

Wageningen UR Livestock Research

Partner in livestock innovations



Rapport 761

Effect van geboortegewicht en voeropname
voor spenen op het aantal gespeende biggen
met *Streptococcus suis* verschijnselen

Maart 2014



LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR



Colofon

Uitgever

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail info.livestockresearch@wur.nl
Internet <http://www.livestockresearch.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Copyright

© Wageningen UR Livestock Research, onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, 2014

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

Aansprakelijkheid

Wageningen UR Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Wageningen UR Livestock Research en Central Veterinary Institute, beiden onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek vormen samen met het Departement Dierwetenschappen van Wageningen University de Animal Sciences Group van Wageningen UR (University & Research centre).

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept 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

At Swine Innovation Centre Sterksel the effects of birth weight and feed intake before weaning on the number of weaned piglets with clinical signs of an infection with *S. suis* were investigated. The results are described in this report.

Keywords

Piglets, *Streptococcus suis* serotype 1, 2, 7 and 9, birth weight, feed intake, PCR

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteur(s)

C.M.C. van der Peet-Schwering
L.M.P. Troquet
H. Smith (CVI)
A. de Greeff (CVI)
M. Kluivers
J. van Hout (GD)
I. Faber (GD)

Titel

Effect van geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal gespeende biggen met *Streptococcus suis* verschijnselen

Rapport 761

Samenvatting

Op VIC Sterksel is onderzocht wat het effect is van het geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. De resultaten van het onderzoek zijn in dit rapport beschreven.

Trefwoorden

Biggen, *Streptococcus suis* serotype 1, 2, 7 en 9, geboortegewicht, voeropname, PCR

Rapport 761

Effect van geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal gespeende biggen met *Streptococcus suis* verschijnselen

Effect of birth weight and feed intake before weaning on the number of weaned piglets with clinical signs of *Streptococcus suis*

C.M.C. van der Peet-Schwering

L.M.P. Troquet

H. Smith (CVI)

A. de Greeff (CVI)

M. Kluivers

J. van Hout (GD)

I. Faber (GD)



Ministerie van Economische Zaken



Maart 2014

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Productschap Vee en Vlees en het Ministerie van Economische zaken binnen de PPS Samenwerkende Varkenshouderijketen projectnummer BO 22.04-001-002.

Voorwoord

Het onderzoek “Effect van geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal gespeende biggen met *Streptococcus suis* verschijnselen” is uitgevoerd in opdracht van het Productschap Vee en Vlees en het Ministerie van Economische Zaken. De auteurs bedanken de opdrachtgevers voor de financiële ondersteuning van het onderzoek.

Het onderzoek is begeleid door een begeleidingscommissie die bestaat uit afgevaardigden van het PVV, ministerie EZ, LTO, NVV en de KNMvD. De auteurs bedanken de leden van de begeleidingscommissie voor hun constructieve en waardevolle inhoudelijke bijdrage aan het onderzoek.

Carola van der Peet-Schwering
Projectleider

Samenvatting

In opdracht van het Productschap Vee en Vlees en het Ministerie van Economische zaken is op VIC Sterksel onderzocht wat het effect is van geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. In het onderzoek zijn vier proefbehandelingen met elkaar vergeleken. Het onderzoek is opgezet als een 2 x 2 factoriële proef met de volgende proeffactoren:

- 1) *Hoog versus laag geboortegewicht van de biggen*: Bij spenen zijn de biggen ingedeeld op basis van geboortegewicht. Biggen met een geboortegewicht hoger dan 1.330 gram zijn ingedeeld bij een hoog geboortegewicht. Biggen met een geboortegewicht lager dan 1.330 gram zijn ingedeeld bij een laag geboortegewicht.
- 2) *Eters versus niet eters voor spenen*: Biggen die voor spenen vast voer hebben opgenomen zijn ingedeeld bij de eters. Biggen die geen vast voer hebben opgenomen voor spenen zijn ingedeeld bij de niet eters. Vanaf negen dagen voor spenen tot aan spenen kregen alle biggen speenkorrel met daaraan toegevoegd 0,5% ijzeroxide P3B (Poortershaven in Rotterdam). Door de dag voor spenen een mestmonster te nemen bij alle biggen was duidelijk welke biggen wel (duidelijk rode mest) en geen (geen rode mest) voer hadden opgenomen voor spenen.

Per behandeling zijn 8 hokken met elk 10 gespeende biggen opgelegd (speenleeftijd is 27 dagen). In totaal zijn 320 biggen, afkomstig van 32 zeugen, gevolgd tot vijf weken na spenen. De gespeende biggen kregen de eerste 14 dagen na spenen een speenvoer verstrekt. Daarna zijn ze in 3 dagen geleidelijk overgeschakeld op biggenopfokkorrel. De biggen werden onbepaald gevoerd via een 2-vaks droogvoerbak. De biggen zijn gewogen bij spenen en 14 en 35 dagen na spenen. Bij iedere weging is de voeropname per hok geregistreerd. Daarnaast is tweemaal daags het aantal dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie vastgelegd. Bij 4 dieren per hok zijn 1 dag voor spenen, 1 week na spenen en 4 weken na spenen tonsilswabs en mestmonsters genomen. Daarnaast zijn 1 dag voor spenen tonsilswabs en mestmonsters genomen bij de zeugen. Via kwantitatieve PCR is de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 op de tonsillen en in de mest bepaald. Bij 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie (dieren met hersenverschijnselen en/of kreupele dieren), die niet veterinair behandeld waren en bij 20 gezonde dieren uit dezelfde behandeling is: 1) de aanwezigheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 in de hersenen en in de gewrichten bepaald via bacteriologisch onderzoek; 2) de darmintegriteit, de samenstelling van de microbiota en de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 bepaald; 3) het gehalte aan totaal eiwit en de gehalten aan de acute fase eiwitten albumine en haptoglobine in het serum bepaald; 4) de cytokine respons op RNA niveau vastgesteld in het bloed.

De belangrijkste conclusies uit het onderzoek zijn:

Technische resultaten

- Biggen met een hoog geboortegewicht nemen van spenen tot vijf weken na spenen meer voer op en groeien sneller dan biggen met een laag geboortegewicht. Er is geen verschil in voederconversie tussen biggen met een hoog of een laag geboortegewicht.
- Eters voor spenen, nemen na spenen meer voer op en groeien sneller dan niet eters voor spenen. Er is van spenen tot vijf weken na spenen geen verschil in voederconversie tussen biggen die voor spenen wel of geen voer hebben opgenomen.

*Klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en uitval*

- Het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie is vergelijkbaar bij biggen met een hoog of een laag geboortegewicht (20 versus 15 biggen) en bij biggen die wel of geen voer hebben opgenomen voor spenen (17 versus 18 biggen).
- Bij de biggen met een hoog geboortegewicht zijn meer biggen uitgevallen als gevolg van een *S. suis* infectie dan bij de biggen met een laag geboortegewicht. Er is geen effect van geboortegewicht op het aantal veterinair behandelde biggen.
- Er is geen effect van eter/niet eter op het aantal uitgevallen en veterinair behandelde biggen. Wel zijn er bij de niet eters meer biggen veterinair behandeld vanwege een *S. suis* infectie.

Tonsilswabs en mestmonsters

- De transmissie van de serotypen 1 en 2 isolaten van de zeugen naar de biggen is laag. De transmissie van de serotypen 7 en 9 isolaten van de zeugen naar de biggen is daarentegen hoog in dit experiment.
- Na spenen is er tussen biggen geen verdere verspreiding van serotype 1 opgetreden. Het aantal biggen dat positief was voor de serotypen 2, 7 of 9 nam daarentegen toe na spenen. Dit betekent dat er in alle behandelingen een verspreiding tussen biggen is opgetreden van de *S. suis* serotypen 2, 7 en 9.
- *S. suis* serotype 9 koloniseert zowel op de tonsil als in de darm (mest) van biggen.

Sectieresultaten

- Biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie hebben een hoger haptoglobine gehalte in het serum dan de gezonde controle dieren. Er is geen verschil in haptoglobine gehalte tussen de eters met een hoog of een laag geboortegewicht. Bij de niet eters is het haptoglobine gehalte hoger bij de biggen met een laag geboortegewicht.
- Er is geen duidelijk verschil in de expressie van 7 cytokine genen, gemeten in bloed, tussen biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en gezonde dieren. Doordat de analyses technisch niet helemaal goed zijn verlopen door de aanwezige bloedstolsels, kunnen geen eenduidige conclusies worden getrokken met betrekking tot de innate immuun respons in het bloed. Er is geen effect van geboortegewicht en van eter/niet eter op de expressie van de 7 genen.
- De microbiota samenstelling van de dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie is niet duidelijk anders dan die van de gezonde controledieren. Ook is er geen duidelijk verschil in de microbiota samenstelling tussen eters en niet eters en tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht.

Overall kan geconcludeerd worden dat *S. suis* serotype 9 als enig serotype ziekte heeft veroorzaakt en dat er geen duidelijk effect is van geboortegewicht en van voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. De infectiedruk (aantal *S. suis* op de tonsil en in de faeces) verschilt niet tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht en tussen eters en niet eters. Ook de weerstand van de biggen (aantal biggen gekoloniseerd met *S. suis* maar daar niet ziek van wordt) is niet beïnvloed door het geboortegewicht en voeropname voor spenen.

Summary

By order of the Dutch Product Board for Livestock and Meat and the Ministry of Economic Affairs, at Swine Innovation Centre Sterksel the effects of birth weight and feed intake before weaning on the number of weaned piglets with clinical signs of an infection with *Streptococcus suis* (*S. suis*) were investigated. In total 320 weaned piglets from 32 sows (10 piglets per pen; weaning age 27 days) were allotted to a 2 x 2 factorial experiment. Treatments were:

- 1) *High versus low birth weight*: at weaning piglets were grouped by birth weight. High birth weight was higher than 1,330 gram, low birth weight was lower than 1,330 gram.
- 2) *Eater versus non-eater before weaning*: before weaning piglets were fed a pre-starter diet containing 0.5% iron oxide (Poortershaven, Rotterdam). On the day before weaning fecal swabs from the piglets were taken. The color of each sample was immediately visually determined. Piglets that showed red colored feces were designated as eaters. Piglets that did not show red colored feces were designated as non-eaters.

Weaned piglets were followed from weaning till 35 days after weaning. They were fed a pre-starter diet the first two weeks after weaning and then they were switched to a starter diet. Diets were supplied ad libitum in a dry feeder with two feeding places. Piglets were weighed at weaning and at days 14 and 35 after weaning. Feed intake per pen was measured at every weighing. The number of piglets with clinical signs of an infection with *S. suis* was registered twice daily. On the day before weaning, one week after weaning and four weeks after weaning tonsil swabs and fecal samples were taken from 4 piglets in every pen (in total 128 piglets). Quantitative PCR was used for the detection of *S. suis* serotypes 1, 2, 7 and 9 in the tonsil swabs and the fecal swabs. In 20 piglets with clinical signs of an infection with *S. suis* (piglets were not veterinary treated) and in 20 healthy piglets from the same experimental treatment: 1) *S. suis* serotypes 1, 2, 7 and 9 in the brain and joints were detected by bacteriological research; 2) gut integrity and composition of the microbiota were determined; 3) *S. suis* serotypes 1, 2, 7 and 9 in the gut were detected by PCR; 4) the levels of total protein, albumin and haptoglobin in blood serum and the cytokine response on RNA level in the blood were determined.

The main results and conclusions of the experiment are:

Performance

- Piglets with a high birth weight eat more and grew faster than piglets with a low birth weight. Feed conversion ratio did not differ between high and low birth weight piglets.
- Eaters before weaning eat more and grew faster from weaning till 35 days after weaning than non-eaters before weaning. Feed conversion ratio did not differ between eaters and non-eaters before weaning.

Clinical signs of an infection with S. suis and culling

- The number of weaned piglets with clinical signs of an infection with *S. suis* was similar in weaned piglets with a high or low birth weight (20 versus 15 piglets) and in eaters or non-eaters (17 versus 18 piglets).
- The number of culled piglets because of a *S. suis* infection was higher in high birth weight piglets than in low birth weight piglets. The number of veterinary treated piglets was not affected by birth weight.
- The number of culled and veterinary treated piglets was similar in eaters and non-eaters. The number of veterinary treated piglets because of a *S. suis* infection was higher in non-eaters.

Tonsil swabs and fecal swabs

- Transmission of *S. suis* serotypes 1 and 2 isolates from sows to piglets was low. Transmission of *S. suis* serotypes 7 and 9 isolates from sows to piglets was high.
- After weaning *S. suis* serotype 1 did not spread among piglets. The number of tonsil swabs in which *S. suis* serotypes 2, 7 and 9 were detected, however, increased after weaning in all experimental treatments. This means that *S. suis* serotypes 2, 7 and 9 were spread among piglets after weaning.
- *S. suis* serotype 9 colonizes both in the tonsil and the gut of piglets.

Blood and gut samples

- The level of haptoglobin was higher in piglets with clinical signs of a *S. suis* infection than in healthy piglets. The level of haptoglobin was highest in non-eaters with a low birth weight.

- The expression of 7 cytokine genes did not differ between piglets with clinical signs of a *S. suis* infection and healthy piglets. Moreover, it did not differ between high and low birth weight piglets and between eaters and non-eaters.
- The composition of the microbiota was similar in piglets with clinical signs of a *S. suis* infection and in healthy piglets. Moreover, it was similar in high and low birth weight piglets and in eaters and non-eaters.

It can be concluded that there is no effect of birth weight and feed intake before weaning on the number of piglets with clinical signs of an infection with *S. suis*. The number of tonsil swabs in which *S. suis* was detected was similar in high and low birth weight piglets and in eaters and non-eaters.

