

Risico-inschatting alternatieve productiewijze en andere wijze van houden van (vlees)pluimvee

Sander Lourens
Nico Bolder
Thomas Hagenaaars
Ineke Eijck

1. INTRODUCTIE

Alternatieve pluimveehouderijssystemen, zoals biologische systemen en nieuwe ontwerpen als 'Plantage' en 'Rondeel' bieden de dieren meer gedragmogelijkheden en komen tegemoet aan dierwelzijnswensen uit de maatschappij. Een aantal aspecten van deze systemen, zoals toegang tot een uitloop en verstrekking van strooisel, kunnen echter leiden tot grotere risico's met betrekking tot zoönosen en voedselveiligheid. In 2004 zijn deze risico's en mogelijke oplossingsrichtingen binnen het project 'Welzijn en voedselveiligheid' (programma 414) in kaart gebracht.

Er zijn geen kwantitatieve risicoanalyses gedaan in vergelijkbare systemen naar transmissieroutes en overlevingsduur van pathogene kiemen die beïnvloed worden door elementen als strooisel en uitlopen. Eveneens ontbreekt de kennis over het verloop van transmissie tussen dieren (zowel op hokniveau als op afdelingsniveau als ook tussen verschillende rondes). Door het ontbreken van gekwantificeerde risico-inschattingen aan deze houderijssystemen, is het moeilijk te voorspellen of beheersstrategieën (risicomangement) doeltreffend zullen zijn in de toekomst.

Deze proef is gericht op het evalueren van de transmissie van zoönosen tussen rondes waarbij kuikens de mogelijkheid hebben om gebruik te maken van uitloop. Doel van deze proef is om inzicht te krijgen in handhavingmechanismen van zoönosen in huisvestingssystemen met strooisel en uitlopen. Hierbij worden interventiestrategieën getest waarbij de transmissie van ronde op ronde wordt gekwantificeerd.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1. Oorspronkelijke proefopzet

In deze proef werd gebruik gemaakt van twee hoofdafdelingen van een stal van Praktijkcentrum Het Spelderholt te Lelystad. Iedere hoofdafdeling bestond uit vier subafdelingen met uitloop. In totaal zouden vier series van ieder twee rondes vleeskuikens worden gevolgd; twee series in 2005 en twee series in 2006. Het oorspronkelijke plan was om in de eerste ronde van een serie de uitlopen te besmetten voordat de kuikens naar buiten konden. De kuikens zouden dan de besmetting opnemen en ook binnen uitscheiden. Tussen de eerste en tweede ronde werd een interventie strategie getest. Hiervoor werd 1 van beide uitlopen leeggemaakt en van schoon strooisel voorzien. De binnenverblijven werden tussen 2 rondes en series altijd geheel schoongemaakt en ontsmet. De transmissie van ziektekiemen van ronde op ronde door middel van de uitloop en het effect van de interventie kon op deze manier statistisch verantwoord onderzocht worden doordat de proefopzet voldoende waarnemingen en herhalingen kende.

