

## SLUTRAPPORT Projekt 0252024 och Projekt 0352018

### Bakgrund och Syfte

Dödligheten inom smågrisproduktion bedöms i en internationell jämförelse som hög i Sverige (Forskningsprogrammet GRISKÖTT, SLF 2002). Av de smågrisar som dör, dör de flesta under första levnadsveckan. Den vanligaste dödsorsaken är att smågrisarna kläms ihjäl av suggan. Orsakerna till varför suggor klämmer ihjäl smågrisar är många, bl.a. får nyfödda grisar ibland otillräckligt med di och blir därigenom hungriga och undertempererade. Detta leder i sin tur till att de håller sig nära suggan för att få di och värme och löper därigenom större risk att bli ihjälklämda. Vidare leder den otillräckliga digivningen till undernäring hos smågrisarna och ökad mottaglighet för infektioner (p.g.a. minskat upptag av antikroppar p.g.a. råmjölksbrist), svaga och sjuka smågrisar är mindre rörliga och har svårare att hinna undan då suggan lägger eller vänder sig .

Upphörd eller nedsatt digivning hos suggan vid förlossningen beskrevs redan 1960 av den svenske veterinären. Detta sjukdomssyndrom har kallats agalaktia postpartumsysndromet, *MMA* eller *postparturientdysgalactia syndrome* och kan bero på flera saker t.ex. hormonell dysfunktion och infektion i urogenitalia. Den vanligaste orsaken anses dock vara coliform mastit. En intressant aspekt på just coliform mastit i detta sammanhang är det klassiska arbetet av Smith & Wagner, som visar att endotoxin från *E. coli* sänker prolactinnivåerna i blodet hos sugga. En annan aspekt är att *E. coli*-bakterier isolerats även från juver på kliniskt friska suggor. Detta antyder att en del suggor lider av subklinisk colimastit. Bl.a. utifrån egen praktisk erfarenhet måste man tyvärr tillstå att den gängse veterinärmedicinska fältdiagnostiken för suggor vid förlossningen är relativt trubbig idag. Det råder exempelvis ingen vetenskapligt underbyggd konsensus om vad som är fysiologiskt normalt hos suggan direkt efter förlossningen vad avser allmäntillstånd och aptit.

Det övergripande syftet med projektet har mot denna bakgrund varit att förbättra diagnostiken för coliform mastit hos suggan vid förlossningen för att därigenom öka smågrisarnas överlevnad. Denna slutredovisning omfattar ett två delprojekt: en experimentell studie och en fältstudie. Resultaten från den experimentella studien har publicerats i *Am J vet Res* 65(10): 1434-9 (Zhu et al.) och resultaten från fältstudien är under bearbetning. Syftet med den experimentella studien var att undersöka om koncentrationen av kroppsegna s.k. inflammationsmarkörer hos suggor kunde realteras till graden av coliform mastit under strikt kontrollerade förhållanden för att därigenom få tillgång till ytterligare ett diagnostiskt verktyg. Syftet med fältstudien var att i under verkliga förhållanden undersöka om en av de från den experimentella studien selekterade markörerna kunde bidra till en för bättrad sjukdomsdiagnostik vid förlossning och vilka sjukdomsdiagnostiska kriterier hos suggan som var kopplade till smågrisöverlevnad och -tillväxt.

Projektet har väl följt projektplanen med undantaget att fältstudien utfördes i tre besättningar i Skåne i stället för i två besättningar i Uppland.

### Design, Material och Metoder

Den experimentella studien omfattade 16 suggor, varav 12 inokulerades i juvret med levande *E. coli*-bakterier precis innan förlossningen. Blodprov samlades från samtliga suggor 3 gånger innan inokulationen och förlossningen för analys av ett antal kända inflammationsmarkörer. Sedan samlades prov vid förlossningen eller inokulationen, samt 24, 48, 72 respektive 96 timmar därefter. Av de inokulerade suggorna blev 4 kliniskt sjuka medan 8 förblev klinisk opåverkade utifrån en noggrann klinisk undersökning av juverstatus, allmäntillstånd och

rektaltemperatur. Serumkoncentrationen av Tumor Necrosis Factor-alfa (TNF), serumamyloid A (SAA) och plasmakoncentrationen av interleukin 6 (IL-6) mättes med ELISA-teknik; serum haptoglobin koncentrationen mättes med en hemoglobin-bindnings metod och plasmakoncentrationen av cortisol bestämdes med RIA-metodologi.