Inhoudsopgave

Voorwoord

Samenvatting

Summary

1	Inleiding	1
2	Materiaal en methode	2
2.1	Proeflocatie en proefomvang	2
2.2	Proefbehandelingen	2
2.3	Proefopzet en proefindeling	2
2.4	Huisvesting en klimaat	2
2.5	Voeding en drinkwaterverstrekking	3
2.6	Waarnemingen	3
2.7	Gegevensverwerking en statistische analyse	4
3	Resultaten	5
3.1	Technische resultaten gespeende biggen	5
3.2	Klinische verschijnselen van <i>S. suis</i> , uitval en veterinaire behandelingen	6
3.3	Resultaten tonsilswabs en mestmonsters	8
3.3.1	Tonsilswabs	8
3.3.2	Mestmonsters	11
3.4	Sectieresultaten	12
3.4.1	Resultaten bacteriologisch onderzoek	12
3.4.2	Darmintegriteit	12
3.4.3	Samenstelling darmflora	13
3.4.4	Streptococcus suis in de darm	14
3.4.5	Resultaten bloedonderzoek: acute fase eiwitten	15
3.4.6	Resultaten bloedonderzoek: Innate immuun respons	15
4	Discussie	17
5	Conclusies	20
	Literatuur	21
	Bijlagen	22
Bijlage 1	Protocol registratie klinische verschijnselen <i>S. suis</i>	22
Bijlage 2	Protocol PCR voor <i>S. suis</i> in tonsil- en mestmonsters	23
Bijlage 3	Protocol bacteriologisch onderzoek, darmintegriteit en cytokine respons	24
Bijlage 4	Technische resultaten biggen per proefbehandeling	26
Bijlage 5	Technische resultaten biggen per gewichtstraject per proefbehandeling	26
Bijlage 6	Klinische verschijnselen <i>S. suis</i> per proefbehandeling	27
Bijlage 7	Uitval en veterinaire behandelingen per proefbehandeling	27

1 Inleiding

Een groot deel van het antibioticumgebruik bij gespeende biggen is bestemd voor de bestrijding van *Streptococcus suis* (*S. suis*). Uit een enquête onder 200 zeugenhouders (Anonymus, 2006) bleek dat 50% van het medicijngebruik bij gespeende biggen is bestemd voor de bestrijding van *S. suis*. De afgelopen jaren zijn verschillende onderzoeksprojecten uitgevoerd om de problematiek ten gevolge van *S. suis* infecties te verminderen. Deze projecten hebben tot nu toe nog te weinig concrete interventiestrategieën opgeleverd om de *S. suis* problematiek te beheersen zonder inzet van antibiotica. Uit recent onderzoek (Mulder et al., 2011) blijkt dat een goede stabiele darmflora essentieel is voor een goede immunologische weerstand van het dier. Mogelijk kunnen managementstrategieën en voeding bijdragen aan een gezonde stabiele darmflora zodat enerzijds ongewenste bacteriën zoals *S. suis* minder kans krijgen om te koloniseren in de darm en anderzijds dieren een betere weerstand hebben zodat ze beter om kunnen gaan met een *S. suis* infectie. Uit onderzoek van Van der Peet-Schwering et al. (2012) bleek dat het verstrekken van kunstmelk in de eerste dagen na spenen de energieopname en groei van de biggen verhoogde. De hogere energieopname verminderde het aantal biggen met klinische verschijnselen passend bij een *S. suis* infectie echter niet. Van alle 320 biggen die opgelegd waren in het onderzoek was bekend of ze voor spenen wel of geen voer hadden opgenomen. Van de 99 biggen die geen voer opgenomen hadden voor spenen, hadden er 18 (is 18,2%) klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie na spenen. Bij de biggen die wel voer opgenomen hadden voor spenen was dat 9% (20 van de 221 biggen). Bij eters voor spenen lijken dus minder klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie voor te komen dan bij niet eters voor spenen. Mogelijk komt dit omdat eters voor spenen, na spenen meer voer opnemen dan biggen die voor spenen geen voer op hebben genomen. Mogelijk hebben ze ook een andere darmflora. Daarnaast leken klinische verschijnselen van *S. suis* meer voor te komen bij lichte biggen bij spenen dan bij zware biggen. Van de biggen met een speengewicht tussen de 6 en 7 kg had 22,4% klinische verschijnselen van *S. suis*. Bij de biggen met een speengewicht tussen de 8 en 9 kg was dit 7,8%. Biggen die zwaarder zijn bij spenen, hebben meestal ook een hoger geboortegewicht. Uit recent onderzoek van Alvarenga et al. (2013) bleek dat biggen met een hoog geboortegewicht een dikkere darmmucosa hebben dan biggen met een laag geboortegewicht. Mogelijk zorgt dit voor een verschil in de mate waarin *S. suis* door de darmwand heen in het lichaam kan komen. Daarnaast is er mogelijk een verschil in darmflora tussen biggen met een laag of hoog geboortegewicht. Doel van het onderzoek is het aantal dieren met *S. suis* infecties en daardoor het antibioticumgebruik bij gespeende biggen te verminderen via verlaging van de infectiedruk (verminderen van het aantal *S. suis* op de tonsillen, in de darm en in de faeces) en verbetering van de weerstand van de biggen. In dit onderzoek wordt het effect van geboortegewicht en van voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie onderzocht.

2 Materiaal en methode

2.1 Proeflocatie en proefomvang

Het onderzoek is uitgevoerd op Varkens Innovatie Centrum (VIC) Sterksel in de periode mei 2013 tot en met september 2013 met in totaal 320 gespeende biggen (32 hokken x 10 gespeende biggen) van het kruisingstype Tempo-beer x (NL * Y) zeug. De dieren zijn gevolgd vanaf geboorte tot vijf weken na spenen. Het onderzoek is uitgevoerd in twee rondes. De biggen waren afkomstig van 32 zeugen (16 zeugen in ronde 1 en 16 zeugen in ronde 2).

2.2 Proefbehandelingen

In het onderzoek zijn vier proefbehandelingen met elkaar vergeleken. Het onderzoek is opgezet als een 2 x 2 factoriële proef met de volgende proeffactoren:

- 1) *Hoog versus laag geboortegewicht van de biggen*: Bij spenen zijn de biggen ingedeeld op basis van geboortegewicht. Het gemiddelde geboortegewicht van de levend geboren biggen op VIC Sterksel was 1.330 gram. Biggen met een geboortegewicht hoger dan 1.330 gram zijn ingedeeld bij een hoog geboortegewicht. Biggen met een geboortegewicht lager dan 1.330 gram zijn ingedeeld bij een laag geboortegewicht. Er werd naar gestreefd dat de biggen met een laag geboortegewicht gemiddeld 1.100 gram wogen en de biggen met een hoog geboortegewicht gemiddeld 1.600 gram.
- 2) *Eters versus niet eters voor spenen*: Biggen die voor spenen vast voer hebben opgenomen zijn ingedeeld bij de eters. Biggen die geen vast voer hebben opgenomen voor spenen zijn ingedeeld bij de niet eters.

Tot aan spenen kregen alle biggen dezelfde behandeling. Vanaf negen dagen voor spenen tot aan spenen kregen alle biggen speenkorrel met daaraan toegevoegd 0,5% ijzeroxide P3B (Poortershaven in Rotterdam). Bij voeropname kleurt de mest rood door de kleurstof. Door de dag voor spenen een mestmonster te nemen bij alle biggen was duidelijk welke biggen wel (duidelijk rode mest) en geen (geen rode mest) voer hadden opgenomen voor spenen en wat de twijfelgevallen waren. Op basis hiervan zijn de biggen ingedeeld in eters en niet eters.

2.3 Proefopzet en proefindeling

De biggen zijn op een leeftijd van circa 4 weken gespeend en verplaatst naar de biggenopfokafdelingen. Bij spenen zijn de biggen ingedeeld op basis van het geboortegewicht en wel of geen voer opgenomen voor spenen. Er is bij het indelen geen rekening gehouden met het speengewicht van de biggen. Beren en zeugen zijn gemengd opgelegd (5 beren en 5 zeugjes per hok). Biggen met zichtbare afwijkingen en zieke dieren zijn niet opgelegd. Er is binnen een ronde naar gestreefd dat alle hokken met een laag geboortegewicht een vergelijkbaar gemiddeld geboortegewicht en een vergelijkbare spreiding in geboortegewicht hadden. Hetzelfde is gedaan voor de hokken met biggen met een hoog geboortegewicht. De biggen uit één toom zijn steeds zoveel mogelijk over de vier verschillende proefbehandelingen verdeeld. Per behandeling zijn 8 hokken met 10 dieren per hok opgelegd.

2.4 Huisvesting en klimaat

Het onderzoek is uitgevoerd in drie biggenopfokafdelingen, twee met 8 hokken (ronde 1) en één met 16 hokken (ronde 2) voor elk 10 gespeende biggen. In alle afdelingen waren de hokken 2,65 m diep en 1,76 m breed. De hokken in de grote afdeling hadden een combinatie van metalen rooster (circa 30%) en kunststof rooster (circa 70%). De hokken in de kleine afdeling hadden een volledig kunststof roostervloer. Alle afdelingen werden mechanisch geventileerd. De eerste 2 dagen was het licht gedurende 24 uur per etmaal aan, zodat de biggen de eetplek goed konden vinden. Daarna was het licht aan van 6.30 uur tot 16.30 uur.

2.5 Voeding en drinkwaterverstrekking

Alle dieren in de proef kregen de standaard op VIC Sterksel verstrekte voersoorten.

Kraamstal

De zeugen in de kraamstal zijn twee maal daags gevoerd (om 8.00 uur en 14.30 uur) volgens het standaard voerschema van VIC Sterksel. Voor het werpen kregen de gelten 3,0 kg voer per dag en de oudere zeugen 3,4 kg. Na werpen is de voergift geleidelijk verhoogd tot maximaal 7,5 kg voer per dag. Drinkwater was onbeperkt beschikbaar via een drinknippel in de trog.

De zuigende biggen werden vanaf circa 10 dagen leeftijd bijgevoerd. Vanaf negen dagen voor spenen (maandag) tot aan spenen (woensdag) kregen alle biggen speenkorrel met daaraan toegevoegd 0,5% ijzeroxide P3B (Poortershaven in Rotterdam). Het voer werd verstrekt in een rond bijzetbakje. Drinkwater was onbeperkt beschikbaar via een drinknippel.

Biggenopfokstal

De gespeende biggen kregen de eerste 14 dagen na spenen een speenvoer verstrekt. Daarna zijn ze in drie dagen geleidelijk overgeschakeld op biggenopfokkorrel, dat ze tot opleg in de vleesvarkensstal kregen. De biggen werden onbeperkt gevoerd via een tweevaks droogvoerbak die tweemaal daags (8.00 uur en 16.00 uur) handmatig werd gevuld. Drinkwater was in alle hokken onbeperkt beschikbaar via een drinkbakje in het hok.

2.6 Waarnemingen

De volgende waarnemingen zijn uitgevoerd bij de dieren:

Technische resultaten en gezondheid:

- Wegen van de biggen bij geboorte, de dag voor spenen, twee weken na spenen en vijf weken na spenen;
- Voeropname van de gespeende biggen op hokniveau per gewichtstraject en per voersoort;
- Bij uitval van een dier zijn de datum, het gewicht, de vermoedelijke doodsoorzaak en de verstrekte hoeveelheid voer in dat hok tot dan toe geregistreerd. Biggen waarvan de vermoedelijke doodsoorzaak een *S. suis* infectie was, zijn ter sectie ingestuurd naar de GD. Bij deze dieren is een kweek (bacteriologisch onderzoek) van de hersenen ingezet waarbij gekeken is of er wel of geen *S. suis* aanwezig is.
- Bij veterinaire behandeling van een dier zijn de datum en de reden van behandeling vastgelegd. Dieren zijn alleen individueel behandeld. Koppelbehandelingen zijn niet uitgevoerd.
- Alle gespeende biggen zijn twee keer per dag, 's ochtends tussen 7.30 uur en 9.30 uur en 's middags tussen 14.30 uur en 16.30 uur gecontroleerd op klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. Dit gebeurde volgens het protocol in bijlage 1.

Tonsilswabs en mestmonsters:

- Bij 4 dieren per hok (bij voorkeur toomgenoten die opgelegd zijn in de vier behandelingen) zijn 1 dag voor spenen, 1 week na spenen en vier weken na spenen tonsilswabs genomen met behulp van een tandenborstel volgens het standaard protocol van de GD. Steeds zijn dezelfde 4 dieren uit een hok bemonsterd. Daarnaast zijn 1 dag voor spenen tonsilswabs genomen bij de zeugen waarvan de biggen afkomstig zijn. Via kwantitatieve PCR is de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 bepaald. In bijlage 2 is beschreven hoe de PCR is uitgevoerd. De afkapwaarden van de PCR (in CFU per ml; CFU = kolonie vormende eenheid ofwel een maat voor het aantal bacteriën) waren verschillend voor de verschillende serotypen *S. suis* en waren ook verschillend voor de bepalingen op de tonsillen (tussen de 700 en 150.000 CFU/ml, afhankelijk van het serotype) en in de mest (tussen de 700 en 7.000 CFU/ml, afhankelijk van het serotype). Als het aantal CFU per ml hoger is dan de afkapwaarde, is de uitslag positief voor het betreffende *S. suis* serotype. Is het aantal CFU per ml lager dan de afkapwaarde, is de uitslag negatief voor het betreffende *S. suis* serotype. Een dubieuze uitslag is een positieve uitslag.
- Bij dezelfde 4 dieren per hok, waarbij de tonsilswabs zijn genomen, zijn de dag voor spenen, 1 week na spenen en vier weken na spenen mestmonsters genomen volgens het standaard protocol van de GD. Daarnaast zijn de dag voor spenen mestmonsters genomen bij de

zeugen waarvan de biggen afkomstig zijn. Via kwantitatieve PCR is de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 bepaald.

Sectie dieren met klinische verschijnselen *S. suis* en gezonde dieren:

Bij 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie (dieren met hersenverschijnselen en/of kreupel dieren), die niet veterinair behandeld waren en bij 20 gezonde dieren uit dezelfde behandeling is:

- De aanwezigheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 in de hersenen en in de gewrichten bepaald via bacteriologisch onderzoek (methode zie bijlage 3).
- De darmintegriteit (morfologie, villus-crypt ratio en darmschade) en de samenstelling van de microbiota vastgesteld (methode zie bijlage 3). Daarnaast is via kwantitatieve PCR de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 bepaald.
- Het gehalte aan totaal eiwit (biureet-methode) en de gehalten aan de acute fase eiwitten albumine (broom-cresol-groen-methode) en haptoglobine (Tridelta- kit) in het serum bepaald. De testkits zijn conform leveranciers- specificaties uitgevoerd en zijn gevalideerd voor de diersoort "Varken".
- De cytokine respons op RNA niveau vastgesteld in het bloed. De bloedmonsters zijn in PAX-gene buizen (preAnalytix) verzameld en onmiddellijk ingevroren. Uit dit bloed is volgens de voorschriften van de producent RNA geïsoleerd (methode zie bijlage 3).