2.2. Wijzigingen in de proefopzet

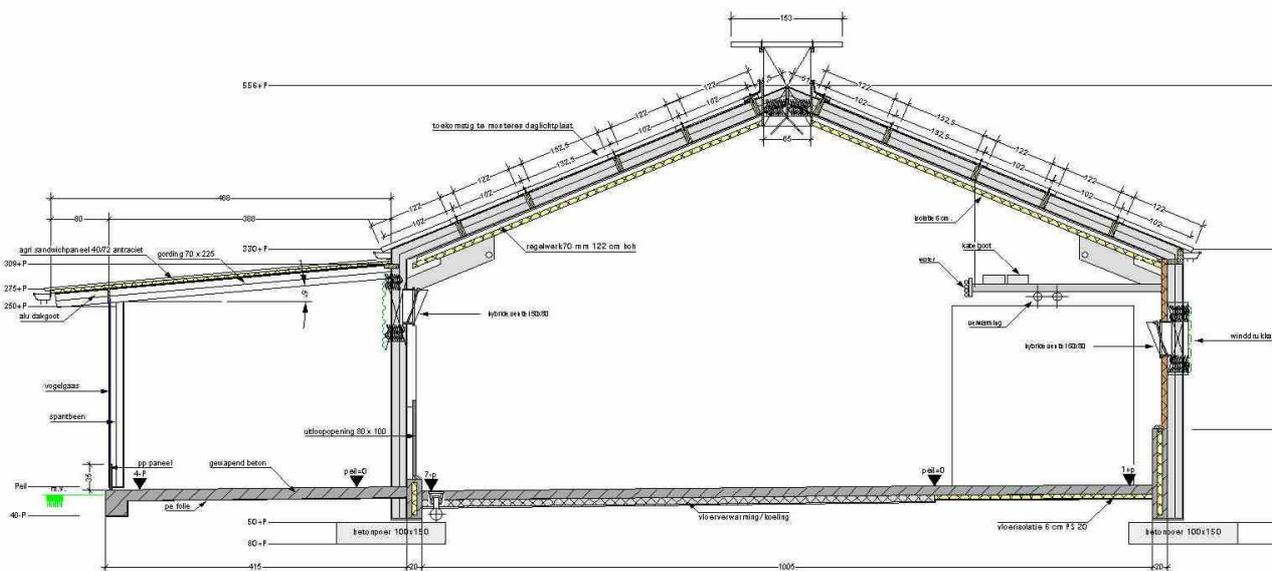
Echter, doordat de kuikens in de eerste ronde de ziektekiemen niet opnamen, en in de tweede ronde geen ziektekiemen konden worden aangetoond, verdween de power uit de analyse en werd besloten de proefopzet voor de tweede serie enigszins aan te passen. In de tweede serie werden de kuikens besmet via het drinkwater voordat ze naar buiten konden. Deze besmetting kwam tot stand door een cultuur van Salmonella en Campylobacter in het drinkwater te verstrekken. Hierna werd onderzocht of de kuikens in staat waren de uitloop te besmetten, en deze besmetting wel over te brengen op de volgende ronde. Er werden in de tweede serie geen interventiestrategieën getest.

2.2. Accommodatie

Het onderzoek werd uitgevoerd in twee hoofdafdelingen (2.1 en 2.3) van stal P2 van Praktijkcentrum Het Spelderholt te Lelystad. Elke hoofdafdeling was onderverdeeld in vier subafdelingen van 4,3 m breed en 7,3 m diep met een vloeroppervlak van 31,5 m².

Hoofdafdeling 2.1				Hoofdafdeling 2.2				Hoofdafdeling 2.3				Hoofdafdeling 2.4			
2.11	2.12	2.13	2.14	2.21	2.22	2.23	2.24	2.31	2.32	2.33	2.34	2.41	2.42	2.43	2.44

Hoofdafdelingen 2.1 en 2.3 zijn voorzien van een overdekte uitloop van 4,3 meter breed en 4,0 m diep met een vloeroppervlak van 17,2 m². Toegang tot de uitloop wordt verkregen middels twee openingen in de stalmuur (0,69 m breed en maximaal 0,98 m hoog). De bodem van de uitloop bestond uit houtkrullen op een dichte betonnen vloer. Als strooisel werden witte houtkrullen gebruikt (1.5 kg/m²). De overkapping bestond uit zwarte golfplaten. Alle zijwanden van de uitloop waren voorzien van vogelwerend gaas. De uitloop werd in deze proef steeds vanaf een leeftijd van 21 dagen toegankelijk gemaakt.



Figuur 1. Zijaanzicht subafdeling in met uitloop in stal P2

Om de uitloop zo aantrekkelijk mogelijk te maken voor de kuikens

- werden beide toegangen tot de uitloop geopend
- werden op- en afstapjes (tegels) voor beide openingen aangelegd
- werd er vanaf 14 dagen leeftijd voor de opening gebroken maïs gestrooid (1 kg per subafdeling per dag)
- gingen vanaf 21 dagen de toegangen open en wordt ook gebroken maïs naar buiten gestrooid.

