LPS Challenge in Jonge Biggen

VDI-12: Effect voerinterventie op biggen

Astrid de Greeff, Janneke Allaart, Carlijn de Bruijn, Dirkjan Schokker, Petra Roubos,
Hélène Winkelman-Goedhart, Stéphanie Vastenhouw, Lisette Ruuls, Johanna Rebel, Mari Smits

LPS Challenge in Jonge Biggen

VDI-12: Effect voerinterventie op biggen

Astrid de Greeff¹, Janneke Allaart², Carlijn de Bruijn², Dirkjan Schokker³, Petra Roubos², H Winkelman-Goedhart¹, St Vastenhouw¹, Lisette Ruuls¹, Johanna Rebel², en Mari Smits^{1,2}

¹ Wageningen Bioveterinary Research, Dept. of Infection Biology, Lelystad, The Netherlands

² Trouw Nutrition R&D, Boxmeer, Nederland

³ Wageningen Livestock Research, Wageningen, Nederland

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen UR Livestock Research, in opdracht van en mede gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, in het kader van Publiek Private Samenwerking binnen de Topsector Agri & Food. Het werk maakt onderdeel uit van de PPS Feed4Foodure, Voeding Darmgezondheid en Immuniteit, deelproject VDI-12 (projectnummer BO-22.04-002-001).

Wageningen Bioveterinary Research
Wageningen Livestock Research
Wageningen, Oktober 2016

Report 1009

Astrid de Greeff, Janneke Allaart, Carlijn de Bruijn, Dirkjan Schokker, Petra Roubos, H Winkelman-Goedhart, St Vastenhouw, Lisette Ruuls, Johanna Rebel, en Mari Smits 2016. *LPS Challenge in Jonge Biggen; VDI-12: Effect voerinterventie op biggen*. Wageningen Livestock Research.

Dit rapport is gratis te downloaden op <http://dx.doi.org/10.18174/405766> of op www.wur.nl/livestock-research (onder Wageningen Livestock Research publicaties).

 2016 Wageningen Livestock Research

Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, www.wur.nl/livestock-research. Wageningen Livestock Research is onderdeel van Wageningen University & Research.

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

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.

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

Wageningen Livestock Research Report 1009

Inhoud

	Woord vooraf	7
	Summary	9
1	Inbedding Feed4Foodure consortium	11
	1.1 Achtergrond Feed4Foodure	11
	1.2 Immuuncompetentie	11
	1.3 Meetbaarheid immuuncompetentie	12
2	Ontwikkeling Lipopolysaccharide challenge model in jonge biggen	13
	2.1 Achtergrond	13
	2.2 Doel	13
3	Materiaal en Methoden	14
	3.1 Opzet dierexperiment	14
	3.2 Immunologische parameters	15
	3.3 Statistische analyse	15
4	Resultaten	16
	4.1 Gedrag na LPS challenge	16
	4.2 Temperatuurrespons op LPS challenge	16
	4.3 Voeropname na LPS challenge	17
	4.4 Innate immuunrespons op LPS challenge	17
5	Conclusie / discussie	19
	5.1 Conclusie	19
	5.2 LPS dosis	19
	5.3 Uitleesparameters	19
	5.4 Systemisch versus mucosaal	19
	Literatuur	21

Woord vooraf

Feed4Foodure is een publiek private samenwerking tussen het Ministerie van Economische Zaken, een consortium van samenwerkende bedrijven binnen de diervoedingsketen en Wageningen UR Livestock Research / Centraal Veterinair Instituut, part of Wageningen UR. Feed4Foodure heeft als doel een bijdrage te leveren aan een duurzame en gezonde veehouderij in Nederland en tegelijkertijd de mondiale marktpositie van de veehouderij in Nederland te versterken. Het programma “Voeding, darmgezondheid, immuniteit” (VDI) dat onderdeel uitmaakt van Feed4Foodure, heeft als doel darmgezondheid en ziekteresistentie in de veehouderij te verbeteren door middel van gerichte voedingsinterventies. Deze interventies zijn erop gericht de immuuncompetentie en microbiota in de darm te vergroten. Om dit te realiseren is het noodzakelijk om deze zaken meetbaar te maken in dieren. Een belangrijk onderdeel van VDI is dan ook het ontwikkelen van een meetlat voor darmgezondheid (immuuncompetentie en microbiota).

