



Kryptdybde i colon og dets association med mikrobiologiske fund og tørstofindhold i fæces hos fravænnede grise

Johanna Fjelkner
Dyrlæge, Distriktsveterinærerna

Produktion og sundhed - Institut for
Produktionsdyr og Heste
KU-LIFE

10. Marts 2011
Dias 1



Indledning

Tarmsygdomme er et meget vigtigt område indenfor moderne svineproduktion

Fra 2 uger efter fravænning:

- *Lawsonia intracellularis*
- Porcin circovirus type 2
- Svagt hæmolyserende *Brachyspira* spp.

Kan også have betydning:

- *Escherischia coli*

Ingen større studier har brugt morfometriske metoder



Formål

1

- Måle kryptedybde i den midterste region i colon spiralen i grise fra 20 forskellige besættninger.

2

- Association mellem kryptedybde og *Brachyspira* spp. hos grise med og uden diarré.

3

- Association mellem kryptedybde og tørstofindhold i fæces hos grise med og uden diarré uden påviste patogener.

4

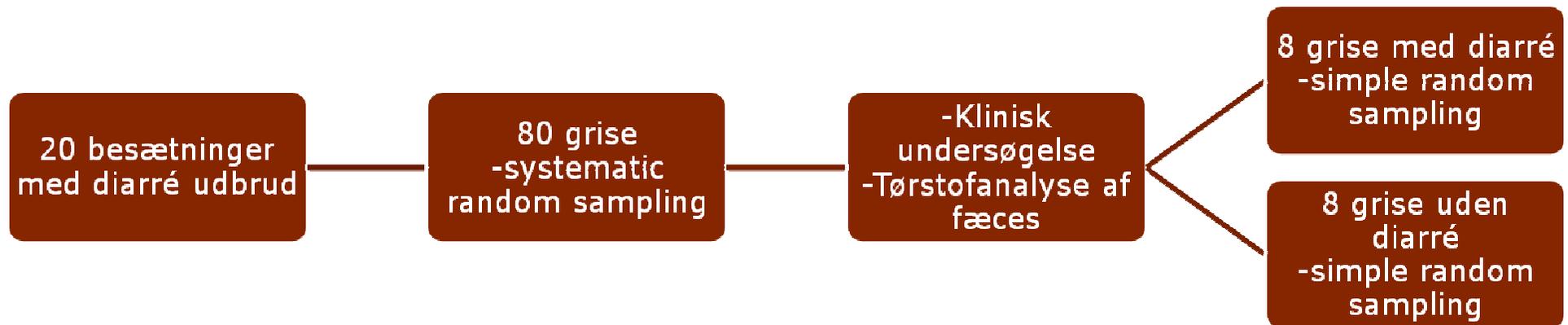
- Histopatologisk undersøgelse for bakterier generelt.



Materiale og metoder – Udvælgelse af dyr

Data fra Ken S. Pedersens PhD-projekt.

Udvalgt 20 besætninger på Sjælland med anamnese om diarré-udbrud:



Materiale og metoder – Kliniske registreringer

- **Køn:** galt, orne, polte
- **Størrelse:** lille, medium eller stor i forhold til stiefæller
- **Alder, antal dage efter fravænning:** 12-37 eller 38-63 dage
- **Rygrad synlig:** ja/nej
- **Hofteben synlige:** ja/nej
- **Øget bug-omfang:** ja/nej
- **Behåret:** ja/nej



Materiale og metoder – Indsamling af prøver

Vævsprøver fra:

- Ileum
 - Jejunum
 - Midterste del af colon-spiralen
 - Mesenterial lymfeknuderne
 - Fra synlige læsioner
-
- Fikserede i 10% neutral buffrad formalin
 - Indstøbte i paraffin voks
 - Snittede i 3 μ m snit
 - Farvet med Hematoxylin Eosin
 - Fluorescerende *in situ* hybridisering for bakterier generelt



Materiale og metoder – Studie design

1 +
2

- Alle grise med og uden diarré fra case besætninger

•Fjernelse af alle grise positive for:

- L. intracellularis*
- PCV2
- Svagt hæmolyserende *Brachyspira* spp.
- E. coli*

3

- Grise med og uden diarré
- Uden påviste patogener

4

- 10 grise med diarré, med højeste medianer for kryptdybde
- 10 grise uden diarré med laveste medianer for kryptedybde



Materiale og metoder – Morfometri



10. Marts 2011
Dias 8



Materiale og metoder – Tørstof analyse af fæces og påvisning af patogener

Tørstof analyse:

- Ifølge Pedersen *et al.*'s (2011) metode
- Diarré: TS% \leq 18%
- Ikke diarré: TS% $>$ 18%

Påvisning af patogener:

- *L. intracellularis* og PCV2: Immunohistokemi
- *Brachyspira* spp. generelt: Fluorescerende *in situ* hybridisering
- *B. pilosicoli*, *B. intermedia* og *B. innocens/murdochii*: Fluorescerende *in situ* hybridisering
- *E. coli*: dyrkning



Materiale og metoder – Data analyse

- Simple t-test: association mellem kryptdybde / tørstof % i fæces i relation til kliniske registeringer og patogener
 - p-værdi $< 0,25$
- Lineær mixed model i SAS 9.1
 - Reduktion ved "Backwards elimination"
 - p-værdi $> 0,05$ som kriterium for at ekskludere en variabel



Resultat

- 20 besætninger
- 312 grise inkluderede (8 grise ekskluderet)
- Alder: 12 – 63 dage efter fravænning
- Køn: 50 galte, 154 hunner, 108 orner

| Patogen | % positive | Antal positive |
|-------------------------------|-------------------|-----------------------|
| <i>L. intracellularis</i> | 19,2 | 60 |
| PCV2 | 4,0 | 13 |
| WHBS | 40,1 | 125 |
| Hæmolytisk <i>E. coli</i> (A) | 14,7 | 46 |
| Hæm. <i>E. coli</i> (B) | 34,6 | 108 |
| Non hæm. <i>E. coli</i> | 41,0 | 128 |



Resultat

1

- Måle kryptedybde i den midterste region i colon spiralen i grise fra 20 forskellige besættninger.

| | Antal (%) | Gns. kryptedybde (μm) | 95 % CI |
|-------------|------------------|--|----------------|
| Diarré | 155 (49,7) | 515,6 | 500,9 – 530,3 |
| Uden diarré | 157 (50,3) | 509,7 | 496,5 – 522,9 |



Resultat

2

- Association mellem kryptedybde og *Brachyspira* spp. hos grise med og uden diarré.

| Effekt | Niveau | Estimat (μm) | SE | Samlet p-værdi |
|---------------|---------|---------------------------|------|----------------|
| Skæringspunkt | | 530,6 | 18,8 | <0,0001 |
| Størrelse | Stor | 24,4 | 13,2 | 0,05 |
| | Medium | 28,3 | 11,6 | |
| | Lille | | | |
| WHBS | Negativ | -21,5 | 10,3 | 0,04 |
| | Positiv | | | |
| Antal dage | 12-37 | -45,5 | 19,6 | 0,03 |
| | 38-63 | | | |



Resultater

Fjernede alle grise med påvsning af:

- *L. intracellularis*
- PCV2
- Svagt hæmolyserende *Brachyspira* spp.
 - *B. pilosicoli*
 - *B. intermedia*
 - *B. innocens/murdochii*
- *E. coli*

→ 57 grise

- Med diarré: 40,4%, 23 ud af 57
- Uden diarré: 59,6%, 34 ud af 57



Resultat

3

- Association mellem kryptedybde og tørstofindhold i fæces hos grise med og uden diarré uden påviste patogener.