2.7 Gegevensverwerking en statistische analyse

Alle gegevens zijn geanalyseerd met behulp van variantie-analyse (Genstat, 2009).

Technische resultaten:

De groei, voer- en EW-opname en voeder- en EW-conversie van de gespeende biggen zijn op hokniveau geanalyseerd met het volgende model:

$$Y = \mu + \text{ronde} + \text{hoog/laag geboortegewicht} + \text{eter/niet eter} + \text{interactie} + \text{rest}$$

De technische resultaten zijn alleen berekend voor de hokken waarin bij het einde van de proef nog 6 dieren of meer lagen. Hokken met 5 dieren of minder zijn niet meegenomen bij de berekening van de technische resultaten. In totaal zijn 10 van de 16 hokken in ronde 1 en alle 16 hokken in ronde 2 meegenomen bij de berekening van de technische resultaten.

Het aantal uitgevallen dieren en veterinair behandelde dieren is geanalyseerd met de Chi-kwadraat toets. Op basis van de klinische verschijnselen die zijn waargenomen zijn de dieren ingedeeld in een aantal groepen: hersenverschijnselen, ernstig kreupel, mild of matig kreupel met koorts en gedragsveranderingen met koorts. Het aantal dieren met klinische verschijnselen passend bij een *S. suis* infectie is geanalyseerd met de Chi-kwadraat toets.

Tonsilswabs en mestmonsters:

De PCR resultaten van de tonsilswabs en de mestmonsters zijn beschrijvend weergegeven per proefbehandeling. Per ronde is het aantal positieve zeugen en biggen weergegeven en het aantal biggen dat opgegroeid is bij een positieve zeug.

Sectie dieren met klinische verschijnselen *S. suis* en gezonde dieren:

De sectieresultaten (resultaten bacteriologisch onderzoek, darmintegriteit, samenstelling microbiota, aanwezigheid *S. suis* in de darm en cytokine respons) zijn beschrijvend weergegeven.

De gehalten aan totaal eiwit, albumine en haptoglobine in het serum zijn op dierniveau geanalyseerd met het volgende model:

$$Y = \mu + \text{hoog/laag geboortegewicht} + \text{eter/niet eter} + \text{S. suis verschijnselen/gezond} + \text{interacties} + \text{rest}$$

3 Resultaten

3.1 Technische resultaten gespeende biggen

De technische resultaten van de biggen van spenen tot vijf weken na spenen zijn voor de hoofdeffecten geboortegewicht en eter/niet eter weergegeven in tabel 1. Voor geen enkel kenmerk was er sprake van een significante tweeweginteractie. In bijlage 4 zijn de resultaten voor de vier proefbehandelingen weergegeven.

Tabel 1 Technische resultaten van spenen tot vijf weken na spenen van biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer opgenomen hebben¹

	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	SEM ²	P- waarde	Eter	Niet eter	SEM ²	P- waarde
Aantal dieren	120	140			120	140		
Aantal hokken	12	14			12	14		
Geboortegewicht (kg)	1,58	1,15			1,36	1,33		
Opleggewicht (kg)	7,3	6,7			7,0	6,9		
Eindgewicht (kg)	22,7	21,4			22,4	21,7		
Groei (g/d)	442 ^a	418 ^b	8,8	0,05	442 ^a	418 ^b	8,8	0,05
Voeropname (kg/d)	0,62 ^x	0,59 ^y	0,014	0,09	0,63 ^a	0,58 ^b	0,014	0,02
Voederconversie	1,41	1,42	0,016	0,80	1,44	1,40	0,016	0,13
EW-opname (/d)	0,69 ^x	0,65 ^y	0,016	0,09	0,70 ^a	0,65 ^b	0,016	0,02
EW-conversie	1,56	1,57	0,018	0,81	1,58	1,55	0,018	0,13

¹ De technische resultaten zijn alleen berekend voor de hokken waarin bij het einde van de proef nog 6 dieren of meer lagen; 6 hokken (3 hokken hoog geboortegewicht, eter; 1 hok hoog geboortegewicht, niet eter; 1 hok laag geboortegewicht, eter, 1 hok laag geboortegewicht, niet eter) zijn niet meegenomen bij de berekening van de technische resultaten.

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde (geeft een indicatie van de nauwkeurigheid van de schatting van de gemeten variabele)

^{a,b} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,05$)

^{x,y} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,10$)

Uit tabel 1 blijkt dat biggen met een hoog geboortegewicht van spenen tot vijf weken na spenen 0,03 kg voer per dag meer opnemen en 24 g/d sneller groeien dan biggen met een laag geboortegewicht. Er is geen verschil in voederconversie tussen biggen met een laag of een hoog geboortegewicht. Eters nemen van spenen tot vijf weken na spenen 0,05 kg voer per dag meer op en groeien 24 g/d sneller dan niet eters. Er is van spenen tot vijf weken na spenen geen duidelijk verschil in voederconversie tussen eters en niet eters.

In bijlage 4 zijn de resultaten per proefbehandeling weergegeven. Niet eters met een laag geboortegewicht nemen van spenen tot vijf weken na spenen 0,06 à 0,07 kg voer per dag minder op en groeien 40 à 45 g/d minder snel dan eters met een hoog of laag geboortegewicht en niet eters met een hoog geboortegewicht.

De technische resultaten van de biggen van spenen tot 14 dagen na spenen en van 14 tot 35 dagen na spenen zijn voor de hoofdeffecten geboortegewicht en eter/niet eter weergegeven in tabel 2. In bijlage 5 zijn de resultaten voor de vier proefbehandelingen weergegeven.

Tabel 2 Technische resultaten per gewichtstraject van biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer opgenomen hebben¹

	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	SEM ¹	P- waarde	Eter	Niet eter	SEM ¹	P- waarde
Aantal dieren	120	140			120	140		
Aantal hokken	12	14			12	14		
<i>Van opleg tot 14 dagen na opleg:</i>								
Opleggewicht (kg)	7,3	6,7			7,0	6,9		
Tussengewicht (kg)	11,0	10,3			10,8	10,5		
Groei (g/d)	267	255	7,5	0,23	273 ^a	249 ^b	7,5	0,03
Voeropname (kg/d)	0,32 ^a	0,29 ^b	0,008	0,002	0,31	0,30	0,008	0,21
Voederconversie	1,21	1,15	0,031	0,12	1,15	1,19	0,031	0,26
EW-opname (/d)	0,36 ^a	0,32 ^b	0,008	0,002	0,35	0,34	0,008	0,22
EW-conversie	1,36	1,29	0,035	0,12	1,29	1,34	0,035	0,26
<i>Van 14 dagen na opleg tot einde opfok (35 dagen na opleg):</i>								
Tussengewicht (kg)	11,0	10,3			10,8	10,5		
Eindgewicht (kg)	22,7	21,4			22,4	21,7		
Groei (g/d)	559 ^x	526 ^y	12,3	0,06	555	530	12,3	0,14
Voeropname (kg/d)	0,83	0,79	0,023	0,31	0,85 ^a	0,78 ^b	0,023	0,02
Voederconversie	1,48	1,51	0,025	0,34	1,53 ^x	1,47 ^y	0,025	0,06
EW-opname (/d)	0,91	0,87	0,025	0,31	0,93 ^a	0,85 ^b	0,025	0,02
EW-conversie	1,63	1,66	0,027	0,34	1,68 ^x	1,61 ^y	0,027	0,06

¹ De technische resultaten zijn alleen berekend voor de hokken waarin bij het einde van de proef nog 6 of meer dieren lagen. 6 hokken (3 hokken hoog geboortegewicht, eter; 1 hok hoog geboortegewicht, niet eter; 1 hok laag geboortegewicht, eter, 1 hok laag geboortegewicht, niet eter) zijn niet meegenomen bij de berekening van de technische resultaten.

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde (geeft een indicatie van de nauwkeurigheid van de schatting van de gemeten variabele)

^{a,b} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,05$)

^{x,y} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,10$)

Uit tabel 2 en bijlage 5 blijkt dat er van opleg tot 14 dagen na opleg een interactie is tussen geboortegewicht en eter/niet eter voor het kenmerk voeropname. Niet eters met een laag geboortegewicht nemen minder voer op dan biggen uit de andere 3 proefbehandelingen. Er is van opleg tot 14 dagen na opleg geen verschil in voeropname tussen eters en niet eters met een hoog geboortegewicht en eters met een laag geboortegewicht.

De eerste 14 dagen na spenen zijn er geen duidelijke verschillen in groei en voederconversie tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht. Van dag 14 tot dag 35 groeien biggen met een hoog geboortegewicht 33 g/d sneller dan biggen met een laag geboortegewicht. Er zijn van dag 14 tot dag 35 geen duidelijke verschillen in voeropname en voederconversie tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht.

Eters groeien de eerste 14 dagen na spenen 24 g/d sneller dan niet eters. Er is geen verschil in voederconversie tussen eters en niet eters voor spenen. Van dag 14 tot dag 35 nemen eters meer voer op dan niet eters en hebben een iets ongunstigere voederconversie ($p = 0,06$). Er is van dag 14 tot dag 35 geen duidelijk verschil in groei tussen eters en niet eters.

3.2 Klinische verschijnselen van *S. suis*, uitval en veterinaire behandelingen

Tijdens het onderzoek zijn alle biggen tweemaal daags gecontroleerd op klinische verschijnselen passend bij een *S. suis* infectie. Inclusiecriteria voor een *S. suis* infectie waren: hersenverschijnselen, ernstig kreupel (score 3), mild of matig kreupel (score 1 of 2) en koorts (lichaamstemperatuur boven 40 graden Celsius) en gedragsverandering en koorts. Het aantal biggen dat aan deze inclusiecriteria voldeed is weergegeven in tabel 3. De eerste 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zijn ter sectie aangeboden. In tabel 3 is weergegeven of deze 20 dieren een hoog of een laag geboortegewicht hadden en voor spenen wel of geen voer hebben opgenomen. In bijlage 6 zijn de resultaten per proefbehandeling weergegeven.

Tabel 3 Aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie dat ter sectie is aangeboden bij biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer opgenomen hebben

	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	P- waarde	Eter	Niet eter	P- waarde
Aantal biggen opgelegd	160	160		160	160	
Aantal biggen met verschijnselen van een <i>S. suis</i> infectie	20	15	0,37	17	18	0,86
- hersenverschijnselen	5	5	0,99	5	5	0,99
- ernstig kreupel	7	4	0,36	5	6	0,76
- mild of matig kreupel met koorts	8	6	0,58	7	7	0,99
Aantal dieren ter sectie	14	6		11	9	

Uit tabel 3 blijkt dat er geen duidelijk effect is van geboortegewicht en van wel of geen voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. Bij in totaal 35 dieren zijn klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie aangetoond. Tien van de 35 dieren vertoonden hersenverschijnselen zoals evenwichtsstoornissen en kopschudden. Elf dieren waren ernstig kreupel en 14 dieren waren mild of matig kreupel en hadden koorts.

Van de 35 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zijn de eerste 20 ter sectie aangeboden. Bij 11 van deze 20 biggen werden de eerste verschijnselen van een *S. suis* infectie waargenomen in de tweede week na spenen (dag 7 t/m 14 na spenen) en bij 9 biggen in de derde week na spenen (16 t/m 21 dagen na spenen). Van de 20 dieren die met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie ter sectie zijn aangeboden, hadden er 14 een hoog en 6 een laag geboortegewicht. Elf biggen waren eters en 9 biggen waren niet eters.

Tegelijkertijd met de 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zijn 20 gezonde dieren uit dezelfde behandeling ter sectie aangeboden. Van de resterende dieren (320 – 40 = 280 dieren) zijn er nog een aantal uitgevallen en veterinair behandeld. Het aantal uitgevallen biggen en het aantal individueel veterinair behandelde biggen is voor de hoofdeffecten geboortegewicht en eter/niet eter weergegeven in tabel 4. In bijlage 7 zijn de resultaten voor de vier proefbehandelingen weergegeven.

Tabel 4 Uitval, individuele veterinaire behandelingen bij biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer opgenomen hebben

	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	P- waarde	Eter	Niet eter	P- waarde
Aantal opgelegde dieren minus dieren ter sectie	132	148		138	142	
Aantal uitgevallen	10 ^a	3 ^b	0,03	6	7	0,82
Per reden van uitval:						
- <i>S. suis</i> infectie	8 ^x	3 ^y	0,08	5	6	0,80
- luchtwegaandoening	2	0	₁	1	1	₁
Aantal veterinair behandeld	9	7	0,45	6	10	0,33
Per reden:						
- kreupelheden	4	4	0,87	5	3	0,45
- hersenverschijnselen	2	3	₁	0 ^a	5 ^b	0,03
- luchtwegaandoening	2	0	₁	1	1	₁
- diversen	1	0	₁	0	1	₁

[†] Aantallen te laag om te toetsen

^{a,b} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,05$)

^{x,y} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,10$)

Uit tabel 4 blijkt dat er, naast de biggen die ter sectie aangeboden zijn, nog 13 biggen uitgevallen zijn. Van deze biggen hadden er 10 een hoog geboortegewicht en 3 een laag geboortegewicht ($p = 0,03$). Er was geen effect van eter/niet eter op het aantal uitgevallen biggen. Van de 13 uitgevallen biggen zijn er 5 ingestuurd naar de GD voor bacteriologisch onderzoek van de hersenen. In al deze biggen is *S. suis* serotype 9 gevonden in de hersenen. Er is geen effect van geboortegewicht en van eter/niet eter op het aantal veterinair behandelde biggen. Wel zijn er bij de niet eters meer biggen behandeld vanwege een *S. suis* infectie.

3.3 Resultaten tonsilswabs en mestmonsters

3.3.1 Tonsilswabs

Zowel in ronde 1 als ronde 2 zijn bij 16 zeugen en bij 64 biggen voor spenen tonsilswabs genomen. Via kwantitatieve PCR is de kolonisatie van serotype 1, 2, 7 en 9 isolaten op de tonsillen bekeken. In tabel 5 is voor respectievelijk ronde 1 en ronde 2 per proefbehandeling weergegeven hoeveel zeugen en biggen (voor het spenen) positief waren in de verschillende PCR testen. Daarnaast is weergegeven hoeveel van de 64 biggen per ronde zijn opgegroeid bij een positieve zeug en hoeveel van de biggen positief waren voor de verschillende *S. suis* serotypen.

