

Animal Sciences Group

Kennispartner voor de toekomst



process for progress

Rapport 120

Effect van kruiden en kuikenkwaliteit op de respons van biologische leghenkuikens na een coccidiosebesmetting

Mei 2008



ANIMAL SCIENCES GROUP
WAGENINGEN UR

Colofon

Uitgever

Animal Sciences Group van Wageningen UR

Postbus 65, 8200 AB Lelystad

Telefoon 0320 - 238238

Fax 0320 - 238050

E-mail Info.veehouderij.ASG@wur.nl

Internet <http://www.asg.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Aansprakelijkheid

Animal Sciences Group aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Liability

Animal Sciences Group does not accept any liability for damages, if any, arising from the use of the results of this study or the application of the recommendations.

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.

In Nederland vindt het meeste onderzoek voor biologische landbouw en voeding plaats in voornamelijk door het ministerie van LNV gefinancierde onderzoeksprogramma's. Aansturing hiervan gebeurt door Bioconnect, het kennisnetwerk voor de Biologische Landbouw en Voeding in Nederland (www.bioconnect.nl). Hoofduitvoerders van het onderzoek zijn de instituten van Wageningen UR en het Louis Bolk Instituut. Zij werken in de cluster Biologische Landbouw (LNV gefinancierde onderzoeksprogramma's) nauw samen. Dit rapport is binnen deze context tot stand gekomen. De resultaten van de onderzoeksprogramma's vindt u op de website www.biokennis.nl. Vragen en/of opmerkingen over het onderzoek aan biologische landbouw en voeding kunt u mailen naar: info@biokennis.nl.



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

Keywords; herbs, chick quality, organic layer poult, *Eimeria*, coccidiosis.

The effects of herbal treatments and chick quality on the response of young organic layer poult to an infection with coccidiosis was studied. Alternative treatments had no effect on *Eimeria* lesion scores or technical results. Chick quality had no effect on *Eimeria* lesion scores, but influenced technical results significantly. No interactions between the herbal products and chick quality were found.

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteurs: A. Lourens en A.W. Jongbloed

Titel: Effect van kruiden en kuikenkwaliteit op de respons van jonge biologische opfokhennen na een coccidiosebesmetting (2008)
Rapportnummer 120

Samenvatting

De effecten van kruiden en kuikenkwaliteit op de respons van jonge biologische opfokhennen op een coccidiose besmetting was onderzocht. Kruiden hadden geen effect op de laesie scores of op technische resultaten. Kuikenkwaliteit had ook geen effect op laesie scores, maar had wel een significant effect op de technische resultaten. Er werden geen interacties waargenomen tussen kruidenproducten en kuikenkwaliteit.

Trefwoorden: kruiden, kuikenkwaliteit, biologische opfokhennen, *Eimeria*, coccidiose.



Effect van kruiden en kuikenkwaliteit op de
respons van biologische legghenkuikens na een
coccidiosebesmetting

Effect of herbal treatments and chick quality on
the response of young organic layer poult after
an infection with coccidiosis

Rapport 120

A. Lourens

A.W. Jongbloed

Mei 2008

Samenvatting

Een tweetal proeven zijn uitgevoerd om het effect van kruidenproducten te testen op de gevolgen van een coccidiosebesmetting bij biologische legkuikens. Omdat kuikenkwaliteit de respons van kuikens op een coccidiose-infectie zou kunnen beïnvloeden, is er in deze proef gebruik gemaakt van kuikens van goede en slechte kwaliteit. Goede kwaliteit kuikens hadden geen afwijkingen en slechte kwaliteit kuikens hadden een afwijking aan de navel. De kuikens werden in de eerste proef op een leeftijd van 10 dagen besmet met drie *Eimeria* soorten, namelijk *E. acervulina*, *E. maxima* en *E. tenella*. In de tweede proef vond de besmetting met *E. maxima* plaats op dag 8 en de besmetting met *E. acervulina* en *E. tenella* op dag 10. De gevolgen van deze besmetting op beschadigingen van het darmepitheel werden vastgesteld door middel van laesiescores op dag 16 in de eerste proef en op dag 15, 16, 17 en 28 in de tweede proef. Daarnaast werden de gevolgen van de besmetting en het effect van de kruidenproducten op de technische resultaten onderzocht. Op grond van deze studie kon geen positief effect van kruidenproducten op de reactie van kuikens op een infectie met coccidiose worden aangetoond ten opzichte van de negatieve controle. Kuikenkwaliteit had wel invloed op de technische resultaten, maar niet op de *Eimeria* laesiescores. Er was geen interactie tussen het effect van kuikenkwaliteit en de werking van een kruidenproduct op de laesiescore of technische resultaten.

Summary

Two experiments were carried out to study the effect of herbal products on the response of young organic layer poults infected with coccidiosis. Since chick quality may play an important role in this response, chick quality was included as main factor in both experiments. Good quality chicks had no visual external abnormalities, and bad quality chicks had poor naval quality. In the first experiment, inoculation with three different types of *Eimeria* oöcysts (*E. acervulina*, *E. maxima* and *E. tenella*) took place at d10. In the second experiment, inoculation with *E. maxima* took place at d8, and inoculation with *E. acervulina* and *E. tenella* at d10. The effect of the coccidiosis infection on damage of the intestinal epithelium was determined by means of lesion scores at d16 in experiment 1, and at d15, 16, 17 and 28 in experiment 2. Also the effects of the treatments on the technical performance of the chicks were examined. Based on the results in this study, there was no evidence that herbal products can help young organic layer poults to better cope with a coccidiosis infection. Chick quality influenced technical results, but had no effect on *Eimeria* lesion scores. No interaction between herbal product and chick quality could be demonstrated.

Voorwoord

In de biologische sector worden reguliere producten (waaronder antibiotica) gebruikt, omdat alternatieve middelen niet voorhanden zijn of omdat de sector er niet bekend mee is. In deze sector bestaat wel dringende behoefte aan alternatieve middelen die de (ongewenste) reguliere behandelingen tegen ziektekiemen kunnen vervangen. Kruiden kunnen hierbij een geschikt alternatief zijn. Vanuit het programma Biologische Veehouderij (BO-04-02) is daarom aan ASG gevraagd om de biologische pluimveesector te voorzien van informatie over bruikbare en effectieve kruidenproducten. Om het gebruik van kruidenproducten meer algemeen geaccepteerd te krijgen, is eenduidige informatie over de werking en toepassing van deze kruiden noodzakelijk. Daarom werd de vraag vanuit het programma Biologische Veehouderij verder aangescherpt: voorzie ons van wetenschappelijk bewijs over de positieve werking van de meest veelbelovende kruidenproducten. Een gevalideerd, wetenschappelijk verantwoord model is het coccidiose challengemodel van ASG voor vleeskuikens. Dit model wordt in deze studie gebruikt om aan te tonen dat kruidenproducten een positieve werking kunnen hebben op de gevolgen van een coccidiosebesmetting bij biologische opfokleghennen.

In dit project is samengewerkt met de projectgroep Fyto-V (projectleider: Dr. Maria Groot, RIKILT). De projectgroep Fyto-V verzorgde de selectie van de te testen kruidenproducten en leverde aanvullende financiering om een aantal extra kruidenproducten te kunnen testen. We waarderen de enthousiaste inbreng van Drs. Ineke Puls, Drs. Gerdien Kleijer en Drs. Tedje van Asseldonk op het gebied van kruiden, en Dr. Alfons Jansman voor de waardevolle adviezen over de technische opzet en uitvoering van de proeven. Ook de hulp van Drs. Teun Fabri en Drs. Dave Efkes van de Gezondheidsdienst voor Dieren bij de laesiescores werd zeer op prijs gesteld!

Inhoudsopgave

Samenvatting

Summary

Voorwoord

1	Inleiding	1
2	Middelen tegen coccidiose	3
3	Materiaal en methode	5
3.1	Dieren en verzorging	5
3.2	Huisvesting en klimaat	6
3.3	Voersamenstelling.....	7
3.4	Behandelingen en concentraties	9
3.5	Inoculatie met Eimeria	9
3.6	Eimeria laesiescores	11
3.7	Overige waarnemingen	12
3.8	Verwerking van de gegevens.....	12
4	Resultaten	13
4.1	Proef 1	13
4.2	Proef 2	15
4.2.1	Laesiescores.....	15
4.2.2	Technische resultaten	17
5	Discussie	21
6	Conclusie	24
7	Literatuur	25
Bijlagen	26
Bijlage 1.	<i>E. acervulina</i> laesie scores volgens Johnson and Reid (1970)	26
Bijlage 2.	<i>E. maxima</i> laesie scores volgens Johnson and Reid (1970).....	27
Bijlage 3.	<i>E. tenella</i> laesie scores volgens Johnson and Reid (1970)	28

1 Inleiding

Coccidiose (Voeten, 2000)

Coccidiose is een besmettelijke ziekte die wordt veroorzaakt door protozoën van het geslacht *Eimeria*. De ziekte komt voor bij vrijwel alle vogelachtigen. Wereldwijd veroorzaakt coccidiose een economische schade van rond de anderhalf miljard Amerikaanse dollars (Stevens, 1998). Coccidiose tast vooral jonge vogels aan. De ziekte is verspreid over de hele wereld. Het is echter niet zo dat alle *Eimeria* soorten op alle plaatsen voorkomen, en dat alle soorten even kwaadaardig zijn. Bij pluimvee zijn negen *Eimeria* soorten beschreven, waarvan vijf kwaadaardig zijn. Deze komen over de hele wereld voor.

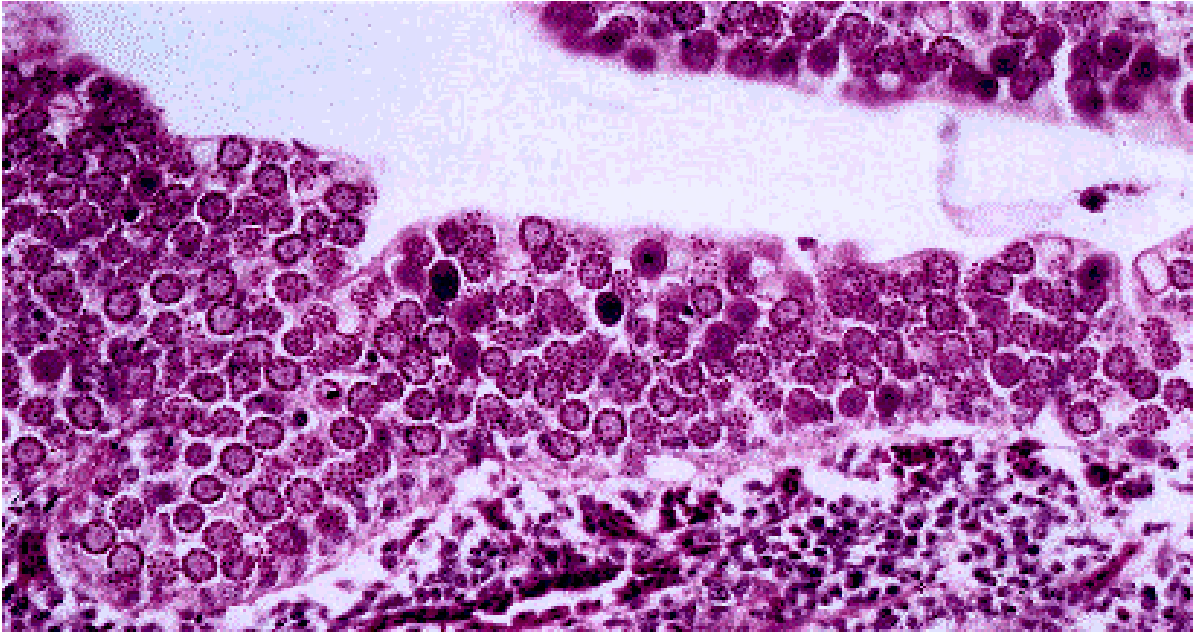
Coccidiose is een protozoaire ziekte. De protozoën hebben een gecompliceerde vermenigvuldigingscyclus. Buiten het lichaam hebben de ziektekiemen de vorm van eivormige lichaampjes, die oöcysten of coccidiën worden genoemd. De oöcysten worden met de ontlasting van de kip uitgescheiden. De pas uitgescheiden oöcysten zijn ongevaarlijk, en moeten eerst rijpen, wat ook wel sporuleren wordt genoemd. Onder gunstige omstandigheden kunnen zowel rijpe als onrijpe oöcysten buiten het lichaam jarenlang in leven blijven.

