bij gespeende biggen

November 2007



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN UR

Colofon

Uitgever

Animal Sciences Group van Wageningen UR
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail Info.veehouderij.ASG@wur.nl
Internet <http://www.asg.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Aansprakelijkheid

Animal Sciences Group aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Liability

Animal Sciences Group does not accept any liability for damages, if any, arising from the use of the results of this study or the application of the recommendations.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstrept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Abstract

An experiment was conducted to determine the effects of yeast culture and yeast culture + mannan oligosaccharide (MOS) in pig diets on the performance, gut integrity, and immune function in weanling pigs and to determine whether these dietary supplements can replace antimicrobial growth promoters (AGP) in pig diets. The results of the study suggest that 1) yeast culture could be an alternative to AGP in diets for weanling pigs and 2) addition of MOS to diets containing yeast culture would not improve performance and immunity of weanling pigs above that of yeast culture alone.

Keywords: gut integrity, blood cell composition, performance, weanling pigs, yeast culture

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteur(s): C.M.C. van der Peet-Schwering, A.H.A.A.M. van Bussel-van Lierop, G.P. Binnendijk, H. Smidt en A.J.M. Jansman

Titel: Effect van gistcultuur op de technische resultaten, darmgezondheid en immuunfunctie bij gespeende biggen (2007)
Rapport 86

Samenvatting

Onderzocht is wat het effect is van gistcultuur en gistcultuur + mannose-oligosacchariden (MOS) in biggenvoeders op de technische resultaten, darmintegriteit en immuunfunctie bij gespeende biggen en of deze gistculturen antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB) in varkensvoeders kunnen vervangen. Uit de resultaten blijkt dat 1) gistcultuur een alternatief zou kunnen zijn voor AMGB in voeders voor gespeende biggen en dat 2) toevoeging van MOS aan voeders die gistcultuur bevatten, de technische resultaten en gezondheid van gespeende biggen niet verder verbeteren ten opzichte van alleen gistcultuur in het voer.

Trefwoorden: gespeende biggen, gistcultuur, technische resultaten, darmgezondheid, bloedcelsamenstelling



Rapport 86

Effect van gistcultuur op de technische resultaten, darmgezondheid en immuunfunctie bij gespeende biggen

Effect of yeast culture on performance, gut integrity and immune function in weanling pigs

C.M.C. van der Peet-Schwering
A.H.A.A.M. van Bussel-van Lierop
G.P. Binnendijk
H. Smidt
A.J.M. Jansman

November 2007

Samenvatting

Op Praktijkcentrum Sterksel is onderzocht wat het effect is van gistcultuur (XPC_{LS}) en gistcultuur (XPC_{LS}) + mannose-oligosacchariden (MOS) in biggenvoerders op de technische resultaten, darmintegriteit en immuunfunctie bij gespeende biggen. Daarnaast is nagegaan of deze gistculturen antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB) in varkensvoerders kunnen vervangen. In totaal werden 480 gespeende biggen (27 dagen oud en $7,8 \pm 0,1$ kg) over vier experimentele behandelingen verdeeld:

- 1) voer zonder AMGB en zonder gistcultuur (controlevoer);
- 2) voer met AMGB, maar zonder gistcultuur;
- 3) voer zonder AMGB maar met 0,125% gistcultuur XPC_{LS} ;
- 4) voer zonder AMGB maar met 0,125% gistcultuur XPC_{LS} + 0,2% MOS.

De biggen kregen dit voer gedurende 5 weken na het spenen. We hebben van acht biggen op de dag van spenen en van acht biggen per behandeling op dag 14 en 35 na het spenen bloedmonsters verzameld om deze op bloedcelsamenstelling te analyseren. Bovendien werd bij deze biggen de lengte van de villi en de diepte van de crypten in de mucosa van het jejunum bepaald; ook werd de microbiële samenstelling bepaald in de darminhoud van de dunne en dikke darm.

Van dag 1 tot dag 35 na het spenen groeiden de biggen die het controlevoer kregen langzamer ($P = 0,06$) en hadden een ongunstigere voederconversie ($P = 0,01$) dan de biggen die de andere voeders kregen. De dagelijkse voeropname werd niet beïnvloed door de voederbehandeling. De voeropname, groei en voederconversie waren vergelijkbaar bij biggen die voer kregen met AMGB, gistcultuur en gistcultuur + MOS. Het aantal uitgevallen en veterinair behandelde biggen was niet verschillend tussen de vier behandelingen. De bloedcelsamenstelling werd niet door de voederbehandeling beïnvloed, met uitzondering van het aantal bloedplaatjes; dat was lager ($P = 0,04$) bij biggen die het controlevoer kregen. De voederbehandeling had geen invloed op lengte van de villi, de diepte van de crypten en de microbiële samenstelling in het darmkanaal. De bloedcelsamenstelling, lengte van de villi, diepte van de crypten en microbiële samenstelling werden wel beïnvloed door de tijd na spenen. De waarden voor rode bloedcellen ($P = 0,006$), hemoglobine ($P < 0,001$), hematocriet ($P < 0,001$), het gemiddelde celvolume ($P < 0,001$), het gemiddelde celhemoglobine ($P = 0,003$), percentage lymfocyten ($P < 0,01$) in de leukocytenpopulatie (populatie witte bloedcellen), lengte van de villi ($P = 0,04$) en diepte van de crypten ($P < 0,001$) waren 5 weken na spenen hoger dan 2 weken na spenen. De waarde voor eosinofielen ($P = 0,06$) in de leukocytenpopulatie tendeerde naar hoger 5 weken na spenen. De concentratie van de neutrofielen in de leukocytenpopulatie ($P = 0,003$) en het percentage CD4- ($P < 0,001$) en CD8-cellen ($P = 0,02$) waren 5 weken na spenen lager dan 2 weken na spenen. De verhouding CD4/CD8 ($P = 0,07$) tendeerde naar lager 5 weken na spenen.

Uit de resultaten van het onderzoek komen aanwijzingen naar voren dat

- 1) gistcultuur een alternatief kan zijn voor AMGB in voeders voor gespeende biggen
- 2) toevoeging van MOS aan voeders die gistcultuur bevatten, de technische resultaten en gezondheid van gespeende biggen niet verder verbeteren ten opzichte van alleen gistcultuur in het voer.

Meer inzicht in het werkingsmechanisme is nodig.

Summary

An experiment was conducted to determine the effects of yeast culture (XPC_{LS}) and yeast culture XPC_{LS} + mannan oligosaccharide (MOS) in pig diets on the performance, gut integrity, and immune function in weanling pigs and to determine whether these dietary supplements can replace antimicrobial growth promoters (AGP) in pig diets. A total of 480 weanling pigs (27-d old and 7.8 ± 0.1 kg) were assigned to one of four experimental treatments:

- 1) diets without AGP and without yeast culture (control diet);
- 2) diets with AGP but no yeast culture;
- 3) diets without AGP but with 0.125% yeast culture;
- 4) diets without AGP but with 0.125% yeast culture + 0.2% MOS.

Piglets were fed treatments for five weeks post-weaning. From eight piglets at the day of weaning and from eight piglets per treatment on days 14 and 35 post-weaning, blood samples were collected to be analyzed for blood cell composition. Moreover, in these piglets, villous height and crypt depth was measured in the jejunal mucosa and microbial profiling was performed on the intestinal digesta.

From day 1 to 35 post-weaning, ADG ($P = 0.06$) tended to be lower and feed conversion ratio ($P = 0.01$) was lower in piglets that were fed the control diet compared to piglets that were fed the other diets. Average daily feed intake was not affected by dietary treatment. Performance was similar in piglets that were fed diets supplemented with AGP, yeast culture, and yeast culture + MOS.

The numbers of culled and veterinary treated piglets were not affected by dietary treatment.

Blood cell composition was not affected by dietary treatment, with the exception of the number of platelets being lower ($P = 0.04$) in piglets that were fed the control diet. Moreover, villous length, crypt depth, and microbial composition in the gut were not affected by dietary treatment.

Blood cell composition, villous length, crypt depth, and microbial composition, however, were affected by time after weaning. Red blood cells ($P = 0.006$), haemoglobin ($P < 0.001$), haematocrite value ($P < 0.001$), mean cell volume ($P < 0.001$), mean cell haemoglobin ($P = 0.003$), percentage of lymphocytes ($P < 0.01$) in the leucocyte (white blood cell) population, villous length ($P = 0.04$), and crypt depth ($P < 0.001$) were greater at five weeks post-weaning than at two weeks post-weaning. Eosinophils ($P = 0.06$) in the leucocyte population tended to be greater at five weeks post-weaning. Concentration of neutrophils in the leucocyte population ($P = 0.003$) and the percentage of CD4 ($P < 0.001$) and CD8 cells ($P = 0.02$) were lower at five weeks post-weaning. The CD4/CD8 ratio ($P = 0.07$) tended to be lower at five weeks post-weaning.

The results of the study suggest that

- 1) yeast culture could be an alternative to AGP in diets for weanling pigs
- 2) addition of MOS to diets containing yeast culture would not improve performance and immunity of weanling pigs above that of yeast culture alone.

More insight into the mode of action is needed.