Tabel 5 Aantal positieve zeugen, aantal biggen opgegroeid bij positieve zeugen en aantal positieve biggen vlak voor spenen

Geboortegewicht Voeropname voor spenen	Hoog		Laag		Positieve zeugen
	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter	
<i>Ronde 1</i>					
Serotype 1	7 ¹ /1 ²	12/1	7/1	9/3	8
Serotype 2	3/0	3/0	4/0	4/0	3
Serotype 7	7/7	3/6	5/5	5/7	5
Serotype 9	8/13	7/13	8/15	9/15	7
<i>Ronde 2</i>					
Serotype 1	8/2	4/0	8/0	7/2	7
Serotype 2	8/1	9/3	5/2	8/1	8
Serotype 7	5/4	2/3	3/4	4/3	4
Serotype 9	12/14	14/14	13/15	13/14	14

¹ aantal biggen opgegroeid bij een positieve zeug

² aantal positieve biggen vlak voor spenen

Uit tabel 5 blijkt dat in ronde 1, 8 van de 16 zeugen positief waren voor serotype 1. Van de 64 biggen zijn er 35 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 1 PCR. Slechts 3 van deze 35 biggen hadden vlak voor spenen een positieve serotype 1 PCR. Daarnaast zijn er ook 3 positieve biggen gedetecteerd die zijn opgegroeid bij een zeug die niet positief was. In ronde 2 waren 7 van de 17 zeugen positief voor serotype 1. Van de 64 biggen zijn er 27 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 1 PCR. Slechts 2 van deze 27 biggen hadden vlak voor spenen een positieve serotype 1 PCR. Daarnaast zijn er ook 2 positieve biggen gedetecteerd die zijn opgegroeid bij een zeug die niet positief was.

In ronde 1 waren 3 zeugen positief voor serotype 2. Van de 64 biggen zijn er 14 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 2 PCR. Alle biggen die bij deze zeugen zijn opgegroeid waren negatief voor serotype 2 voor spenen. In ronde 2 waren 8 zeugen positief voor serotype 2. Van de 64 biggen zijn er 30 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 2 PCR. Van deze biggen waren er slechts 7 positief in de serotype 2 PCR voor spenen.

In ronde 1 waren 5 zeugen positief voor serotype 7. Twintig biggen zijn opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 7 PCR. Al deze biggen waren positief voor serotype 7 voor spenen. Daarnaast waren nog 5 andere biggen positief voor serotype 7. In ronde 2 waren 4 zeugen positief voor serotype 7. Veertien biggen zijn opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 7 PCR. Van deze biggen waren er 8 positief voor serotype 7 voor spenen. Daarnaast zijn er ook 6 positieve biggen gedetecteerd die zijn opgegroeid bij een zeug die niet positief was.

In ronde 1 waren 7 zeugen positief voor serotype 9. Van de 64 biggen zijn er 32 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 9 PCR. Al deze biggen waren positief voor serotype 9 voor spenen. Daarnaast waren nog 24 andere biggen positief voor serotype 9. In ronde 2 waren 14 zeugen positief

voor serotype 9. Van de 64 biggen zijn er 52 opgegroeid bij een zeug met een positieve serotype 9 PCR. 47 van deze biggen waren positief voor serotype 9 voor spenen. Daarnaast waren nog 10 andere biggen positief voor serotype 9.

In de tabellen 6 t/m 9 is aangegeven hoeveel biggen positief waren vlak voor spenen, één week na spenen en vier weken na spenen. Daarnaast is van de positieve dieren het gemiddeld aantal CFUs per swab weergegeven.

Tabel 6 Aantal biggen met positieve serotype 1 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	1 (16)	10248	1 (16)	28438	1 (16)	4759	3 (16)	11045
Week na spenen	0 (16)	nvt	1 (16)	11619	1 (14)	7577	0 (16)	nvt
Vier weken na spenen	0 (10)	nvt	0 (10)	nvt	0 (13)	nvt	0 (13)	nvt
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	2 (16)	642	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	2 (16)	407
Week na spenen	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt
Vier weken na spenen	1 (15)	539	0 (16)	nvt	1 (16)	920	1 (16)	602

Uit tabel 6 blijkt dat in ronde 1 voor spenen 6 van de 64 biggen positief waren in de serotype 1 PCR. Eén week na spenen waren nog twee biggen positief en 4 weken na spenen waren alle biggen negatief. In ronde 2 waren voor spenen 4 biggen positief in de serotype 1 PCR. Eén week na spenen waren alle biggen negatief en 4 weken na spenen waren drie biggen positief. In alle gevallen werden relatief lage aantallen *S. suis* gedetecteerd in de PCR.

Tabel 7 Aantal biggen met positieve serotype 2 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt
Week na spenen	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (14)	nvt	0 (16)	nvt
Vier weken na spenen	0 (10)	nvt	0 (10)	nvt	0 (13)	nvt	0 (13)	nvt
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	1 (16)	109156	3 (16)	193964	2 (16)	269906	1 (16)	67273
Week na spenen	2 (16)	168466	3 (16)	176201	2 (16)	466270	3 (16)	168216
Vier weken na spenen	4 (15)	445545	7 (16)	302253	3 (16)	858019	5 (16)	1192145

Uit tabel 7 blijkt dat in ronde 1 alle biggen voor spenen, een week na spenen en vier weken na spenen negatief waren in de serotype 2 PCR. In ronde 2 waren voor spenen 7 van de 64 biggen positief in de serotype 2 PCR. Eén week na spenen waren 10 biggen positief en 4 weken na spenen waren 19 biggen positief. Niet alleen het aantal serotype 2 positieve biggen nam toe in de tijd, maar ook de gemiddelde aantallen CFUs per swab namen toe. De toename is in alle groepen biggen te zien. Dit duidt erop dat er in ronde 2 in alle behandelingen een verspreiding is opgetreden van serotype 2 tussen biggen.

Tabel 8 Aantal biggen met positieve serotype 7 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	8 (16)	2333095	6 (16)	2869897	8 (16)	4178122	7 (16)	1606811
Week na spenen	15 (16)	8927812	16 (16)	8627934	14 (14)	14050225	16 (16)	11125609
Vier weken na spenen	9 (10)	4606365	8 (10)	2296877	9 (13)	4335424	11(13)	1775495
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	4 (16)	34596	3 (16)	30426	4 (16)	126543	3 (16)	103790
Week na spenen	5 (16)	132667	4 (16)	31977	4 (16)	175314	6 (16)	696372
Vier weken na spenen	10 (15)	130090	12 (16)	460269	10 (16)	538381	11 (16)	478802

Uit tabel 8 blijkt dat in ronde 1 voor spenen 29 van de 64 biggen (44% hoog geboortegewicht; 47% laag geboortegewicht; 50% eter en 41% niet eter) positief waren in de serotype 7 PCR. Eén week na spenen waren (op een big na) alle biggen positief. Daarnaast waren over het algemeen ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab hoger vergeleken met de waarden voor spenen. Dit duidt erop dat er in alle behandelingen een verspreiding is opgetreden van serotype 7 tussen biggen. Op 4 weken na spenen was het aantal positieve biggen afgenomen naar 37 biggen (85% hoog geboortegewicht; 77% laag geboortegewicht; 78% eter en 83% niet eter). Ook het aantal CFUs/swab was gedaald. In ronde 2 waren voor spenen 14 van de 64 biggen positief in de serotype 7 PCR (22% hoog geboortegewicht; 22% laag geboortegewicht; 25% eter en 19% niet eter). Eén week na spenen waren 19 van de 64 biggen positief. Daarnaast waren ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab hoger vergeleken met de waarden voor spenen. Op 4 weken na spenen was het aantal positieve biggen verder toegenomen naar 43 biggen (69% hoog geboortegewicht; 67% laag geboortegewicht; 63% eter en 72% niet eter). Dit duidt erop dat er in alle behandelingen een verspreiding is opgetreden van serotype 7 tussen biggen. De gemiddelde aantallen CFUs/swab waren (behalve bij de niet eters met een laag geboortegewicht) ook verder toegenomen.

Tabel 9 Aantal biggen met positieve serotype 9 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	13 (16)	58190	13 (16)	57181	15 (16)	57985	15 (16)	77816
Week na spenen	16 (16)	139847	16 (16)	502156	14 (14)	135399	16 (16)	5875445
Vier weken na spenen	9 (10)	63153	10 (10)	142798	13 (13)	72121	13 (13)	47345
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	14 (16)	99541	14 (16)	42196	15 (16)	24418	14 (16)	57947
Week na spenen	16 (16)	172803	15 (16)	297490	16 (16)	116532	15 (16)	232947
Vier weken na spenen	14 (15)	525963	16 (16)	287291	14 (16)	74837	16 (16)	157424

Uit tabel 9 blijkt dat in ronde 1 voor spenen 56 van de 64 biggen (81% hoog geboortegewicht; 92% laag geboortegewicht; 88% eter en 88% niet eter) positief waren in de serotype 9 PCR. Eén week na spenen waren alle biggen positief. Daarnaast waren ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab hoger vergeleken met de waarden voor spenen. Dit duidt erop dat er in alle behandelingen een verspreiding is opgetreden van serotype 9 tussen biggen. Op één big na, bleven alle biggen positief op 4 weken na spenen. Het aantal CFUs/swab was hoog maar wel iets lager dan op 1 week na spenen. In ronde 2 waren voor spenen 57 van de 64 biggen (88% hoog geboortegewicht; 91% laag geboortegewicht; 88% eter en 100% niet eter) positief in de serotype 9 PCR. Eén week na spenen

waren op 2 na alle biggen positief. Daarnaast waren ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab hoger vergeleken met de waarden voor spenen. Bijna alle biggen bleven positief op 4 weken na spenen. Het aantal CFUs/swab bleef in de meeste biggen hoog maar was wel iets lager bij de biggen met een laag geboortegewicht. Dit duidt erop dat er in alle behandelingen een verspreiding is opgetreden van serotype 9 tussen biggen.

3.3.2 Mestmonsters

Naast een PCR op de tonsil zijn er ook PCR testen uitgevoerd op mestmonsters. De mestmonsters van alle biggen waren op alle tijdstippen (voor spenen, 1 en 4 weken na spenen) en in beide ronden negatief in de serotype 1 PCR. In ronde 1 waren de mestmonsters van alle biggen op alle tijdstippen ook negatief in de serotype 2 PCR. In ronde 2 waren er echter twee biggen positief in de serotype 2 PCR, één niet eter met een hoog geboortegewicht en één eter met een laag geboortegewicht. De gegevens van de serotype 7 en 9 PCRs staan weergegeven in de tabellen 10 en 11. Daarnaast is van de positieve dieren het gemiddeld aantal CFUs per swab weergegeven.

Tabel 10 Aantal biggen met positieve serotype 7 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	1 (16)	2314	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt
Week na spenen	0 (16)	nvt	1 (16)	1341	1 (14)	53655	1 (16)	1297
Vier weken na spenen	0 (10)	nvt	0 (10)	nvt	0 (13)	nvt	0 (13)	nvt
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	0 (16)	nvt	0 (15)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt
Week na spenen	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt
Vier weken na spenen	0 (15)	nvt	0 (10)	nvt	0 (16)	nvt	0 (16)	nvt

Uit tabel 10 blijkt dat in ronde 1 voor spenen 1 dier positief was in de serotype 7 PCR. Eén week na spenen waren 3 biggen positief en 4 weken na spenen waren alle biggen negatief. In ronde 2 waren alle dieren negatief in de serotype 7 PCR, zowel voor spenen als één en vier weken na spenen.

Tabel 11 Aantal biggen met positieve serotype 9 PCR (van het totaal aantal nog aanwezige biggen) en gemiddeld aantal CFUs per swab bij de positieve dieren

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
Voeropname voor spenen	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU	Aantal biggen	Aantal CFU
<i>Ronde 1</i>								
Voor spenen	8 (16)	226216	4 (16)	115551	4 (16)	50651	9 (16)	4388545
Week na spenen	4 (16)	1603	8 (16)	5080	1 (14)	23129	3 (16)	6923460
Vier weken na spenen	0 (10)	nvt	1 (10)	2066	2 (13)	8922	1 (13)	3618
<i>Ronde 2</i>								
Voor spenen	4 (16)	509771	5 (15)	73222	2 (16)	321235	9 (16)	8397696
Week na spenen	4 (16)	56386	7 (16)	64950	1 (16)	1512022	3 (16)	26612
Vier weken na spenen	4 (15)	21028	1 (16)	8752	1(16)	6303	1 (16)	56460

Uit tabel 11 blijkt dat in ronde 1 voor spenen en 1 en 4 weken na spenen respectievelijk 25, 16 en 4 biggen positief waren in de serotype 9 PCR. Ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab namen af in de tijd. In ronde 2 waren voor spenen en 1 en 4 weken na spenen respectievelijk 20, 15 en 7 biggen positief in de serotype 9 PCR. Ook de gemiddelde aantallen CFUs/swab namen af in de tijd.

3.4 Sectieresultaten

3.4.1 Resultaten bacteriologisch onderzoek

Bij alle 20 zieke en 20 controle biggen die ter sectie zijn gegaan is via bacteriologisch onderzoek de aanwezigheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7, en 9 in de hersenen en de gewrichten bepaald. In geen van de dieren zijn de serotypen 1, 2 en 7 aangetoond. De resultaten van serotype 9 zijn weergegeven in tabel 13.

Tabel 12 Aantal zieke¹ biggen en aantal gezonde controle biggen met *S. suis* serotype 9 in de hersenen en gewrichten

Geboortegewicht	Hoog		Laag	
	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter
Voeropname voor spenen				
Aantal zieke dieren ter sectie	8	6	3	3
Aantal biggen met <i>S. suis</i> serotype 9				
- hersenen	4	2	3	1
- gewrichten	2	2	1	1
Aantal controle dieren ter sectie	8	6	3	3
Aantal biggen met <i>S. suis</i> serotype 9				
- hersenen	0	0	0	0
- gewrichten	0	0	0	0

¹ dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zoals hersenverschijnselen of ernstig kreupel

Uit tabel 12 blijkt dat uit geen van de controle biggen *S. suis* kon worden geïsoleerd, noch uit de hersenen, noch uit de gewrichten. Daarentegen werd uit 13 zieke dieren *S. suis* geïsoleerd of uit de hersenen of uit de gewrichten en in sommige dieren zowel uit hersenen als uit gewrichten. In alle gevallen werd de *S. suis* getypeerd als serotype 9. In 7 zieke dieren kon geen *S. suis* worden aangetoond.