Als een kuiken of een jonge hen de gerijpte oöcysten opneemt, wordt de wand van de oöcysten door spijsverteringssappen opgelost. Er komen nu acht langwerpige lichaampjes tevoorschijn, die in de darmwand kruipen en zich in de darmcellen gaan vermenigvuldigen. Er vindt zowel een ongeslachtelijke als een geslachtelijke voortplanting plaats. Uit één oöcyst kunnen meer dan honderdduizend nieuwe oöcysten worden gevormd. Het gehele proces geschiedt dus in de darmwand, waarbij deze cellen te gronde gaan, waardoor ernstige beschadigingen van het darmepitheel kunnen ontstaan. Elke coccidiose soort heeft in de darm een eigen kolonisatielocatie waar de vermenigvuldiging plaatsvindt. De beschadigingen van het darmepitheel kunnen aanleiding geven tot ernstige darmontstekingen, waarbij secundaire bacteriële infecties een rol kunnen spelen. Bij chronische aandoeningen kunnen de darmbeschadigingen aanleiding geven tot gebreksziekten. Wanneer een kuiken of jonge hen die nooit eerder besmet werd de rijpe oöcysten opneemt, zijn er vier mogelijkheden:

- het dier neemt er zeer veel op, wordt binnen enkele dagen ernstig ziek en sterft (acute uitbraak).
- Het dier neemt er minder op, krijgt ernstige darmontstekingen, maar sterft in eerste instantie niet. Op den duur kan dit dier door de gebrekkige darmwerking dusdanig afzwakken dat het toch sterft (chronische uitbraak).
- Het dier neemt weinig oöcysten op. Er ontstaat hierdoor een geringe infectie waardoor het dier niet zichtbaar ziek wordt. Deze ziekte heeft echter wel een ongunstige invloed op de groei en voederconversie. Deze vorm van coccidiose wordt subklinische coccidiose genoemd.
- Het dier neemt zeer weinig oöcysten op. Deze veroorzaken geen ziekteverschijnselen, maar het dier bouwt wel een immunologische weerstand op tegen coccidiose.

Praktisch ieder dier is besmet met coccidiose, maar vaak is de besmetting zo gering dat het dier niet ziek wordt maar wel weerstand ontwikkelt. Deze weerstand blijft aanwezig zolang het dier geïnfecteerd blijft (praemunitie). Dit heeft een gevaarlijke consequentie, want de dieren die niet ziek zijn of worden, blijven wel oöcysten uitscheiden, waardoor ze een gevaar vormen voor andere dieren.

De vijf kwaadaardige soorten die coccidiose bij de kip veroorzaken zijn *E. tenella*, die blinde darm coccidiose tot gevolg heeft, en *E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. maxima* en *E. brunetti*, die verschillende vormen van dunne darm coccidiose tot gevolg hebben.



Figuur 1 Darmpreparaat met aanwezigheid van oöcysten van *E. acervulina*

Het coccidiose besmettingsmodel van ASG werkt met *E. acervulina*, *E. maxima* en *E. tenella*, omdat deze *Eimeria* op goed te onderscheiden plaatsen in de darm laesies veroorzaken. *E. acervulina* veroorzaakt laesies in het proximale deel van de dunne darm, *E. maxima* in het distale deel van de dunne darm, en *E. tenella* vooral in de blinde darm.

Kuikenkwaliteit

Kuikenkwaliteit wordt grotendeels bepaald tijdens het broedproces. Wanneer de broedomstandigheden aansluiten bij de behoefte van het embryo is de kuikenkwaliteit goed, maar wanneer dit niet het geval is verslechtert de kuikenkwaliteit en neemt de broeduitkomst af. Een embryo dat moeite moet doen om het broedproces te overleven kan minder energie steken in ontwikkeling en groei. Deze kuikens worden geboren met een relatief grote dooierrest en zijn kleiner dan kuikens waarbij het broedproces optimaal was. Bij slecht gebroede kuikens wordt deze relatief grote dooierrest in de laatste dagen van het broedproces versneld via de navel door het kuiken opgenomen. Wanneer de broedomstandigheden niet optimaal zijn geweest, dan vertaalt zich dit vaak in een verhoogd percentage kuikens met slecht gesloten navels, met navels met zwarte knobbels erop. Embryo's van sommige rassen zijn meer gevoelig voor afwijkingen in het broedproces dan embryo's van andere rassen. Een relatief kleine afwijking kan dan een groot effect op de kuikenkwaliteit hebben. Bij sommige legrassen is navelkwaliteit een probleem, maar de vraag die in dit onderzoek aan de orde is, is of navelkwaliteit van invloed is op de respons van de kuikens op een coccidiosebesmetting.

Doelstelling

Doelstelling van dit project is om de effecten van verschillende middelen te toetsen op de gevolgen van een coccidiosebesmetting bij biologische opfokleghennen, waarbij rekening wordt gehouden met verschillen in kuikenkwaliteit.

2 Middelen tegen coccidiose

Onderstaande informatie over reguliere middelen en kruidenproducten tegen coccidiose is voor een deel ontleend aan het literatuuroverzicht van Van Asseldonk e.a. (2007).

Reguliere middelen

Coccidiose wordt al sinds 1940 bestreden met coccidiostatica in het voer (Jones en Ricke, 2003; Thomke en Elwinger, 1998). De anticoccidiosemiddelen zijn in twee groepen te verdelen, namelijk echte coccidiostatische (remmende) middelen en coccidiocide (dodende) middelen. De echte coccidiostatische middelen onderbreken de ontwikkelingscyclus van de parasiet, maar doden deze niet. Coccidiocide middelen doden wel diverse ontwikkelingsstadia van de parasiet. Afhankelijk van het moment waarop het middel de parasiet aanpakt, in het begin of in het tweede deel van de cyclus, vindt er al dan niet immuniteitsvorming plaats door de vogel. Aan het gebruik van coccidiostatica zijn echter ook nadelen verbonden (Magner, 1991; Thomke en Elwinger, 1998):

- er ontstaat steeds meer resistentie tegen de gebruikte middelen, waardoor ze minder goed werken.
- om te voorkomen dat residuen in het vlees komen, moeten wachttijden in acht genomen worden.
- sommige middelen zijn zogenaemde ionofore coccidiostatica. Dit houdt in dat de werkzaamheid van deze middelen berust op het doorlaatbaar maken van de celwand van de parasiet voor kationen (negatieve ionen), waardoor het evenwicht tussen natrium en kalium van de parasiet wordt verstoord.

Aanvankelijk werd curatief met anticoxmiddelen ingegrepen, maar al snel werden *Eimeria* stammen resistent (Magner, 1991), of werden de gebruikte middelen vanwege hun toxiciteit verboden. Ook omdat een behandeling niet altijd direct effect heeft, dient het zwaartepunt van de therapie bij preventie te liggen. Sinds de jaren '70 werden ionofore antibiotica preventief ingezet, omdat zij een klein (onschadelijk) aantal coccidia in leven laten waardoor een zekere immuniteit bij de vogels wordt bereikt. Maar ook hiertegen rukte resistentie op bij de ene na de andere *Eimeria* soort. Ondanks dat er nog geen goede alternatieven bestaan, staat er een verbod op preventieve toediening van coccidiostatica via het voer op stapel. Daarom wordt in diverse Europese landen gezocht naar alternatieven in de vorm van natuurlijke groeibevorderaars. Opfokmoederdieren worden sinds meer dan vijftien jaar geënt tegen coccidiose met een verzwakte levende entstof. Vaccinatie tegen de meest lastige *Eimeria* soorten is een bestaande optie (Chapman e.a., 2002; Lillehoj en Lillehoj, 2000; Williams, 2002), maar bij gebruik in de praktijk van de biologische legpluimveehouderij kleven er enkele bezwaren aan. Zo worden niet altijd alle dieren afdoende bereikt en komen soms toch nog uitbraken voor.

Kruidenproducten

Omdat er veel verschillende *Eimeria* soorten zijn (met verschillende kolonisatieplaatsen in de darm en verschillende levenscycli) is specifieke bestrijding erg lastig. Ook wordt het aantal verschillende entingen wel erg hoog volgens sommige biologische pluimveehouders. Entingen en vaccinaties zijn relatief duur, waardoor het voor vleeskuikens economisch niet haalbaar is. Het is daarom de moeite waard om na te gaan of de verschillende ontwikkelde alternatieven op kruidenbasis, die in het algemeen voor vleeskuikens zijn ontwikkeld (Kamel, 2000; Young en Noh, 2001; Williams en Losa, 2001) ook voor biologische leghennen bescherming bieden tegen schade door coccidiose. Met name omdat diverse kruiden(mengsels) een multitarget aanpak nastreven lijken ze voor dit probleem beloftevolle oplossingen te kunnen aandragen, ondanks dat de resultaten kunnen variëren (Dorman en Deans, 2000; Paster e.a., 1990; Lee e.a., 2004). Een gedetailleerde beschrijving van het precieze werkingsmechanisme van de biologisch actieve componenten om hiermee het optreden van ziektes te kunnen controleren blijft een uitdaging. Kruiden en essentiële oliën kunnen meer dan 30 biologisch actieve componenten bevatten, waarvan het merendeel fenolen bevat met variërende anti-oxidatieve, anti-microbiële en anti-fungale werking (Lee e.a., 2004; Botsoglou e.a. 2002; Economou e.a., 1991).

Enkele kruidenpreparaten die voor pluimvee op de markt zijn hebben veelbelovende resultaten laten zien bij coccidiose, zowel in proefopstellingen als in praktijkproeven. Het betreft steeds proeven met vleeskuikens en op één uitzondering na, is het onderzoek uitgevoerd in de gangbare pluimveehouderij.