Het huidige rapport beschrijft de ontwikkeling van een LPS challenge model in jonge biggen kort na het spenen. Dit model wordt ontwikkeld om het effect van voerinterventies op immuuncompetentie te kunnen bepalen. Het experiment is uitgevoerd door Trouw Nutrition bij het Swine Research Center in samenwerking met onderzoekers van Wageningen Livestock Research, Centraal Veterinair Instituut, part of Wageningen UR en Trouw Nutrition. De experimentele set-up en resultaten zijn uitgebreid bediscussieerd met representanten van de deelnemende bedrijven: Agrifirm Group b.v., For Farmers Hendrix b.v., Trouw Nutrition, De Heus voeders b.v., Denkavit, Van Drie Groep, MSD-Animal Health, Nederlandse Vereniging voor Diervoederindustrie, VION Food Group, en Darling Ingredients. De auteurs willen de industrie hartelijk danken voor hun input in het project en hun hulp bij het totstandkomen van deze resultaten.

Mede namens Prof. Dr. Mari Smits, programmaleider van het Feed4Foodure onderdeel “Voeding, darmgezondheid, immuniteit”

Astrid de Greeff

Summary

General health and immune status (immune competence) depend on intestinal health of animals and are determined by parameters like nutrition, genetic background, management, and housing conditions. It is difficult to quantify immune competence, and thus to measure effects of dietary interventions on health. In general, dietary interventions will not yield radical improvements, only small incremental changes can be expected. Therefore, quantifiable parameters are required to determine effects of feed interventions on immune competence. In a pilot experiment we used a lipopolysaccharide (LPS) challenge to evaluate immune competence parameters of pigs. Piglets were challenged intraperitoneally with different doses of LPS (5, 10, 25 microgram) 4 days after weaning to determine the optimal dose and time-line. Blood was collected before LPS challenge and 3 and 6 hours after the challenge to determine cytokine profiles (TNF- α , IL-6 and IL-10), rectal temperature (RT) was recorded at the same time-points. Feed intake was determined 4 and 24 hours after challenge. A dose-dependent response was observed in piglets: RT increased, feed intake was reduced and a systemic proinflammatory immune response was induced. Piglets recovered within 24–48 hours after the challenge. Challenge with 25 microgram LPS was considered optimal. In a follow-up experiment, the effect of early life feed interventions on the outcome of the LPS challenge were determined. Three nutritional-interventions (medium chain fatty acids, galacto-oligosaccharides and yeast beta-glucans) were included, that were either fed to sows (in lactation feed), or directly to neonatal piglets before weaning (by oral gavage). The results of this trial will be presented and discussed.

1 Inbedding Feed4Foodure consortium

1.1 Achtergrond Feed4Foodure

In de PPS Feed4Foodure, onderdeel 'Voeding, darmgezondheid, immuniteit' (VDI) en in de literatuur zijn sterke aanwijzingen gevonden dat de specificiteit van het immuun systeem geprogrammeerd wordt in het jonge dier door interactie met de op dat moment aanwezige omgevingsvariabelen. Het dier-geassocieerde microbiom speelt hierbij een belangrijke rol. Ook is aangetoond dat deze programmering te beïnvloeden is door voeding en/of voedingscomponenten. Het betreft met name die componenten die effect hebben op de interacties in het maagdarmkanaal tussen voeding, microbiota en cellen van het immuun systeem in de darmmucosa. Ook op latere leeftijd heeft voeding een effect op deze interacties in het maagdarmkanaal waardoor de regulatie van het immuun systeem (responsen, tolerantie) verandert. Voedingsinterventies op jonge leeftijd hebben meestal een langdurig effect op immunologische vermogen, terwijl voedingsinterventies op latere leeftijd een meer tijdelijk effect hebben. Binnen VDI is een groot aantal potentiële parameters voor immuun competentie geïdentificeerd. Op basis hiervan is een eerste generatie "meetlat" voor immuun competentie in ontwikkeling.

