

# Delrapport till SLU Ekoforsk för projektet ”Är ensilage vägen till minskad förekomst av *Campylobacter* hos ekologisk slaktkyckling?”

Februari 2019

Projektgrupp: Helena Wall<sup>1</sup> (projektledare), Eliška Valecková<sup>1</sup> (doktorand), Emma Ivarsson<sup>1</sup>, Kamyar Mogodiniyai Kasmaei<sup>1</sup>, Patrik Ellström<sup>2</sup> och Helen Wang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet, <sup>2</sup> Institutionen för medicinsk biokemi och mikrobiologi, Uppsala Universitet

## Bakgrund

*Campylobacter* är en bakterie som orsakar tarminfektioner med kraftig diarré hos människor. Det är vår vanligaste zoonos och kyckling är den främsta smittkällan. Ekologiska kycklingar är i stor utsträckning bärare av *Campylobacter* eftersom utevistelsen innebär kontakt med smittkällor. Ensilerat grovfoder innehåller höga halter av mjölksyrabakterier vilka tidigare visats hämma *Campylobacter* på olika sätt. Den hämmande effekten kan bl.a. bero på att vissa typer av *Lactobacillus spp.* producerar ämnen som direkt inhiberar *Campylobacter* bakteriens tillväxt såsom organiska syror, t.ex. mjölksyra som sänker pH i tarmen, eller bakteriociner (peptider med antimikrobiell effekt). *Lactobacillus spp.* förändrar även tarmfloras sammansättning, vilket kan vara avgörande för förmågan hos *Campylobacter* att kolonisera tarmen. I det här projektet undersöker vi om utfodring med ensilage är en framkomlig väg att reducera förekomsten av *Campylobacter* hos ekologiska kycklingar.

## Förstudie på lab – val av ensilage och laktobacill

Under 2017 genomfördes en ensileringsstudie där gräsklövergrönmassa respektive helsädesmajs ensilerades på laboratorium vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, SLU, med olika tillsatser av laktobaciller. De tre olika stammar av laktobaciller som valdes ut att ingå i studien var *L.plantarum* LP256, *L.plantarum* E-78076, samt *L. reuteri*, varav den senare kan producera reuterin (en peptid med antibakteriell effekt). Bakterierna tillsattes i koncentrationen 10<sup>5</sup> CFU per gram färskt grovfoder. Efter 45 dagar avslutades ensileringen och vätskefasen (pressaften) från de olika ensilagen testades avseende förmågan att inhibera *Campylobacter jejuni*. Utifrån resultaten i ensileringsstudien fastslogs att *L.plantarum* LP256 var den bäst lämpade laktobacillen att utvärdera vidare och att ensilage av gräsklöver var att föredra framför helsädesmajs.

## Kan ensilage dämpa *C.jejuni* hos infekterade kycklingar?

Under hösten 2017 producerades gräsensilage inokulerat med 10<sup>8</sup> CFU *L.plantarum* LP256 per gram. Från samma vall och vid samma tidpunkt som ensilaget producerades, tillverkades ett hösilage, dvs ett plstatat grovfoder med högre torrsubstans (TS) än ensilaget. Hösilaget fick i försöket motsvara ett ” normalt ” grovfoder. Under januari – mars 2018 genomfördes ett 63 dagar långt försök med långsamväxande slaktkycklingar av hybrid Rowan Ranger vid SLUs försöksanläggning Nationellt

Centrum för Lantbrukets Djur utanför Uppsala. När kycklingarna anlände till försöksstationen som daggamla placerades de ut i grupper om 8 djur.

Ett ekologiskt pelleterat foder köptes in från ett foderföretag. De första tre veckorna tilldelades ett startfoder och därefter ett tillväxtfoder, enligt foderföretagets rekommendation. Kycklingarna i varje grupp tilldelades från dag 1 en av följande foderblandningar: **Kontroll** – enbart det ekologiska pelleterade fodret; **Ensilage** – det pelleterade fodret med en inblandning av 15 % ensilage; **Hösilage** – det pelleterade fodret med en inblandning av 15 % hösilage eller **LP256** – *L. plantarum* LP256 tillsatt i vattnet ( $10^7$  CFU/ml). Ensilaget och hösilaget hackades till en längd på ca 0,5 cm innan de blandades med det pelleterade fodret, dels för att underlätta för kycklingarna att äta stråna och dels för att undvika förstoppning i krävan. Varje dag under försöket togs foderrester från föregående dag bort innan nytt foder tilldelades. Foderförbrukning och dödlighet registrerades dagligen. Vid 28 dagars ålder infekterades alla kycklingar via dricksvattnet med *C. jejuni* ( $10^6$  CFU/ml vatten). Träckprover samlades kontinuerligt från fokaldjur för att följa utsöndringen av *C. jejuni* hos kycklingarna i de olika behandlingarna (odling på platta). Vid tre tillfällen efter infektionen avlivades ett urval av kycklingar och blindtarmsinnehållet analyserades för koncentration av *C. jejuni* med s.k. qPCR-analys. Vid försökets avslutning vid 63 dagars ålder avlivades fokaldjuren och prover från kycklingarnas tarminnehåll togs för analys av tarmfloras sammansättning med s.k. 16S Illumina sequencing.

### **Preliminära resultat**

Kycklingarna hade en normal tillväxt och det var inga signifikanta skillnader mellan behandlingarna avseende tillväxt eller foderintag. Det genomsnittliga dagliga intaget per kyckling av grovfoder var på TS-basis 44 g hösilage (7 % av totala foderintaget) och 65 g ensilage (10 % av totala foderintaget). Utsöndringen av *C. jejuni* i kycklingarnas träck eller koncentrationen av *C. jejuni* i blindtarmarna skiljde sig inte signifikant mellan behandlingarna. Dock iakttogs en numerärt påtaglig skillnad i koncentrationen av *C. jejuni* i blindtarmarna dag 3, en skillnad som är intressant. Denna numerära skillnad kan tyda på att det trots allt kan finnas en hämmande effekt av ensilage på *C. jejuni*, men att variationen mellan kycklingar var för stor för att skillnaden skulle få genomslag i den statistiska analysen. I skrivande stund är resultaten från analysen av tarmfloras sammansättning under bearbetning.

### **Hur går vi vidare?**

Värt att nämna är att i en parallell studie genomförd på snabbväxande Ross 308 kycklingar (bekostad av SLU), påvisades lägre koncentration av *C. jejuni* utsöndring i träcken dagarna efter infektion hos kycklingar som ätit ensilage eller hösilage. Vi misstänker att ett lägre intag av grovfoder hos Rowan Ranger jämfört med Ross 308 kan vara en bidragande orsak till skillnaderna mellan hybriderna.

I fortsatta studier skulle vi vilja gå vidare med att undersöka om ensilerad spannmål kan ge en större effekt än ensilage hos kycklingar infekterade med *C. jejuni*, då merparten av kycklingarnas foder utgörs av vete. En annan viktig fråga är om vi kan hitta en laktobacill med större potential att inhibera *C. jejuni*, t.ex. genom förmåga att producera antibakteriella peptider (s.k. bacteriocin).

Vi vill tacka SLU EkoForsk för ekonomiskt stöd till studien samt Jesper Ordell på företaget Vefoder för hjälp med tillverkningen av ensilage och hösilage.