Het voor het Fyto-V project te verrichten onderzoek wijkt in enkele opzichten af van de tot nu in de literatuur beschreven onderzoeksmodellen, want het betreft opfokleghennen voor de biologische sector (i.t.t. vleeskuikens in de gangbare sector), leidend tot:

- eventueel een verschil in gevoeligheid voor specifieke *Eimeria* stammen;
- lagere voederopname en groei (dosering);
- gebruik van biologisch voer in plaats van gangbaar voer.

Enkele veelbelovende alternatieve producten die door de projectgroep *Fyto-V* zijn geselecteerd om te worden getest zijn achtereenvolgens *Natustat*, *Eimericox*, *Enteroguard*, *Zycomill* en *Ropadiar*. In deze proef wordt ook de werking van een regulier product getest, en hiervoor was *Monensin* geselecteerd. Deze producten worden hieronder kort beschreven (Van Asseldonk, 2007; www.fyto-v.nl).

Natustat

Natustat wordt geleverd door Alltech. De samenstelling is niet openbaar: het is een combinatie van plantaardige etherische oliën, plantextracten, oligomere polysacchariden uit gistcelwanden en organische mineralen. Het gaat hier om puur natuurlijke bestanddelen, dus geen genetisch gemanipuleerde of synthetische producten. Het werkingsmechanisme richt zich naast reductie van het aantal protozoën op reparatie van het epitheel en verhoging van het intestinale immuunglobuline, resulterend in een verbeterde darmweerstand.

Eimericox

Eimericox is ontwikkeld en wordt geproduceerd door het Franse bedrijf Phytosynthèse, en wordt in Nederland op de markt gebracht door Trouw (Nutreco). De samenstelling is niet openbaar gemaakt: het is een voederadditief op basis van plantaardige etherische oliën en plantextracten.

Enteroguard

Het product *Enteroguard* is ontwikkeld en wordt geleverd door Cultech agriculture (UK); in Nederland wordt het geleverd door de firma Orffa. Het bestaat uit knoflook en kaneel (poedervorm). Het product kent toepassing bij verschillende diersoorten. Er zijn twee varianten gemaakt voor verschillende groeistadia: een starter en een finisher variant. Het verschil tussen deze twee is de verhouding knoflook/kaneel. Het product richt zich op darmgezondheid, onder meer doordat specifiek schadelijke bacteriën worden geremd terwijl gunstige relatief ongemoeid worden gelaten. Daarnaast hebben zowel knoflook als kaneel ook veronderstelde spijsverteringsbevorderende eigenschappen. Met name knoflook maakt deel uit van verschillende veterinaire producten tegen interne en externe parasieten.

Zycomill, cq Zycox

Indian Herbs (IH) is een bedrijf in India, waarvan de oprichters vanuit traditionele toepassingen binnen de humane (Ayurvedische) fytotherapie een aantal producten voor dieren ontwikkeld hebben. In Oostenrijk worden enkele van deze producten veel gebruikt, met name in de biologische veehouderij. Er is op dit moment nog geen Nederlandse importeur. Het bekendste product is *Zycomill*, een mengsel van diverse kruiden, maar de samenstelling is niet algemeen bekend. De literatuur betreft uitsluitend enkele oudere Indiase publicaties. In deze publicaties wordt gesproken over vier ingrediënten: *Holarhena antidysenterica*; *Berberis aristata*, *Embelia ribes* en *Acorus calamus*.

Ropadiar

Er zijn verschillende aanwijzingen dat oregano kuikens kan ondersteunen bij een infectie met coccidiose. Er zijn veel producten met oregano(olie) op de markt. Een Nederlands product (zowel qua teelt als bereiding) voor o.a. pluimvee op basis van alleen oregano-olie is *Ropadiar*. Het wordt al veel gebruikt in biologische veevoeders.

Monensin

Monensin is een regulier product (ionofoor) waarvan de mate van effectiviteit tegen een coccidiose besmetting bekend is.

3 Materiaal en methode

Er zijn twee proeven uitgevoerd om het effect van verschillende producten en kuikenkwaliteit te testen na een coccidiose-infectie. De eerste proef duurde 16 dagen, de tweede proef 28 dagen. De kuikens werden geïnoculeerd met *E. acervulina*, *E. maxima* en *E. tenella* op dag 10 (eerste proef) of op dag 8 met *E. maxima* en op dag 10 met *E. acervulina* en *E. tenella* (tweede proef). Vergeleken met de eerste proef waren de concentraties aan *E. maxima* en *E. tenella* oöcysten in het inoculaat in de tweede proef verhoogd. Laesie scores werden uitgevoerd op dag 16 (eerste proef) en op dag 15, 16, 17 en 28 (tweede proef). De proefopzet was voor beide proeven verder identiek.

3.1 Dieren en verzorging

In de eerste proef werden 1.280 en in de tweede proef werden 1.536 kuikens van het merk "Hyline Silver" aangekocht bij legbroederij Ter Heerdt in Babberich. Deze kuikens werden in de broederij geselecteerd op kwaliteit. In de praktijk worden goede en slechte kwaliteit kuikens samen geleverd. In deze proef werd de kuikenkwaliteit bepaald aan de hand van navelkwaliteit: een goede kwaliteit kuiken heeft geen afwijkingen en een mooie, goed gesloten navel. Een kuiken van slechte kwaliteit heeft op zich geen afwijkingen, behalve een ruwe, slecht gesloten navel (zie Figuur 2).



Figuur 2 Kuikens van slechte kwaliteit

De dieren kregen de gehele proefperiode onbeperkt voer en water verstrekt, behalve voorafgaand aan de inoculatie met Eimeria en voorafgaand aan de laesiescores. Er werd gebruik gemaakt van een dag/nacht lichtschema. Temperatuurinstelling en lichtschema staan vermeld in tabel 1.

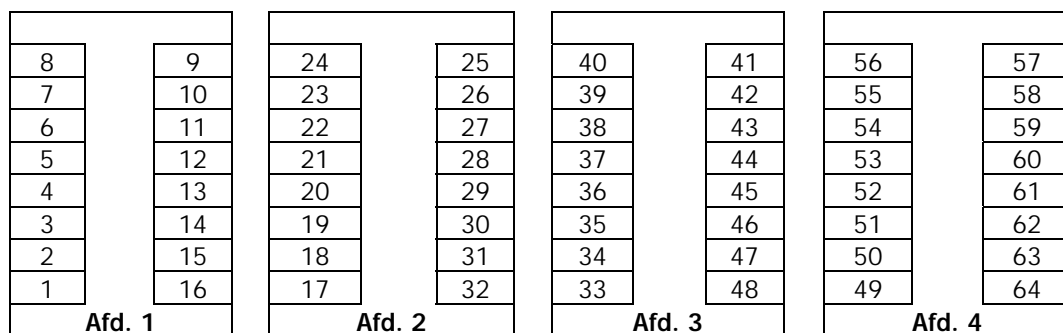
Tabel 1 Temperatuurinstelling en lichtschema gedurende de proef

Dag	Temperatuur (°C)	Lichtschema (L:D) (uren)	Licht uit (uur)	Licht aan (uur)
1-3	35	20:4	04:00	08:00
4-7	33	19:5	03:00	08:00
8-14	31	18:6	02:00	08:00
15-21	29	17:7	01:00	08:00
22-28	26	16:8	00:00	08:00

De kuikens kregen de Marek-enting in de broederij. De NCD-enting rond een leeftijd van 10 dagen bleef achterwege.

3.2 Huisvesting en klimaat

De dieren werden gehuisvest in 4 afdelingen in grondkooien met strooisel. In iedere afdeling was plaats voor 16 grondkooien (figuur 3). Een overzicht van een afdeling met grondkooien staat in figuur 4. De ruimten werden kunstmatig verlicht, verwarmd en geventileerd. Voor iedere grondkooi werd een voerbak geplaatst. Tevens bevond zich achter in iedere grondkooi een waterleiding met 2 drinkcups. Per behandeling werden 8 grondkooien gebruikt. Lichtschema en temperatuurschema werden gehanteerd zoals geadviseerd door de betreffende legfokkerij. De relatieve luchtvochtigheid werd ingesteld op 55-60%.



Figuur 3 Overzicht van de vier verschillende afdelingen met bijbehorende kooinummers



Figuur 4 Overzicht van een afdeling met 16 grondkooien

3.3 Voersamenstelling

Het biologische voer werd samengesteld door voerleverancier Van Gorp, waarna het voer gelijktijdig in 8 batches naar Research Diet Services (RDS) is vervoerd. Hier werden de verschillende middelen in de juiste concentratie ingemengd (zie ook paragraaf 3.4). Dit voer was geschikt gemaakt voor opfokhennen tot een leeftijd van 28 dagen. Dit voer, inclusief de verschillende producten werd verstrekt vanaf de eerste dag. Het voer werd niet gepelleteerd, omdat uit een proefdraaiing bleek dat de pelletteertemperatuur opliep tot boven de 70°C. Leveranciers van sommige producten gaven aan dat een hoge pelletteertemperatuur nadelig kan zijn voor de werking van het product. Het voer werd daarom verstrekt in meelvorm. Grondstoffen, berekende waarden en toevoegingen staan vermeld in Tabel 2. De berekende OE waarde was 11,30 MJ/kg. De voeders en de middelen zijn ook geanalyseerd op werkelijke waarden en actieve bestanddelen (aparte rapportage door B. Halkes van PhytoGeniX).

Tabel 2 Samenstelling van het proefvoer: grondstoffen, berekende waarden en toevoegingen

Grondstoffen (%)	Berekende waarden (g/kg)		Toegevoegd (per kg)		
Mais*	30,0	Ruw eiwit	230	Vit. A	15000 IE
Tarwe*	24,5	Ruw vet	52	Vit. D3	3000 IE
Sojaschilfers*	15,0	Ruwe celstof	42	Vit. E	50 mg
Maisglutenmeel*	5,9	Ruw as	65	Vit. C	100 mg
Zonnepitschilfers*	4,5	Zetmeel	360	Cu	10 mg
Aardappeleiwit	3,3			Zn	50 mg
Tarwegries*	3,0			Se	0,4 mg
Sesamschilfers*	2,9	Ca	11,0		
Sojaboon getoast	2,8	P	7,2		
Biergist	2,5	Na	1,6		
Erwten*	1,5	Cl	1,7		
Krijt	1,2	Lysine	9,0		
Mono-dicalciumfosfaat	1,3	Methionine +Cysteine	7,2		
Premix Vleeskuikens	1,1	Methionine	4,0		
Sojaolie*	0,4	Tryptofaan	2,2		
Betaïne	0,1	Threonine	7,4		

* van biologische oorsprong

3.4 Behandelingen en concentraties

De proefopzet bestond uit 8 behandelingen met 8 herhalingen. Er werden vijf alternatieve producten en een regulier product getest. Tevens werd een positieve en negatieve controle ingezet (zie tabel 3).