1.2 Immuuncompetentie

Immuuncompetentie is binnen de context van VDI gedefinieerd als het vermogen van een dier om adequaat te reageren om stimuli. De immuuncompetentie wordt mede bepaald door de interactie tussen voeding – microbiota – darm (Figuur 1.2.1). De ontwikkeling van de darm en de kolonisatie door micro-organismen begint tijdens het geboorteproces, en neemt enige weken tot maanden in beslag. Met name in de eerste weken na geboorte is de omgeving van grote invloed op de ontwikkeling van de microbiota. De microbiota heeft vervolgens een grote invloed op de ontwikkeling van het immuunsysteem in de darm. Samen leiden deze processen tot de ontwikkeling van de intestinale mucosa. De mucosa heeft twee belangrijke functies: (1) Vertering / opname van nutriënten (onderwerp van studie in Feed4Foodure – Meer Met Minder) (2) Immuuncompetentie (VDI). Samen zorgen deze functies voor robuuste dieren met een goede performance.

Figuur 1.2.1 Interactie voeding – microbiota – darm.

1.3 Meetbaarheid immunocompetentie

Het doel van VDI is om door middel van parameters voor immunocompetentie een voorspellende correlatie te leggen voor immunocompetentie (phenotype) van landbouwhuisdieren (Figuur 1.3.1). Om deze voorspellende parameters te definiëren is een challenge noodzakelijk.

Figuur 1.3.1 Identificatie van paramaters voor immunocompetentie die voorspellende waarde hebben voor het phenotype van een dier na een challenge.

Binnen het deelproject VDI-12 wordt met name gekeken naar immunocompetentie in jonge biggen, kort na het spenen. Voor deze dieren zijn in de literatuur nauwelijks challenges beschreven. Daarom wordt in dit rapport de ontwikkeling van een systemische lipopolysaccharide challenge in jonge biggen beschreven.

2 Ontwikkeling Lipopolysaccharide challenge model in jonge biggen

2.1 Achtergrond

De laatste jaren is in de literatuur uitgebreid aandacht besteed aan de rol van microbiota bij de immunologische en functionele ontwikkeling van de darm. De interactie tussen gastheer – microbiota – darmgezondheid staat hierbij centraal. Kolonisatie van de darm en de daarmee gepaard gaande ontwikkeling van de darm start bij geboorte. Humaan wordt gesproken van de kritische 1000-dagen periode, waarin deze ontwikkeling plaats vindt [1]. Binnen deze periode hebben de eerste weken na geboorte grote invloed op de kolonisatie, waarbij met name de geboortroute en vroege voeding belangrijke parameters zijn [2, 3]. De vroege intestinale microbiota leert het mucosale immuunsysteem onderscheid te maken tussen ‘goed en kwaad’ door tolerantie of immuniteit te induceren [4]. Deze immunologische training heeft niet alleen effect op mucosale immuniteit, maar strekt zich uit naar de systemische immuniteit. Daarmee zijn deze processen van groot belang voor de algemene (darm)gezondheid.

Bij varkens spelen dezelfde parameters een rol bij darmontwikkeling. Door de kortere levensverwachting is de timing van het proces echter anders. Ook bij biggen start de darmkolonisatie onmiddellijk na geboorte waarbij de biggen worden gekoloniseerd door bacteriën afkomstig van de zeug of de omgeving [5]. Vroege voeding van de zeug speelt in de proces een belangrijke rol bij de kolonisatie. Een belangrijk verschil ten opzichte van de humane darmontwikkeling is het speenmoment. Biggen maken tijdens het speenproces een intensieve periode van stress door die veroorzaakt wordt door de scheiding van de zeug, de overgang naar vast voedsel, en mixen met andere tomen. Deze stressoren leiden tot grote veranderingen in de darmfysiologie, microbiota-samenstelling en immunologie [6, 7]. Om de negatieve effecten van deze veranderingen zo goed mogelijk op te vangen, wordt gezocht naar voer-interventies die een positieve bijdrage aan immuuncompetentie kunnen leveren. Aangezien het speenproces de grootste stressor is, moeten de interventies vóór het spenen toegepast worden, hetzij door de interventie matернаal toe te dienen, hetzij door de interventie neonataal voor het spenen toe te dienen. Om het effect van deze interventies te kunnen meten, is het noodzakelijk om immuuncompetentie meetbaar te maken. Immuuncompetentie wordt gedefinieerd als het vermogen om een adequate immuunrespons op stimuli te kunnen induceren. Dit kan gemeten worden door een stimulus te geven en de immuunrespons hierop te meten. Het effect van de interventie moet gemeten kunnen worden direct na het spenen. Voor deze jonge biggen zijn in de literatuur nauwelijks challenge modellen beschreven. Daarom beschrijven wij de ontwikkeling van een challenge model in biggen onmiddellijk na het spenen. Voor oudere biggen wordt vaak gebruik gemaakt van een (intraperitoneale) lipopolysaccharide (LPS) challenge [8-10]. Op basis hiervan wordt in deze studie de bruikbaarheid van een LPS challenge in jonge biggen kort na het spenen onderzocht.