Inhoudsopgave

Samenvatting

Summary

1	Inleiding	1
2	Materiaal en methode	2
2.1	Proeflocatie en proefdieren	2
2.2	Proefindeling, proefbehandelingen en huisvesting	2
2.3	Voeding en drinkwaterverstrekking	2
2.4	Waarnemingen	2
2.5	Statistische analyse	3
3	Resultaten	6
3.1	Technische resultaten	6
3.2	Uitval en veterinaire behandelingen	6
3.3	Bloedcelsamenstelling	9
3.4	Darmmorfologie	9
3.5	Microbiologie van de darm	13
4	Discussie en conclusies	16
	Literatuur	18
	Bijlagen	20
Bijlage 1	Samenstelling van de speenvoeders	20
Bijlage 2	Samenstelling van de biggenopfokkorrels	21
Bijlage 3	Effecten van voederbehandeling en leeftijd van de biggen op bloedcelsamenstelling, concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (IFABP) en morfologie van de darmwand	22

1 Inleiding

Na het spenen hebben biggen vaak diarree en is hun groeisnelheid geremd; deze verschijnselen gaan gepaard met morfologische en functionele beschadigingen van het darmkanaal (Pluske et al., 1995). Antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB) zijn van oudsher in biggenvoeders gebruikt om de problemen met speendiarree te verminderen (Mikkelsen en Jensen, 2004). Onderzoek heeft echter uitgewezen dat het gebruik van AMGB kan leiden tot bacteriële resistentie. Gerapporteerd is dat deze resistentie op mensen kan worden overgedragen (Van den Bogaard et al., 2000). Daarom is in de Europese Unie het gebruik van AMGB in biggenvoeders sinds januari 2006 verboden. Om zowel het productieniveau als de gezondheidsstatus van de biggen te handhaven, zijn alternatieven voor AMGB nodig. Gistculturen en mannose-oligosacchariden (MOS) zijn mogelijke alternatieven voor AMGB. Gistculturen zijn gedroogde, gefermenteerde producten die kleine hoeveelheden levende gistcellen (*Saccharomyces cerevisiae*) en metabolieten bevatten die door de gist tijdens de fermentatie zijn geproduceerd. Het effect van gist of gistcultuur op de technische resultaten van gespeende biggen is variabel. Door toevoeging van levende gist (Jurgens et al., 1997; Van Heugten et al., 2003) of gistcultuur (Mathew et al., 1998) werden de technische resultaten van biggen na het spenen verbeterd. Andere onderzoekers melden geen voordelen van toevoeging van gistcultuur aan het voer (Jurgens, 1995; Kornegay et al., 1995). Toevoeging van levende gist kan de productieresultaten en de gezondheid van biggen verbeteren door het immuunsysteem te stimuleren en door een goede darmomgeving te handhaven (Van Heugten et al., 2003). Mannose-oligosacchariden kunnen de technische resultaten en de gezondheid van biggen bevorderen door te voorkomen dat bacteriën zich aan darmepitheelcellen hechten (Spring et al., 2000) en door de immuunfunctie te wijzigen (Davis et al., 2004).

Het onderhavige experiment werd uitgevoerd om de effecten van gistcultuur en gistcultuur + MOS in biggenvoeders op groei, darmintegriteit en immuunfunctie bij gespeende biggen te bepalen en om vast te stellen of deze producten alternatieven zijn voor AMGB in biggenvoeders.

Diamond V heeft het onderzoek gefinancierd.

2 Materiaal en methode

2.1 Proeflocatie en proefdieren

De proef werd uitgevoerd op Praktijkcentrum Sterksel met 480 gespeende biggen (Tempo beer x (York x Nederlands landras) zeug) die gemiddeld $7,8 \pm 0,1$ kg wogen. Zes groepen van 80 biggen elk (zeugen en borgen) werden gespeend toen ze 27 dagen oud waren en 5 weken gevolgd. In de groepen 1 en 2 werden acht biggen bij spenen (vier zeugen en vier borgen) en acht biggen per behandeling (vier zeugen en vier borgen) op dag 14 en 35 na spenen gedood om monsters van de darminhoud in de dunne en dikke darm en biopsieën van de mucosa in de dunne darm te verkrijgen. Aangezien alle biggen in het onderzoek van hetzelfde gesloten bedrijf afkomstig waren, werden de biggen in groep 1 en 2 als representatief beschouwd voor alle biggen in de proef. De Dierexperimentencommissie van de Universiteit van Wageningen heeft het experiment goedgekeurd.

2.2 Proefindeling, proefbehandelingen en huisvesting

Bij het spenen werden de biggen in een van vier experimentele behandelingen ingedeeld. De voederbehandelingen bestonden uit:

1. **Controle:** voer zonder AMGB en zonder gistcultuur;
2. **AMGB:** voer met AMGB (40 ppm Avilamycine) maar zonder gistcultuur;
3. **Gistcultuur:** voer zonder AMGB maar met 0,125% gistcultuur XPC_{LS} (Diamond V, Iowa, IA);
4. **Gistcultuur + MOS:** voer zonder AMGB maar met 0,125% gistcultuur XPC_{LS} + 0,2% MOS (Diamond V, Iowa, IA).

Biggen die bij het spenen minder wogen dan 6 kg of meer dan 10 kg en biggen met zichtbare fysieke afwijkingen werden niet ingezet in de proef. De biggen werden op basis van lichaamsgewicht en speenleeftijd in blokken ingedeeld. Een blok bestond uit vier hokken van tien biggen elk (vijf borgen en vijf zeugen) waarbij elke behandeling binnen een blok was vertegenwoordigd. Elke groep biggen bestond uit twee blokken. Elke experimentele behandeling bevatte 12 herhalingen. In groep 1 en 2 werden de toomgenoten gelijk over de experimentele behandelingen verdeeld en op verschillende tijdstippen gedood om genetische factoren zo veel mogelijk uit te sluiten. Biggen werden in vier verschillende afdelingen gehuisvest, die elk acht hokken bevatten met één groep biggen per afdeling. Experimentele behandelingen werden willekeurig over hokken binnen een afdeling verdeeld. In twee afdelingen waren de afmetingen van de hokken 2,2 m x 2,2 m; ze hadden volledige roostervloeren. Deze afdelingen werden gebruikt voor groep 1 en 2 en na 6 weken opnieuw gebruikt voor groep 5 en 6. Tussen de groepen in werden de afdelingen gereinigd. In de twee andere afdelingen waren de afmetingen van de hokken 2,30 m x 1,22 m; ze hadden eveneens volledige roostervloeren. Alle afdelingen waren voorzien van een computergestuurd verwarmingssysteem en een mechanisch ventilatiesysteem.

2.3 Voeding en drinkwaterverstrekking

Gespeende biggen werden onbeperkt gevoerd via droogvoerbakken met één eetplaats. De eerste 2 weken na spenen kregen de biggen een speenvoer (bijlage 1). Tussen dag 15 en 17 werd het speenvoer vervangen door een biggenopfokkorrel (bijlage 2); dit voer werd tot aan het einde van de proef gegeven. Gistcultuur en gistcultuur + MOS werden uitgewisseld tegen maïszetmeel. De voeders waren door Arkervart-Twente geproduceerd. Drinkwater werd onbeperkt verstrekt via een drinkbakje.

2.4 Waarnemingen

Technische resultaten

Alle biggen werden individueel gewogen bij spenen, 2 weken na spenen en 5 weken na spenen. Bij elke weging is de verstrekte hoeveelheid voer per hok geregistreerd. Als er een dier uitviel, werden de datum van uitval, het gewicht van de uitgevallen big, de oorzaak van uitval, de totale hoeveelheid verstrekt voer tot dat moment en eventuele veterinaire behandelingen geregistreerd.

Immuunfunctie

Op de dag van spenen heeft men bloedmonsters genomen bij acht willekeurige biggen en op dag 14 en 35 na spenen werden bloedmonsters genomen bij acht biggen per behandeling. De bloedmonsters zijn op bloedcelsamenstelling geanalyseerd en de volgende waarden werden bepaald: rode bloedcellen (RBC), gemiddeld celvolume (MCV), gemiddeld celhemoglobine (MCH), gemiddelde celhemoglobineconcentratie (MCHC), hemoglobine (Hb), hematocrietwaarde (HCV), witte bloedcellen (WBC), bloedplaatjes, leukocyten (lymfocyten, neutrofielen, basofielen, eosinofielen en monocytten). De bloedcelsamenstelling is bepaald met een Sysmex semi-automatische bloedcel meter (Model F-800, OA Medical Electronics Co LTD, Kobe, Japan). Bovendien heeft men de concentratie darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (I-FABP) in het plasma bepaald volgens Niewold et al. (2004). De concentratie I-FABP in het plasma is een parameter waarmee men de beschadiging van de darmmucosa in biggen kan bepalen. Ook werden de CD4 (T-helpercellen), CD8-lymfocyten (cytotoxische T-suppressorcellen) en de verhouding CD4:CD8 via flowcytometrie bepaald (FACS Caliber™; FACS Calibur 3CS, BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Maagdarmkanaal

Na de verzameling van de bloedmonsters werden de biggen gedood met een injectie met T61 om monsters van de darminhoud in het ileum en biopsieën van de mucosa van het jejunum te verkrijgen. In de darminhoud werd de microbiële samenstelling bepaald door denaturerende gradiënt gel elektroforese (DGGE) om belangrijke verschuivingen in de microbiële samenstelling in de darminhoud uit het ileum te bepalen. Uit het jejunum, circa 2 m distaal van het ligament van Treitz, zijn mucosamonsters verzameld. Deze monsters werden in zoutoplossing gespoeld, op een stukje was gespeld, gefixeerd in met 10% fosfaat gebufferde formaline en in paraffinewas ingebed. Twee delen (4 to 6 µm) heeft men van elk monster verwijderd. Metingen van de hoogte van de villi (afstand van de opening van de crypte tot het uiteinde van de villus) en van de diepte van de crypte heeft men uitgevoerd in met hematoxyline en eosine gekleurde coupes bij een vergroting van 100x (Nabuurs et al., 1993). Het gemiddelde van 10 waarden werd per coupe berekend en voor verdere analyse gebruikt.

Microbiologische analyse

De monsters uit de darminhoud werden onmiddellijk gekoeld in bevroren CO₂ en tot nadere verwerking bij -80° C opgeslagen. Monsters van de darminhoud uit het ileum van vier dieren, genomen aan het begin van de experimentele periode en van vier dieren per tijdstip per behandeling (in totaal 36 monsters), werden via DGGE geanalyseerd.