3.4.2 Darmintegriteit

De integriteit van de darm is histologisch bekeken. In het duodenum, het jejunum en het ileum (respectievelijk het voorste, middelste en laatste deel van de dunne darm) is gekeken naar de zichtbare schade aan het epitheel en aan de lamina propria. Daarnaast werd in alle darmdelen de villus/crypt ratio en de dikte van de mucosa bepaald. In geen van de darmdelen van de 40 dieren was er sprake van substantiële schade aan het epitheel of de lamina propria. Dit betekent dat er ook geen verschil te zien was tussen het epitheel en de lamina propria van gezonde en zieke biggen, eters en niet eters en biggen met een hoog of een laag geboortegewicht. In tabel 13 is de gemiddelde villus/crypt ratio van de 40 dieren weergegeven.

Tabel 13 Gemiddelde villus/crypt ratio in duodenum, jejunum en ileum bij zieke¹ dieren en bij gezonde controle dieren, bij dieren met een hoog of laag geboortegewicht en bij eters/niet eters voor spenen

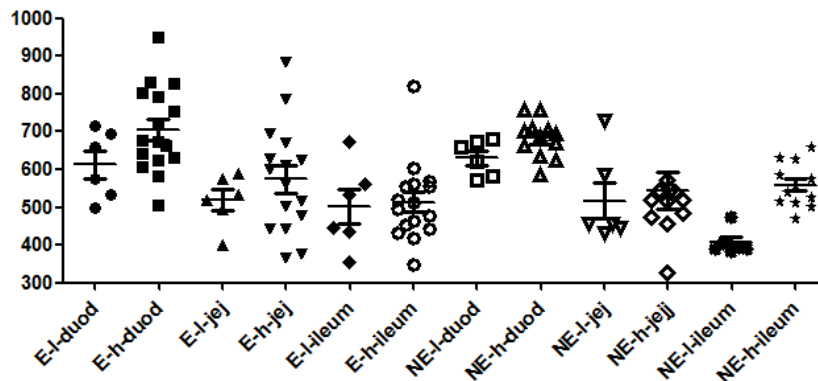
	Ziek ¹	Controle	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	Eter	Niet eter
Aantal dieren	20	20	14	6	11	9
Duodenum	0,9	0,9	0,95	0,85	0,90	0,90
Jejunum	1,1	1,1	1,10	1,15	1,15	1,10
Ileum	1,1	1,0	1,05	1,20	1,10	1,15

¹ dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zoals hersenverschijnselen of ernstig kreupel

Uit tabel 13 blijkt dat er geen noemenswaardige verschillen in de villus/crypt ratio in het duodenum, jejunum en ileum zijn tussen zieke en gezonde dieren, biggen met een hoog of een laag geboortegewicht en eters en niet eters.

In figuur 1 is de dikte van de darmmucosa in de verschillende darmdelen (voorste deel: duodenum; middelste deel: jejunum en achterste deel: ileum) van de eters en niet eters met een hoog of een laag geboortegewicht weergegeven.

Figuur 1 Dikte van de darmmucosa (in micrometers) in het duodenum (duod), jejunum (jej) en ileum van eters (E) en niet eters (NE) met een hoog (h) of een laag (l) geboortegewicht



Uit figuur 1 blijkt dat er zowel in het duodenum, jejunum en ileum geen duidelijke verschillen zijn in de dikte van de mucosa tussen eters en niet eters en biggen met een hoog of laag geboortegewicht. Ook waren er geen verschillen in dikte van de mucosa tussen gezonde en zieke dieren. Daarnaast blijkt uit figuur 1 dat de dikte van de mucosa in het duodenum, jejunum en ileum niet duidelijk verschilt tussen eters met een hoog of een laag geboortegewicht. Bij niet eters met een laag geboortegewicht daarentegen is de mucosa in het duodenum ($P = 0,05$) en in het ileum ($P < 0,001$) dunner dan bij niet eters met een hoog geboortegewicht. In het jejunum is er geen verschil in dikte van de mucosa tussen niet eters met een laag of een hoog geboortegewicht.

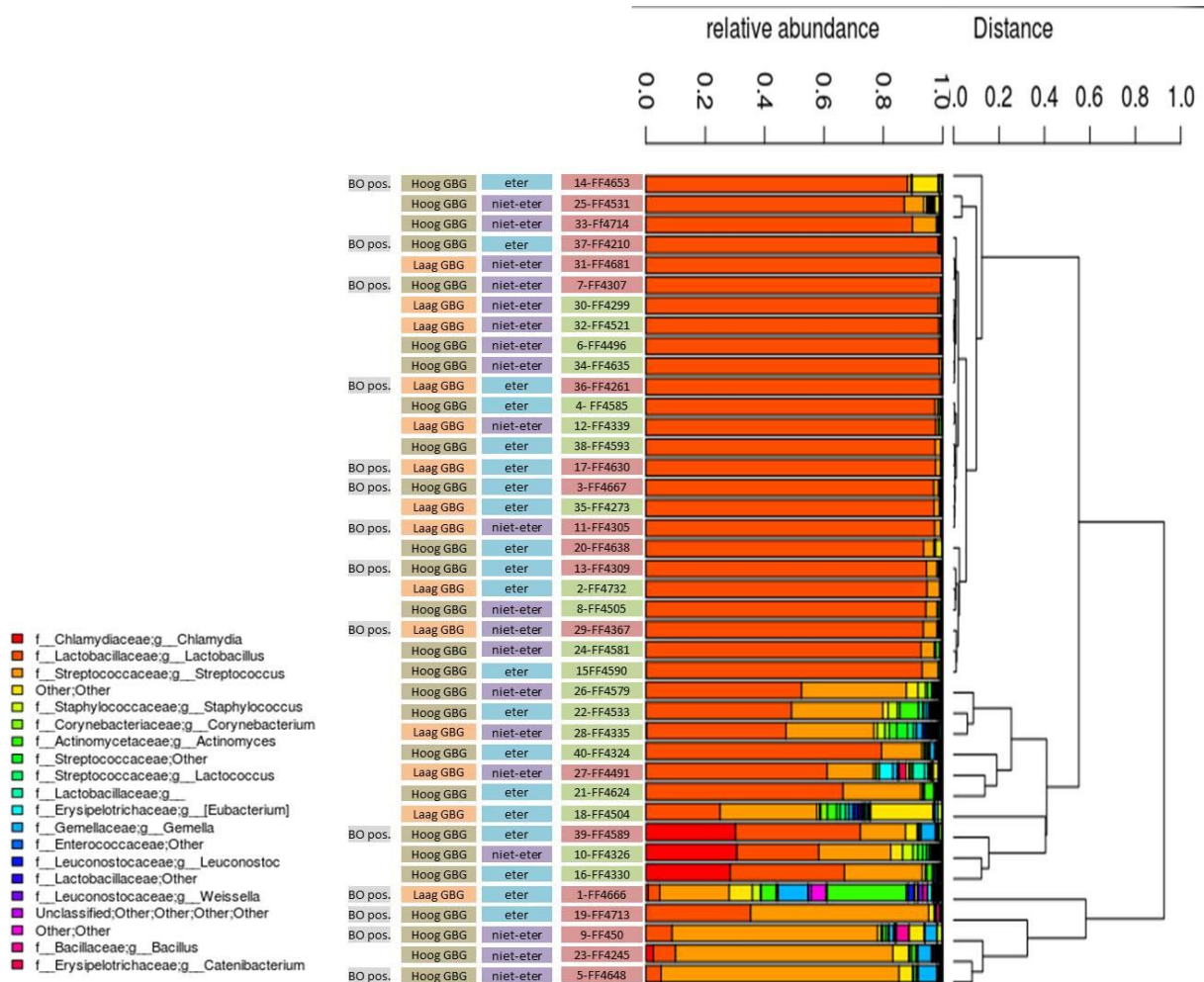
3.4.3 Samenstelling darmflora

Uit eerder onderzoek is gebleken dat *S. suis* met name na het spenen veel voorkomt in de darmflora van biggen (Su et al., 2008). Daarom is in dit onderzoek gekeken of zieke dieren een andere bacterie populatie in de darm (microbiota) hebben dan gezonde dieren. De microbiota samenstelling van de 40 dieren die ter sectie zijn gegaan is bepaald en weergegeven in een dendrogram (Figuur 2), dat de verschillen en overeenkomsten tussen de verschillende microbiota samenstellingen weergeeft. Per big staat de samenstelling van de microbiota aangeven in gekleurde balkjes, waarbij iedere kleur voor een bacteriesoort staat ('relative abundance'). Als de microbiota samenstelling van twee biggen veel op elkaar lijkt, is de afstand ('distance') tussen deze twee biggen klein, zoals weergegeven door de pootjes rechts in de figuur.

Uit figuur 2 blijkt dat in de meeste biggen heel veel lactobacillen aanwezig zijn (aangegeven in oranje), wat overeenkomt met de literatuur (Su et al., 2008). De microbiota samenstelling van de zieke dieren is niet duidelijk anders dan die van de gezonde controledieren (groene en rode blokjes), want de gezonde en zieke dieren staan door elkaar in de figuur. Ze worden niet duidelijk apart van elkaar gegroepeerd. Ook is er geen duidelijk verschil in de microbiota samenstelling tussen eters en niet-eters (lichtblauwe en paarse blokjes), of tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht (bruine en oranje blokjes).

Er is 1 groepje van 5 biggen dat wél apart wordt gegroepeerd van alle andere dieren (de onderste 5 in de figuur). Dit groepje bevat alleen maar zieke dieren. Dit zou kunnen betekenen dat deze vijf biggen wél een andere microbiota samenstelling hebben die predisponerend zou kunnen zijn voor een *S. suis* infectie. Deze groep biggen heeft ook het grootste percentage streptococci (licht oranje) vergeleken met de andere dieren. Hier kan niet gezegd worden welk(e) species binnen het genus streptococcus dit betreft, het hoeft dus niet om *S. suis* te gaan. Dit is het grootste verschil, wat deze vijf dieren onderscheidt van de rest. Daarnaast hebben deze dieren ook meer van een andere bacteriesoort, *Erysipelothrae* in hun microbiota. De veroorzaker van vlekziekte hoort bij deze bacteriesoort, maar ook hier geldt, dat niet exact gezegd kan worden om welke species het precies gaat.

Figuur 2 Dendrogram dat geclusterde microbiota samenstellingen weergeeft. De afstand ('Distance') schaal geeft weer hoe sterk de microbiota samenstellingen op elkaar lijken, terwijl de kleurcodering in 'Relative abundance' aangeeft welke micro-organismen in de microbiota aanwezig zijn. Hoe groter de afstand, hoe groter het verschil. De kleurcodering van de blokjes is als volgt: Rood = zieke big verdacht van *S. suis*; Groen = gezonde controle big; Blauw = eter vóór spenen; Paars = niet-eter voor spenen; Bruin = Hoog geboortegewicht (>1330 gram); Oranje = Laag geboortegewicht (<1330 gram).



3.4.4 Streptococcus suis in de darm

De resultaten van de PCR analyses voor de serotypen 1, 2, 7 en 9 in darmmateriaal van de zieke dieren en de gezonde controle dieren zijn weergegeven in tabel 14.

Tabel 14 Aantal zieke¹ biggen en aantal gezonde controle biggen met *S. suis* serotype 1, 2, 7 en 9 in de darm

Geboortegewicht	Hoog				Laag			
	Eter		Niet eter		Eter		Niet eter	
	Ziek ¹	controle	ziek	controle	ziek	controle	ziek	controle
Aantal biggen	8	8	6	6	3	3	3	3
- serotype 1	0	0	0	0	0	0	0	0
- serotype 2	0	0	0	1	0	0	0	0
- serotype 7	0	0	3	1	1	1	1	3
- serotype 9	8	8	5	3	3	3	3	3

¹ dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zoals hersenverschijnselen of ernstig kreupel

Uit tabel 14 blijkt dat alle darmmonsters negatief waren in de serotype 1 PCR en, met uitzondering van 1 monster, ook negatief in de serotype 2 PCR. Zowel bij de zieke als bij de controle dieren waren 5 darmmonsters positief voor de serotype 7 PCR. Op twee na, waren alle darmmonsters positief in de serotype 9 PCR. Niet alleen de zieke dieren waren positief, maar ook de controle dieren.

3.4.5 Resultaten bloedonderzoek: acute fase eiwitten

Het gehalte aan totaal eiwit, albumine en haptoglobine in het serum bij de 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en bij de 20 gezonde controle dieren uit dezelfde behandeling zijn weergegeven in tabel 15. Daarnaast zijn de gehalten aan totaal eiwit, albumine en haptoglobine weergegeven voor de dieren met een hoog of laag geboortegewicht en voor de eters/niet eters voor spenen.