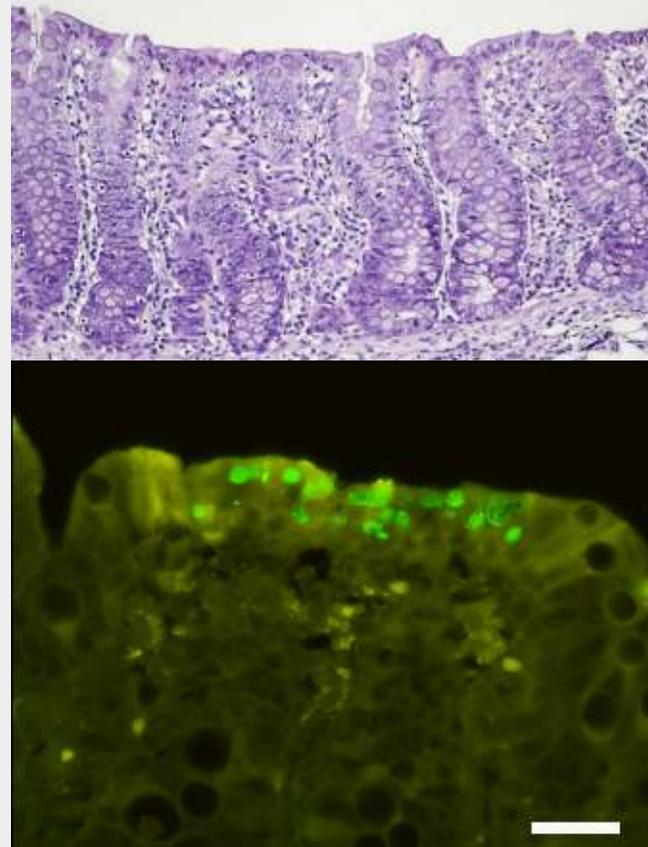
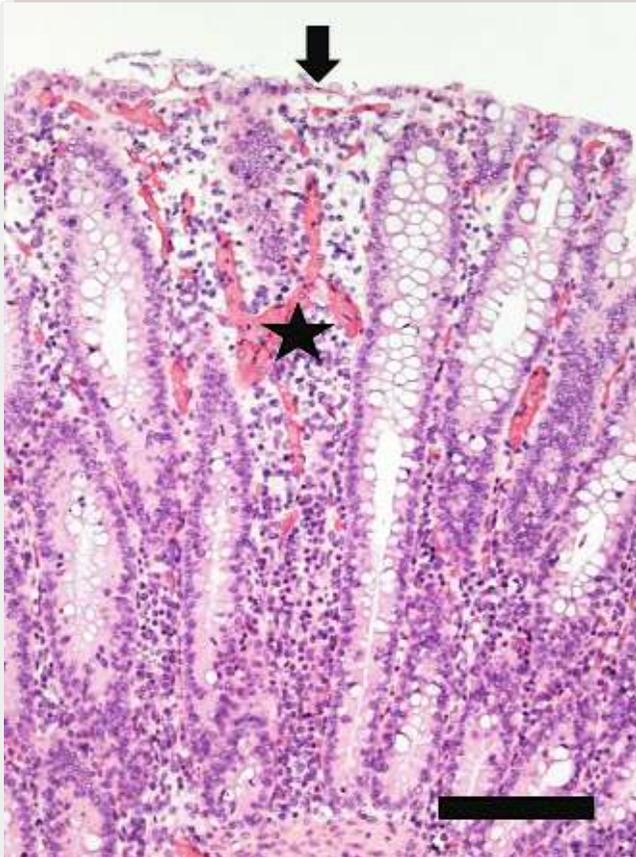
| Effekt | Niveau | Estimat (%) | SE | Samlet p-værdi |
|------------------------------|--------|-------------|-------|----------------|
| Skæringspunkt | | 28,5 | 4,5 | <0,0001 |
| Kryptdybde (μm) | | -0,02 | 0,009 | 0,007 |
| Størrelse | Stor | 4,7 | 1,8 | 0,03 |
| | Medium | 3,7 | 1,6 | |
| | Lille | | | |



Resultat

4

- Histopatologisk undersøgelse for bakterier generelt.



Diskussion og konklusion

2

- Association mellem kryptedybde og *Brachyspira* spp. hos grise med og uden diarré.
- Ingen signifikant association med *L. intracellularis* og PCV2 som forventet
- Ingen signifikant association med *E. coli*
- Association med WHBS tidligere vist
 - Morfometrisk i gnotobiotiske grise (Neef *et al.* 1994)



Diskussion og konklusion

3

- Association mellem kryptedybde og tørstofindhold i faeces hos grise med og uden diarré uden påviste patogener.
- Association mellem TS procent og kryptdybde
 - -0,002% pr μm
- Inkludere grise fra kontrolbesætninger?



Diskussion og konklusion

4

- Histopatologisk undersøgelse for bakterier generelt.
- Bakteriel colitis i 10 ud af 10 grise med diarré med højest medianer for kryptdybde
- Irritation i gris nr. 10
→ Tyder på at grise med dybere krypter også har irritation eller colitis selv om de ikke har diarré



Tak til

Mine vejledere:

Professor Jens Peter Nielsen,
KU-LIFE

PhD studerende Ken Steen
Pedersen, KU-LIFE

Senior forsker Tim Kåre
Jensen, Veterinærinstituttet,
DTU

Personale på
Veterinærinstituttet DTU.

Og Anna Tranekær, Camilla
Waalder Moen og Ylva Naeve



Referencer

Pedersen, K.S., Stege, H., Nielsen, J.P. (2011): Evaluation of a microwave method for dry matter determination in faecal samples from weaned pigs with or without clinical diarrhoea. *In prep.*