DNA-isolatie, primers en PCR condities

Desoxyribonucleïnezuur (DNA) werd direct uit de monsters van de darminhoud geïsoleerd met de Fast DNA®SPIN®Kit For Soil (Q BIOgene, Cambridge, Verenigd Koninkrijk) volgens de instructies van de fabrikant en zoals beschreven door Konstantinov et al. (2004). Primers S-D-Bact-0968-a-S-GC en S-D-Bact-1401-a-A-17 (Nübel et al., 1996) werden gebruikt voor de amplificatie van de regio V6-V8 van het gen 16S rRNA met de Taq DNA-polymerase kit van Life Technologies (Gaithersburg, MD). Mengsels voor de polymerasekettingreactie (PCR) (50 µl) bevatten 0,5 µl Taq polymerase (1,25 U, 20 mM Tris-HCl (pH 8,5), 50 mM KCl, 3,0 mM MgCl₂, 200 µM van elke dNTP, 5 pmol van de primers, 1 µl DNA verdund tot circa 1 ng/µl en UV gesteriliseerd water. De monsters werden geamplificeerd in een thermocycler T1 Whatman Biometra (Göttingen, Duitsland) en de cycling bestond uit 94 °C gedurende 5 minuten; 35 cycli van 94 °C gedurende 30 seconden, 56 °C gedurende 20 seconden en 68 °C gedurende 40 seconden; en tenslotte 68 °C gedurende 7 minuten. Aliquots van 5 µl werden via elektroforese geanalyseerd op 1,2% agarosegel (gewicht/volume) met ethidiumbromide om de omvang en de hoeveelheid van het product te bepalen.

Analyse van PCR-producten via DGGE

Producten van PCR, verkregen van DNA dat uit het lumen van het ileum was geëxtraheerd, werden volgens het eerder gepubliceerde protocol (Konstantinov et al., 2004) via DGGE gescheiden. Alle gels zijn bij 400 dpi gescand en met het softwarepakket Bionumerics versie 4.5 geanalyseerd (Applied Maths, Kortrijk, België).

2.5 Statistische analyse

Technische resultaten, bloedcelsamenstelling en gegevens darmintegriteit

De gemiddelde dagelijkse groei, voeropname en voederconversie werden met gegeneraliseerde lineaire modellen geanalyseerd (GenStat, 2005) waarbij het hok als de experimentele eenheid is genomen. Het volgende model werd gebruikt.

$$Y_{ijk} = \mu + \text{groep}_i + \text{blok binnen groep}_{ij} + \text{experimentele behandeling}_k + e_{ijk}$$

waarbij Y_{ijk} = afhankelijke variabele; μ = overall gemiddelde; groep = effect van groep ($i = 1$ to 6); blok binnen groep = effect van blok j genest binnen groep i ; experimentele behandeling = effect van experimentele behandeling ($k = 1$ to 4); e_{ijk} = restterm.

Bloedcelsamenstelling, I-FABP en gegevens over darmintegriteit werden door gegeneraliseerde lineaire modellen geanalyseerd (GenStat, 2005) met de big als de experimentele eenheid. Het volgende splitplot model werd toegepast:

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{groep}_i + \text{experimentele behandeling}_k + \text{hok binnen groep}_{ij} + \text{leeftijd}_l + \text{experimentele behandeling}_k \times \text{leeftijd}_l + \text{leeftijd binnen hok}_{jl} + \text{geslacht}_m + \text{geslacht}_m \times \text{experimentele behandeling}_k + e_{ijklm}$$

waarbij Y_{ijklm} = afhankelijke variabele; μ = overall gemiddelde; groep = effect van groep ($i = 1, 2$); experimentele behandeling = effect van experimentele behandeling ($k = 1$ tot 4); leeftijd = effect van leeftijd (tijdpoint van sectie, 2 of 5 weken na spenen ($l = 1$ tot 2)); leeftijd, \times experimentele behandeling is de interactie tussen beide factoren; geslacht = effect van geslacht (zeug of borg ($m = 1$ tot 2)); hok binnen groep, leeftijd in hok en e_{ijklm} zijn random fouten. De experimentele behandeling werd getest tegen hok binnen groep. Leeftijd en de interactie leeftijd \times experimentele behandeling werden getest tegen leeftijd binnen hok. Geslacht en de interactie geslacht \times experimentele behandeling werden getest tegen e_{ijklm} .

De volgende combinaties zijn getest:

- 1) controlevoer versus voer met supplementen (behandeling 2 tot en met 4)
- 2) AMGB versus supplementatie met gistcultuur (behandeling 3 en 4)
- 3) gistcultuur versus gistcultuur + MOS

Het aantal biggen dat stierf en het aantal biggen dat veterinair is behandeld, werd geanalyseerd met de chi-kwadraattest (GenStat, 2005). Er was geen interactie tussen groep en experimentele behandeling. Daarom werd het effect van de interactie van groep \times behandeling niet vermeld.

Gegevens DGGE

Na normalisatie heeft men voor elk monster banden gedefinieerd door de zoekalgoritme in het programma toe te passen. Een handmatige controle werd uitgevoerd met de corresponderende densitometrische curven; de DGGE-banden die minder dan 1% van de totale oppervlakte van alle banden vormden, zijn uit de verdere analyse weggelaten (Konstantinov et al., 2003). De overeenkomst tussen de DGGE-profielen werd bepaald door gelijkenisindices van de densitometrische curven van de profielen te berekenen, en via de Pearson product-moment correlatie te vergelijken (Håne et al., 1993; Zoetendal et al., 2001). Men heeft de algoritme UPGMA (ongewogen paargroepmethode met rekenkundig gemiddelde) toegepast; deze algoritme is in de analysesoftware voor de constructie van boomdiagrammen geïmplementeerd.

Verschillen in gelijkenis binnen groepen (d.w.z. overeenkomst in microbiële samenstelling bij dieren van dezelfde behandeling) tussen de groepen (voederbehandeling) en verschillende leeftijd en de interacties daartussen werden op significantie getest door een tweezijdige ANOVA met het volgende model:

$$Y_{ij} = \mu + \text{experimentele behandeling}_i + \text{leeftijd}_j + (\text{experimentele behandeling} \times \text{leeftijd})_{ij} + e_{ij}$$

waarbij Y is de te onderzoeken parameter, μ is het overall gemiddelde, experimentele behandeling = effect van experimentele behandeling ($i = 1$ tot 4); leeftijd = effect van leeftijd (tijdpoint van sectie, 2 of 5 weken na spenen ($j = 1$ tot 2)); leeftijd \times experimentele behandeling is de interactie tussen beide factoren en e_{ij} is de restterm.

Het effect van toom is afzonderlijk onderzocht en was niet significant voor welke van de parameters ook. Dit werd daarom uit het statistische model verwijderd. Verschillen tussen gemiddelden van de behandelingen heeft men beoordeeld met de Tukey test van multiële vergelijkingen. Verschillen werden als significant beschouwd als $P < 0,05$. Alle statistische analyses zijn uitgevoerd met de procedure PROC GLM van het statistische programma SAS (SAS Institute, 1990).

Gini-coëfficiënten als maat voor diversiteit van de groep heeft men berekend op basis van de methode van Lorenz (1995), zoals beschreven door Mertens et al. (2005).

Multivariate statistische analyse werd uitgevoerd met CANOCO 4.5 software (Ter Braak en Šmilauer, 2002) om te beoordelen in welke mate voederbehandeling, leeftijd en toom (in het navolgende omgevingsvariabelen genoemd) van invloed waren op de microbiota in het ileum die met DGGE-profilering werd gemeten. Men heeft redundantieanalyse (RDA) gekozen, omdat hierbij de structuur van de 'species' datatabel wordt verklaard (in dit

geval bandpositie en relatieve intensiteit) door omgevingsvariabelen, waarbij is uitgegaan van een lineaire verdeling van de species (Salles et al., 2004; Ter Braak, 1987).

Overeenkomsten tussen groepen werden grafisch uitgezet door gebruik te maken van ordinatiefrafieken met een schaal die op verschillen tussen monsters is gericht (Marschner en Baumann, 2003). De groepen nominale omgevingsvariabelen, zoals behandelingen, toom, geslacht zijn door centroiden gesymboliseerd (het gemiddelde gewicht). De leeftijd (0, 2 en 5 weken na spenen) heeft men als een kwantitatieve omgevingsvariabele beschouwd en wordt gerepresenteerd als een vector waarbij de lengte en de helling van de vector significante parameters zijn. Lange vectoren die een kleinere hoek vormen met een ordinatie-as zijn sterker met die as gecorreleerd (Steenwerth et al., 2002). De positie van de centroiden die nominale variabelen representeren, bepaalt de relatie van deze variabelen met een van de ordinatie-assen (Steenwerth et al., 2002).

Om de dataverzameling op homogeniteit te onderzoeken paste men detrending correspondentieanalyse (DCA) toe, waarbij detrending door segmenten als geselecteerde methode werd toegepast. Aangezien de gradiëntlengte bij de hier geanalyseerde verzameling gegevens 3,25 bedroeg, is RDA als de toepasselijke methode gekozen (Leps en Smilauer, 2003). Om de significantie van de relatie van groepsreactie met omgevingsvariabelen te bepalen, werd een Monte Carlo permutatietest uitgevoerd met 499 random permutaties en een significantieniveau (P) van 0,05 gekozen. De permutatie was zonder restricties. Bij drie achtereenvolgende analyses werden

- a) alle omgevingsvariabelen (d.w.z. behandeling, geslacht en toom) als variabelen gebruikt,
- b) behandelingen als co-variabelen gebruikt of
- c) toom en geslacht als co-variabelen gebruikt om de significantie van deze variabelen te onderzoeken.

3 Resultaten

3.1 Technische resultaten

De technische resultaten van de biggen staan in tabel 1.

Tijdens fase 1 werden de groei en voeropname niet door voederbehandeling beïnvloed. Bij gespeende biggen die het controlevoer kregen, was de voederconversie ongunstiger ($P = 0,05$) vergeleken met gespeende biggen die het voer kregen met AMGB, gistcultuur of gistcultuur + MOS.