Tabel 3 Overzicht van de behandelingsgroepen en gebruikte concentratie

Behandelingsgroep	Concentratie	Alternatief middel	Geïnfecteerd	# herhalingen	
				<i>Goede kwaliteit</i>	<i>Slechte kwaliteit</i>
1. Zycomil	5,0 g/kg	Ja	Ja	4	4
2. Eimericox	1,5 g/kg	Ja	Ja	4	4
3. Enteroguard	1,5 g/kg	Ja	Ja	4	4
4. Natustat	2,0 g/kg	Ja	Ja	4	4
5. Ropadiar	1,0 g/kg	Ja	Ja	4	4
6. Monensin	0,1 g/kg	Nee	Ja	4	4
7. Negatieve controle	-	-	Ja	4	4
8. Positieve controle	-	-	Nee	4	4

De vijf alternatieve middelen werden verder anoniem behandeld, en kregen een willekeurige code A t/m E.

3.5 Inoculatie met Eimeria

Inoculatie gebeurde bij nuchtere kuikens. Voordat de dieren werden geïnoculeerd met *Eimeria* was er een donker- en een voeronthoudingsperiode van 8 uur. De voerbakken werden in het donker (schemering) omgedraaid, daarna ging het licht aan en werden de voerbakken per kooi gewogen. Direct na inoculatie werden de voerbakken weer omgedraaid. Op de dag van inoculatie werden de kuikens van behandeling 8 (positieve controlegroep) als eerste geïnoculeerd met 1 ml steriel water. Daarna werden kuikens van behandeling 1 t/m 7 oraal geïnoculeerd met 1 ml van de Eimeria suspensie (zie ook figuur 5). De stockoplossingen van de drie *Eimeria* soorten werden door de GD in Deventer bereid. De concentraties staan weergegeven in tabel 4.



Figuur 5 Inoculatie met *Eimeria*

In de eerste proef werden de kuikens in de behandelingen 1 t/m 7 (zie tabel 3) op dag 10 van de proef geïnfecteerd met een cocktail van *E. acervulina*, *E. maxima* en *E. tenella*. Kuikens in de positieve controlegroep kregen 1 ml steriel water toegediend. In de tweede proef werden de kuikens in de behandelingen 1 t/m 7 (zie tabel 4) op dag 8 van de proef geïnfecteerd met *E. maxima*, en op dag 10 met *E. acervulina* en *E. tenella*. De positieve controle werd niet geïnfecteerd met *Eimeria*, maar kreeg steriel water.

Tabel 4 Concentratie van de verschillende *Eimeria* soorten in het inoculaat (aantal oöcysten per ml) en het tijdstip van inoculatie in proef 1 en 2.

	<i>E. acervulina</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. tenella</i>
Proef 1			
Concentratie (#/ml)	25.000	5.000	3.000
Inoculatie (d)	10	10	10
Proef 2			
Concentratie (#/ml)	25.000	10.000	5.000
Inoculatie (d)	10	8	10

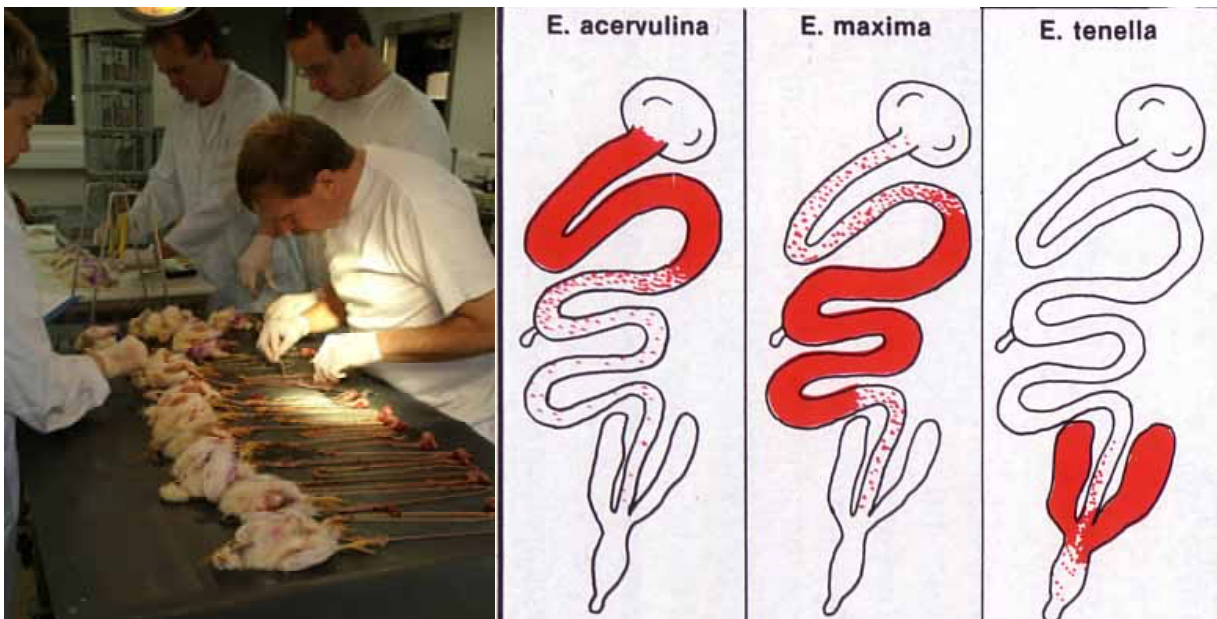
3.6 Eimeria laesiescores

In de eerste proef werden op dag 7 alle kuikens per kooi gewogen en werden de kuikens gemerkt met een kleuring. Tien willekeurige kuikens kregen op dag 7 een blauwe kleuring en werden op dag 16 geëthaniseerd waarna sectie werd verricht. Daarna is de proef afgebroken. In de tweede proef werden op dag 7 alle kuikens per kooi gewogen waarna de kuikens werden gemerkt door middel van een kleuring (zie figuur 6). Zo kon vooraf onderscheid gemaakt worden tussen kuikens waarop laesiescores werden verricht op dag 15, 16, 17 en 28. Voor de sectie op dag 15, 16 en 17 werden steeds 4 kuikens per kooi geselecteerd, de overige 12 kuikens (min de uitval) bleven in de kooitjes voor de sectie op dag 28.



Figuur 6 Kleuring van de kuikens in proef 1

Voor aanvang van de laesiescores kregen de kuikens 8 uur lang een voeronthouding. Hiervoor werden aan het begin van de donkerperiode op de dag vóór sectie de voerbakken omgedraaid. Bij sectie werden de geselecteerde dieren geëthanaseerd met een mengsel van O₂ en CO₂ gas, waarbij de verhouding van het CO₂ gas geleidelijk werd verhoogd. Hierna werden de dieren individueel gewogen en werden de dieren verbloed, waarna sectie werd verricht. De laesiescores zijn uitgevoerd volgens de methode beschreven in Johnson and Reid (1970) (zie bijlage 1-3 en figuur 7).



Figuur 7 Laesiescores.

3.7 Overige waarnemingen

In de eerste proef werden de kuikens per kooi gewogen op dag 1, 7 en 16. In de tweede proef op dag 1, 7, 17 en 28. Op de dagen waarop de laesiescores werden bepaald, werd het individuele gewicht per kuiken bepaald. Vanaf dag 10 (eerste proef) en vanaf dag 8 (tweede proef) werd het voerverbruik per kooi dagelijks vastgesteld door de voerbak te wegen.

3.8 Verwerking van de gegevens

Data zijn opgeslagen in Excel en geanalyseerd met behulp van het statistische programma Genstat. Zoötechnische gegevens als groei, voeropname en voerconversie zijn geanalyseerd d.m.v. ANOVA, met kooi als experimentele eenheid en afdeling als blok volgens het volgende model:

$$Y = \mu + \text{blok}_i + \text{kuikenkwaliteit}_j + \text{product}_k + (\text{kuikenkwaliteit} \times \text{product})_{jk} + \text{error}_{ijkl}$$

Ook de laesie scores zijn geanalyseerd met hetzelfde model, waarbij de onderlinge verschillen tussen een product met de negatieve controlegroep het meest relevant zijn.

4 Resultaten

4.1 Proef 1

De resultaten van de laesiescores, gewichten, voerverbruik (VV) en voerconversie (VC) in de eerste proef staan vermeld in tabel 5.

Tabel 5 Laesiescores van *E. acervulina* (Ea), *E. maxima* (Em) en *E. tenella* (Et) op dag 16, gewichten (BW; g) op dag 0 en 16, voerverbruik (VV; g) en voerconversie (VC; g.g⁻¹) in de eerste proef.

	Laesie scores			Technische resultaten			
	Ea	Em	Et	BW d0	BW d16	VV	VC
Positieve controle	0.00 ^a	*	0.00 ^a	38.5	138 ^c	203 ^d	1.47 ^a
Negatieve controle	1.86 ^c	*	1.81 ^b	38.2	109 ^a	173 ^{ab}	1.58 ^c
Regulier	1.49 ^b	*	1.63 ^b	37.9	123 ^b	189 ^c	1.53 ^b
Product A	1.89 ^c	*	1.83 ^b	38.4	110 ^a	174 ^{ab}	1.58 ^{bc}
Product B	1.84 ^c	*	1.74 ^b	38.4	108 ^a	170 ^a	1.57 ^{bc}
Product C	1.90 ^c	*	1.71 ^b	38.5	112 ^a	178 ^b	1.59 ^c
Product D	1.90 ^c	*	1.66 ^b	37.7	110 ^a	175 ^{ab}	1.59 ^c
Product E	2.03 ^c	*	1.80 ^b	38.2	109 ^a	171 ^a	1.57 ^{bc}
P-waarde							
Behandeling (n=8)	<0.001	*	<0.001	0.332	<0.001	<0.001	<0.001
Kuikenkwaliteit (n=32)	0.792	*	0.269	0.176	0.490	0.582	0.753
Behandeling x Kuikenkwaliteit (n=64)	0.099	*	0.761	0.250	0.720	0.252	0.487
Overall SEM (n=64)	0.050	*	0.043	0.130	0.824	0.962	0.009

^{a, b, c, d} Verschillende letters in een kolom geven significante verschillen weer ($P < 0.05$), * geen score in de negatieve controle en andere behandelingsgroepen.

Er was voor alle responsvariabelen geen interactie tussen behandeling en kuikenkwaliteit, zodat alleen de hoofdeffecten kunnen worden weergegeven. De laesiescore voor *E. acervulina* en *E. tenella* van de kuikens die de kruidenproducten kregen toegediend verschilden op dag 16 niet van die van de negatieve controle. Het reguliere middel gaf wel een vermindering van de laesiescore voor *E. acervulina*, maar niet voor *E. tenella*. Er werden geen laesies waargenomen voor *E. maxima*, ook niet in de negatieve controlegroep. Er was geen significant effect van kuikenkwaliteit op laesiescores.