2.3. Diermateriaal en verzorging

2.3.1 Verzorging van de kuikens

Het onderzoek werd uitgevoerd met 35.840 vleeskuikens; 4.480 kuikens per ronde. Deze kuikens werden blootgesteld aan een besmetting met salmonella en campylobacter. Per hoofdafdeling worden 2.240 kuikens geplaatst (18 kuikens per m²); 560 kuikens per subafdeling. Kuikens waren van het merk Cobb, en werden bij broederij Lagerweij in Lunteren

gebroed. Het voer werd geleverd door De Valk in Wekerom. De kuikens werden geslacht op een leeftijd van 35 dagen. De Lagerwey slachtkuikenintegratie nam de kuikens af.

Het voer en water werden gedurende de gehele proefperiode onbeperkt worden aangeboden. Er werd een 3-fasenvoeding worden toegepast. De volgende fasen werden aangehouden:

- startfase (startvoer: 0-11 dagen),
- groeifase (groeivoer: 12-28 dagen), en
- eindfase (eindvoer zonder coccidiostaticum: 28-35 dagen).

De eerste 2 dagen kregen de kuikens continu licht (24L:0D). Daarna werd in alle afdelingen een lichtschema gehanteerd van 18 uur licht en 6 uur donker (18L:6D). Daarnaast viel er ook daglicht binnen door de uitloopopeningen (continu open). De ingestelde temperatuur staat vermeld in Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Temperatuur instellingen P2

dag	T (°C)	dag	T (°C)	dag	T (°C)
0	32,0	7	25,0	14	21,5
1	31,0	8	24,5	15	21,0
2	30,0	9	24,0	16	20,5
3	29,0	10	23,5	17	20,0
4	28,0	11	23,0	18	19,8
5	27,0	12	22,5	19	19,5
6	26,0	13	22,0	20	19,3
				21 e.v.	19,0

De kuikens werden gevaccineerd volgens het 'Spelderholt vaccinatieschema', zie tabel 2.2.

Tabel 2.2. Entschema (Spelderholt schema vanaf oktober 2004)

LEEFTIJD	ZIEKTE	ENTSTOF	TOEDIENING	BEPALINGEN
1 ^e dag	I.B.	Nobilis IB Ma5 (1 dosis)	In de broederij	Volledig BO, Salmonella, Gumboro-titer
14 dagen of 20 dagen	Gumboro	D78 (1 dosis) of 228E (1 dosis)	(14liter/1000doses) Drinkwater (20liter/1000doses)	Entleeftijd na titer- bepaling 1 ^e dag
14 dagen	N.D.	Clone 30 (1 dosis)	Spray	4w Salmonella 4w Campylobacter Voor afleveren NCD

2.4. Salmonella en Campylobacter

2.4.1 Salmonella en Campylobacter bemonstering

Voordat een uitloop toegankelijk werd gemaakt, en in de periode daarna werd in iedere subafdeling en iedere uitloop met 2 overschoentjes monsters genomen. Van 1 van deze overschoentjes werd de aanwezigheid van Campylobacter getest; beide overschoentjes worden getest op salmonella. Dit heeft te maken met het feit dat een koppel kuikens of vrij is van campylobacter, of helemaal besmet (besmetting aanwezig (+) of afwezig(-). In de eerste serie van 2 rondes werden verse mestmonsters genomen voor Campylobacter, terwijl Salmonella in overschoenen werd bepaald.

2.4.2 Voorkomen van ongewenste besmetting

Hoofdafdelingen bleven gescheiden: er werd niet met dezelfde laarzen en overall van de ene in de andere hoofdafdeling gelopen. Voor iedere hoofdafdeling waren er aparte kleding en laarzen beschikbaar. Kleding en laarzen bleven na gebruik in iedere hoofdafdeling hangen. Bij ieder bezoek aan een subafdeling werden wegwerp plastic overschoentjes gebruikt die daarna werden weggegooid en bij monsternamen werden katoenen overschoentjes over de plastic overschoentjes heen gedragen. Tussen rondes werden de laarzen gewassen en ontsmet en werd de gebruikte kleding vervangen door gewassen kleding. Waterleidingen werden ontsmet met Cid Clean; de stal met Cid 20.