Tijdens fase 2 werd de voeropname niet door voederbehandeling beïnvloed. De biggen met het controlevoer groeiden langzamer ($P = 0,07$) en hadden een ongunstigere voederconversie ($P = 0,05$) dan de biggen uit de andere groepen. De technische resultaten waren vergelijkbaar bij biggen die het voer kregen dat met AMGB, gistcultuur of gistcultuur + MOS was gesupplementeerd. Tijdens de gehele experimentele periode werd de voeropname niet door voederbehandeling beïnvloed. Het lichaamsgewicht ($P = 0,05$) op dag 35 na spenen en de voederconversie ($P = 0,01$) waren lager bij biggen die het controlevoer kregen vergeleken met biggen die de andere voeders kregen. De groei ($P = 0,06$) tenderde naar lager bij biggen die het controlevoer kregen. De technische resultaten waren vergelijkbaar bij biggen die de voeders kregen die met AMGB, gistcultuur of gistcultuur + MOS waren gesupplementeerd.

3.2 Uitval en veterinaire behandelingen

De uitval van biggen, de oorzaken hiervan en het aantal en de oorzaken van veterinaire behandelingen van de biggen zijn in tabel 2 vermeld.

Het aantal uitgevallen en veterinair behandelde biggen werd niet door voederbehandeling beïnvloed. De meeste biggen stierven of zijn veterinair behandeld als gevolg van een infectie met *Streptococcus suis*. Tijdens de proef was *Streptococcus* een probleem op het proefbedrijf. In groep 3 en 4 werden alle biggen 3 dagen veterinair met depomycine behandeld voor een infectie met *Streptococcus suis*. Er waren geen verschillen in het aantal uitgevallen en behandelde biggen per specifieke oorzaak. Door gistcultuur + MOS nam ($P = 0,04$) het aantal behandelde biggen af vergeleken met gistcultuur alleen.

Tabel 1 Effecten van antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB), gistcultuur en mannose-oligosacchariden (MOS) op de technische resultaten van gespeende biggen^a

	Behandeling ^{1b}	Behandeling 2	Behandeling 3	Behandeling 4	SEM	P-waarde		
						1 vs 2, 3, 4	2 vs 3, 4	3 vs 4
Aantal biggen	120	120	120	120				
Aantal hokken	12	12	12	12				
Fase 1, dag 1 – 14								
Gewicht bij spenen (kg)	7,81	7,80	7,84	7,82	0,01	0,11	0,12	0,12
Groei (g/d)	208	231	215	219	9,5	0,22	0,23	0,79
Voeropname (kg/d)	0,29	0,30	0,29	0,30	0,010	0,48	0,30	0,60
Voederconversie	1,40	1,34	1,35	1,36	0,021	0,05	0,46	0,89
Fase 2, dag, 15 – 35								
Gewicht op dag 14 (kg)	10,7	11,0	10,9	10,9	0,13	0,18	0,28	0,89
Groei (g/d)	572	592	595	604	11,6	0,07	0,59	0,56
Voeropname(kg/d)	0,88	0,90	0,89	0,91	0,017	0,31	0,85	0,41
Voederconversie	1,54	1,51	1,50	1,50	0,017	0,05	0,56	0,72
Totale periode, dag 1 - 35								
Gewicht op dag 35 (kg)	22,7	23,5	23,3	23,6	0,31	0,05	0,96	0,61
Groei (g/d)	427	448	443	450	8,9	0,06	0,92	0,57
Voeropname (kg/d)	0,63	0,65	0,64	0,65	0,012	0,31	0,87	0,36
Voederconversie	1,51	1,47	1,47	1,47	0,012	0,01	0,87	0,62

^a De gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

^b Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS.

Tabel 2 Effecten van antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB), gistcultuur en mannose-oligosacchariden (MOS) op het aantal uitgevallen en veterinair behandelde gespeende biggen

	Behandeling 1 ^a	Behandeling 2	Behandeling 3	Behandeling 4	P-waarde		
					1 vs 2, 3, 4	2 vs 3, 4	3 vs 4
Aantal biggen opgelegd	120	120	120	120			
Aantal hokken	12	12	12	12			
Aantal uitgevallen biggen	8	6	8	6	0,65	0,74	0,58
Reden van uitval							
Beenwerkaandoening	1	0	0	0	b	b	b
Streptokokken	4	4	5	3	1,00	1,00	0,47
Achterblijven	3	2	1	1	b	b	b
Luchtwegaandoening	0	0	1	0	b	b	b
Diversen	0	0	1	2	b	b	b
Veterinair behandelde biggen	19	17	23	12	0,71	0,92	0,04
Reden van behandelen							
Beenwerkaandoening	2	4	2	1	b	b	b
Streptokokken	9	9	11	7	1,00	1,00	0,33
Achterblijven	5	2	4	1	b	b	b
Luchtwegaandoening	2	2	5	2	b	b	b
Diarree	1	0	1	1	b	b	b

^a Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS.

^b Aantallen te laag om te kunnen toetsen

3.3 Bloedcelsamenstelling

In de tabellen 3 en 4 zijn de effecten van respectievelijk de experimentele behandelingen, de leeftijd op de bloedcelsamenstelling en de concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (IFABP) vermeld. De resultaten per tijdpunt (leeftijd 2 en 5 weken na spenen) per behandeling staan afzonderlijk in bijlage 3. Er was geen significante leeftijd x voederbehandeling interactie, behalve voor de hematocrietwaarde (bijlage 3). De voederbehandelingen hadden geen effect op de bloedcelsamenstelling ten aanzien van de gemeten parameters, behalve op het aantal bloedplaatjes. Het aantal bloedplaatjes was lager ($P = 0,04$) bij biggen die het controlevervoer kregen. Er was echter wel een significant leeftijdseffect voor de meeste gemeten parameters.

Vijf weken na spenen hadden de biggen significant hogere waarden voor RBC ($P = 0,006$), Hb ($P < 0,001$), HCV ($P < 0,001$), MCV ($P < 0,001$), MCH ($P = 0,003$) en percentage lymfocyten ($P < 0,01$) in de leukocytenpopulatie (populatie witte bloedcellen) dan op een leeftijd van 2 weken na spenen. De waarde voor eosinofielen ($P = 0,06$) in de leukocytenpopulatie tendeerde naar hoger 5 weken na spenen. De concentratie neutrofielen in de leukocytenpopulatie ($P = 0,003$) en het percentage CD4- ($P < 0,001$) en CD8-cellen ($P = 0,02$) waren significant lager 5 weken na spenen dan 2 weken na spenen. De ratio CD4/CD8 ($P = 0,07$) tendeerde naar lager 5 weken na spenen. Bij biggen die gistcultuur of gistcultuur + MOS ($P < 0,05$) kregen, waren zowel CD4 als CD8 verhoogd, waardoor de ratio CD4/CD8 niet was veranderd in vergelijking met de behandeling met AMGB.

3.4 Darmmorfologie

In de tabellen 5 en 6 staan de effecten van respectievelijk de experimentele behandeling en de leeftijd van de biggen op de lengte van de villi en de diepte van de crypten in het jejunum. De lengte van de villi en de diepte van de crypten werden door de voederbehandeling niet beïnvloed. Op een leeftijd van 5 weken waren de villi langer ($P = 0,04$) en de crypten dieper ($P < 0,001$) dan op een leeftijd van 2 weken.

Tabel 3 Effecten van antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB), gistcultuur en mannose-oligosacchariden (MOS) op bloedcelsamenstelling en op de concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (IFABP)^a

	Behandeling 1 ^b	Behandeling 2	Behandeling 3	Behandeling 4	SEM	<i>P</i> -waarde		
						1 vs 2, 3, 4	2 vs 3, 4	3 vs 4
Speengewicht (kg)	8,1	8,2	8,3	8,1	0,2	0,82	0,97	0,55
WBC x 10 ⁹ /L	19,1	18,8	19,4	20,1	1,2	0,83	0,50	0,67
RBC x 10 ¹² /L	7,0	6,7	6,7	6,9	0,1	0,27	0,50	0,33
Hb (mmol/L)	6,4	6,3	6,5	6,4	0,1	0,74	0,38	0,58
HCV (%)	35,3	34,6	35,1	34,9	0,6	0,46	0,59	0,81
MCV (fL)	50,8	51,7	52,3	50,5	1,1	0,59	0,84	0,28
MCH (amol)	923	938	969	923	26	0,52	0,80	0,23
MCHC (mmol/L)	18,2	18,1	18,4	18,2	0,2	0,67	0,52	0,36
Bloedplaatjes x 10 ⁹ /L	395	512	511	440	34	0,04	0,40	0,17
Lymfocyten (%)	64,3	65,7	65,6	62,3	2,4	0,92	0,57	0,37
Neutrofielen (%)	33,8	32,1	32,8	35,4	2,2	0,90	0,46	0,42
Basofielen (%)	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,62	0,05	0,68
Eosinofielen (%)	1,6	1,5	1,1	1,6	0,3	0,62	0,64	0,30
Monocyten (%)	0,3	0,4	0,3	0,6	0,2	0,56	0,68	0,24
ln IFABP (pg/ml) ^{c,d}	5,59	5,76	5,97	5,77	0,19	0,30	0,64	0,46
ln CD4 (%) ^{c,d}	1,98	1,74	2,02	2,12	0,11	0,85	0,03	0,54
ln CD8 (%) ^{c,d}	2,16	1,98	2,38	2,51	0,13	0,40	0,01	0,51
Ratio CD4/CD8	0,96	0,88	0,81	0,78	0,13	0,40	0,58	0,86

^a De gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

^b Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS

^c Waarden werden ln-getransformeerd voorafgaand aan statistische analyse, omdat de waarden niet normaal waren verdeeld

^d Gemiddelde absolute waarden voor IFABP voor behandelingen 1, 2, 3 en 4 zijn respectievelijk 331, 470, 447, 343 pg/ml; voor CD4 8,9, 6,6, 9,2, 9,4% en voor CD8 10, 10, 13, 15%

Tabel 4 Effecten van leeftijd van de biggen op bloedcelsamenstelling en op de concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (IFABP)^a