Fältstudien omfattade 214 suggor (och grisningar) fördelade på 3st kommersiella besättningar med kliniska fall av colimastit. Vid förlossningen togs temperaturen och blodprov på suggan och smågrisar vägdes och räknades. Efter 24timmar togs ånyo temperaturen på suggan. Behandlingar vid förlossningen mot inflammatorisk/infektions-sjukdom enligt dom rutiner som fanns inom respektive besättning registrerades. Smågrisarna vägdes och räknades därefter vid 2-4 dagars ålder, samt vid avvänjning. Grisar som adopterades till eller bort registrerades. TNF koncentrationen i blodprovet mättes med Elisa-teknik enligt ovan

Statistisk metodologi som använts i båda studierna är variansanalys, korrelations- och regressionsberäkningar samt metoder för kategoriska data såsom chi-2 beräkningar

## Resultat

I den experimentella studien visade det sig att serum eller plasmakoncentrationerna av inflammationsmarkörerna i TNF, IL-6 och SAA steg signifikant efter inokulationen av *E. colibakterien* i juvret – oberoende av om suggan utvecklade klinisk sjukdom eller om hon förblev kliniskt opåverkad. För TNF och IL-6 var dock serum respektive plasmakoncentrationen signifikant högre hos de suggor som utvecklade sjukdom än de som förblev kliniskt sjuka. Vad gäller haptoglobin- och cortisolkoncentrationerna så steg dessa signifikant även i de suggor som ej inokulerades utan bara genomgick en normal förlossning.

I fältstudien behandlades 26% av suggorna vid förlossningen mot inflammatorisk/infektions sjukdom (Tabell 1). Koncentrationen av plasmakoncentrationen TNF hos suggan var mycket starkt korrelerade till rektaltemperaturen vid förlossningen ( $R^2 = 0.4$ ;  $p < 0.0001$ ). Behandling mot sjukdom hos suggan var också starkt associerad till plasmakoncentrationen TNF ( $p = 0.001$ ).

I tabell 2 redovisas frekvenser av olika blodkoncentrationer av TNF samt rektaltemperatur hos de 214 suggorna vid grisning. Gränserna för de tre kategorierna TNF-koncentration är baserat på observationer gjorda i den experimentella studien. Medelvärdet TNF för den grupp suggor som blev sjuka, var innan inokulation 67 pg/ml med en standardavvikelse på 13 pg/ml. Vi satte därför gränsen för normal/frisk vid 80 pg/ml (medelvärde + 1 standardavvikelse) . Gränsvärdet 225 pg/ml erhöles genom att kalkylera medelvärdet för TNF-konc hos de suggor som uppvisade klinisk sjukdom (530 pg/ml) minus en standardavvikelse (42 pg/ml) och därefter beräkna värdet som ligger mittemellan 488 och 80 pg/ml.

De tre olika kategorierna rektaltemperatur i tabell 2, bestämdes bl.a. utifrån tidigare svenska studier. I en större fältstudie sattes 39,5 °C i rektaltemperatur som ett kriterium på klinisk sjukdom. Gränsvärdet 39°C sattes normalvärde vid förlossningen utifrån internationell litteratur.

*Tabell 1. Frekvensen suggor som i de olika besättningarna bedömdes vara i behov av behandling mot inflammatorisk/infektionssjukdom (mastit, metrit och/eller feber) vid förlossningen. Bedömning gjord av djurskötare.*

<b>Behandlad mot sjukdom</b>	<b>Nej</b>	<b>Ja</b>
Frekvens	74%	26%

Tabell 2. Frekvensen suggor med olika TNF-koncentrationer och rektaltemperaturer vid grisning.