2.5 Statistiek

Transmissie tussen rondes kan worden beschreven door een kans P . De data kunnen worden opgevat als 0/1 gegevens (wel/geen transmissie van ronde op ronde). De uitleesvariabele uit het experiment is in deze context een 0/1 variabele, namelijk wel overdracht/geen overdracht tussen rondes (dus positieve mestmonsters versus negatieve en wel/geen positieve dieren gevonden met overschoentjes).

Met behulp van de data kan een schatting gemaakt worden van de kans P . Er kan een kans P worden onderscheiden voor twee situaties, nl. die corresponderend met de twee mogelijke waarden van de "proeffactor": wel versus niet vernieuwen van het strooisel in de uitloop.

Een iets andere methode is om niet naar deze P 's te kijken maar te kijken of er een grotere dan toevallige correlatie (associatie) tussen de 0/1 uitkomsten en de proeffactor is, met de Fischer Exact toets.

3. RESULTATEN

3.1 Serie 1

In ronde 1 werd een dag voor het openen van de uitloop (dag 20) het strooisel besmet. Op dag 21 werden de uitlopen geopend en konden de dieren naar buiten. De uitloop werd goed besmet met salmonella (gemiddelde besmettingsdruk van 73.2%) maar niet met Campylobacter. Slechts in 1 van de 8 subafdelingen kon binnen op 1 dag na het openen van de uitloop salmonella worden aangetoond in het strooisel. Omgerekend een besmettingsdruk van slechts 1.8%. Campylobacter kon zowel buiten als binnen in het strooisel niet worden aangetoond, zie tabel 3.1

Tabel 3.1. Ronde 1: Besmettingsdruk (% positief; n=8) gemeten aan de hand van monsterschoentjes onderzoek op salmonella en campylobacter in de stal en in de uitloop na infectie van strooisel in de uitloop.

Ronde 1	Dagen na openen van de uitloop							Gemiddeld (%)
	-1	1	4	5	6	7	14	
Salmonella								
Stal	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8
Uitloop	0,0	100,0	100,0	75,0	62,5	87,5	87,5	73,2
Campylobacter								
Stal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Uitloop	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Opmerkelijk weinig dieren maakten gebruik van de uitloop, waardoor het vermoeden rees dat de kuikens onvoldoende in contact zijn geweest met de kiemen om deze daadwerkelijk op te nemen en uit te scheiden in de stal. Van campylobacter wordt verwacht dat deze snel afsterft in droog strooisel, dit komt tot uiting doordat er geen enkel monster Campylobacter positief was..

Tabel 3.2. Ronde 2: Besmettingsdruk (n=4) gemeten aan de hand van monsterschoentjes op salmonella en campylobacter in de stal en in de uitloop na infectie van strooisel in de uitloop. Uit 1 uitloop werd het strooisel verwijderd, in de andere uitloop bleef het oude strooisel liggen. Beide uitlopen werden niet opnieuw geënt.

Ronde 2	Plaats	Interventie	Dagen na openen van de uitloop										Gemiddeld (%)	
			0 ^a	1	2	3	4	5	6	7	8	11		14
Salmonella														
	Stal	Ja	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Stal	Nee	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Uitloop	Ja	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,8
	Uitloop	Nee	100,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	13,6
Campylobacter														
	Stal	Ja	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Stal	Nee	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Uitloop	Ja	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Uitloop	Nee	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

^a Monstername d.m.v. swabs i.p.v. overschoentjes

Tussen ronden 1 en 2 werden de vier uitlopen van 1 hoofdafdeling opzettelijk niet schoongemaakt, de uitlopen van de andere hoofdafdeling werd leeggeschept en opnieuw met schoon strooisel bedekt (interventie). In ronde 2 kon op dag 0 salmonella worden aangetoond. Op deze dag waren de monsters genomen met swabs in plaats van overschoentjes. Op dag 3 en dag 7 na het openen van de uitlopen werd salmonella aangetroffen in de uitloop waar geen interventie plaats heeft gevonden.