	Spenen	2 weken	5 weken	P-waarde	SEM
Gewicht (kg)	8,3	11,8	24,6	0,59	0,1
WBC x 10 ⁹ /L	9,8	20,2	18,6	0,11	0,7
RBC x 10 ¹² /L	6,1	6,5	7,2	0,006	0,2
Hb (mmol/L)	5,1	5,6	7,2	<0,001	0,1
HCV (%)	29,2	30,6	39,4	<0,001	0,4
MCV (fL)	48,0	48,0	54,6	<0,001	0,9
MCH (amol)	839	876	1000	0,003	23
MCHC (mmol/L)	17,4	18,2	18,3	0,54	0,2
Bloedplaatjes x 10 ⁹ /L	701	501	427	0,15	34
Lymfocyten (%)	71,0	61,8	67,1	<0,01	1,2
Neutrofielen (%)	29,0	36,7	30,3	0,003	1,2
Basofielen (%)	0,1	0,1	0,3	0,12	0,1
Eosinofielen (%)	0,3	1,1	1,8	0,06	0,2
Monocyten (%)	0,0	0,3	0,5	0,17	0,1
In IFABP (pg/ml) ^{b,c}	(363) ^d	5,86	5,68	0,27	0,11
In CD4 (%) ^{b,c}	(18) ^d	2,29	1,64	<0,001	0,10
In CD8 (%) ^{b,c}	(25) ^d	2,50	2,02	0,02	0,12
Ratio CD4/CD8	0,75	0,96	0,75	0,07	0,08

^a Gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

^b Waarden werden ln-getransformeerd voorafgaand aan statistische analyse, omdat de waarden niet normaal waren verdeeld

^c Gemiddelde absolute waarden voor IFABP monsters genomen op 2 en 5 weken na het spenen bedragen respectievelijk 474 en 321 pg/ml; voor CD4 11 en 6% en voor CD8 15 en 9%

^d Absolute waarden

Tabel 5 Effecten van antimicrobiële groeibevorderaars (AMGB), gistcultuur en mannose-oligosacchariden (MOS) op lengte van de villi en diepte van de crypten in het jejunum^a

	Behandeling 1 ^b	Behandeling 2	Behandeling 3	Behandeling 4	SEM	P-waarde		
						1 vs 2, 3, 4	2 vs 3, 4	3 vs 4
Lengte villi (µm)	656	664	635	640	16	0,62	0,19	0,84
Diepte crypten (µm)	135	138	134	129	3	0,71	0,12	0,25
Ratio villi/crypten	4,87	4,85	4,74	4,95	0,10	0,84	0,94	0,16

^a Gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

^b Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0.2% MOS

Tabel 6 Effecten van leeftijd van de biggen op lengte van de villi en diepte van de crypten in het jejunum^a

	Spenen	2 weken	5 weken	P-waarde	SEM
Lengte villi (µm)	495	608	690	0,04	25
Diepte crypten (µm)	93	128	141	<0,001	2
Ratio villi/crypten	5,3	4,8	4,9	0,67	0,2

^a Gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

3.5 Microbiologie van de darm

Profileren van de bacteriële gemeenschap met RNA-fingerprinting met de ribosomale sequenties van 16S rRNA via PCR-DGGE werd toegepast om het effect van de voederbehandelingen op de microbiota in het ileum van gespeende biggen te bepalen. De DGGE fingerprints zijn in figuur 1 weergegeven. In het algemeen vertoonde het tijdstip van monsternamen het sterkste effect op de microbiota, zoals bleek uit een UPGMA-clusteranalyse op basis van een Pearson productmoment correlatie (figuur 1). Bijna alle monsters die men in week 5 had genomen, vormden een afzonderlijk cluster (monsternummer 42-72, aangegeven door de verticale zwarte balk helemaal rechts in figuur 1), terwijl geen verdere subclustering aan de hand van behandeling waarneembaar was. Dit wordt ook ondersteund door het feit dat het gemiddelde van de kleinste kwadraten van gelijkwaardigheden van monsters binnen voederbehandelingen in week 5 is toegenomen in vergelijking met week 2 (63,82 vs. 31,12; $P < 0,0001$); deze zijn in tabel 7 vermeld. Over het algemeen vertoonden monsters van voederbehandeling 2 en 3 een grotere gelijkheid binnen de behandeling dan voederbehandelingen 1 en 4 (tabel 7) (P -waarden: 1 vs. 3, $P = 0,03$; 4 vs. 2, $P = 0,0005$; 4 vs. 3, $P = 0,01$).

De gemeenschapsdiversiteit van afzonderlijke monsters, gemeten via de Gini-coëfficiënt op een schaal van 0 (lage diversiteit) tot 1 (hoge diversiteit) verschilde niet significant tussen voederbehandelingen of tijdstip van monsternamen (tabel 8). Dit wijst erop dat noch behandeling noch tijdstip een dramatische verandering in de bacteriële diversiteit teweegbracht.

Om deze waarnemingen verder te ondersteunen werd multivariate statistische analyse uitgevoerd met het Canoco softwarepakket. In overeenstemming met bovenstaande analyses was tijd de enige factor die een significante ($P = 0,002$) invloed had op de structuur van de bacteriële gemeenschap in het ileum (figuur 2), terwijl geslacht, toom of voederbehandelingen geen significant effect hadden ($P \geq 0,10$). Dit is ook afgebeeld in figuur 2, waar de centroiden die representatief zijn voor de voederbehandelingen dicht bij het centrum van de ordinatiegrafiek liggen, terwijl de tijd sterk aan de eerste canonica as is gecorreleerd.

Tabel 7 Overeenkomsten van bacteriële gemeenschapsprofielen tussen monsters binnen behandelgroepen, op basis van Pearson productmoment correlatie. Gemiddelden van kleinste kwadraten zijn vermeld met standaardfouten.

		LSM (%) ¹	LSM (%) ²
Behandeling 1 ^a	week 2	28,56 ± 6,36	34,20 ± 4,22 ^c
	week 5	52,69 ± 6,36	
Behandeling 2	week 2	26,60 ± 6,36	51,00 ± 4,22 ^b
	week 5	79,20 ± 6,36	
Behandeling 3	week 2	48,73 ± 6,36	45,14 ± 4,22 ^b
	week 5	65,38 ± 6,36	
Behandeling 4	week 2	20,57 ± 6,36	26,76 ± 4,22 ^c
	week 5	58,01 ± 6,36	

^a Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS

¹ LSM (least square means; gemiddelde kleinste kwadraten), van overeenkomsten over vier monsters binnen behandeling en tijdstip (week 2 of week 5)

² LSM (least square means; gemiddelde kleinste kwadraten)overeenkomsten over acht monsters binnen behandeling over beide tijdstippen (week 2 en week 5)

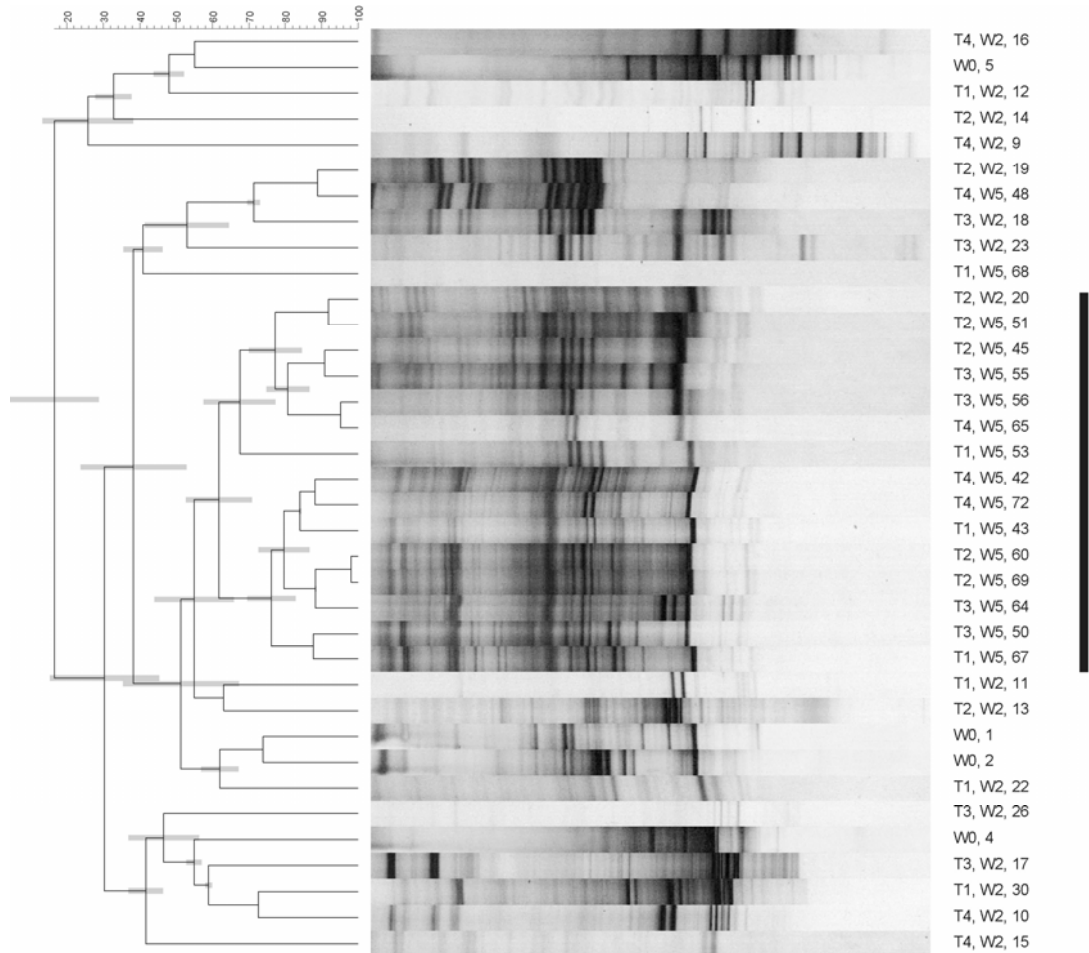
Tabel 8 Gemiddelde diversiteitsindices van bacteriële gemeenschapsprofielen binnen behandelingsgroepen, op basis van Gini-coëfficiënten