2.2 Doel

Het doel van deze studie is te onderzoeken of een intraperitoneale LPS challenge in biggen kort na het spenen een geschikte immunologische challenge is. Hierbij wordt gekeken naar de dosis LPS. Als uitleesparameters wordt gekeken naar de systemische immuunrespons, lichaamstemperatuur, voeropname, en gedrag van de dieren.

3 Materiaal en Methoden

3.1 Opzet dierexperiment

Vier groepen van 6 biggen van 5 weken oud, afkomstig van Hypor zeugen, werden gehuisvest op het Swine Research Center van Trouw Nutrition. De biggen werden gevoerd met standaard biggenvoer. De biggen werden gespeend op 28 dagen, en vervolgens een week later gechallenged met O55:B lipopolysaccharide (Sigma). De biggen werden gehuisvest in de biggenstal in groepen van 3 en 16 uur voor de challenge gevast. Twee dieren (uit de controlegroep) waren niet nuchter tijdens de procedure. De biggen worden intraperitoneaal gechallenged met 0, 5, 10, of 25 microgram LPS. Dieren die geen

Figuur 3.1.1. Toediening van LPS. In het linkerpaneel is zichtbaar hoe de buikwand wordt verdoofd. De big wordt ondersteboven gehouden om het risico om de darm te raken zoveel mogelijk te beperken. Op het middenpaneel is zichtbaar hoe de incisie wordt gemaakt, na ontsmetten van de buikwand. In het rechterpaneel is zichtbaar hoe de speciale canule wordt aangebracht met een daartoe ontwikkeld naald. Na challenge wordt de buikwand gehecht en kan de big terug naar zijn box.

LPS toegediend kregen, werden gechallenged met het oplosmiddel, fysiologisch zout. De eerste twee biggen werden gechallenged zonder verdoving van de buikwand; dit bleek echter te pijnlijk, vandaar dat een verdoving werd toegepast bij de overige dieren. Hiertoe werd de buikwand lokaal verdoofd door intradermale toediening van lidocaïne. Vervolgens werd dit gebied gedesinfecteerd met jodium. De big werd ondersteboven gefixeerd zodat de darmen uitzakken richting longen; dit beperkte het risico van een darmperforatie ten gevolge van de procedure. Vervolgens werd een kleine incisie gemaakt 1 à 2 cm naast de onderste tepel; de LPS werd toegediend met een speciaal daartoe ontwikkelde naald. Na toediening werd de incisie gehecht (Figuur 3.1.1.). Het gedrag van de dieren werd bepaald vóór de challenge en 3, 6 en 24 uur na de challenge. Hierbij werd met name gekeken naar de algemene gesteldheid van dieren aan de hand van de volgende scores: 0 = Levendig; 1 = Te rustig; 2 = Sloom / liggen; 3 = Liggen / rillen; 4 = trillen shock. Vóór toediening van de challenge, en 3, 6 en 24 uur na toediening werd de rectale lichaamstemperatuur bepaald. Vier en 24 uur na de challenge werd voeropname per hok van 3 biggen bepaald door het voer te wegen. Vóór toediening van de challenge en 3 en 6 uur na de challenge werd een serumbloedje (5 ml) getapt ten behoeve van het bepalen van de immunologische parameters (Figuur 3.1.2).

Figuur 3.1.2 Schematische weergave van het dierexperiment, inclusief gemeten parameters.

3.2 Immunologische parameters

Eiwitexpressie van drie pro-inflammatoire cytokinen werd bepaald in serum door middel van commerciële porcine ELISA-kits (R&D Systems). Er wordt gekeken naar interleukine 6 (IL-6), interleukine 10 (IL-10) en Tumor Necrose Factor Alfa (TNF- α). De ELISAs werden uitgevoerd volgens de voorschriften van de producent.