Kuikengewicht op dag 0 en dag 16 werd niet beïnvloed door kuikenkwaliteit. De kuikengewichten op dag 16 in de groepen die de kruidenproducten in het voer kregen toegediend verschilden niet significant van het gemiddelde kuikengewicht in de negatieve controlegroep. De kuikens in de negatieve controlegroep hadden op dag 16 het hoogste gewicht. Vergeleken met de negatieve controlegroep, gaf het reguliere middel een geringere terugval in kuikengewicht op dag 16 dan de kruidenproducten. Voerverbruik in de negatieve controlegroep was lager dan die in de positieve controlegroep. Voerverbruik van de kuikens die het reguliere middel kregen was hoger dan de negatieve controlegroep, en lager dan de positieve controlegroep. Voerverbruik van de kuikens die de kruidenproducten kregen toegediend verschilde niet significant van die in de negatieve controlegroep. Voor voederconversie kon eenzelfde patroon worden waargenomen.

De respons van de kuikens op een coccidiose-infectie zou bepaald kunnen worden door de tijdsduur tussen inoculatie en het uitvoeren van de laesiescore. Ook zou het product zelf van invloed kunnen zijn op het tijdstip van de piek in de laesie score. Verder zouden kruidenproducten ervoor kunnen zorgen dat de kuikens een infectie beter doorstaan, waardoor een goede immuniteit wordt opgebouwd. Groei en voerverbruik in de periode tussen 16 en 28 dagen zouden hoger kunnen zijn bij de kruidenproducten, waardoor de kuikens beter herstellen. Dit zou dan tevens tot uiting moeten komen in een lagere laesiescore op dag 28. Dag 28 is gekozen omdat ongeveer 12 dagen na de eerste piek in de laesiescore er een tweede piek in de laesiescore kan optreden. Daarom is er een tweede proef uitgevoerd waarbij ook op dag 28 laesiescores werden uitgevoerd.

Op advies van de Gezondheidsdienst voor Dieren is het tijdstip van inoculatie voor *E. maxima* met 2 dagen vervroegd, omdat *E. maxima* laesiescores in het algemeen wat later in de tijd hun piek vertonen dan *E. acervulina* of *E. tenella*. Ook is in de tweede proef de concentratie van de *E. maxima* en *E. tenella* oöcysten in het inoculaat verhoogd (zie tabel 4).

4.2 Proef 2

4.2.1 Laesiescores

De resultaten van de laesiescores voor *E. acervulina* op dag 15, 16, 17 en 28 en de gemiddelde score over dag 15-17 in de tweede proef staan vermeld in Tabel 6.

Tabel 6 *E. acervulina* laesiescores op dag 15, 16, 17 en 28, en de gemiddelde score over dag 15-17 in proef 2

	dag 15	dag 16	dag 17	dag 15-17	dag 28
Positieve controle	0.50 ^a	0.72 ^a	0.94 ^b	0.72 ^a	0.14
Negatieve controle	2.03 ^b	1.66 ^b	1.06 ^b	1.55 ^{bc}	0.02
Regulier	2.03 ^b	1.66 ^b	0.47 ^a	1.25 ^b	0.02
Product A	2.56 ^c	1.63 ^b	1.13 ^b	1.84 ^c	0.00
Product B	2.47 ^{bc}	1.56 ^b	1.25 ^b	1.86 ^c	0.00
Product C	2.47 ^{bc}	2.00 ^b	1.25 ^b	1.86 ^c	0.02
Product D	2.47 ^{bc}	1.59 ^b	0.94 ^b	1.70 ^c	0.00
Product E	2.53 ^{bc}	1.56 ^b	1.25 ^b	1.89 ^c	0.01
P-waarde					
Behandeling (n=8)	<0.001	<0.001	0.012	<0.001	0.154
Kuikenkwaliteit (n=32)	0.629	0.688	0.227	0.299	0.922
Behandeling x Kuikenkwaliteit (n=64)	0.427	0.703	0.754	0.776	0.846
Overall SEM (N=64)	0.064	0.082	0.054	0.046	0.014

^{a, b, c} Verschillende letters in een kolom geven significante verschillen tussen behandelingen weer (P<0.05)

Er was geen significante interactie tussen behandeling en kuikenkwaliteit op de laesiescores. De kruidenproducten gaven op dag 15 en 16 geen significant lagere laesiescore voor *E. acervulina* als het reguliere middel en de negatieve controlegroep. Product A gaf zelfs een hogere *E. acervulina* laesiescore op dag 15 dan de negatieve controlegroep. Op dag 17 gaf het reguliere middel een duidelijke verlaging van de laesiescore voor *E. acervulina*, terwijl de kruidenproducten geen significant andere laesiescore gaven als de negatieve controlegroep. Gemiddeld over dag 15, 16 en 17 gaf het reguliere middel een daling van de *E. acervulina* score ten opzichte van de kruidenproducten, maar niet ten opzichte van de negatieve controlegroep. Op dag 28 waren de scores voor *E. acervulina* zo laag dat er geen significante verschillen tussen de behandelingen (P=0.154) konden worden waargenomen.

De resultaten van de *E. maxima* laesiescores staan vermeld in tabel 7. Op dag 15 en 16 konden geen laesiescores voor *E. maxima* worden waargenomen, zelfs niet in de negatieve controlegroep. Op dag 17 en 28 werden er wel laesiescores waargenomen, maar konden er geen verschillen tussen producten worden aangetoond. Ook was er geen effect van kuikenkwaliteit en waren er geen interacties tussen behandeling en kuikenkwaliteit.

Tabel 7 *E. maxima* laesiescores op dag 15, 16, 17 en 28, en de gemiddelde score over dag 15-17 in proef 2

	dag 15	dag 16	dag 17	dag 15-17	dag 28
Positieve controle	*	*	0.09	0.03	0.05
Negatieve controle	*	*	0.13	0.04	0.03
Regulier	*	*	0.13	0.04	0.09
Product A	*	*	0.16	0.05	0.09
Product B	*	*	0.00	0.00	0.05
Product C	*	*	0.00	0.00	0.10
Product D	*	*	0.09	0.03	0.04
Product E	*	*	0.03	0.01	0.09
P-waarde					
Behandeling (n=8)	*	*	0.501	0.501	0.458
Kuikenkwaliteit (n=32)	*	*	0.727	0.727	0.294
Behandeling x Kuikenkwaliteit (n=64)	*	*	0.107	0.107	0.381
Overall SEM (N=64)	*	*	0.031	0.011	0.013

*geen score in de negatieve controlegroep

De resultaten van de *E. tenella* laesie scores staan vermeld in tabel 8. Op dag 15 gaf product A een hogere laesiescore voor *E. tenella* dan het reguliere middel. De overige kruidenproducten gaven geen significant afwijkende score als het reguliere middel en de negatieve controlegroep. Op dag 16 werden er geen significante verschillen aangetoond tussen negatieve controle, regulier middel en kruidenproducten, en was de laesiescore voor *E. tenella* in de positieve controlegroep significant lager. Op dag 17 echter konden er geen significante verschillen worden aangetoond in de laesiescore voor *E. tenella* tussen de positieve controlegroep en de overige behandelingen. Gemiddeld over de periode van 15, 16 en 17 dagen was de laesie score voor *E. tenella* voor producten A en E hoger dan die voor de andere producten. De waarden weken echter niet significant af van de laesiescores in de negatieve controlegroep. Op dag 28 waren de laesie scores voor *E. tenella* erg laag, en konden er enkel geringe (maar wel significante verschillen) worden waargenomen tussen kruidenproducten. Deze laesiescores waren echter zo laag op dag 28 dat hier geen bindende conclusies aan verleend kunnen worden.

Tabel 8 *E. tenella* laesiescores op dag 15, 16, 17 en 28, en de gemiddelde score over dag 15-17 in proef 2

	dag 15	dag 16	dag 17	Dag 15-17	dag 28
Positieve controle	0.00 ^a	0.09 ^a	0.16	0.08 ^a	0.05 ^{abc}
Negatieve controle	2.16 ^b	1.31 ^b	0.38	1.27 ^{bc}	0.06 ^{abc}
Regulier	2.19 ^b	1.47 ^b	0.38	1.28 ^b	0.08 ^{bc}
Product A	2.69 ^c	1.34 ^b	0.34	1.52 ^c	0.01 ^{ab}
Product B	2.09 ^b	1.34 ^b	0.47	1.28 ^b	0.00 ^a
Product C	2.34 ^{bc}	1.53 ^b	0.31	1.33 ^b	0.09 ^c
Product D	2.38 ^{bc}	1.34 ^b	0.25	1.31 ^b	0.02 ^{abc}
Product E	2.56 ^{bc}	1.34 ^b	0.47	1.52 ^c	0.00 ^a
P-waarde					
Behandeling (n=8)	<0.001	<0.001	0.642	<0.001	0.048
Kuikenkwaliteit (n=32)	0.470	0.142	0.374	0.295	0.525
Behandeling x Kuikenkwaliteit (n=64)	0.127	0.366	0.357	0.386	0.999
Overall SEM (N=64)	0.083	0.063	0.062	0.039	0.009

^{a, b, c} Verschillende letters in een kolom geven significante verschillen tussen behandelingen weer ($P < 0.05$)

4.2.2 Technische resultaten

In tabel 9 staan de technische resultaten van de kuikens in de tweede proef weergegeven. Op dag 0 konden er geen significante verschillen worden waargenomen tussen de gewichten in de verschillende behandelingsgroepen, ook niet tussen kuikens van goede en slechte kwaliteit. Op dag 7 waren de kuikens van goede kwaliteit significant zwaarder dan de kuikens van slechte kwaliteit, en dit verschil bleef aanwezig tot aan het einde van de proef op dag 28. Er konden op dag 17 en 28 geen significante verschillen in kuikengewicht worden aangetoond tussen de verschillende kruidenproducten; de kuikens die de kruidenproducten kregen toegediend waren even zwaar als de kuikens in de negatieve controlegroep. De kuikens die het reguliere middel door het voer kregen verstrekt waren op dag 17 en 28 zwaarder dan de kuikens die het voer met de kruidenproducten kregen verstrekt, maar ook zwaarder dan de kuikens in de negatieve controlegroep. Op dag 28 week het gewicht van de kuikens die het reguliere product kregen verstrekt niet significant af van het gewicht van de kuikens in de positieve controle.