Tabel 15 Gehalten aan totaal eiwit, albumine en haptoglobine in het serum (g/l) bij zieke¹ dieren en bij gezonde controle dieren, bij dieren met een hoog of laag geboortegewicht en bij eters/niet eters voor spenen

	Ziek	Controle	P-waarde	Hoog geboorte gewicht	Laag geboorte gewicht	P-waarde	Eter	Niet eter	P-waarde
Aantal dieren	20	20		14	6		11	9	
Totaal eiwit	49,7	45,5	0,005	47,1	48,1	0,35	47,6	47,7	0,92
Albumine	29,9	29,5	0,61	29,9	29,5	0,63	29,6	29,8	0,81
Haptoglobine ²	2,19	0,40	< 0,001	1,01	1,59	0,10	1,17	1,42	0,46

¹ dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie zoals hersenverschijnselen of ernstig kreupel

² Er is een interactie tussen geboortegewicht en eter/niet eter

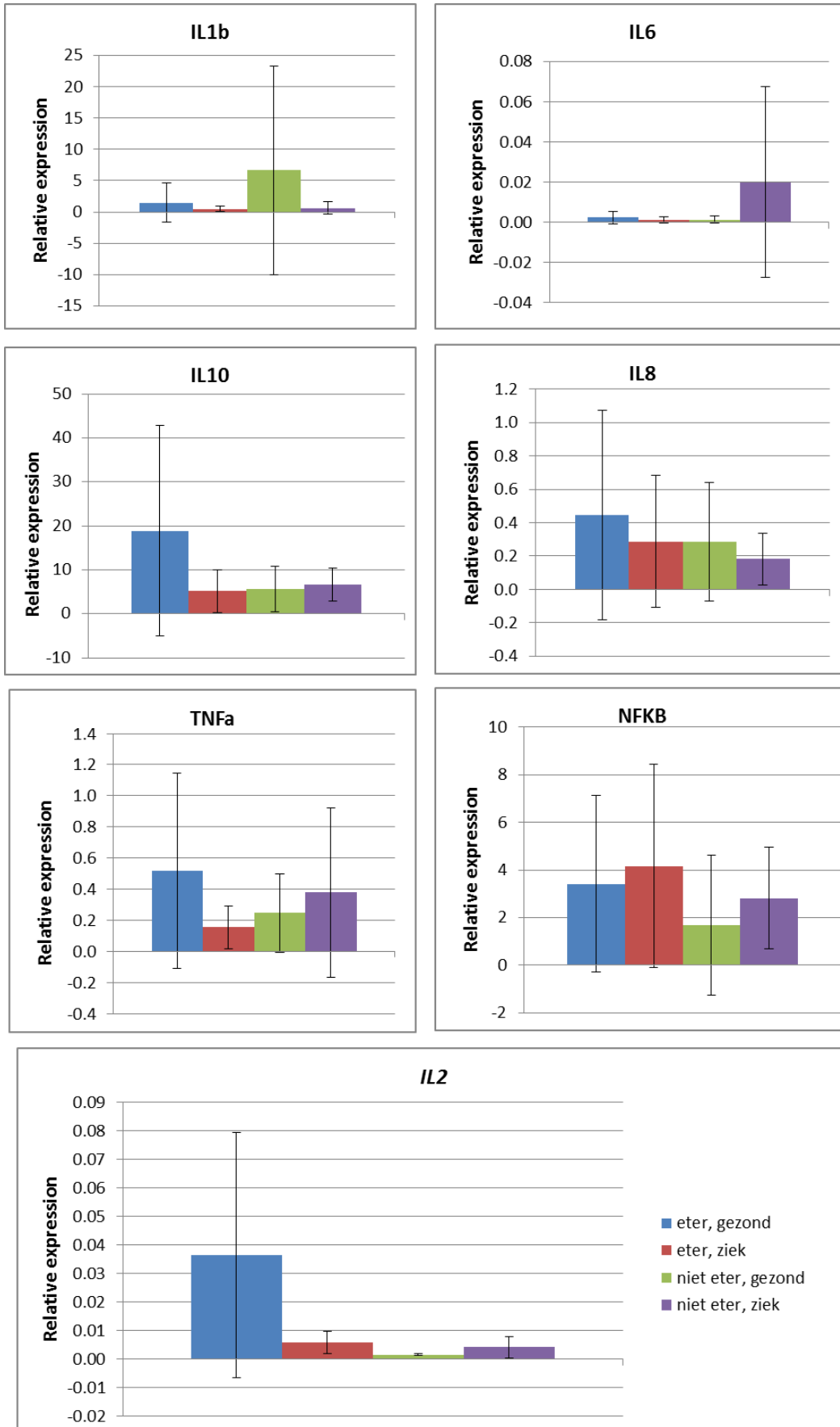
Uit tabel 15 blijkt dat de dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie een hoger totaal eiwitgehalte en een hoger haptoglobine gehalte in het serum hebben dan de gezonde controle dieren. Het albuminegehalte is vergelijkbaar bij de twee groepen dieren.

Er is geen duidelijk effect van geboortegewicht en van eter/niet eter op de gehalten aan totaal eiwit, albumine en haptoglobine in het serum. Wel is er een interactie tussen geboortegewicht en eter/niet eter voor het kenmerk haptoglobine. Bij de eters is er geen verschil in haptoglobine gehalte tussen biggen met een hoog of een laag geboortegewicht (1,27 vs 1,07 g/l). Bij de niet eters daarentegen is het haptoglobine gehalte duidelijk lager bij de biggen met een hoog geboortegewicht dan bij de biggen met een laag geboortegewicht (0,75 vs 2,10 g/l; $p = 0,02$).

3.4.6 Resultaten bloedonderzoek: Innate immuun respons

De expressie van 7 genen betrokken bij de innate immuun respons is gemeten in 31 van de 40 dieren die ter sectie zijn gegaan (op het moment dat de eerste 9 dieren ter sectie zijn gegaan, waren de juist bloedbuizen nog niet in Sterksel aanwezig). De resultaten zijn weergegeven in figuur 3. Hieruit blijkt dat er geen verschillen in genexpressie zichtbaar zijn tussen de zieke dieren en de gezonde controle dieren. Alleen voor de expressie van IL-1-beta is een trend in deze richting te zien; de genexpressie is iets hoger bij de gezonde controle dieren dan bij de zieke dieren. Voor de overige genen geldt dit niet. Er is geen effect van geboortegewicht en van eter/niet eter op de expressie van de 7 genen.

Figuur 3 Genexpressie gemeten in bloed van 31 biggen die ter sectie zijn gegaan. Genexpressie van Interleukine-1- β (IL1b), Interleukine 6 (IL6), Interleukine 10 (IL10), Interleukine 8 (IL8), Tumor Necrosis Factor α (TNF α), Nuclear factor κ B (NFkB) en Interleukine 2 (IL2) zijn gemeten door middel van quantitative PCR. Foutenbalken geven de standaarddeviatie aan.



4 Discussie

Onderzocht is wat het effect is van geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. De verwachting was dat de infectiedruk (aantal *S. suis* op de tonsil en in de faeces) lager en de weerstand (aantal biggen gekoloniseerd met *S. suis* maar daar niet ziek van word) beter zou zijn bij biggen met een hoog geboortegewicht en bij biggen die voor spenen voer hebben opgenomen.

Technische resultaten

De biggen met een hoog geboortegewicht waren zwaarder bij spenen dan de biggen met een laag geboortegewicht. Van spenen tot vijf weken na spenen namen de biggen met een hoog geboortegewicht meer voer op en groeiden sneller dan de biggen met een laag geboortegewicht. Er was geen verschil in voederconversie tussen biggen met een hoog of een laag geboortegewicht. Soortgelijke resultaten zijn gevonden door Knol (2012), Alvarenga et al. (2013) en Van der Peet-Schwering et al. (2013).

De biggen die voor spenen voer hadden opgenomen, namen na spenen meer voer op en groeiden sneller dan de biggen die voor spenen geen voer hadden opgenomen. Er was na spenen geen verschil in voederconversie tussen biggen die voor spenen wel of geen voer hadden opgenomen. Soortgelijke resultaten zijn gevonden door Bruininx et al. (2002) en Van der Peet-Schwering et al. (2012^a). De eerste twee weken na spenen namen de niet eters met een laag geboortegewicht minder voer op dan de niet eters met een hoog geboortegewicht en dan de eters met een hoog of een laag geboortegewicht. Bij de niet eters met een laag geboortegewicht was de mucosa in het voorste (duodenum) en achterste (ileum) deel van de dunne darm dunner (figuur 1) en het haptoglobine gehalte in het serum hoger dan bij de niet eters met een hoog geboortegewicht. Bij de biggen met een laag geboortegewicht lijkt het dus belangrijker om de voeropname voor spenen te stimuleren dan bij de biggen met een hoog geboortegewicht.

Klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie

Bij 35 van de 320 biggen zijn klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie waargenomen. Hiervan hadden er 20 een hoog geboortegewicht en 15 een laag geboortegewicht. Dit verschil was niet significant verschillend. Uit onderzoek van Van der Peet-Schwering et al. (2012) bleek dat klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie vaker voorkwamen bij biggen die lichter waren bij spenen (tussen de 6 en 7 kg) dan bij biggen die zwaarder waren bij spenen (tussen de 8 en 9 kg). Biggen die zwaarder zijn bij spenen hebben meestal ook een hoger geboortegewicht (Van der Peet-Schwering et al., 2013). In ons onderzoek was het verschil in geboortegewicht tussen de biggen met een hoog en laag geboortegewicht gemiddeld 430 gram (1,58 versus 1,15kg). Het verschil in speengewicht was gemiddeld 600 gram (7,3 versus 6,7 kg). In het onderzoek van Van der Peet-Schwering et al. (2013) was het verschil in geboortegewicht tussen de biggen met een hoog en laag geboortegewicht ook 430 gram (1,56 versus 1,13 kg). Bij spenen was het verschil echter 1 kg (8,3 versus 7,3 kg). Mogelijk was het verschil in speengewicht in ons onderzoek te klein om een effect aan te kunnen tonen. Wel zijn er bij de biggen met een hoog geboortegewicht meer biggen uitgevallen als gevolg van een *S. suis* infectie dan bij de biggen met een laag geboortegewicht.

Het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie was vergelijkbaar bij biggen die wel of geen voer op hadden genomen voor spenen. Van de 35 biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie hadden er 17 voer opgenomen voor spenen en 18 biggen hadden geen voer opgenomen voor spenen. Uit onderzoek van Van der Peet-Schwering et al. (2012) bleek dat eters voor spenen minder klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie hadden dan niet eters (9 versus 18,2% van de biggen). Zij gaven aan dit mogelijk komt omdat eters voor spenen, na spenen meer voer opnemen dan niet eters voor spenen. In ons onderzoek namen de eters inderdaad meer voer op dan de niet eters. Het verschil in voeropname trad echter pas op van dag 14 tot 35 na spenen. De eerste 14 dagen na spenen was er geen verschil in voeropname tussen de eters en niet eters voor spenen. Dit is mogelijk de reden dat het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie vergelijkbaar is bij eters en niet eters. Wel zijn er bij de niet eters meer biggen veterinair behandeld vanwege een *S. suis* infectie.

Tonsilswabs en mestmonsters

In dit onderzoek zijn voor de detectie van *S. suis* serotype 1, 2, 7 en 9 stammen kwantitatieve PCR (qPCR) testen gebruikt. Met behulp van qPCR testen kan niet alleen worden aangegeven of een big positief is voor een *S. suis* serotype, maar ook een indruk gegeven worden van de hoeveelheid

aanwezige bacteriën. In de literatuur zijn nog geen gegevens bekend waarin op deze manier naar de hoeveelheden *S. suis* op de tonsillen en in de mest van biggen is gekeken.

PCR testen (dus ook de qPCR) kunnen verschillen in de gevoeligheid. Dat betekent dat de minimale hoeveelheid bacteriën die aangetoond kan worden, per test verschillend is. Zo zien we aanzienlijke verschillen in de gevoeligheid van de qPCR testen tussen de verschillende *S. suis* serotypes. De gevoeligheid van de testen verschilt ook tussen verschillende soorten klinische monsters. Zo zijn er verschillen in de gevoeligheid van de qPCR testen tussen de tonsilswabs en de mestmonsters. Dit heeft ermee te maken dat sommige klinische monsters meer of minder stoffen kunnen bevatten die een remmende werking hebben op de qPCRs.

Voor de in dit onderzoek gebruikte qPCR test op de tonsillen betekende dit dat er in de serotype 1, 2, 7 en 9 testen, afhankelijk van het serotype, tussen de 700 en 150.000 CFU/ml bacteriën aanwezig moesten zijn om die met de test te kunnen detecteren. Het verschil in gevoeligheid tussen serotype 7 en serotype 9 is ruim een factor 200. Voor de qPCR test op mestmonsters betekende dit dat er in de serotype 1, 2, 7 en 9 testen tussen de 700 en 7.000 CFU/ml bacteriën aanwezig moesten zijn om die met de test te kunnen detecteren. De qPCR op mestmonsters is dus gevoeliger dan die op tonsilmonsters en de verschillen in gevoeligheid tussen de serotypes zijn ook minder groot voor de qPCR op mestmonsters (max. factor 3). Als er minder bacteriën aanwezig zijn dan de aangegeven ondergrens, dan wordt het geteste monster als negatief gescoord. Dat hoeft dan niet te betekenen dat deze monsters ook werkelijk negatief zijn. Ze bevatten alleen minder bacteriën dan de boven aangegeven aantallen.

Bij 128 biggen is vlak voor spenen een tonsilswab genomen. Van deze 128 biggen waren er 10 positief voor *S. suis* serotype 1 terwijl er 62 biggen opgegroeid waren bij een zeug die positief was voor serotype 1. Dit duidt erop dat de transmissie van serotype 1 van de zeugen naar de biggen laag was in dit experiment. Hetzelfde geldt voor serotype 2. Er waren voor spenen 7 biggen positief voor serotype 2 terwijl 44 biggen zijn opgegroeid bij een zeug die positief was voor serotype 2. Dergelijke gegevens zijn niet eerder bepaald in de literatuur.

De transmissie van de *S. suis* serotype 7 en 9 isolaten van de zeugen naar de biggen was daarentegen hoog in dit experiment. Voor *S. suis* serotype 9 komt deze waarneming overeen met de enorme verspreiding van *S. suis* serotype 9 onder varkensbedrijven in Nederland. Voor serotype 7 is deze informatie nieuw. Met name bij serotype 9 zijn ook positieve biggen gedetecteerd die waren opgegroeid bij zeugen die niet positief waren. De reden dat biggen positief zijn terwijl de zeug dat niet was, zou te maken kunnen hebben met de gevoeligheid van de PCR. De zeug zou wel laag-positief kunnen zijn, maar waarbij de PCR niet gevoelig genoeg is om dit aan te tonen. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat het swabben van een zeug minder efficiënt verloopt vergeleken met het swabben van een big. Het is bij zeugen lastiger om een goede swab te nemen dan bij biggen.

Het aantal positieve biggen voor spenen was vergelijkbaar in de vier proefbehandelingen. Na spenen nam het aantal biggen dat positief was voor serotype 1 af. Er is na spenen dus geen verdere verspreiding van serotype 1 tussen biggen opgetreden. Het aantal biggen dat positief was voor de serotypen 2, 7 of 9 nam daarentegen toe na spenen. Ook het aantal CFUs per swab nam toe na spenen. Deze toename was in alle proefbehandelingen te zien. Dit betekent dat er in alle behandelingen een verspreiding tussen biggen is opgetreden van de *S. suis* serotypen 2, 7 en 9.