		Gemiddelde ^b	Gemiddelde ^b
Behandeling 1 ^a	week 2	0,60 ± 0,06	0,64 ± 0,09
	week 5	0,67 ± 0,11	
Behandeling 2	week 2	0,61 ± 0,09	0,62 ± 0,06
	week 5	0,63 ± 0,04	
Behandeling 3	week 2	0,70 ± 0,11	0,67 ± 0,08
	week 5	0,63 ± 0,03	
Behandeling 4	week 2	0,64 ± 0,05	0,62 ± 0,05
	week 5	0,61 ± 0,06	

^a Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS

^b Gini-coëfficiënt op een schaal van 0 (lage diversiteit) tot 1 (hoge diversiteit). Dit is een maat voor de diversiteit van de microbiële populatie binnen een monster

Figuur 1 Profilering van de bacteriële gemeenschap met RNA-fingerprinting met ribosomale sequenties van 16S rRNA met PCR-DGGE van de totale bacteriële gemeenschap in monsters afkomstig uit het ileum. De overeenkomst tussen monsters is aangegeven door de boomstructuur aan de linkerkzijde en de schaal in de linkerbovenhoek van de figuur. Behandelingen, met inbegrip van monsternametype, zijn met verschillende codes aangegeven. Monsternummers 1-5 (vier monsters; week 0 (W0)(aan het begin van de experimentele periode)), monsternummers 5-30 (16 monsters; week 2 (W2)) en monsternummers 42-72 (16 monsters; week 5 (W5)). T1 tot en met T4 is proefbehandeling 1 tot en met 4. De verticale zwarte balk helemaal rechts geeft een groep monsters aan die bijna uitsluitend in week 5 zijn afgenomen.



4 Discussie en conclusies

Technische resultaten

Door toevoeging van AMGB, gistcultuur en gistcultuur + MOS aan het voer verbeterden het lichaamsgewicht op dag 35, de groei en voederconversie van gespeende biggen in vergelijking met gespeende biggen die het controlevoer kregen. Positieve effecten van AMGB in voer van biggen zijn veelvuldig gemeld (Anderson et al., 1999; Freitag et al., 1999), hoewel het exacte werkingsmechanisme nooit goed is gedefinieerd. De biggen die het voer met de gistcultuur kregen, hadden vergelijkbare technische resultaten als de biggen die het voer met AMGB kregen. Dit komt overeen met de resultaten van een onderzoek dat door Van Krimpen en Binnendijk is uitgevoerd (2001), waarbij biggen met voer gesupplementeerd met AMGB (40 ppm Avilamycine) of met levende gistcellen (*Saccharomyces cerevisiae* CS47) betere technische resultaten hadden dan de negatieve controlebiggen.

De productierespons op levende gistcellen of op gistcultuur liep echter uiteen. Bij onderzoeken van Jurgens (1995) en van Kornegay et al. (1995) werden de technische resultaten van de biggen niet verbeterd door de toevoeging van gistcultuur aan het voer, terwijl bij een onderzoek van Mathew et al. (1998) de technische resultaten na het spenen wél verbeterde. Het werkingsmechanisme van levende gistcellen en van gistcultuur is niet precies duidelijk, hoewel is gesuggereerd dat gistproducten mogelijk het immuunsysteem stimuleren en een gunstige darmomgeving handhaven (Van Heugten et al., 2003) of de intestinale immuniteit verbeteren (Jurgens et al., 1997).

De technische resultaten van biggen die het voer met gistcultuur + MOS kregen, waren vergelijkbaar met die van de biggen die voer met alleen gistcultuur kregen. In verschillende onderzoeken is aangetoond dat de technische resultaten van biggen verbeteren door de toevoeging van MOS aan het voer (Davis et al., 2004; Rozeboom et al., 2005). Er zijn echter ook onderzoeken waarbij MOS geen effect heeft op de technische resultaten van de biggen (LeMieux et al., 2003). Uit ons onderzoek komen aanwijzingen naar voren dat MOS bij een concentratie van 2 g/kg geen additioneel effect heeft op de technische resultaten als het wordt toegevoegd aan een voer dat een gistcultuur bevat. Een mogelijke verbetering van de technische resultaten als gevolg van MOS wordt mogelijk gemaskeerd door de opname van gistcultuur in het voer, omdat zowel MOS (Spring et al., 2000; Davis et al., 2004) als gist (Van Heugten et al., 2003) van invloed kunnen zijn op de immuunfunctie en op de microflora in het maag-darmkanaal.

Bloedcelsamenstelling, darmintegriteit en microbiologie van de darm

Om meer inzicht te krijgen in het werkingsmechanisme van een gistcultuur hebben we in ons onderzoek de bloedcelsamenstelling, darmintegriteit en intestinale microflora bepaald. Gesuggereerd is wel dat gist of gistcelwanden in staat zijn het immuunsysteem te moduleren. Dit mechanisme kan bijdragen aan het positieve effect van gisten of gistcultuur als voedingssupplement in biggenvoerders.

Davis et al. (2004) vonden dat bij biggen de technische resultaten verbeterden en dat een modulatie van de werking van het immuunsysteem optrad nadat gefosforyleerde mannosen van *Saccharomyces cerevisiae* aan het voer waren toegevoegd. Ze vonden een geringere concentratie van neutrofielen (verantwoordelijk voor de fagocytose van pathogenen in de vroege stadia van een acute ontsteking) en een grotere relatieve hoeveelheid lymfocyten in het bloed van de groep die met mannose was gevoerd in vergelijking met een controlegroep die geen supplementen kreeg. Ook namen ze waar dat de ratio CD3+CD4+: CD3+CD8+ T-lymfocyten in de lamina propria van het jejunumweefsel lager was. In het algemeen ging een toename van het aantal neutrofielen in het bloed als eerste verdedigingslijn gepaard met klinische en subklinische infectie.

Bij het onderhavige onderzoek werd echter geen effect van voederbehandelingen op de concentratie witte bloedcellen en het percentage lymfocyten of neutrofielen binnen de populatie witte bloedcellen waargenomen. Het relatieve aantal neutrofielen was echter significant hoger bij alle behandelingsgroepen bij 2 weken in vergelijking met 5 weken na spenen. De hogere concentratie neutrofielen 2 weken na het spenen kan in verband worden gebracht met het kortere interval tussen het spenen en de daarmee gepaard gaande metabolische, fysiologische en immunologische effecten en het eerste tijdstip van bloedbemonstering. Het speenproces heeft mogelijk het immuunsysteem geactiveerd en ontsteking van het darmweefsel wordt mogelijk geïnduceerd door de verhoogde concentratie pro-inflammatoire en inflammatoire cytokinen (Verdonk, 2005). Ook vertonen biggen die zijn blootgesteld aan stress, zoals spenen, een verhoogd relatief aantal neutrofielen in het bloed (Morrow-Tesch et al., 1994).

De functionele status van de dunne darm wordt ten dele gekarakteriseerd door de lengte van de villi en de diepte van de crypten. Tijdens de eerste dagen na het spenen neemt de lengte van de villi af. Een verhoogde snelheid van celverlies en een afgenomen vervangingssnelheid veroorzaken atrofie van de villi.

Een toegenomen celverlies is mogelijk het gevolg van apoptose of geprogrammeerde celdood. Apoptose kan door endogene stressoren worden beïnvloed, zoals oxidatieve belasting en via extrinsieke routes die worden geactiveerd door binding van speciale ligands zoals $TNF\alpha$ op het celoppervlak (Fleck & Carey, 2005). Bij het onderhavige onderzoek zijn geen significante effecten aangetoond van de voederbehandelingen op lengte van de villi, diepte van de crypten, of ratio villi/crypten, hoewel de voerbehandelingen werden toegepast tijdens de periode waarin de darmmorfologie vermoedelijk door het proces van spenen onder druk stond. Ook werd de concentratie van I-FABP in het bloed niet door de voerbehandelingen beïnvloed. Darmspecifiek vetzuurbindend eiwit troffen we alleen aan in de epitheelcellen van de maag en dunne en dikke darm en kan na celbeschadiging in plasma en urine worden gedetecteerd. De concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit in plasma kunnen we daarom beschouwen als maat voor de celbeschadiging van de mucosa in het darmkanaal. Door reductie van de intestinale zuurstoftoevoer bij biggen als middel om metabolische stress te induceren op de intestinale mucosa, bleek intestinale celbeschadiging te worden geïnduceerd en de concentratie van I-FABP in plasma te worden verhoogd (Niewold et al., 2004). Zowel bij 2 als bij 5 weken na het spenen was er geen verschil in de concentratie van I-FABP tussen de voerbehandelingen. Gemiddeld waren FABP-concentraties numeriek lager bij biggen 5 weken na het spenen vergeleken met 2 weken na het spenen. De resultaten suggereren dat intestinale celbeschadiging niet werd beïnvloed door de voerbehandelingen op deze twee tijdstippen. Dit sluit niet uit dat er korter na het moment van spenen (bijv. in de eerste week) wel verschillen bestaan.

De microflora in het spijsverteringskanaal van biggen draagt op verschillende wijzen bij aan het verdedigingsmechanisme van het dier. Een van de belangrijkste eigenschappen van een stabiele microflora in het maagdarmkanaal is het voorkómen van kolonisering door pathogene bacteriën (weerstand tegen kolonisering). Aangetoond is dat microbiële samenstelling in verschillende delen van het maagdarmkanaal van biggen door modificatie van de voeding kan worden beïnvloed. Zowel de grondstoffsamenstelling als voedingssupplementen (bijv. prebiotica), zijn mogelijk van invloed op de samenstelling van de microflora in het maagdarmkanaal (Anderson et al., 1999). Bij het onderhavige onderzoek bleken op basis van DGGE-analyse geen duidelijke effecten van de voerbehandelingen op de microbiële samenstelling op het niveau van het ileum. Alleen het tijdeffect (2 versus 5 weken na het spenen) leek een belangrijke factor te zijn bij het verklaren van de verschillen tussen profielen in de monsters van het onderhavige experiment. Dat wijst erop dat de microflora in het maagdarmkanaal tijdens de eerste weken na het spenen niet stabiel is. Dit stemt goed overeen met eerdere onderzoeken van de ontwikkeling van de microbiota bij jonge dieren (Konstantinov et al., 2006). We merken op dat de voersamenstelling grotendeels gelijk was wat betreft de kwantitatieve samenstelling van de grondstoffen. De hoeveelheid MOS in behandeling 4, een stof die we kunnen beschouwen als substraat voor microbiële groei in het maagdarmkanaal (2 g/kg), was mogelijk relatief zo laag dat deze geen duidelijke invloed had op de microbiële samenstelling op het niveau van het ileum.