Tabel 9 Gewichten (g) op dag 0, 7, 17 en 28, cumulatieve voerverbruik (VV; g) en voederconversie (VC; g.g⁻¹) op dag 17 en 28 in proef 2

	d0	d7	d17	d28	VV-17	VV-28	VC-17	VC-28
Positieve controle	35.9	67.3	151.8 ^c	261.3 ^b	219.6 ^c	513.9 ^c	1.45 ^a	1.97
Negatieve controle	36.1	66.3	116.0 ^a	246.2 ^a	185.2 ^a	478.8 ^{ab}	1.60 ^c	1.95
Regulier	36.5	66.6	135.5 ^b	269.3 ^b	207.2 ^b	516.6 ^c	1.53 ^b	1.92
Product A	36.4	66.8	116.9 ^a	248.2 ^a	186.4 ^a	489.7 ^{bc}	1.60 ^c	1.97
Product B	36.0	65.8	110.3 ^a	240.6 ^a	177.6 ^a	456.7 ^a	1.61 ^c	1.90
Product C	36.0	68.1	117.2 ^a	249.3 ^a	186.8 ^a	471.8 ^{ab}	1.60 ^c	1.90
Product D	36.2	67.7	114.9 ^a	244.5 ^a	186.3 ^a	476.5 ^{ab}	1.62 ^c	1.95
Product E	36.4	67.2	116.2 ^a	239.9 ^a	185.2 ^a	466.4 ^{ab}	1.60 ^c	1.95
Goede kwaliteit kuikens	36.2	67.5 ^a	125.2 ^a	257.9 ^b	195.1 ^b	495.2 ^b	1.57	1.92
Slechte kwaliteit kuikens	36.2	66.4 ^b	119.5 ^b	241.9 ^a	188.5 ^a	472.4 ^a	1.58	1.95
P-waarde								
Behandeling (n=8)	0.724	0.336	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.01	0.690
Kuikenkwaliteit (n=32)	0.865	0.026	0.001	<0.001	0.009	0.006	0.250	0.200
Behandeling x Kuikenkwaliteit (n=64)	0.857	0.247	0.758	0.658	0.570	0.513	0.852	0.776
Overall SEM (N=64)	0.2	0.2	0.8	1.5	1.2	3.9	0.008	0.013

^{a, b, c} Verschillende letters in een kolom geven significante verschillen tussen behandelingen weer (P<0.05)

Kuikens die een zwaarder gewicht bereikten hadden in alle gevallen ook meer voer verbruikt (tabel 9). Op dag 17 was de voederconversie het laagst (het best) in de positieve controle groep, gevolgd door de groep kuikens die het reguliere product kregen. Voederconversie was het hoogst (het slechtst) voor de kuikens in de negatieve controle groep, en voor de kuikens die de kruidenproducten kregen verstrekt. Op dag 28 konden geen significante verschillen in voederconversie worden waargenomen als gevolg van product of kuikenkwaliteit. In geen enkel geval was er sprake van een significante interactie tussen behandeling en kuikenkwaliteit.

Tabel 10 Voerverbruik (g per dier per dag)

	d1-7	d8-10	d11	d12	d13	d14	d15	d16	d17	D18
Positieve controle	7.6	13.3	14.8	17.0 ^c	16.3 ^c	20.9 ^c	18.6 ^d	19.8 ^c	19.2 ^d	20.7 ^{bc}
Negatieve controle	7.4	13.3	15.3	16.0 ^{bc}	10.7 ^a	12.8 ^a	10.1 ^b	15.0 ^a	13.9 ^{ab}	18.2 ^{ab}
Regulier	7.5	13.2	15.5	16.4 ^{bc}	14.2 ^b	18.7 ^b	14.9 ^c	17.4 ^b	18.0 ^d	21.2 ^c
A	7.2	13.6	15.9	15.3 ^b	11.1 ^a	13.2 ^a	9.4 ^b	14.5 ^a	15.7 ^c	18.9 ^{abc}
B	7.3	13.1	16.0	14.0 ^a	10.7 ^a	12.2 ^a	7.6 ^a	13.5 ^a	12.8 ^a	17.0 ^a
C	7.6	13.7	15.3	15.1 ^{ab}	11.3 ^a	12.9 ^a	9.5 ^b	13.9 ^a	14.4 ^{abc}	17.5 ^a
D	7.6	13.2	15.5	15.3 ^b	11.1 ^a	13.1 ^a	9.3 ^b	13.6 ^a	15.1 ^{bc}	19.0 ^{abc}
E	7.8	13.3	15.1	15.4 ^b	11.0 ^a	12.6 ^a	8.8 ^{ab}	14.2 ^a	13.8 ^{ab}	17.8 ^a
Goede kwaliteit	7.7	13.4	15.5	15.7	12.3	14.8	11.4 ^b	15.4	15.9 ^b	19.1
Slechte kwaliteit	7.3	13.2	15.4	15.4	11.8	14.3	10.7 ^a	15.1	14.9 ^a	18.4
P-waarde										
Behandeling	0.576	0.787	0.666	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.012
Kuikenkwaliteit	0.017	0.343	0.620	0.300	0.092	0.093	0.025	0.528	0.021	0.273
Behandeling x Kuikenkwaliteit	0.849	0.841	0.613	0.638	0.647	0.674	0.314	0.504	0.222	0.284

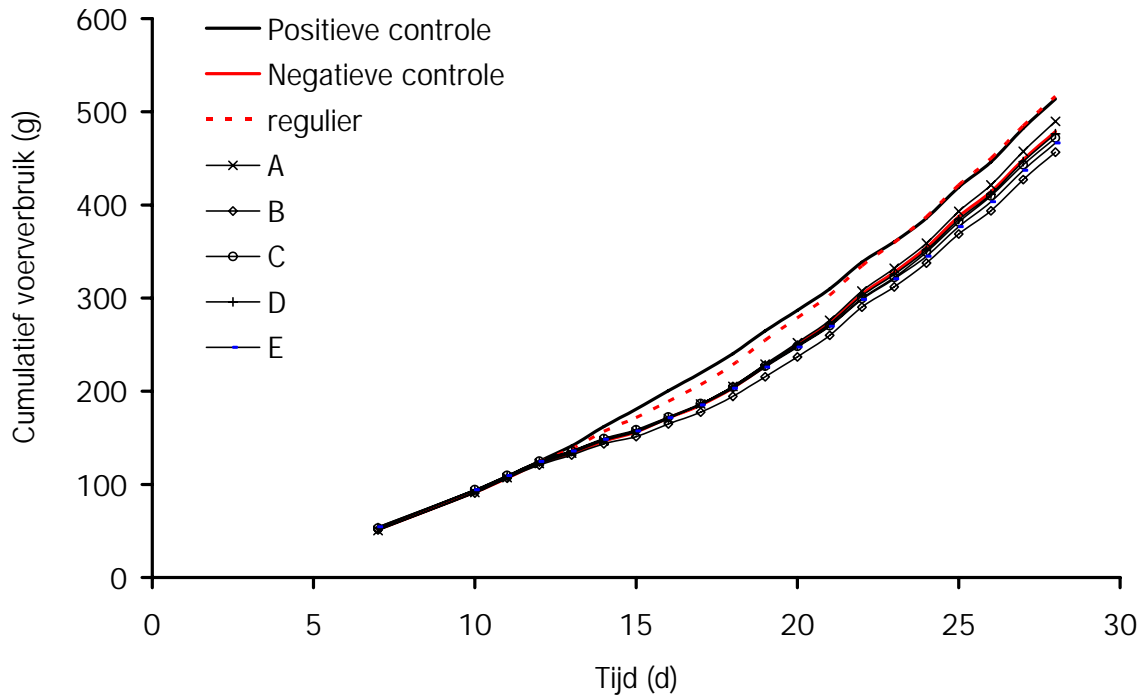
Tabel 10 (vervolg)

	d19	d20	d21	d22	d23	d24	d25	d26	d27	d28	totaal
Positieve controle	24.5 ^{bc}	22.1	23.0	28.6	22.1	25.2	33.4	27.1	36.2	31.6	513.9 ^c
Negatieve controle	23.8 ^b	22.7	23.3	30.9	23.6	26.5	33.2	26.7	34.4	30.4	478.8 ^{ab}
Regulier	26.2 ^c	24.0	24.6	31.5	24.7	27.8	34.0	28.7	35.0	31.7	516.6 ^c
A	23.8 ^b	22.9	24.0	31.4	24.5	26.8	34.2	28.4	36.1	32.2	489.7 ^{bc}
B	21.0 ^a	21.3	23.1	30.4	21.7	25.6	31.0	25.0	33.6	29.4	456.7 ^a
C	22.6 ^{ab}	21.3	22.1	29.3	22.5	27.1	32.4	28.1	33.5	28.7	471.8 ^{ab}
D	22.9 ^{ab}	21.4	22.8	29.9	23.1	26.2	32.6	27.4	34.9	29.9	476.5 ^{ab}
E	22.8 ^{ab}	21.5	22.4	28.9	22.0	24.4	31.7	26.6	33.8	29.4	466.4 ^{ab}
Goede kwaliteit	23.8	22.4	23.7	30.8 ^b	23.9 ^b	27.0 ^b	33.8 ^b	28.2 ^b	35.9 ^b	31.5 ^b	495.2 ^b
Slechte kwaliteit	23.1	21.9	22.6	29.3 ^a	22.2 ^a	25.5 ^a	31.8 ^a	26.3 ^a	33.4 ^a	29.3 ^a	472.4 ^a
P-waarde											
Behandeling	0.005	0.071	0.443	0.149	0.059	0.125	0.620	0.318	0.501	0.064	0.003
Kuikenkwaliteit	0.252	0.275	0.056	0.021	0.004	0.016	0.031	0.021	0.003	0.001	0.006
Behandeling x Kuikenkwaliteit	0.524	0.518	0.924	0.452	0.668	0.058	0.257	0.696	0.551	0.485	0.513

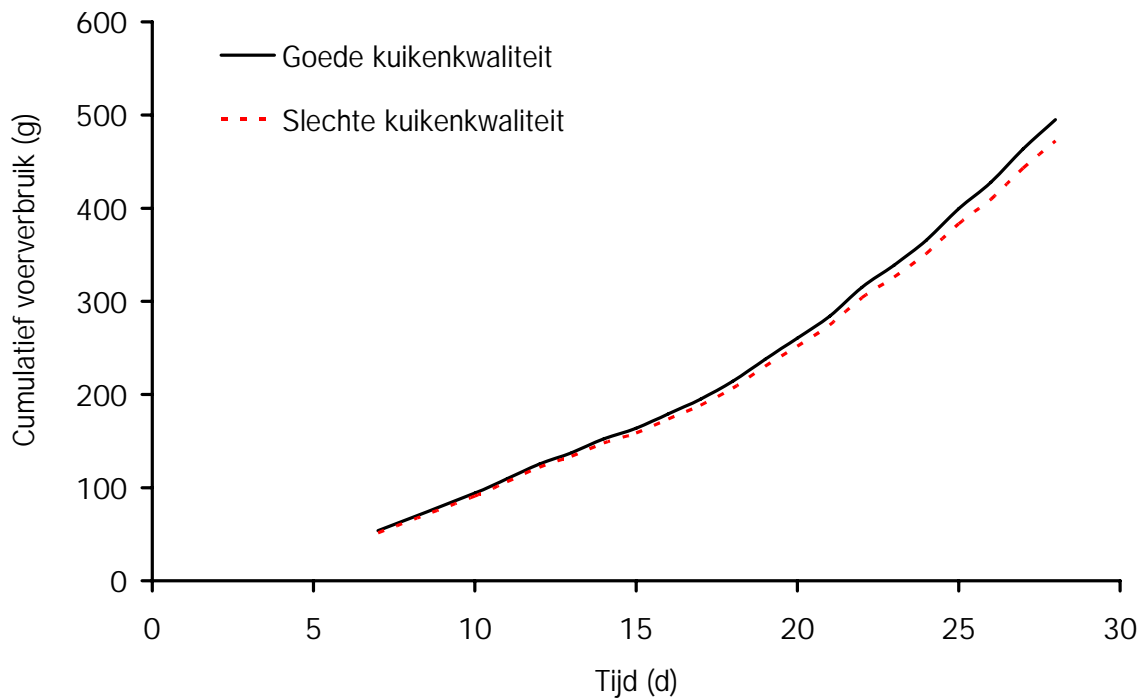
^{a, b, c} Verschillende letters in een kolom geven significante verschillen tussen behandelingen weer ($P < 0.05$)

Het voerverbruik per kuiken per dag staat weergegeven in tabel 10. Tussen dag 12 en dag 19 is te zien dat de geïnfecteerde kuikens in het algemeen minder voer verbruiken dan de kuikens in de positieve controlegroep. Kuikens die het reguliere product in het voer kregen verstrekt verbruikten in deze periode meer voer dan de overige geïnfecteerde kuikens, maar minder dan de kuikens in de positieve controlegroep. Het verloop van het cumulatieve voerverbruik bij de verschillende behandelingsgroepen staat weergegeven in figuur 7. Kuikenkwaliteit was van invloed op het voerverbruik, maar er was geen interactie tussen behandeling en kuikenkwaliteit. Kuikens van goede kwaliteit verbruikten meer voer dan kuikens van slechte kwaliteit.