Naast een PCR op de tonsil is er ook een PCR uitgevoerd op mestmonsters. De mestmonsters waren (vrijwel) allemaal negatief voor *S. suis* serotype 1 en 2. Slechts drie biggen in drie verschillende groepen waren 1 week na spenen positief voor serotype 7. Vier weken na spenen was geen enkele big positief voor serotype 7 in de mest, terwijl hoge aantallen biggen positief waren voor serotype 7 op de tonsil op zowel 1 als 4 weken na spenen. Blijkbaar is serotype 7 uitsluitend gekoloniseerd op de tonsil en komt er geen (met de PCR detecteerbare hoeveelheid) *S. suis* serotype 7 voor in de mest.

Uit de PCR op de mestmonsters bleek dat vlak voor spenen, 1 week na spenen en 4 weken na spenen respectievelijk 45, 31 en 11 monsters positief waren voor serotype 9. In drie van de vier proefbehandelingen nam het aantal positieve dieren en het aantal CFUs per swab af in de tijd. Dit is in tegenstelling met de resultaten van de serotype 9 PCR op de tonsillen, die 4 weken na spenen nog steeds gekoloniseerd waren met hoge aantallen *S. suis* serotype 9. Dit geeft aan dat *S. suis* serotype 9 zowel op de tonsil als in de darm (mest) van biggen koloniseert, maar dat de kolonisatie van de mest in de weken na spenen vermindert.

Sectieresultaten zieke dieren en gezonde controle dieren

Bloedonderzoek:

De dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie hadden een hoger totaal eiwitgehalte en een hoger haptoglobine gehalte in het serum dan de gezonde controle dieren. Het albuminegehalte was vergelijkbaar bij de twee groepen dieren. Soortgelijke resultaten zijn gevonden door Kampman-Van der Hoek et al. (2014). Zij vonden hogere haptoglobine gehalten in het bloed bij biggen met een lage gezondheidsstatus dan bij biggen met een hoge gezondheidsstatus. In ons onderzoek was er geen effect van geboortegewicht en eter/niet eter op de gehalten aan totaal eiwit en albumine. Bij de eters was er ook geen verschil in haptoglobine gehalte tussen de biggen met een hoog of een laag geboortegewicht. Bij de niet eters daarentegen was het haptoglobine gehalte hoger bij de biggen met een laag geboortegewicht.

Bloedonderzoek genexpressie:

Uit onderzoek van Segura et al. (2006) bleek dat *S. suis* in bloedcellen van biggen een sterke immunologische reactie induceert op genexpressie niveau. Daarom werd verwacht dat de zieke dieren hogere innate immuun responsen zouden hebben dan de gezonde controledieren, met name voor de genen interleukine 6 en interleukine 1 β . Dit blijkt echter niet uit de resultaten. Voor de expressie van interleukine 1 β is een trend in deze richting te zien; voor de overige genen geldt dit niet. Een mogelijke verklaring ligt in het feit dat het bloed erg veel stolsels bevatte, ondanks de aanwezigheid van anti-stollingsmiddel. Dit kan zijn veroorzaakt doordat het bloed en het antistollingsmiddel niet goed zijn gemengd, maar het kan ook samenhangen met transport of opslag van het bloed. Daarnaast kunnen de stolsels zijn ontstaan door een (te) hoge dosis Euthasol, het middel dat gebruikt is om de dieren te euthanaseren. Doordat de analyse technisch niet goed is verlopen door de aanwezige bloedstolsels, kunnen geen eenduidige conclusies worden getrokken met betrekking tot de innate immuun respons in het bloed.

Darmintegriteit en samenstelling microbiota:

Uit eerder onderzoek bleek dat *S. suis* met name na het spenen veel voorkomt in de darmflora van biggen (Su et al., 2008). Daarom is in dit onderzoek gekeken of zieke dieren een andere bacterie populatie in de darm (microbiota) hebben dan gezonde dieren. De hypothese rondom deze parameter was dat biggen met een bepaalde samenstelling van de microbiota in de darm mogelijk gevoeliger of ongevoeliger zouden kunnen zijn voor een *S. suis* infectie. De analyse van microbiota samenstellingen van biggen die wel of geen *S. suis* infectie doormaakten, gaven geen hele duidelijke verschillen in samenstelling. Wel was er 1 groepje biggen van zieke biggen die een vergelijkbare samenstelling van de microbiota had. Opvallend aan de samenstelling was dat deze biggen opvallend veel streptococcus soorten in hun darm hadden en daarnaast ook veel soorten van erysipelothrae. De resultaten zijn niet hard genoeg om op basis van deze 5 dieren te concluderen dat deze bepaalde samenstelling biggen gevoeliger maakt voor *S. suis* infecties, maar het is wel een interessant gegeven. Deze gegevens zouden er op kunnen duiden dat de samenstelling van de microbiota in de darm inderdaad een rol speelt in de gevoeligheid voor *S. suis* infecties. Verder onderzoek naar het vóórkomen van *S. suis* in de darm, en het verband tussen de andere bacteriesoorten in de darm en gevoeligheid voor *S. suis* infecties is nodig. Dit zou in de toekomst mogelijk nieuwe aanknopingspunten in de bestrijding van *S. suis* infecties kunnen opleveren die zich richten op de darm, zoals bijv. bepaalde voedingsadditieven, of probiotica die de aanwezigheid van bacteriesoorten veranderen.

5 Conclusies

Op VIC Sterksel is onderzocht wat het effect is van het geboortegewicht en voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. De belangrijkste conclusies uit het onderzoek zijn:

Technische resultaten

- Biggen met een hoog geboortegewicht nemen van spenen tot vijf weken na spenen meer voer op en groeien sneller dan biggen met een laag geboortegewicht. Er is geen verschil in voederconversie tussen biggen met een hoog of een laag geboortegewicht.
- Eters voor spenen, nemen na spenen meer voer op en groeien sneller dan niet eters voor spenen. Er is van spenen tot vijf weken na spenen geen verschil in voederconversie tussen biggen die voor spenen wel of geen voer hebben opgenomen.

*Klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en uitval*

- Het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie is vergelijkbaar bij biggen met een hoog of een laag geboortegewicht (20 versus 15 biggen) en bij biggen die wel of geen voer hebben opgenomen voor spenen (17 versus 18 biggen).
- Bij de biggen met een hoog geboortegewicht zijn meer biggen uitgevallen als gevolg van een *S. suis* infectie dan bij de biggen met een laag geboortegewicht. Er is geen effect van geboortegewicht op het aantal veterinair behandelde biggen.
- Er is geen effect van eter/niet eter op het aantal uitgevallen en veterinair behandelde biggen. Wel zijn er bij de niet eters meer biggen veterinair behandeld vanwege een *S. suis* infectie.

Tonsilswabs en mestmonsters

- De transmissie van de serotypen 1 en 2 isolaten van de zeugen naar de biggen is laag. De transmissie van de serotypen 7 en 9 isolaten van de zeugen naar de biggen is daarentegen hoog in dit experiment.
- Na spenen is er tussen biggen geen verdere verspreiding van serotype 1 opgetreden. Het aantal biggen dat positief was voor de serotypen 2, 7 of 9 nam daarentegen toe na spenen. Dit betekent dat er in alle behandelingen een verspreiding tussen biggen is opgetreden van de *S. suis* serotypen 2, 7 en 9.
- *S. suis* serotype 9 koloniseert zowel op de tonsil als in de darm (mest) van biggen.

Sectieresultaten

- Biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie hebben een hoger haptoglobine gehalte in het serum dan de gezonde controle dieren. Er is geen verschil in haptoglobine gehalte tussen de eters met een hoog of een laag geboortegewicht. Bij de niet eters is het haptoglobine gehalte hoger bij de biggen met een laag geboortegewicht.
- Er is geen duidelijk verschil in de expressie van 7 cytokine genen, gemeten in bloed, tussen biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en gezonde dieren. Doordat de analyses technisch niet helemaal goed zijn verlopen door de aanwezige bloedstolsels, kunnen geen eenduidige conclusies worden getrokken met betrekking tot de innate immuun respons in het bloed. Er is geen effect van geboortegewicht en van eter/niet eter op de expressie van de 7 genen.
- De microbiota samenstelling van de dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie is niet duidelijk anders dan die van de gezonde controledieren. Ook is er geen duidelijk verschil in de microbiota samenstelling tussen eters en niet eters en tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht.

Overall kan geconcludeerd worden dat *S. suis* serotype 9 als enig serotype ziekte heeft veroorzaakt en dat er geen duidelijk effect is van geboortegewicht en van voeropname voor spenen op het aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie. De infectiedruk (aantal *S. suis* op de tonsil en in de faeces) verschilt niet tussen biggen met een hoog of laag geboortegewicht en tussen eters en niet eters. Ook de weerstand van de biggen (aantal biggen gekoloniseerd met *S. suis* maar daar niet ziek van wordt) is niet beïnvloed door het geboortegewicht en voeropname voor spenen.

Literatuur

Alvarenga, A.L.N., H. Chiarini-Garcia, P.C. Cardeal, L.P. Moreira, G.R. Foxcroft, D.O. Fontes and F.R.C.L. Almeida. 2013. Intra-uterine growth retardation affects birthweight and postnatal development in pigs, impairing muscle accretion, duodenal mucosa morphology and carcass traits. *Reproduction, Fertility and Development*, 25, 387-395.

Anonymus, Boerderij, augustus 2006.

Bruininx, E.M.A.M., G. P. Binnendijk, C.M.C. van der Peet-Schwering, J.W. Schrama, L.A. den Hartog, H. Everts and A.C. Beynen. 2002. Effect of creep feed consumption on individual feed intake characteristics and performance of group housed weanling pigs. *Journal of Animal Science*,

Kampman-Hoek, E. van de, P. Sakkas, J.J.G.C. van den Borne, W.J.J. Gerrits, C.M.C. van der Peet-Schwering, H. van Beers and A.J.M. Jansman. 2013. Impact of CFA and dietary protein supply on acute phase responses and nitrogen retention in pigs. *Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production*, 134, 367-368.

Knol, E. 2012. Geboortegewicht en genen zijn de belangrijke voorspellers voor de technische- en economische resultaten van een vleesvarken. Persbericht op de website van Topigs.

Mulder, I.E., Schmidt B., Lewis M., Delday M., Stokes C.R., et al. 2011. Restricting Microbial Exposure in Early Life Negates the Immune Benefits Associated with Gut Colonization in Environments of High Microbial Diversity. *PLoS ONE* 6(12): e28279. doi:10.1371/journal.pone.0028279

Peet-Schwering, C.M.C. van der, G.P. Binnendijk en L.M.P. Troquet. 2012^a. Voeropname van biggen tijdens zoogperiode belangrijk. *V-focus*.

Peet-Schwering, C.M.C. van der, L.M.P. Troquet, G.P. Binnendijk, J.T.M. van Diepen en R. Raymakers. 2012. Invloed van drie dagen kunstmelk na spenen en van voersamenstelling op energieopname en *Streptococcus suis* verschijnselen bij biggen. Rapport 577, Wageningen UR Livestock Research, Lelystad.

Peet-Schwering, C.M.C. van der, L.M.P. Troquet, G.P. Binnendijk en E. Knol. 2013. Effect van genetische aanleg en geboortegewicht op de technische resultaten van biggen en vleesvarkens. Rapport 724, Wageningen UR Livestock Research, Lelystad.

Segura M., G. Vanier, D. Al-Numani, S. Lacouture and M. Olivier. 2006. Proinflammatory cytokine and chemokine modulation by *Streptococcus suis* in a whole-blood culture system. *FEMS Immunology, Medicine and Microbiology*, 47, 92-106.

Su Y., W. Yao, O.N. Perez-Gutierrez, H. Smidt and W.Y. Zhu 2008. Changes in abundance of *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus suis* in the stomach, jejunum and ileum of piglets after weaning. *FEMS Microbiology Ecology*, 66, 546-555.

Bijlagen

Bijlage 1 Protocol registratie klinische verschijnselen *S. suis*

Twee keer per dag ('s ochtends tussen 7.30 uur en 9.30 uur en 's middags tussen 14.30 uur en 16.30 uur) zijn alle dieren gecontroleerd op het vóórkomen van klinische verschijnselen van *S. Suis*. De dieren waren individueel herkenbaar. Wanneer klinische verschijnselen zijn waargenomen is het betreffende diernummer genoteerd. Er is gelet op de volgende verschijnselen:

Klinische verschijnselen *Streptococcus suis*

Klinische verschijnselen	Score	Symptoom
Hersenverschijnselen	0	Geen
	1	Milde afwijkingen, zoals trillen, zichtbaar na stimulering van het dier.
	2	Duidelijke symptomen zoals evenwichtsstoornissen, dwangbewegingen en kopschudden.
	3	Ernstige symptomen, platliggen, snelle oogbewegingen, gestrekte nek, fietsbewegingen.
	4	Dier is dood
Kreupelheid	0	Geen
	1	Milde kreupelheid die zichtbaar is als dier gestimuleerd wordt te lopen.
	2	Kreupelheid die zichtbaar is in rust door een afwijkende houding of belasting van betreffende poot. Zwelling van gewricht is zichtbaar. Wel belasting.
	3	Ernstige kreupelheid, dier wil poot niet belasten en wil niet lopen.
Gedragsverandering	0	Geen
	1	Dier is sloom en blijft achter in het hok staan.
	2	Dier maakt een zieke indruk. Geen verschijnselen die duiden op een andere (bv. respiratoire) aandoening.
	3	Dier is dermate ziek dat het blijft liggen. Geen verschijnselen die duiden op een andere (bv. respiratoire) aandoening.
Lichaamstemperatuur	0	Lager dan 40°C
	1	Hoger dan 40°C

De lichaamstemperatuur is alleen gemeten als klinische verschijnselen zijn waargenomen. Indien bij een score hoger dan '0' de verschijnselen t.o.v. de vorige waarneming afgenomen zijn (van bijv. 2 naar 1) en de temperatuur bij de laatste meting lager dan 39,5°C was, is de lichaamstemperatuur niet meer gemeten. Als de ernst van de verschijnselen toenam, is de temperatuur weer gemeten.