<b>TNF-konc. vid grisning</b>	<b>&lt; 80 pg/ml</b>	<b>80 - 225 pg/ml</b>	<b>&gt; 225 pg/ml</b>
Frekvens	48 %	32 %	20 %
<b>Rektaltemp. vid grisning</b>	<b>&lt; 39 °C</b>	<b>39 - 39,5 °C</b>	<b>&gt; 39,5 °C</b>
Frekvens	58 %	26 %	16 %

I preliminära analyser såg vi inga skillnader mellan kullar från de obehandlade suggorna och kullar från behandlade suggor vad gäller överlevnad, tillväxt eller spridning i storlek på kullen.

Såväl vid grisningen som vid avvänjning var spridningen i storlek på smågrisarna inom kullen större ( $p < 0.05$ ) i kullar från suggor med en TNF-koncentration i blodet vid förlossningen som översteg 225 pg/ml jämfört med kullar från suggor med en koncentration under 80 pg/ml.

Vid avvänjningen var spridningen i storlek på smågrisarna inom kullen hos kullarna från suggor med en rektaltemperatur över 39,5 °C vid förlossningen större ( $p < 0.01$ ) än i kullarna från suggor med en rektaltemperatur under 39,0 °C.

### **Diskussion**

Utifrån resultaten i den experimentella studien slöt vi oss till att TNF och IL-6 är känsligare inflammationsmarkörer än SAA och att haptoglobin och cortisol inte går att använda som inflammationsmarkör vid förlossningen eftersom förlossningen i sig synes bidra till förhöjda blodkoncentrationer. Resultaten indikerar att såväl blodkoncentrationen av TNF som av IL-6 borde kunna användas för att detektera subklinisk colimastit hos suggan vid förlossningen. Vi valde därför TNF som den markör som vi ville undersöka i under fältförhållanden.

I fältstudien observerades starka samband mellan plasmakoncentrationen av TNF och såväl förhöjd rektaltemperatur som behandling mot sjukdom. Detta stödjer resultaten från den experimentella studien att TNF är en känslig markör för inflammatorisk sjukdom hos suggan vid förlossningen.

Gränsvärden för vad som är friskt avseende blodkoncentrationen TNF och rektaltemperatur sattes utifrån den tidigare experimentella studien och andra studier presenterade i den internationella litteraturen. Genom att använda dessa värden för TNF och rektaltemperatur befanns andelen påverkade suggor vara 52 % respektive 42%. Detta är ungefär dubbelt så stor andel som de suggor som betraktades som kliniskt sjuka (behandlade suggor 26%). Studien styrker således hypotesen att en betydande del av suggorna i vissa besättningar kan lida av dold sjukdom.

En intressant observation är att vi inte hittat något samband mellan behandling av suggan mot sjukdom vid förlossningen och smågrisarnas tillväxt och överlevnad. Detta kan givetvis bero på att samtliga tre besättningarna tillämpar kullutjämning (dvs. till och bortadoption). Desto mer intressant blir det då att såväl hög TNF-koncentrationen och rektaltemperatur vid förlossningen var associerade till s.k. ”ojämna kullar” vid avvänjningen. Sammantaget indikerar dessa resultat att förbättrad diagnostik av suggan vid förlossningen skulle kunna bidra till att förbättra smågrisproduktionen.

### **Tack till**

Jessica Sandberg för utomordentligt arbete i besättningarna och Åsa Jansson för dito i laboratoriet.

### **Publikationer och övrig resultatförmedling**

Zhu Y, Österlundh I, Hultén F, Magnusson U, 2004. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6, serum amyloid A, haptoglobin and cortisol responses in sows following intramammary inoculation of *Escherichia coli*. *Am J vet Res* 65(10):1434-9

Magnusson U. Kan dolda infektioner hos suggan upptäckas vid förlossningen Jordbrukskonferensen 2004, 118-119. Muntlig och skriftlig presentation.

Magnusson U, Sigfridson K, Göransson L, Lundeheim N, 2007: Disease and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  at parturition and sow performance – a field study. *Manuscript in preparation*