Uit het onderhavige onderzoek kunnen we concluderen dat gistcultuur een alternatief voor AMGB kan zijn in voeders voor gespeende biggen. Het is niet gebleken dat toevoeging van 2 g/kg MOS aan een voer met een gistcultuur, een additioneel voordeel had voor gespeende biggen. Nader onderzoek is nodig om een beter inzicht te krijgen in het werkingsmechanisme van gistcultuur in biggenvoeders, al dan niet in combinatie met prebiotische substraten zoals MOS.

Literatuur

- Anderson, D. B., V. J. McCracken, R. I. Aminov, J. M. Simpson, R. I. Mackie, M. W. A. Verstegen, and H. R. Gaskins. 1999. Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Pig News and Information*, 20:115N-122N.
- CVB. 2005. Veevoedertabel. Centraal Veevoederbureau, Lelystad, The Netherlands.
- Davis, M. E., C. V. Maxwell, G. F. Erf, D. C. Brown, and T. J. Wistuba. 2004. Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 82:1882-1891.
- Freitag, M., H. U. Hensche, H. Schulte-Sienbeck, and B. Reichelt. 1999. Biological effects of conventional and alternative performance enhancers. *Feed Magazine* 2:50-57.
- GenStat 8. 2005. Genstat Release 8 Reference Manual. VSN International, Wilkinson House, Jordan Hill Road, Oxford, UK.
- Häne B. G., K. Jäger, and H. G. Drexler. 1993. The Pearson product-moment correlation coefficient is better suited for identification of DNA fingerprint profiles than band matching algorithms. *Electrophoresis* 14:967-972
- Jurgens, M. H. 1995. Performance of weanling pigs fed diets containing yeast culture and/or antibiotic. Pages 417-422 in *Research Investment Report. Natl. Pork Prod. Council., Des Moines, IA.*
- Jurgens, M. H., R. A. Rikabi, and D. R. Zimmerman. 1997. The effect of dietary active dry yeast supplement on performance of sows during gestation-lactation and their pigs. *J. Anim. Sci.* 75:593-597.
- Konstantinov S. R., A. Awati, H. Smidt, B. A. Williams, A. D. L. Akkermans, and W. M. de Vos. 2004. Specific response of a novel and abundant *Lactobacillus amylovorus*-like phylotype to dietary prebiotics in the ileum and colon of weanling piglets. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:3821-3830.
- Konstantinov S.R., A. Awati, B.A. Williams, B.G. Miller, P. Jones, C.R. Stokes, A.D.L. Akkermans, H. Smidt, and W.M. de Vos. 2006. Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities. *Environ. Microbiol.* 8: 1191-1199.
- Konstantinov S.R., W-Y. Zhu, B. A. Williams, S. Tamminga, W. M. de Vos, and A. D. L. Akkermans. 2003. Effect of fermentable carbohydrates on faecal bacterial communities as revealed by DGGE analysis of 16S rDNA. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43:225-235.
- Kornegay, E. T., D. Rhein-Welker, M. D. Lindemann, and C. M. Wood. 1995. Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by yeast culture additions to starter diets containing dry whey or one of two fiber sources. *J. Anim. Sci.* 73:1381-1389.
- LeMieux, F. M., L. L. Southern, and T. D. Bidner. 2003. Effect of mannan oligosaccharides on growth performance of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 81:2482-2487.
- Lepš, J., and P. Šmilauer. 2003. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO.* Cambridge: University Press
- Lorenz M. O. 1995. Methods of measuring concentrations of wealth. *J. Am. Stat. Assoc.* 9:209-219.
- Marschner P., and K. Baumann. 2003. Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize. *Plant and Soil.* 251:279-289.
- Matthew, A. G., S. E. Chattin, C. M. Robbins, and D. A. Golden. 1998. Effects of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and performance of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 76:2138-2145.

- Mertens B., N. Boon, and W. Verstraete. 2005. Stereospecific effect of hexachlorocyclohexane on activity and structure of soil methanotrophic communities. *Environ. Microbiol.* 7:660-669.
- Mikkelsen, L. L., and B. B. Jensen. 2004. Effect of fructo-oligosaccharides and transgalacto-oligosaccharides on microbial populations and microbial activity in the gastrointestinal tract of piglets post-weaning. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:107-119.
- Morrow-Tesch, J. L., J. J. Mcglone, and J. L. Salak-Johnson. 1994. Heat and social stress effects on pig immune measures. *J. Anim. Sci.* 72:2599-2609.
- Nabuurs, M. J. A., A. Hoogendoorn, E. J. van der Molen, and A. L. M. Osta. 1993. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. *Res. Vet. Sci* 55:78-84.
- Niewold. T. A., M. Meinen, and J. Van der Meulen. 2004. Plasma intestinal fatty acid binding protein (IFABP) concentrations increase following intestinal ischemia in pigs. *Res. Vet. Sci.* 77:89-91.
- Nübel U., B. Engelen, A. Felske, J. Snaidr, A. Wieshuber, R. I. Amann, W. Ludwig W, and H. Backhaus. 1996. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNA in *Paenibacillus polymixa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *J. Bacteriol.* 178:5636-5643.
- Pluske, J. R., I. H. Williams, and F. X. Aherne. 1995. Nutrition of the neonatal pig. In: M. A. Varley (Ed.) *The neonatal pig: development and survival*. Pp. 187-235. CAB International, Wallingford, UK.
- Rozeboom, D. W., D. T. Shaw, R. J. Tempelman, J. C. Miguel, J. E. Pettigrew, and A. Connolly. 2005. Effect of mannan oligosaccharide and an antimicrobial product in nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. *J. Anim. Sci.* 83:2637-2644.
- Salles J.F, J. A. van Veen, and J. D. van Elsas. 2004. Multivariate analyses of Burkholderia species in soil: effect of crop and land use history. *Appl Environ Microbiol.* 70:4012-4020.
- SAS. 1990. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Spring, P., C. Wenk, K. A. Dawson, and K. E. Newman. 2000. The effects of dietary mannan oligosaccharides on cecal parameters and the concentration of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. *Poult. Sci.* 79:205-211.
- Steenwerth K. L., F. J. Jackson LEC, M. R. Stromberg, and K. M. Scow. 2002. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland ecosystems of coastal California. *Soil Biol. Biochem.* 34:1599-1611.
- Ter Braak C. J. F. 1987. The analysis of vegetation-environment relationships by canonical correspondence analysis. *Vegetatio.* 69:69-77.
- Ter Braak C. J. F., and P. Šmilauer. 2002. *CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Microcomputer Power, Ithaca NY, USA.
- Van den Boogaard, A. E. J. M. 2000. Public health aspects of bacterial resistance in food animals. Ph. D. Dissertation, Universitaire Pers, Maastricht, The Netherlands.
- Van Heugten, E., D. W. Funderburke, and K. L. Dorton. 2003. Growth performance, nutrient digestibility, and fecal microflora in weanling pigs fed live yeast. *J. Anim. Sci.* 81:1004-1012.
- Van Krimpen, M. M., and G. P. Binnendijk. 2001. Biosaf as alternative for antimicrobial growth promoters in diets of weanling pigs [in Dutch]. *Praktijkrapport 202*. Animal Sciences Group, Lelystad, The Netherlands.
- Verdonk, H. 2005. Nutritional strategy affects gut integrity in weaned piglets. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands.

Bijlagen

Bijlage 1 Samenstelling van de speenvoeders

	Controlevoer	AMGB ¹	Gistcultuur	Gistcultuur + MOS ²
Grondstof, g/kg				
Gerst	439,3	439,3	439,3	439,3
Tarwe	200,0	200,0	200,0	200,0
Sojaschroot	107,8	107,8	107,8	107,8
Aardappelwit	37,8	37,8	37,8	37,8
Weipoeder	83,0	83,0	83,0	83,0
Zonnebloemschroot	15,0	15,0	15,0	15,0
Melasse, riet	30,0	30,0	30,0	30,0
Sojaolie	39,6	39,6	39,6	39,6
Kalk	8,8	8,8	8,8	8,8
Monocalciumfosfaat	8,9	8,9	8,9	8,9
Zout	2,0	2,0	2,0	2,0
Calciumformiaat	7,5	7,5	7,5	7,5
Mierenzuur	10,0	10,0	10,0	10,0
Maïszetmeel	4,00	4,00	2,75	0,75
XPC_{LS}³	0,00	0,00	1,25	0,00
XPC_{LS}+MOS⁴	0,00	0,00	0,00	3,25
L-lysine HCL	2,7	2,7	2,7	2,7
DL-methionine	1,1	1,1	1,1	1,1
L-threonine	0,3	0,3	0,3	0,3
L-tryptofaan	0,2	0,2	0,2	0,2
Premix zonder Avilamycine ⁵	2,0	0,0	2,0	2,0
Premix met Avilamycine ⁶	0,0	2,0	0,0	0,0
Berekende samenstelling, g/kg				
EW	1,12	1,12	1,12	1,12
Ruw as	64,1	64,1	64,1	64,1
Ruw eiwit	180,0	180,0	180,0	180,0
Ruw vet	57,5	57,5	57,5	57,5
Ruwe celstof	33,0	33,0	33,0	33,0
Zetmeel	345,8	345,8	345,8	345,8
Suiker	81,2	81,2	81,2	81,2
Calcium	9,0	9,0	9,0	9,0
Fosfor	6,3	6,3	6,3	6,3
Koper (mg/kg)	165	165	165	165
Zink (mg/kg)	88	88	88	88
Darmverteerbaar lysine	10,2	10,2	10,2	10,2
Geanalyseerde samenstelling, g/kg				
Ruw as	66,5	64,6	66,4	66,0
Ruw eiwit	184,1	180,2	183,2	182,3
Ruwe celstof	32,6	30,6	33,5	34,0
Fosfor	6,9	6,9	6,8	6,8
Calcium	11,2	11,4	11,4	11,5
Avilamycine (mg/kg)	-	35	-	-

