

Injectie van kolonisatie resistentieculture in broedeieren

Dr. Ing. R. Meijerhof
Praktijkonderzoek Pluimveehouderij

Inleiding

In Nederland krijgt het terugdringen van de besmetting van pluimveevlees en eieren met Salmonellabacteriën veel aandacht. Om besmetting tegen te gaan moet veel aandacht worden besteed aan de hygiëne, om verspreiding en insleep te voorkomen. Daarnaast wordt ook aandacht besteed aan het zo ongunstig mogelijk maken van de omstandigheden voor de bacteriën.

Een van de mogelijkheden om het risico van Salmonellabesmetting te verlagen is kolonisatie resistentie, in het Engels vaak “competitive exclusion” genoemd. Bij kolonisatie resistentie wordt aan de kuikens een bacteriecultuur gegeven, die speciaal geselecteerd is op het vermogen om snel te hechten aan de darmwand van de kuikens.

Het aantal beschikbare plaatsen voor Salmonellabacteriën om zich in de darm te hechten wordt op deze manier verminderd, waardoor een eventuele besmetting met Salmonella minder kans heeft om aan te slaan. Uitgebreide proeven en ervaringen in binnen- en buitenland hebben aangetoond dat door middel van het risico van Salmonella besmetting vermindert. Op dit moment zijn een aantal commerciële producten op de markt, waarvan Broilact en Aviguard in Nederland de bekendste zijn.

Een van de voorwaarden voor een effectief gebruik van kolonisatie resistentie is dat de culture de tijd heeft om de darmwand te “koloniseren” voordat de salmonellabacteriën in de darm komen. Het is daarom belangrijk dat de culture in een zo vroeg mogelijk stadium wordt toegepast. Na toediening duurt het nog enige tijd voordat de bacterieculture in het darmstelsel dusdanig tot ontwikkeling is gekomen dat een afdoende bescherming is verkregen. In deze periode heeft het kuiken dus nog geen bescherming opgebouwd, waardoor een besmetting kan aanslaan en uitbreiden.

In de praktijk worden de kuikens momenteel gesproeid na het **afrapen**. Doordat de kuikens de druppels van elkaars dons oppikken krijgen ze de bacteriën binnen. In een eerder stadium is geprobeerd om de culture over de kuikens en eieren in de uitkomstmachine te vernevelen, als ongeveer 50% van de kuikens uitgekomen is. Dit blijkt in de praktijk erg moeilijk uitvoerbaar, onder andere omdat de machines langere tijd geopend moeten worden en met de hand de vloeistof moet worden verneveld. Ook formaline tijdens het uitkomen kan dan niet worden toegepast, omdat daardoor ook de bacteriën in de culture worden gedood.

In Amerika wordt de laatste jaren een techniek toegepast, waarbij geënt wordt tegen met name Marek door bij het overleggen in het **broedei** en daarmee het embryo te injecteren. Deze methode geeft goede resultaten, zonder nadelige gevolgen voor het broedresultaat. In principe is het mogelijk om deze methode te gebruiken om een bacterieculture in de luchtkamer van een **broedei** te brengen. Hierdoor kan wellicht in een vroeg stadium kolonisatieresistentie verkregen worden, doordat het kuiken eerst de luchtkamer **aanpikt** en daarmee de bacterieculture binnenkrijgt. Omdat er enige tijd verstrijkt tussen het aanpikken van de luchtkamer en het uitkomen van het

kuiken, is het kuiken wellicht beschermd als tijdens of kort na het uitkomen een Salmonella besmetting optreedt. Daarnaast kan het een voordeel zijn dat elk ei individueel wordt geïnjecteerd, waardoor alle kuikens een juiste dosis van bacterieculture zullen krijgen. Om te kijken of deze methode van toediening van kolonisatieresistentie praktische mogelijkheden biedt is een serie experimenten gedaan.

Onderzoek

We hebben gekozen voor het product Broilact als bacterieculture om kolonisatieresistentie te krijgen. In de eerste plaats is gekeken wat de invloed van het injecteren van de bacterieculture op de broedresultaten is geweest. Hiervoor werden eieren op de normale wijze gebroed, op 18 dagen geschouwd en de eieren met levende embryo's werden in de proef gebruikt. De bacterieculture werd opgelost in water en in de luchtkamer of in de punt van het ei geïnjecteerd. Dit laatste is gedaan omdat in de praktijk altijd een zeker percentage van de eieren verkeerd om (punt naar boven) op de trays worden geplaatst. Per ei werd eenzelfde hoeveelheid bacteriën geïnjecteerd als door de fabrikant geadviseerd wordt om per kuiken in de uitkomstkast te gebruiken. Daarnaast werd ook een oplossing geïnjecteerd die slechts 10% van deze hoeveelheid bacteriën in dezelfde hoeveelheid water bevatte. Om te zien of een eventuele invloed het gevolg was van de injectie of van de bacterieculture zijn ook eieren met alleen water geïnjecteerd, zowel in de luchtkamer als in de puntige zijde.

Uit de resultaten bleek direct dat het injecteren van bacterieculture in de punt van het ei, dus direct in het embryo, funest was voor het embryo, zowel bij normale als verdunde concentratie. Het percentage kuikens dat bij deze behandeling nog geraapt kon worden daalde tot minder dan 5% van de overgelegde eieren. Dit was het gevolg van de bacterieculture. Injectie van water in de punt van het ei of in de luchtkamer had geen aantoonbaar effect op de broedresultaten, hoewel de aantallen eieren die gebruikt zijn te klein waren om kleine verschillen te kunnen aantonen. Als een injectie van bacteriën dus in de praktijk zou worden toegepast, moeten de eieren die verkeerd om zijn geplaatst als verloren worden beschouwd.