3.3 Statistische analyse

De statistische analyses werden uitgevoerd in Genstat (VSN International). Er zijn ANOVA analyses uitgevoerd met post-hoc testen op basis van Bonferroni waarbij een p-waarde ≤ 0.05 als significant werd beschouwd. Deze testen zijn gebaseerd op het model: $y = \text{Tijd} + \text{Dosis} + \text{Tijd} * \text{Dosis} + \text{error}$.

4 Resultaten

4.1 Gedrag na LPS challenge

De procedure van toediening van LPS is goed verlopen. Alle biggen zijn gechallenged met LPS of fysiologisch zout. Een big uit de controlegroep is niet gehecht, in plaats daarvan is de wond geplakt. Een big uit de 5 microgram groep spartelde sterk tegen en heeft daardoor wellicht niet de volledige dosis gekregen.

Het gedrag van de biggen liet vanaf 1 uur na toediening van de LPS een dosis afhankelijke respons zien. De biggen werden in eerste instantie 'te rustig' (1 uur post-LPS), terwijl na 3 uur de biggen alleen wilden liggen, en een deel van de biggen uit de hoogste dosis groep ook rilden (Figuur 4.1.1.). Het waargenomen gedrag was 3 uur na LPS challenge significant verschillend ten opzichte van de controlegroep voor alle drie geteste doses. Het waargenomen verschil in gedrag was 6 uur na de LPS challenge volledig verdwenen, en ook 24 uur na de challenge was er geen verschil in gedrag meer zichtbaar. Dit geeft duidelijk aan dat de LPS challenge is aangeslagen en dosis-afhankelijk is.

Figuur 4.1.1 Gedrag ten gevolge van LPS challenge. Gedrag is geobserveerd door dezelfde persoon vóór LPS challenge en 1, 3, 6, en 24 uur na challenge. Statistische significantie ten opzichte van de controle is aangegeven met letters, de cut-off is $p \leq 0.05$.

4.2 Temperatuurrrespons op LPS challenge

De temperatuur van biggen is rectaal gemeten vóór challenge en 3, 6 en 24 uur na challenge (Tabel 4.1). Hoewel alle dieren een temperatuurstijging laten zien, is de variatie tussen individuele dieren groot. In individuele dieren werd een snelle temperatuurstijging ten gevolg van de LPS challenge gezien die op groepsniveau niet significant is t.o.v. de controledieren.

Table 4.1 Rectale lichaamstemperatuur van biggen in graden Celsius als functie van de tijd na toediening van een LPS challenge. Gemiddelde temperaturen worden weergegeven, statistische significantie wordt aangegeven met letters waarbij een cut-off van $p \leq 0.05$ werd gehanteerd.

Dosis LPS (μg)	0	3 hr post-LPS	6 hr post-LPS	24 hr post-LPS
0 (control)	39.3 ^{abc}	39.9 ^{bc}	39.8 ^{bc}	39.2 ^{ab}
5	38.9 ^a	39.5 ^{abc}	39.9 ^{bc}	39.4 ^{abc}
10	39.5 ^{abc}	39.9 ^{bc}	40.1 ^c	39.4 ^{abc}
25	39.1 ^{ab}	39.6 ^{abc}	39.9 ^{bc}	39.4 ^{abc}

4.3 Voeropname na LPS challenge

Voeropname is gemeten 5 en 24 uur na LPS challenge op hokniveau; aangezien er per dosis maar 2 hokken in de proef zaten met totaal 6 dieren, was het niet mogelijk om deze data statistisch te analyseren. Vijf uur na de LPS challenge is er een duidelijk verschil zichtbaar in voeropname tussen de controle groep en de LPS-gechallengde groepen (Figuur 4.3.1). Na 24 uur neemt het effect van de LPS challenge op de voeropname af, hoewel de 10 microgram LPS groep nog steeds minder voer heeft opgenomen dan de controlegroep. De gegevens voor voeropname bevestigen de snelle, heftige, maar kortdurende challenge die ten gevolg van de LPS optreedt.

Figuur 4.3.1. Voeropname van biggen na LPS challenge.