Inclusiecriteria voor *S. suis*:

- Hersenverschijnselen score 1, 2 of 3
- Kreupelheid score 1 of 2 meer dan 2 achtereenvolgende waarnemingen, gecombineerd met temperatuur boven 40°C
- Kreupelheid score 3
- Gedragsverandering (indien niet duidelijk wijzend op een andere, bv. respiratoire, aandoening) en temperatuur boven 40°C

Bijlage 2 Protocol PCR voor *S. suis* in tonsil- en mestmonsters

Tonsilswabs en faeces swabs werden bij binnenkomst uitgespoeld in een buis met 2 mL *S. suis* selectieve bouillon. Van deze bouillon werd 1 mL overgebracht in een schroefdop ep en opgeslagen bij -20°C. Dit monster werd aangemerkt als 'niet geïncubeerd'. De andere 1 mL werd 24 uur geïncubeerd bij 37°C en vervolgens opgeslagen bij -20°C in een schroefdop ep en aangemerkt als 'geïncubeerd'. Voor darminhoud monsters werd 200 µL suspensie toegevoegd aan 1.8 mL *S. suis* selectieve bouillon. Ook hier werd vervolgens 1 mL bouillon + darminhoud direct opgeslagen bij -20°C in een schroefdop ep en 1 mL 24 uur geïncubeerd bij 37°C en daarna opgeslagen bij -20°C. Om resultaten te kunnen kwantificeren werd bij iedere reeks monsters tevens 4 verschillende *S. suis* verdunningsreeksen (serotype 1, 2, 7 en 9) met bekende concentratie (CFU/mL) meegenomen. Voor tonsilswabs werd deze reeks gemaakt in *S. suis* bouillon en voor de faeces swabs en darminhoud in een 10% faecessuspensie. Voor DNA extractie werd gebruikgemaakt van de niet geïncubeerde monsters. DNA extractie vond plaats m.b.v. het MagMAX Express 96 systeem en de AM1840 Total Nucleic Acid kits volgens het AM1840_DW protocol. Hiertoe werd 175 µL niet geïncubeerde suspensie als input gebruikt. Real-Time PCR vond plaats in 20 µL reacties (15 µL mastermix en 5 µL geïsoleerd DNA) op het ABI7500 systeem volgens een standaard programma. Fluorescentie curves werden beoordeeld op de lineaire schaal waarbij een duidelijke sigmoïde curve zichtbaar moest zijn. De afkapwaarden van de PCR (in CFU per ml) waren verschillen voor de verschillende serotypen *S. suis* en waren ook verschillend voor de bepalingen op de tonsillen en in de mest.

Bijlage 3 Protocol bacteriologisch onderzoek, darmintegriteit en cytokine respons

Bij 20 dieren met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie (dieren met hersenverschijnselen en/of kreupel dieren) en 20 gezonde dieren uit dezelfde behandeling is:

- De aanwezigheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 in de hersenen en in de gewrichten bepaald via bacteriologisch onderzoek. Van gewrichten in de poten die zichtbaar aangedaan waren (rood, gezwollen, pus) en van de hersenen zijn reinstrijken gemaakt op Columbia agar bloedplaten met 6% paardenbloed. De beënte platen zijn minimaal 16 uur bebroed bij 37°C onder 5% CO₂ spanning, waarna de platen beoordeeld zijn. Op basis van kolonie-morfologie zijn *S. suis* kolonies geselecteerd. Deze zijn vervolgens opnieuw reingestreekt op platen en bebroed. Op deze reïncultures is door middel van agglutinatie met polyclonale konijnensera tegen *S. suis* serotype 1, 2, 7 en 9 bepaald om welk serotype het gaat. Van alle geïsoleerde stammen is een glycerolstock gemaakt die is opgeslagen bij -80°C.
- De darmintegriteit (morfologie, villus-crypt ratio en darmschade) en de samenstelling van de microbiota vastgesteld. Daarnaast is via kwantitatieve PCR de aanwezigheid en de hoeveelheid van de *S. suis* serotypen 1, 2, 7 en 9 bepaald. Tijdens de sectie zijn van verschillende darmdelen (jejunum, ileum) monsters genomen die opgespeld op kurk in 4% gebufferde formaline zijn gefixeerd. Vervolgens zijn de monsters ingebed in paraffine, waarna er 3 – 5 µm coupes van gesneden zijn die gekleurd zijn met hematoxyline en eosine. De coupes zijn vervolgens microscopisch geanalyseerd op integriteit van de epitheliale barrière. Uit het jejunum is darminhoud verzameld en onmiddellijk ingevroren. Vervolgens is de darminhoud 1:1 gemengd met PBS om het materiaal te verdunnen en gehomogeniseerd door 20 seconden te schudden in aanwezigheid van 10 glasparsels (Ø 3 mm). Vervolgens is de oplossing 2 keer gewassen en afgedraaid bij 300 x g om eventuele voerresten te verwijderen. De microbiota zijn verzameld door af te draaien bij 9.000 x g. De bacteriën zijn gelyseerd door ze op te nemen in 1400 µl ASL-buffer uit de QIA-amp DNA Stool Mini kit (Qiagen) en vervolgens in de Fastprep te homogeniseren gedurende 30 seconden bij 5.5 ms⁻². Het DNA is geïsoleerd met behulp van de QIA-amp DNA Stool Mini kit (Qiagen). 16S rDNA wordt geamplificeerd door middel van PCR waarbij primers voor de V3 regio gebruikt worden (forward primer: CCTACGGGAGGCAGCAG; reverse primer: ATTACCGCGGCTGCTGG). De PCR-producten worden opgezuiverd en gesequenced met behulp van de MiSeq. De gesequente reads werden gefiltreerd op kwaliteit en geassembleerd op de overlappende gebieden tot pseudoreads van 150-160 basen lang. Deze pseudoreads werden taxonomisch gedetermineerd in QIIME. Verdere hiërarchische clustering werd in R gedaan.
- De cytokine respons op RNA niveau vastgesteld in het bloed. De bloedmonsters zijn in PAX-gene buizen (preAnalytix) verzameld en onmiddellijk ingevroren. Uit dit bloed is volgens de voorschriften van de producent RNA geïsoleerd (methode zie bijlage 3). Het bloed is afgedraaid en gewassen met water. De pellet met daarin de witte bloedcellen is opgenomen in 1 ml Trizol (Invitrogen). Vervolgens is 350 µl van deze suspensie gebruikt om RNA te isoleren met behulp van de Directzol kit (Zymo Research). Vervolgens is het RNA verder opgezuiverd met behulp van de RNA clean & concentrator kolommen (Zymo Research). De kwaliteit van het RNA is bepaald met behulp van de BioAnalyzer (Agilent Biotechnologies). 300 ng RNA is gebruikt als input voor cDNA synthese in een reactie die 25 ng µl⁻¹ random primers (Promega), 10 mM dNTPs (Promega), 40U RNA sin (Promega) en SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) bevat, volgens de voorschriften van de producent. Het cDNA werd 20 keer verdund voor qPCR analyse. Iedere reactie bevat 12.5 pmol forward primers, 12.5 pmol reverse primer en POWR SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) volgens voorschrift van de producent. qPCR werd uitgevoerd op de ABI7500 (Applied Biosystems). Om te corrigeren voor variatie in RNA opbrengst en cDNA synthese worden alle resultaten uitgedrukt ten opzichte van de stabiele expressie van 2 huishoudgenen. In iedere qPCR reactie wordt een standaardreeks meegenomen, bestaande uit een vector met daarin het gecloneerde PCR product van het te meten gen. De standaardreeks bestaat uit 10voudige verdunningen van deze controle vector. De primer sequenties staan weergegeven in de tabel.

Tabel Primer sequenties gebruikt voor qPCR analyse

Primer	Sequence 5'-3'	Target
IL-1- β -fw	ggccgccaagatataactga	Porcine interleukin 1- β
IL-1- β -rev	ggacctctgggtatggcttc	Porcine interleukin 1- β
IL-2-fw	tgctgctggattacagttgct	Porcine interleukin 2
IL-2-rev	gcctgctgggcatgtaaaa	Porcine interleukin 2
IL-6-fw	gacaaagccaccaccctaa	Porcine interleukin 6
IL-6-rev	ctcgttctgtgactgcagcttatc	Porcine interleukin 6
IL-8-fw	ttcgatgccagtgcataaata	Porcine interleukin 8
IL-8-rev	ctgtacaaccttctgcacca	Porcine interleukin 8
IL-10-fw	gagaaactagggagccccttg	Porcine interleukin 10
IL-10-rev	tggccacagcttcaagaatg	Porcine interleukin 10
TNF- α -fw	cgcccacgtttagccaatgt	Porcine TNF- α
TNF- α -rev	cagatagtcgggcaggtgatctc	Porcine TNF- α
IFN- γ -fw	caaagccatcagtgaactcatca	Porcine interferon- γ
IFN- γ -rev	tctctggccttgaacatagtct	Porcine interferon- γ

Bijlage 4 Technische resultaten biggen per proefbehandeling

Technische resultaten van spenen tot vijf weken na spenen van biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer hebben opgenomen¹

Geboortegewicht	Hoog		Laag		SEM ²	P-waarde interactie
	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter		
Voeropname voor spenen						
Aantal dieren	50	70	70	70		
Aantal hokken	5	7	7	7		
Geboortegewicht (kg)	1,61	1,55	1,19	1,11		
Opleggewicht (kg)	7,2	7,4	6,9	6,5		
Eindgewicht (kg)	22,5	22,8	22,3	20,5		
Groei (g/d)	444	438	439	399	13,5	0,16
Voeropname (kg/d)	0,63	0,62	0,63	0,56	0,022	0,11
Voederconversie	1,42	1,41	1,45	1,40	0,025	0,41
EW-opname (/d)	0,70	0,68	0,70	0,61	0,024	0,11
EW-conversie	1,57	1,55	1,60	1,54	0,028	0,41

¹ De technische resultaten zijn alleen berekend voor de hokken waarin bij het einde van de proef nog 6 of meer dieren lagen. 6 hokken (3 hokken hoog geboortegewicht, eter; 1 hok hoog geboortegewicht, niet eter; 1 hok laag geboortegewicht, eter; 1 hok laag geboortegewicht, niet eter) zijn niet meegenomen bij de berekening van de technische resultaten.

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde (geeft een indicatie van de nauwkeurigheid van de schatting van de gemeten variabele)

Bijlage 5 Technische resultaten biggen per gewichtstraject per proefbehandeling

Technische resultaten per gewichtstraject van biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer hebben opgenomen¹

Geboortegewicht	Hoog		Laag		SEM ²	P-waarde interactie
	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter		
Voeropname voor spenen						
Aantal dieren	50	70	70	70		
Aantal hokken	5	7	7	7		
<i>Van opleg tot 14 dagen na opleg:</i>						
Opleggewicht (kg)	7,2	7,4	6,9	6,5		
Tussengewicht (kg)	10,9	11,1	10,7	9,8		
Groei (g/d)	270	263	274	237	11,5	0,14
Voeropname (kg/d)	0,31 ^a	0,33 ^a	0,31 ^a	0,27 ^b	0,012	0,005
Voederconversie	1,16	1,26	1,14	1,15	0,048	0,24
EW-opname (/d)	0,35 ^a	0,37 ^a	0,35 ^a	0,30 ^b	0,013	0,006
EW-conversie	1,30	1,41	1,28	1,29	0,053	0,24
<i>Van 14 dagen na opleg tot einde opfok (35 dagen na opleg):</i>						
Tussengewicht (kg)	10,9	11,1	10,7	9,8		
Eindgewicht (kg)	22,5	22,8	22,3	20,5		
Groei (g/d)	560	555	548	507	18,8	0,27
Voeropname (kg/d)	0,84	0,81	0,85	0,75	0,035	0,30
Voederconversie	1,51	1,45	1,55	1,48	0,038	0,77
EW-opname (/d)	0,93	0,89	0,93	0,82	0,038	0,30
EW-conversie	1,66	1,60	1,70	1,62	0,041	0,77

¹ De technische resultaten zijn alleen berekend voor de hokken waarin bij het einde van de proef nog 6 of meer dieren lagen. 6 hokken (3 hokken hoog geboortegewicht, eter; 1 hok hoog geboortegewicht, niet eter; 1 hok laag geboortegewicht, eter; 1 hok laag geboortegewicht, niet eter) zijn niet meegenomen bij de berekening van de technische resultaten.

² SEM = gepoolde standaard error van het gemiddelde (geeft een indicatie van de nauwkeurigheid van de schatting van de gemeten variabele)

^{a,b} Gemiddelden met een verschillende letter binnen een hoofdeffect binnen een rij zijn verschillend ($p < 0,05$)

Bijlage 6 Klinische verschijnselen *S. suis* per proefbehandeling

Aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie en aantal biggen met klinische verschijnselen van een *S. suis* infectie dat ter sectie is aangeboden bij biggen die een laag of een hoog geboortegewicht hebben en voor spenen wel of geen voer opgenomen hebben

Geboortegewicht	Hoog		Laag		P-waarde
Voeropname voor spenen	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter	
Aantal opgelegde dieren	80	80	80	80	
Aantal biggen met verschijnselen van een <i>S. suis</i> infectie	11	9	6	9	0,65
- hersenverschijnselen	2	3	3	2	0,94
- ernstig kreupel	5	2	0	4	0,14
- mild of matig kreupel met koorts	4	4	3	3	0,96
Aantal dieren ter sectie	8	6	3	3	

Bijlage 7 Uitval en veterinaire behandelingen per proefbehandeling

Uitval, individuele veterinaire behandelingen en aantal biggen dat ter sectie is aangeboden per proefbehandeling

Geboortegewicht	Hoog		Laag		P-waarde
Voeropname voor spenen	Eter	Niet eter	Eter	Niet eter	
Aantal opgelegde dieren minus dieren ter sectie	72	74	77	77	
Aantal uitgevallen	5	5	1	2	0,25
Per reden van uitval:					
- <i>S. suis</i> infectie	4	4	1	2	0,47
- luchtwegaandoening	1	1	0	0	¹
Aantal veterinair behandeld	4	5	2	5	0,66
Per reden:					
- kreupelheden	3	1	2	2	0,80
- <i>S. suis</i> infectie	0	2	0	3	¹
- luchtwegaandoening	1	1	0	0	1
- diversen	0	1	0	0	1

¹ Aantallen te laag om te toetsen



Wageningen UR Livestock Research

Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad T 0320 238238 F 0320 238050

E info.livestockresearch@wur.nl | www.livestockresearch.wur.nl