Vanaf dag 22 nemen de kuikens van goede kwaliteit 1.5 tot 2.5 g meer voer per dag op dan kuikens van slechte kwaliteit (tabel 10). Dit verschil werd vooral duidelijk wanneer het cumulatieve voerverbruik werd berekend (zie figuur 8).



Figuur 7 Cumulatieve voerverbruik in de verschillende behandelingsgroepen

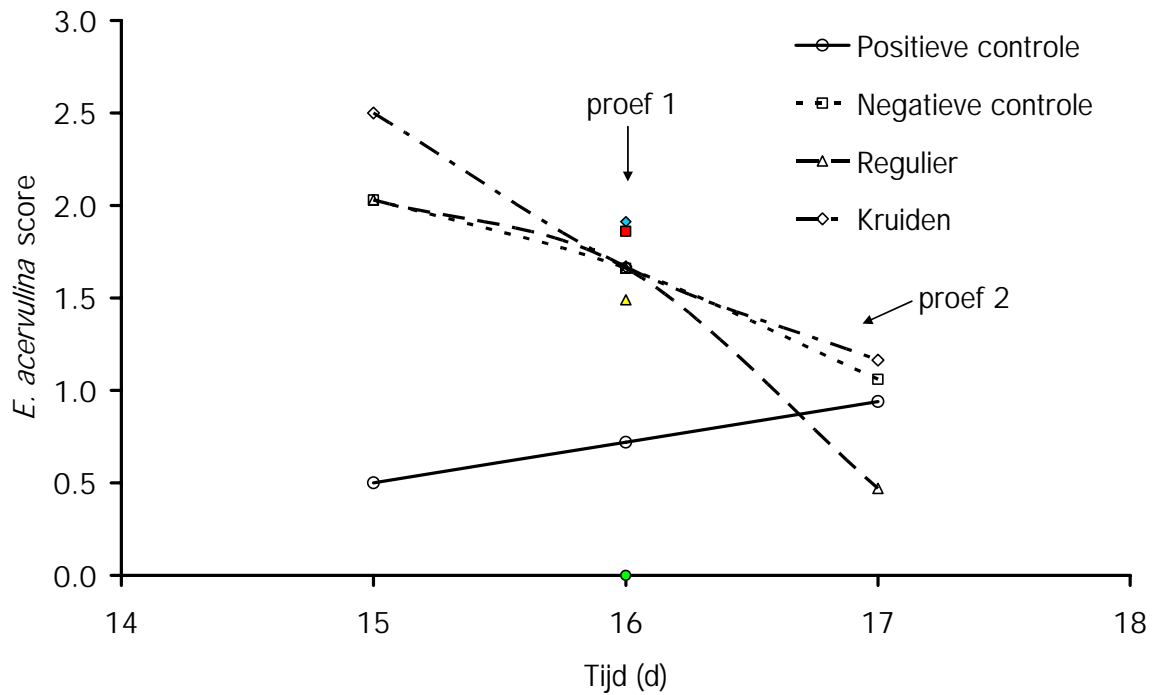


Figuur 8 Cumulatieve voerverbruik door kuikens van goede en slechte kwaliteit

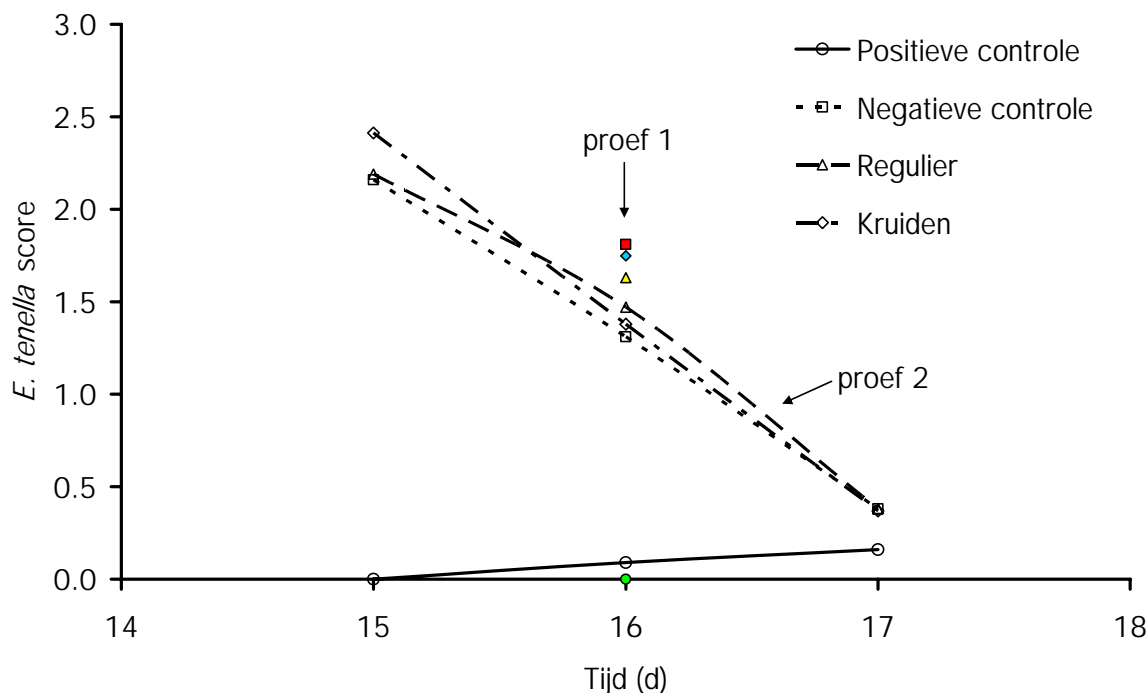
5 Discussie

Vergelijking tussen proef 1 en 2

De laesiescores in de eerste en tweede proef op dag 15, 16 en 17 voor *E. acervulina* en *E. tenella* staan weergegeven in figuur 1 en 2, respectievelijk. De scores uit de eerste proef op dag 16 staan hier weergegeven met hetzelfde symbool. Wat opvalt is dat op dag 16 de laesiescores voor *E. acervulina* voor de negatieve controlegroep, het reguliere middel en de kruidenproducten alle tussen de 1,5 en 2,0 liggen, en dat alleen de scores voor de positieve controlegroepen afwijken. In de eerste proef was deze score nul; in de tweede proef liep de score op in de tijd terwijl deze scores ook nul hadden moeten zijn. Voor *E. tenella* kon eenzelfde patroon worden waargenomen (figuur 2), waarbij het enige verschil is dat deze scores in de tweede proef op dag 16 wat lager waren.



Figuur 1 Verloop van de *E. acervulina* score in de eerste proef op dag 16 en in de tweede proef op dag 15, 16 en 17.



Figuur 2 Verloop van de *E. tenella* score in de eerste proef op dag 16 en in de tweede proef op dag 15, 16 en 17.

De relatief lichte infectie van de positieve controlegroep kan wel effect hebben op de groei van deze kuikens. In de tweede proef waren de kuikens op dag 28 in de positieve controlegroep niet significant lichter of zwaarder dan de kuikens die het reguliere middel kregen verstrekt. De kruidenproducten konden een terugval in gewicht op dag 28 niet voorkomen.

Vleeskuikens en legkuikens in het Coccidiose besmettingsmodel

Het gebruik van opfokleghennen voor de biologische sector week af van de tot nu toe in de literatuur beschreven onderzoeksmodellen met vleeskuikens. Legkuikens zouden eventueel een verschil in gevoeligheid voor specifieke *Eimeria* stammen kunnen hebben, maar in deze proef sloeg de *Eimeria* challenge in principe goed aan. De challenge had een ongunstige invloed op de voederconversie en groei, maar de uitval was niet verhoogd. Er is dus een relatief geringe infectie ontstaan, waardoor de kuikens niet zichtbaar ziek zijn geworden (subklinische coccidiose). Legkuikens hebben een lagere voeropname en groei dan vleeskuikens, waardoor de kuikens dus ook minder product zouden kunnen opnemen. Omdat dit verschijnsel vooraf bekend was, werden de meeste kruidenproducten aangeboden in een hogere concentratie dan gangbaar in de praktijk. Het lijkt verder niet aannemelijk dat het gebruik van biologisch voer in plaats van gangbaar voer het resultaat van de laesiescores kan beïnvloeden. Bij de samenstelling en bewerking van het voer is juist rekening gehouden met het feit dat er gewerkt werd met kruidenproducten. Bij het pelleren kan de temperatuur zo hoog oplopen dat de werking van de kruidenproducten minder kan worden. De kruidenproducten werden door het voer gemengd, en het voer werd hierna niet gepelleteerd maar verstrekt in meelvorm.

Besmettingsgraad

In deze proef is getracht om de kuikens te besmetten met *Eimeria* tot een subklinische coccidiose zodat een optimaal preventief effect van de kruidenproducten verwacht zou mogen worden. Gezien de terugval in voeropname en groei, waarbij de uitval niet steeg, is dit prima gelukt. Een hogere dosering met *Eimeria* oöcysten zou het effect van de kruidenproducten op de laesiescores niet verbeteren en de uitval van de kuikens laten toenemen. Hierbij moet ook nog worden opgemerkt dat een hogere concentratie oöcysten kan leiden tot "crowding" in de darm, waardoor de infectie minder goed aan kan slaan, vooral in de relatief kleinere darm van legkuikens vergeleken met vleeskuikens (Fabri, pers. comm.). Bij een lagere dosering zouden de laesiescores lager uitvallen, waardoor er een kleiner contrast met de positieve controlegroep zou worden aangebracht. Dat het tijdstip waarop de laesiescores werden genomen erg belangrijk is voor de hoogte van de laesiescore blijkt uit de tweede proef.