4.4 Innate immuunrespons op LPS challenge

De innate immuunrespons ten gevolg van de LPS challenge wordt gemeten door te kijken naar

Figuur 4.4.1. Innate immuunrespons in serum van biggen na toediening van een LPS-challenge gemeten als eiwit expressie van IL-6, IL-10 en TNF-α. Significantie is aangegeven met lettersymbolen, de cut-off is $p \leq 0.05$.

systemische immuunresponsen in bloed. Er wordt gekeken naar 3 cytokinen: IL-6, IL-10, TNF-α (Figuur 4.4.1). De drie cytokinen laten een duidelijke en snelle, dosisafhankelijke respons zien na

toediening van LPS. De sterkste respons is zichtbaar 3 uur na toedieningen van LPS; 6 uur na toediening nemen de immuunresponsen alweer af, alleen het anti-inflammatoire cytokine IL-10 houdt een verhoogde expressie. Met name IL-6 en TNF- α laten een zeer sterke en dosisafhankelijke respons zien; het IL-10 expressie-niveau is veel lager. IL-6 en TNF- α laten een significant verhoogde expressie zien op 3 uur na toediening voor de hoogste dosis LPS (25 μ g). Dit geeft aan dat LPS een snelle, omkeerbare immuunrespons induceert kort na toediening van de challenge.

5 Conclusie / discussie

5.1 Conclusie

In deze pilotstudie met 20 jonge biggen wordt aangetoond dat met behulp van LPS een snelle, sterke en omkeerbare immuunrespons opgewekt kan worden kort na het spenen. De biggen krijgen koorts, laten een verminderde voeropname zien, en tonen gedrag dat wijst op ziekte. Daarnaast wordt een pro-inflammatoire systemische immuunrespons geïnduceerd die na enkele uren weer afzwakt. De geïnduceerde verschillen zijn duidelijk meetbaar en significant.

5.2 LPS dosis

Er zijn verschillende doses LPS getest (5, 10 en 25 µg). Vergeleken met de literatuur zijn dit relatief lage doses, die bovendien onafhankelijk van het lichaamsgewicht worden gebruikt. In de literatuur worden doses van 50 – 100 µg per kg lichaamsgewicht beschreven. Deze doses worden echter gebruikt in oudere biggen. Omdat de challenge in onze studies moeten worden toegepast op veel jongere biggen die net gespeend zijn, leek een lagere dosis beter. Daarnaast is het doel van deze LPS studie om een challenge model te ontwikkelen waarmee veranderde immuunstatus kan worden gemeten ten gevolg van een voerinterventie. Een zeer hoge dosis LPS geeft zulke sterke immuunresponsen dat het de vraag is of daar nog op in te grijpen is met behulp van een voerinterventie. Voor een vervolgstudie zou overwogen kunnen worden om de dosis afhankelijk te maken van het lichaamsgewicht van de biggen. Hoewel de gemeten responsen redelijk uniform waren voor de biggen, zou dat het model nog reproduceerbaarder kunnen maken. Uitgaand van een gemiddeld gewicht van de biggen van iets meer dan 10 kg op moment van de challenge zou een dosis van 2,5 – 5 µg per kg lichaamsgewicht gebruikt kunnen worden.

5.3 Uitleesparameters

Op basis van de huidige studie lijken de uitleesparameters goed gekozen. Lichaamstemperatuur, voerinname, gedrag en immunologische parameters geven tezamen een goed beeld van de challenge. In deze pilot is gekozen om 3 cytokines te meten. De keuze voor IL-10 was achteraf geen goede keuze. IL-10 behoort tot de anti-inflammatoire cytokines. Deze categorie cytokines komt pas later in het ontstekingsproces tot expressie. Dit verklaart het lage expressieniveau dat gevonden is voor dit cytokine. In een vervolgstudie kan IL-10 vervangen worden door andere pro-inflammatoire cytokines, of andere eiwitten waarvan bekend is dat ze snel gereguleerd worden in de innate immuun respons zoals superoxide dismutase of acute fase eiwitten.