¹ AMGB: antimicrobiële groeibevorderaar

² MOS: mannose-oligosacchariden

³ XPC_{LS} is de gistcultuur die aan het voeder werd toegevoegd

⁴ XPC_{LS} + MOS: 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS werd aan het voeder toegevoegd

⁵ Leverde de volgende nutriënten per kg voer: vitamine A, 10.000 IE; vitamine D3, 2000 IE; vitamine E, 20 mg; thiamine, 1 mg; riboflavine, 4 mg; niacine, 25 mg; d-pantotheenzuur, 15 mg; pyridoxine, 1,5 mg; cholinechloride, 100 mg; vitamine B12, 20 ug; foliumzuur, 0,2 mg; biotine, 25 ug; kobalt, 0,15 mg (in de vorm van CoSO4.7H2O); koper, 160 mg (in de vorm van CuSO4.5H2O); mangaan, 30 mg (in de vorm van MnO2); ijzer, 150 mg (in de vorm van FeSO4.7H2O); zink, 65 mg (in de vorm van ZnO); jodium, 0,5 mg (in de vorm van KI); seleen, 0,30 mg (in de vorm van Na2SeO3.5H2O)

⁶ Premix zonder Avilamycine plus 40 mg Avilamycine

Bijlage 2 Samenstelling van de biggenopfokkorrels

	Controlevoer	AMGB ¹	Gistcultuur	Gistcultuur + MOS ²
Grondstof, g/kg				
Gerst	449,6	449,6	449,6	449,6
Tarwe	200,0	200,0	200,0	200,0
Sojaschroot	151,9	151,9	151,9	151,9
Aardappelwit	25,0	25,0	25,0	25,0
Weipoeder	40,0	40,0	40,0	40,0
Zonnebloemschroot	15,0	15,0	15,0	15,0
Melasse, riet	30,0	30,0	30,0	30,0
Sojaolie	34,7	34,7	34,7	34,7
Kalk	12,2	12,2	12,2	12,2
Monocalciumfosfaat	11,6	11,6	11,6	11,6
Zout	2,0	2,0	2,0	2,0
Calciumformiaat	7,5	7,5	7,5	7,5
Fumaarzuur	10,0	10,0	10,0	10,0
Maiszetmeel	4,00	4,00	2,75	0,75
XPC_{LS}³	0,00	0,00	1,25	0,00
XPC_{LS}+MOS⁴	0,00	0,00	0,00	3,25
L-lysine HCL	2,9	2,9	2,9	2,9
DL-methionine	1,0	1,0	1,0	1,0
L-threonine	0,5	0,5	0,5	0,5
L-tryptofaan	0,1	0,1	0,1	0,1
Premix zonder Avilamycine ⁵	2,0	0,0	2,0	2,0
Premix met Avilamycine ⁶	0,0	2,0	0,0	0,0
Berekende samenstelling, g/kg				
EW	1,09	1,09	1,09	1,09
Ruw as	65,4	65,4	65,4	65,4
Ruw eiwit	180,0	180,0	180,0	180,0
Ruw vet	50,9	50,9	50,9	50,9
Ruwe celstof	35,0	35,0	35,0	35,0
Zetmeel	351,5	351,5	351,5	351,5
Suiker	65,4	65,4	65,4	65,4
Calcium	10,4	10,4	10,4	10,4
Fosfor	6,6	6,6	6,6	6,6
Koper (mg/kg)	165	165	165	165
Zink (mg/kg)	90	90	90	90
Darmverteerbaar lysine	9,9	9,9	9,9	9,9
Geanalyseerde samenstelling, g/kg				
Ruw as	63,1	63,7	61,0	62,5
Ruw eiwit	188,2	185,0	192,4	191,5
Ruwe celstof	33,5	35,9	34,3	34,9
Fosfor	7,1	7,0	7,0	7,0
Calcium	11,3	11,3	11,4	11,1
Avilamycine (mg/kg)	-	31	-	-

¹ AMGB: antimicrobiële groeibevorderaar² MOS: mannose-oligosacchariden³ XPCIs is de gistcultuur die aan het voeder werd toegevoegd⁴ XPCIs + MOS: 0,125% gistcultuur + 0,2% MOS werd aan het voeder toegevoegd⁵ Leverde de volgende nutriënten per kg voer: vitamine A, 10.000 IE; vitamine D3, 2000 IE; vitamine E, 20 mg; thiamine, 1 mg; riboflavine, 4 mg; niacine, 25 mg; d-pantotheenzuur, 15 mg; pyridoxine, 1,5 mg; cholinechloride, 100 mg; vitamine B12, 20 ug; foliumzuur, 0,2 mg; biotine, 25 ug; kobalt, 0,15 mg (in de vorm van CoSO₄.7H₂O); koper, 160 mg (in de vorm van CuSO₄.5H₂O); mangaan, 30 mg (in de vorm van MnO₂); ijzer, 150 mg (in de vorm van FeSO₄.7H₂O); zink, 65 mg (in de vorm van ZnO); jodium, 0,5 mg (in de vorm van KI); seleen, 0,30 mg (in de vorm van Na₂SeO₃.5H₂O)⁶ Premix zonder Avilamycine plus 40 mg Avilamycine

Bijlage 3 Effecten van voederbehandeling en leeftijd van de biggen op bloedcelsamenstelling, concentratie van darmspecifiek vetzuurbindend eiwit (IFABP) en morfologie van de darmwand

Behandeling	2 weken na spenen				5 weken na spenen				Behandeling x leeftijd	
	1 ^b	2	3	4	1	2	3	4	P-waarde	SEM
Gewicht (kg)	12,0	12,6	12,0	10,4	23,5	24,2	24,9	26,0	0,14	0,9
WBC x 10 ⁹ /L	19,3	20,2	20,1	21,1	19,0	17,3	18,7	19,2	0,80	1,5
RBC x 10 ¹² /L	6,6	6,5	6,2	6,5	7,3	7,0	7,3	7,3	0,79	0,3
Hb (mmol/L)	5,7	5,7	5,4	5,5	7,1	6,9	7,6	7,3	0,07	0,2
HCV (%)	31,6 ^x	31,1 ^x	29,2 ^x	30,4 ^x	39,1 ^{yz}	38,1 ^y	40,9 ^z	39,4 ^{yz}	0,04	0,8
MCV (fL)	48,2	48,3	48,5	47,0	53,3	55,0	56,0	54,0	0,92	1,8
MCH (amol)	874	880	901	848	972	995	1036	998	0,95	42
MCHC (mmol/L)	18,1	18,2	18,4	17,9	18,2	18,1	18,5	18,4	0,76	0,3
Bloedplaatjes x 10 ⁹ /L	365	594	520	527	425	430	502	352	0,30	60
Lymfocyten (%)	61,5	64,5	63,5	57,6	67,0	66,9	67,6	67,0	0,55	2,99
Neutrofielen (%)	37,0	33,9	34,8	41,0	30,5	30,3	30,9	29,8	0,39	2,8
Basofielen (%)	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,6	0,1	0,1	0,24	0,14
Eosinofielen (%)	1,0	1,3	1,1	0,9	2,1	1,8	1,0	2,3	0,43	0,47
Monocyten (%)	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4	0,9	0,41	0,22
In CD4 (%) ^{c,e}	2,48	2,07	2,38	2,24	1,49	1,41	1,66	1,99	0,35	0,17
In CD8 (%) ^{c,f}	2,25	2,37	2,75	2,62	2,06	1,59	2,02	2,40	0,50	0,22
Ratio CD4/CD8	1,33	0,88	0,81	0,83	0,59	0,89	0,81	0,72	0,09	0,17
In IFABP (pg/ml) ^{c,d}	5,66	5,95	6,02	5,83	5,52	5,57	5,92	5,70	0,92	0,25
Lengte villi (µm)	627	642	603	558	685	687	667	722	0,62	39
Diepte crypten (µm)	132	129	129	121	138	147	140	137	0,41	4
Ratio villi/crypten	4,8	5,0	4,7	4,6	5,0	4,7	4,8	5,3	0,71	0,3

^a Gegevens zijn vermeld als gemiddelde en als SEM (standaardfout van het gemiddelde)

^b Behandeling 1: controlevoer; Behandeling 2: voer met AMGB; Behandeling 3: voer met 0,125% gistcultuur; Behandeling 4: voer met 0,125% gistcultuur + 0.2% MOS

^c Waarden werden ln-getransformeerd voorafgaand aan statistische analyse, omdat de waarden niet normaal waren verdeeld

^d Absolute gemiddelde waarden voor IFABP bedroegen 2 weken na spenen 394, 661, 483, en 357 pg/ml voor de vier respectievelijke behandelingen en 5 weken na spenen 269, 278, 410 en 328 pg/ml voor de vier respectievelijke behandelingen

^e Absolute gemiddelde waarden voor CD4 bedroegen 2 weken na spenen 12,9, 8,5, 12,2, 10,6% voor de vier respectievelijke behandelingen en 5 weken na het spenen 4,9, 4,8, 6,2 en 8,2% voor de vier respectievelijke behandelingen

^f Absolute gemiddelde waarden voor CD8 bedroegen 2 weken na het spenen 10,8, 14,0, 17,1, 17,3% voor de vier respectievelijke behandelingen en 5 weken na het spenen 9,4, 6,1, 8,8, 12,4% voor de vier respectievelijke behandelingen

^{x,y,z} Gemiddelden zonder gemeenschappelijk superscript verschillen ($P < 0,05$)