In tabel 1 zijn de overige broedresultaten van de experimenten samengevat. Hierbij is het percentage liggenblijvers en kuikens uitgedrukt als percentage van het aantal op 18 dagen overgelegde eieren.

Tabel 1: broedresultaten.

Behandeling	% liggenblij vers		% gezonde kuikens
	% niet aangepikt	% aangepikt	
controle	4,8	2,8	92,4
water in luchtkamer	4,9	2,8	92,4
Broilact in luchtkamer	6,8	6,2	84,7
Broilact (verdund) in luchtkamer	5,8	5,8	86,5

Uit de resultaten blijkt dat injectie van bacterieculture in de luchtkamer, zowel de normale concentratie als de verdunde oplossing, een reductie van het percentage kuikens tot gevolg had. Dit verschil was significant. Injectie van water in de luchtkamer leidde niet tot een vermindering van de resultaten. Bij het openmaken van de liggenblijvers viel direct een sterke geur op. Ook de afgestorven embryo's gaven een beeld wat te vergelijken is met het beeld wanneer de broedeikwaliteit en broedeihygiene te wensen overlaten.

Kuikens

In een vervollexperiment is gekeken naar de invloed van het injecteren van bacterieculture op de kuikens. Hiervoor is opnieuw een aantal eieren in de luchtkamer geïnjecteerd. Na uitkomst werd aan een aantal kuikens van de controle groep (niet geïnjecteerd) bacterieculture direct in de bek ingegeven (Broilact oraal), zodat zeker was dat zij de bacteriën hadden binnen gekregen. Een aantal kuikens werd niet behandeld (controle). In totaal werden twaalf grondkooien met elk twaalf kuikens in het experiment gebruikt. Elke behandeling werd dus in vier grondkooien herhaald. De dag na uitkomst werd aan alle kuikens een hoeveelheid Salmonella bacteriën ingegeven. Hiervoor werd Salmonella Panama gebruikt. Op 2, 3 en 4 weken werd de blindedarm van vijf kuikens per grondkooi op de aanwezigheid van Salmonella onderzocht. De resultaten van het experiment zijn vermeld in tabel 2. Deze tabel is beperkt tot de belangrijkste broedresultaten, de uitvalcijfers en de Salmonella resultaten op 4 weken leeftijd. De broedresultaten voor Broilact oraal zijn niet apart vermeld, omdat tijdens het broedproces deze eieren als controle eieren zijn beschouwd.

Tabel 2: broedresultaten, uitval en Salmonella positieve dieren per behandeling.

	Controle	Broilact geïnjecteerd	Broilact oraal
% liggenblijvers (totaal)	4,6 ^a	16,3 ^b	
% kuikens	94,9 ^a	82,0 ^b	
% uitval week 1	0 ^{''}	12,5 ^b	0 ^{''}
% uitval (0-4 wkn)	0 ^{''}	15 ^b	2,5 ^a
% dieren Salmonella pos.	60 ^{''}	75 ^a	30 ^b

Resultaten tussen behandelingen met verschillende letters geven significante verschillen aan. Dit wil zeggen dat deze verschillen niet aan toeval toegeschreven kunnen worden.

Uit de tabel blijkt dat, net als in de eerdere experimenten, de broedresultaten van de met bacterieculture geïnjecteerde eieren slechter waren dan die van de controle-eieren.

De uitval van kuikens uit de met bacterieculture geïnjecteerde eieren was duidelijk hoger dan bij de controlegroep of de groep die bacterieculture na uitkomst had gekregen. Alle uitgevallen dieren uit de geïnjecteerde groep hadden de dooierrest niet goed opgenomen. Ook een kuiken uit

deze groep dat in week 4 nog dood ging had nog steeds een dooierrest aanwezig. Dit duidt op bacteriële besmetting van de kuikens.

Tot slot moet geconstateerd worden dat de met bacterieculture geïnjecteerde kuikens geen bescherming tegen de Salmonella-infectie hebben opgebouwd, wat bij de kuikens die bacterieculture oraal binnen hebben gekregen wel het geval was.

Met de onderzochte methode van injectie wordt de bacterieculture in het ei gebracht bij overleg, dus na 18 dagen broeden. Omstandigheden als temperatuur en vochtigheid in de luchtkamer zijn uiteraard bijzonder gunstig voor bacteriele ontwikkeling. Als gevolg hiervan groeien de bacteriën in het ei waarschijnlijk zo explosief dat, hoewel er slechts drie dagen zijn tussen injectie en uitkomst, en hoewel de bacteriën nog tegengehouden worden door het binnenste schaalvlies, het embryo toch al geïnfecteerd raakt met de bacteriën. Wellicht geeft op een later stadium injecteren, net of tijdens het aanpikken van de luchtkamer, betere resultaten, maar dit stuit op praktische bezwaren. Geconcludeerd moet dan ook worden dat deze methode waarschijnlijk geen oplossing biedt voor het vroegtijdig toedienen van bacteriën voor kolonisatie resistentie. Overigens geven de resultaten ook aan hoe gevoelig het embryo is voor bacteriën en hoe belangrijk daarom een goede broedeihygiëne is!

Samenvatting

Opwekken van kolonisatieresistentie door injectie in de luchtkamer van broedeieren heeft het voordeel dat elk ei in een vroeg stadium de vereiste bacterieculture krijgt, maar stuit op grote problemen op het gebied van broedresultaten en kuikenkwaliteit. Ook de bescherming tegen besmetting met Salmonellabacteriën ontbreekt.