5.4 Systemisch versus mucosaal

In de huidige opzet wordt de LPS challenge systemisch toegediend, terwijl voerinterventies en darmgezondheid zich met name op mucosale oppervlaktes afspelen. Hoewel darmgezondheid als een belangrijke parameter voor algemene gezondheid wordt gezien, worden niet alle mucosale veranderingen ook systemisch teruggevonden. Dit is sterk afhankelijk van de aard en de kracht van de mucosale verandering. Dit is een potentiële zwakte van het huidige LPS challenge model. Theoretisch is het mogelijk om de LPS challenge, evenals de voerinterventie, oraal toe te dienen. De LPS challenge verloopt via signalering van Toll Like receptoren. Het is bekend dat deze receptoren ook in de darm aanwezig zijn. In de literatuur wordt een oraal tolerantie model voor kalveren beschreven [11]. Hoewel hier expliciet wordt gekeken naar tolerantie, beschrijven de auteurs een sterk effect op metabolisme van de kalveren. Een dergelijk oraal model moet dan ook goed worden onderzocht voor het wordt ingezet. Een alternatief voor een orale challenge zou een intratracheale challenge kunnen zijn. De long behoort ook tot het mucosale systeem, en er staat al in de literatuur beschreven dat het er communicatie is tussen de verschillende organen van het mucosale immuunsysteem. Intratracheale

LPS challenge wordt veel beschreven voor knaagdieren, maar er zijn ook publicaties die dit beschrijven voor varkens [12, 13]. Hoewel deze challenges meer schade opleveren dan een systemische challenge, leveren de challenges duidelijke immuunresponsen op. Hierdoor zou een dergelijk model ook kunnen worden toegepast om het effect van voerinterventies op immuniteit te meten. De tijd en middelen ontbraken om een dergelijke nieuw modellen op te zetten in hele jonge dieren binnen Feed4Foodure. Het zouden wel interessante challenge modellen zijn om nader te ontwikkelen.

Literatuur

1. Eggesbo, M., et al., *Development of gut microbiota in infants not exposed to medical interventions*. *Apmis*, 2011. **119**(1): p. 17-35.
2. Dominguez-Bello, M.G., et al., *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. **107**(26): p. 11971-5.
3. Planer, J.D., et al., *Development of the gut microbiota and mucosal IgA responses in twins and gnotobiotic mice*. *Nature*, 2016. **534**(7606): p. 263-6.
4. Kabat, A.M., N. Srinivasan, and K.J. Maloy, *Modulation of immune development and function by intestinal microbiota*. *Trends Immunol*, 2014. **35**(11): p. 507-17.
5. Schmidt, B., et al., *Establishment of normal gut microbiota is compromised under excessive hygiene conditions*. *PLoS One*, 2011. **6**(12): p. e28284.
6. Pluske, J.R., *Feed- and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs*. *J Anim Sci Biotechnol*, 2013. **4**(1): p. 1.
7. Mulder, I.E., et al., *Restricting microbial exposure in early life negates the immune benefits associated with gut colonization in environments of high microbial diversity*. *PLoS One*, 2011. **6**(12): p. e28279.
8. Hou, Y., et al., *Protective effects of N-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide*. *Amino Acids*, 2012. **43**(3): p. 1233-42.
9. Xiao, K., et al., *Whey protein concentrate enhances intestinal integrity and influences transforming growth factor-beta1 and mitogen-activated protein kinase signalling pathways in piglets after lipopolysaccharide challenge*. *Br J Nutr*, 2016. **115**(6): p. 984-93.
10. Sweeney, T., et al., *Effect of purified beta-glucans derived from Laminaria digitata, Laminaria hyperborea and Saccharomyces cerevisiae on piglet performance, selected bacterial populations, volatile fatty acids and pro-inflammatory cytokines in the gastrointestinal tract of pigs*. *Br J Nutr*, 2012. **108**(7): p. 1226-34.
11. Zebeli, Q., et al., *Oral challenge with increasing doses of LPS modulated the patterns of plasma metabolites and minerals in periparturient dairy cows*. *Innate Immun*, 2013. **19**(3): p. 298-314.
12. Villarino, N., et al., *Pulmonary pharmacokinetics of tulathromycin in swine. Part I: Lung homogenate in healthy pigs and pigs challenged intratracheally with lipopolysaccharide of Escherichia coli*. *J Vet Pharmacol Ther*, 2013. **36**(4): p. 329-39.
13. Chen, P., et al., *Lipopolysaccharide-induced inflammation of bronchi and emphysematous changes of pulmonary parenchyma in miniature pigs (Sus scrofa domestica)*. *Lab Anim (NY)*, 2013. **42**(3): p. 86-91.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wur.nl/livestock-research

Wageningen Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.