In de stal werd binnen in beide hoofdafdelingen geen salmonella aangetoond, en campylobacter werd zowel binnen als in de uitloop niet aangetoond. De salmonella besmetting uit de eerste ronde kon dus in het oude strooisel overleven tot de tweede ronde, maar de besmettingsdruk was niet sterk genoeg om de stal binnen te besmetten via opname en uitscheiding door de kuikens. De interventie nam niet de gehele salmonelladruk weg, maar heeft de salmonella druk zover vermindert dat er geen salmonella meer kon worden aangetoond in strooisel of stal, zie tabel 3.2.

In de eerste ronde waren de kuikens moeilijk te bewegen om de uitloop in te gaan; op verschillende momenten waren er niet meer dan maximaal 10 – 15 kuikens die gebruik maakten van de uitloop. Deze kuikens namen niet de besmetting mee naar binnen; alle uitslagen van de binnenruimte waren en bleven negatief. In het strooisel van de uitloop zelf bleef salmonella aantoonbaar; er kon na 1 dag geen campylobacter meer worden aangetoond. Tussen ronde 1 en 2 werd van 1 hoofdafdeling de uitloop leeggeschept en schoongemaakt: hier werd geen salmonella of campylobacter meer aangetroffen. In de uitloop die niet werd leeggeschept en niet werd schoongemaakt bleef salmonella aanwezig in het strooisel (positief op swabs), maar salmonella kon niet met overschoentjes worden aangetoond. Ook de binnenafdelingen bleven de hele tweede ronde negatief. In de tweede ronde werd er overigens wel veel gebruik gemaakt van de uitloop: tot 1/3 van de kuikens was buiten te vinden.

Dit resultaat was enigszins een verrassing; de verwachting was nl. dat de kuikens de besmetting van salmonella en campylobacter makkelijk mee zouden nemen de stal in. Dit resultaat heeft consequenties voor de statistiek: met nog 3 series van 2 ronden te gaan is de "power" uit de analyse. Het is ook een verrassend resultaat in positieve zin, omdat kuikens van 3 weken oud niet zomaar een besmettingsbron als Salmonella vanuit de uitloop meenemen naar binnen. Een verklaring hiervoor kan zijn dat de kuikens op drie weken leeftijd al een goede kolonisatie resistentie hebben ontwikkeld, en daarmee in staat zijn de sporadisch opgenomen Salmonella snel weer uit te scheiden. Een ander positief feit is dat Campylobacter transmissie tussen ronden via de besmette uitloop niet waarschijnlijk is. Campylobacter overleeft de droogte in het strooisel niet lang genoeg om een serieuze dreiging te vormen.

De hierop volgende discussie gaf aanleiding om de proefopzet te wijzigen. De kuikens werden in de derde ronde op 7 dagen leeftijd besmet met salmonella en campylobacter via het drinkwater, zodat de kuikens daarna (vanaf 21 dagen leeftijd) de uitloop kunnen besmetten. Op deze manier wordt een indruk verkregen of kuikens de besmetting wel op kunnen opnemen, en vervolgens naar buiten kunnen overbrengen. De besmette uitloop wordt ook na afloop van ronde 3 regelmatig bemonsterd. Wanneer de besmetting aantoonbaar bleef, dan start ronde 4 met kuikens zoals de voorgaande ronden; wanneer de besmetting verdwenen is, dan werd de uitloop opnieuw besmet met mest (uit ronde 3) waar salmonella en campylobacter zou worden toegevoegd. In ronde 4 wordt dan de situatie nagebootst dat kuikens worden blootgesteld aan een ernstige besmetting van de uitloop, om zo de overdracht van ziektekiemen vanuit de uitloop naar de binnenstal te monitoren. Wanneer ook de binnenstal in die situatie vrij zou blijven van salmonella en campylobacter, dan levert dat belangrijke aanwijzingen dat niet zozeer de kuikens maar het hygiënemanagement van de binnenstal of wellicht andere vectoren meer verantwoordelijk zijn voor de overdracht van ziektekiemen van ronde op ronde via de uitloop.

3.2. Serie 2

In de afdelingen met uitloop werden alle kuikens besmet door een orale inoculatie via het drinkwater van een mengcultuur van Salmonella Infantis en Campylobacter Jejuni 356, in een concentratie van 10^5 kve/ml per kuiken. De mengcultuur werd oraal toegediend via stulpdrinkers, die tussen 11 en 15 uur geheel leeg gedronken dienden te worden. Om alle kuikens te inoculeren, werden de kuikens van 9 tot 11 uur 's ochtends de toegang tot de drinknippelleidingen geweigerd door deze op te takelen.