Werking van Monensin

In de eerste gaf de coccidiose-infectie ook in de Monensingroep een terugval in cumulatieve voerverbruik en groei van de kuikens op d16, vergeleken met de positieve controlegroep. De terugval in groei en voerverbruik van de geïnfecteerde kuikens was wel minder dan bij de negatieve controlegroep en bij de kruidenproducten. Het zelfde effect werd waargenomen in de tweede proef, maar op d28 konden er geen verschillen meer worden aangetoond in gewicht, voerverbruik en voederconversie tussen de Monensingroep en de positieve controlegroep.

In de eerste proef was de laesiescore voor *E. acervulina* in de Monensingroep op dag 16 significant lager dan in de negatieve controlegroep bij de kruidenproducten. In de tweede proef waren de laesiescores voor *E. acervulina* op d15 en d16 niet significant lager dan in de negatieve controlegroep. Op d17 was deze laesiescore wel significant lager, dus leken de kuikens sneller te herstellen van de coccidiose-infectie. Ten opzichte van de Monensingroep werden er in de eerste proef op d16 voor *E. tenella* geen significante verschillen in laesiescores waargenomen tussen de negatieve controlegroep en de kruidenproducten. Ook in de tweede proef waren de laesiescores voor *E. tenella* op d15, d16 en d17 niet significant lager dan in de negatieve controlegroep.

In deze proef gaf Monensin wel een verlichting voor de kuikens voor wat betreft technische resultaten na een coccidiosebesmetting. Toch lijkt het erop dat Monensin in beide proeven maar een beperkt positief effect had op de laesiescores. In beide proeven werden de kuikens besmet met een dosis die subklinische verschijnselen veroorzaakte. Het zou denkbaar kunnen zijn dat Monensin een grotere beschermende werking heeft en eerder significante verbeteringen in laesiescores geeft bij een zwaardere besmetting.

Het gebruik van kruiden zonder infectie

In deze proef is niet onderzocht wat het effect was van kruidenproducten op voeropname en groei van kuikens die niet werden geïnfecteerd. Sommige fenolcomponenten in kruiden kunnen cyto-toxische effecten hebben op de darmvilli (Giannenas e.a., 2003; Lee e.a., 2004). Andere kruidenproducten zouden effect kunnen hebben op de ontwikkeling van de laesiescores in de tijd (Nollet, pers. comm.). Het gebruik van kruiden en etherische oliën op zich kan al darmirritatie geven, en bij een hoge dosering zelfs beschadiging van de villi. Omdat in deze proef al op de eerste dag is gestart met het verstrekken van de kruidenproducten kan dit van invloed zijn geweest op de ontwikkeling van de villi, waardoor er zwaardere laesies zouden kunnen ontstaan, zoals bijvoorbeeld bij kruidenproduct A.

Aanbevelingen

In deze proef kon geen positief effect van kruiden op een coccidiosebesmetting aangetoond worden. Deze proef beperkte zich tot jonge kuikens van maximaal 4 weken oud. Het is onbekend of kruidenproducten op de lange termijn een positief effect kunnen hebben op de opbouw van de immuniteit, of op het handhaven van een hoge eiproduktie tijdens een coccidiose-infectie tijdens de legperiode. Het verstrekt tot de aanbeveling om het effect van kruidenproducten te testen tijdens een coccidiose-infectie op latere leeftijd van de hennen, en om daar immunologische parameters en productiekenmerken in mee te nemen. Vervolgonderzoek zou zich ook moeten richten op het effect van kruidenproducten op darmontwikkeling in relatie tot voeropname en groei.

6 Conclusie

In de eerst proef gaven de kruidenproducten geen vermindering van laesiescores voor *E. acervulina* en *E. tenella* op dag 16. De scores waren even slecht als in de negatieve controlegroep. Ook hadden de alternatieve middelen geen effect op het gewicht van de kuikens op dag 16, en konden de kruidenproducten de teruggang in kuikengewicht als gevolg van de coccidiose-infectie niet voorkomen. Bij sommige kruidenproducten was het voerverbruik hoger dan bij andere alternatieve producten, maar deze verschillen resulteerden niet in verschillen in de voerconversie voor de verschillende kruidenproducten.

In de tweede proef kon op geen enkel tijdstip een verlaging van de *Eimeria* laesiescores worden aangetoond door het gebruik van kruidenproducten. Ten opzichte van de negatieve controlegroep was er één product dat een verhoging van de laesie score voor *E. acervulina* en *E. tenella* gaf op d15. Op d16, d17 en d28 was dit effect verdwenen. Ook in de tweede proef konden de alternatieve producten niet voorkomen dat de technische resultaten verminderden door de coccidiose-infectie. Kuikenkwaliteit had wel een groot effect op technische resultaten, waarbij kuikens van slechte kwaliteit minder goed presteerden dan kuikens van goede kwaliteit. Er konden geen interacties tussen behandeling en kuikenkwaliteit worden waargenomen, dus het effect van de coccidiose-infectie was gelijk voor goede en slechte kwaliteit kuikens.

Op grond van deze studie kan geen positief effect van kruidenproducten op de respons van jonge legkuikens op een infectie met coccidiose worden aangetoond. Kuikenkwaliteit had wel invloed op de technische resultaten, maar niet op de *Eimeria* laesiescores. Er was geen interactie tussen kuikenkwaliteit en de werking van een kruidenproduct.

7 Literatuur

- Botsoglou, N.A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D.J. Fletouris en A.B. Spais. 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br. Poult. Sci.*, 43: 223-230.
- Chapman, H.D., T.E. Cherry, H.D. Danforth, G. Richards, M.W. Shirley en R.B. Williams. 2002. Sustainable coccidiosis control in poultry production; the role of live vaccines. *Int. J. Parasitol.*, 32: 617-629.
- Dorman, H.J.D. en S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 29: 130-135.
- Economou, K.D., V. Oreopoulou en C.D. Thomopoulos. 1991. Antioxidant properties of some plant extracts of the *Labiatae* family. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68: 109-113.
- Giannenas, I., P. Florou-Paneri, M. Papazahariadou, E. Christaki, N.A. Botsoglou en A.B. Spais. 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch. Anim. Nutr.*, 57: 99-106.
- Lillehoj, H.S. en E.P. Lillehoj. 2000. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. *Avian Dis.*, 44: 408-425.
- Johnson, J. en W.M. Reid. 1970. Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.*, 28: 30-36.
- Jones, F.T. en S.C. Ricke. 2003. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poult. Sci.*, 82: 613-617.
- Kamel, C. 2000. A novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix*, 8:16-17.
- Lee, K.W., H. Everts en A.C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.*, 3: 738-752.
- Paster, N., B.J. Juven, E. Shaaya, M. Menasherov, R. Nitzan, H. Weisslowitz en U. Ravid. 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11: 33-37.
- Thomke, S. en K. Elwinger. 1998. Growth promotants in feeding pigs and poultry. II. Mode of action of antibiotic growth promotants. *Ann. Zootech.*, 47:153-167.
- Magner, B.R. 1991. Anticoccidials. In: Brander, G.C., Paugh, D.M., Bywater, R.J. en Jenkins, W.L. (Eds.), *Veterinary applied pharmacology and therapeutics*, 5th ed., ELBS, Bailliere Tindall, London, pp: 549-563.
- Van Asseldonk, T. 2007. Overzicht van de achtergrondliteratuur bij de Fyto-V dierproeven. Deel 1. Pluimvee (coccidiose challenge). Intern rapport.
- Voeten, A. C. 2000. *Gezond Pluimvee*. Uitgeverij Terra, Warnsveld.
- Williams, P. en R. Losa. 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World Poult.*, 17: 14-15.
- Williams, R.B. 2002. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. *Avian Pathol.*, 31:317-353.
- Young, H.J. en J.W. Noh. 2001. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Vet. Parasitol.*, 96: 257-263.

Bijlagen

Bijlage 1. *E. acervulina* laesie scores volgens Johnson and Reid (1970)



Figure 2.1. *E. acervulina* +1.

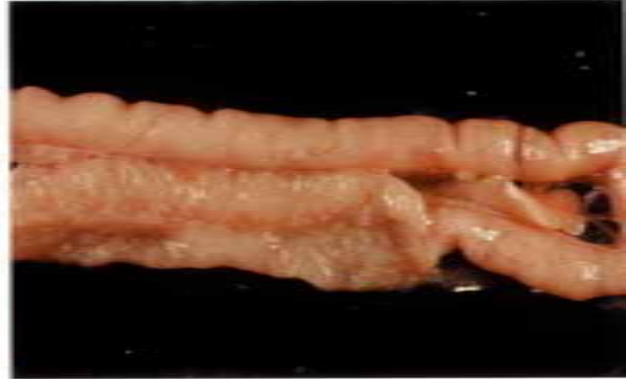


Figure 2.2. *E. acervulina* +2.



Figure 2.3. *E. acervulina* +3.



Figure 2.4. *E. acervulina* +3 bordering on a +4 score.

Bijlage 2. *E. maxima* laesie scores volgens Johnson and Reid (1970)

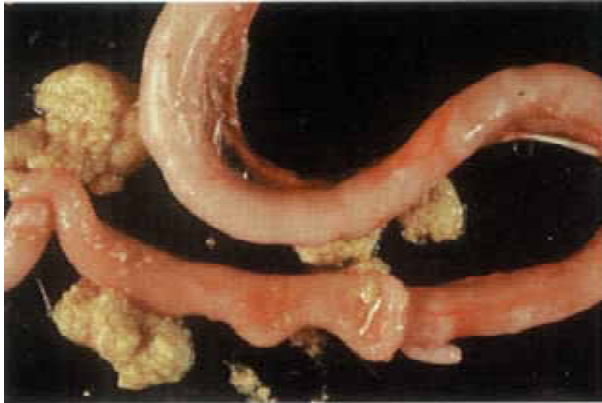


Figure 2.11. *E. maxima* +1.

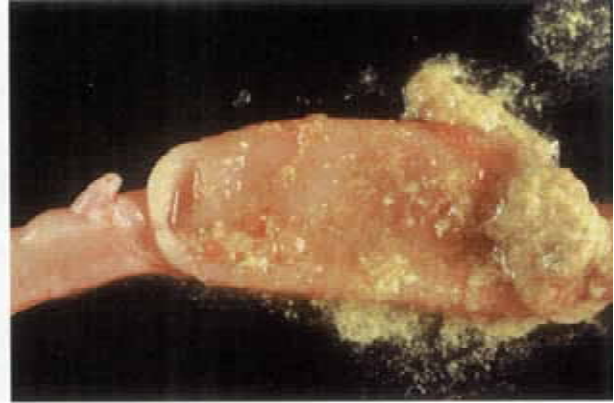


Figure 2.12. *E. maxima* +2.



Figure 2.13. *E. maxima* +3.

Bijlage 3. *E. tenella* laesie scores volgens Johnson and Reid (1970)



Figure 2.27. *E. tenella* +1.



Figure 2.28. *E. tenella* +2.



Figure 2.29. *E. tenella* +3.



Figure 2.30. *E. tenella* +4.