Tabel 3.3. Ronde 3: uitslagen (+/-) van monsterschoentjes onderzoek op salmonella en campylobacter in de stal en in de uitloop na infectie van strooisel in de uitloop. Uitlopen waren schoongemaakt tussen ronde 2 en 3; kuikens zijn op 7 dagen leeftijd besmet in de stal via het drinkwater.

	Dagen na openen van de uitloop				Gemiddeld (%)
	-12	-6	14	15	
Ronde 3					
Salmonella					
- stal	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
- Uitloop	-	-	75,0	100,0	87,5
Campylobacter					
- stal	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5
- Uitloop	-	-	100,0	100,0	100,0

Tabel 3.4. Ronde 4: uitslagen (+/-) van monsterschoentjes onderzoek op salmonella en campylobacter in de stal en in de uitloop na infectie van strooisel in de uitloop met besmette mest. Uitlopen waren niet schoongemaakt tussen ronde 3 en 4; in ronde 3 waren de kuikens op 7 dagen leeftijd besmet in de stal via het drinkwater.

	Dagen na openen van de uitloop						Gemiddeld (%)	
	-3	4	6	8	11	13		14
Ronde 4								
Salmonella								
- stal		75,0	37,5	62,5	62,5	62,5	50,0	58,3
- Uitloop	100,0							
Campylobacter								
- stal		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
- Uitloop	0,0							

Uit Tabel 3.3 blijkt dat de uitlopen effectief besmet werden door de kuikens, zowel voor wat betreft salmonella als campylobacter. De uitlopen in ronde 4 waren 100% met salmonella op het meettijdstip 3 dagen voordat de uitlopen werden geopend, en de kuikens wisten een besmettingsdruk van gemiddeld 58.3% over te brengen in de stal. In ronde 4 werd campylobacter zowel in de uitlopen als binnen in de stal niet meer waargenomen, zie tabel 3.4.

4. CONCLUSIE

Ondanks dat het strooisel in de eerste ronde met een hoge concentratie salmonella en campylobacter was besmet, hebben de kuikens deze besmettingsbron niet opgenomen en uitgescheiden in de stal. Dat kon mede worden verklaard doordat er door de kuikens in de eerste ronde weinig gebruik werd gemaakt van de uitloop. De interventie tussen ronde 1 en 2 leidde ertoe dat er geen salmonella en campylobacter werd gevonden in de uitlopen en stal in ronde 2. In de uitlopen waar het strooisel bleef liggen tussen ronde 1 en 2 werd een lichte salmonella besmetting van de uitloop aangetroffen. De besmetting bleek echter niet zwaar genoeg om de stal te besmetten; de kuikens maakten de tweede ronde wel goed gebruik van de uitloop. Campylobacter werd in beide ronden niet meer waargenomen, niet in de uitloop en niet binnen in de stal.

In ronde 3 zijn de kuikens besmet met salmonella en campylobacter via het drinkwater, en deze besmetting werd voor beide ziektekiemen van binnen overgebracht naar de uitloop. De uitloop in de 4^e ronde was 100% besmet met salmonella, en 0% met campylobacter. De kuikens hebben de salmonella besmetting in de uitloop opgenomen en uitgescheiden in de stal; 58.3% van de monsters waren positief voor salmonella. Campylobacter werd niet opgenomen en uitgescheiden in de stal; 0% van alle monsters in de stal waren positief op campylobacter.

Salmonella en campylobacter vertonen een verschillend beeld wat betreft het voorkomen en overleven in het strooisel. Salmonella kon worden aangetoond in het strooisel, en wanneer het strooisel besmet was via de uitwerpselen van de

veeskuikens waren de kuikens in de volgende ronde in staat deze salmonella op te nemen en uit te scheiden in de stal. Campylobacter daarentegen werd in de uitloop snel afgedood en kon derhalve niet worden overgedragen.