

Veelbelovend alternatief voor formaline ontsmetting broedeieren

Ir A. Lourens, onderzoeker broederij en fysiologie

Al jaren wordt gezocht naar een alternatief voor het gebruik van formaline. Momenteel staan waterstofperoxide, ozon en perazijnzuur in de belangstelling. Dit onderzoek is een vervolg op een oriënterende proef, die aangaf dat Cid 2000 in combinatie met een ultrasoon fogapparaat veelbelovende perspectieven biedt. Cid 2000 is een mix van waterstofperoxide, perazijnzuur en een aantal stabiliserende en elkaar versterkende bestanddelen. De ultrasone fogger is een apparaat dat in staat is de ontsmettingsvloeistof op het broedei te brengen zonder dat deze visueel nat wordt, analoog aan de formaline ontsmettingsmethode. De proef is uitgevoerd bij kuikenbroederij Van Hulst in Veldhoven.

Doel

Het doel van dit onderzoek was het testen van Cid 2000 en de ultrasone fogger (verder genoemd: proefmiddel) voor wat betreft de kiemreductie op de broedeieren op verschillende plaatsen op de broedladen van een kar vol eieren.

Deze ontsmettingsmethode werd vergeleken met de standaard formaline-ontsmetting. Daarbij werd ook onderzocht of er verschillen optreden in kiemreductie tussen de verschillende broedladen in een kar. De vraag is namelijk of de werkzame stoffen overal even goed doordringen. Om het effect van het proefmiddel op het zich ontwikkelende embryo te bepalen, wordt het patroon van embryonale sterfte in kaart gebracht en vergeleken met die van de met formaline behandelde broedeieren. Er is niet onderzocht welk effect het proefmiddel heeft op de materialen (broedkarren, ontsmettingsruimte).

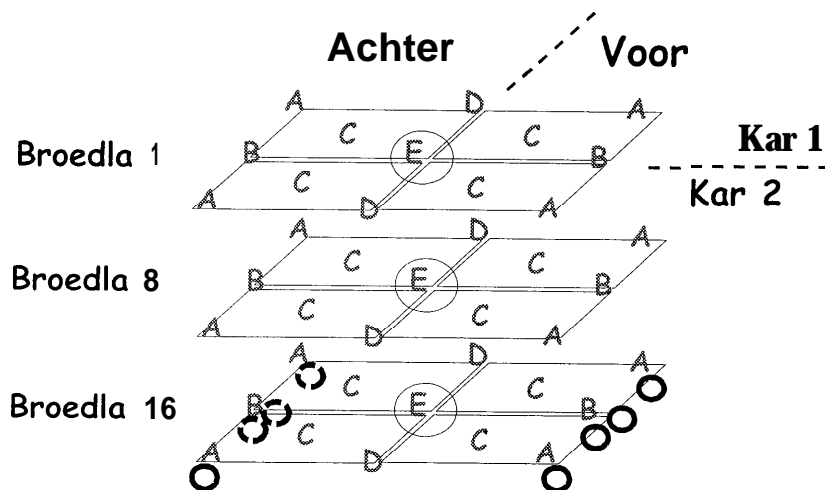
Materialen en methoden

Kiem tellingen

Per behandeling (proefmiddel en formaline) werden twee karren broedeieren gebruikt. Deze werden naast elkaar in de ontsmettingsruimte geplaatst. Elke kar bevat 32 broedladen (16 aan de voorkant, 16 aan de achterkant). Elke broedlade heeft 150 ei-plaatsen; in totaal bevat iedere kar dus 4800 broedeieren. Om een indruk te krijgen van de infectiegraad voorafgaand aan de behandeling met beide producten, werden eerst willekeurig 40 eieren bemonsterd.

Er werd gebruik gemaakt van twee sluisen met ieder een inhoud van ongeveer 35 m³. De concentratie van het gebruikte proefmiddel is 25 % (een 1:4 verdunning met kraanwater). Bij de ultrasone verdamping werden ontsmettingstijden aangehouden van 20 minuten, waarin in totaal 400 ml van het proefmiddel werd verneveld; daarna werd de ontsmettingsruimte 15 minuten afgezogen. Voor het desinfecteren van broedeieren met formaline werd 8,5 tot 9,0 gram formaline poeder per m³ verwarmd in de ontsmettingsruimte gedurende 30 minuten, daarna werd de ontsmettingsruimte 30 minuten afgezogen. In beide ontsmettingsruimtes zorgden plafondventilatoren voor een evenredige verdeling van de ontsmettingsmiddelen door de ruimte. De relatieve vochtigheid was 60 - 70 % bij een temperatuur van 20 - 22 °C.

In totaal werden na afloop van de ontsmetting 360 eieren bemonsterd, (twee karren per behandeling; per kar 90 monsters). Er werden per kar zes broedladen bemonsterd; drie aan de voorkant en drie aan de achterkant. Op de bovenste, middelste en onderste broedlade werden 15 eieren bemonsterd; drie monsters uit elke hoek en drie monsters uit het midden van de broedlade. Op deze manier kregen we een drie-dimensionale indruk van hoe de ontsmetting door de hele partij broedeieren is, geïllustreerd door figuur 1.



Figuur 1: Bemonsteringsschema voor een behandeling, die bestaat uit twee karren met in totaal 32 broedladen (voor en achter) met op iedere lade 150 eiplaatsen.

Op iedere plaats (A t/m E) werden dus in totaal 36 monsters genomen om het totale kiemgetal van deze eieren na ontsmetting te bepalen. De eieren werden hiervoor volgens een standaard protocol over een met agar gevulde petrischaal gerold, elk met gelijke druk en over gelijke afstand. De petrischaaltjes werden afgedekt en 32 uur in een stoof bij 30 °C geïncubeerd. Na incubatie werd het totale kiemgetal als het aantal Kolonie Vormende Eenheden (KVE) per petrischaal bepaald.

Schouw, overleg en uitkomst

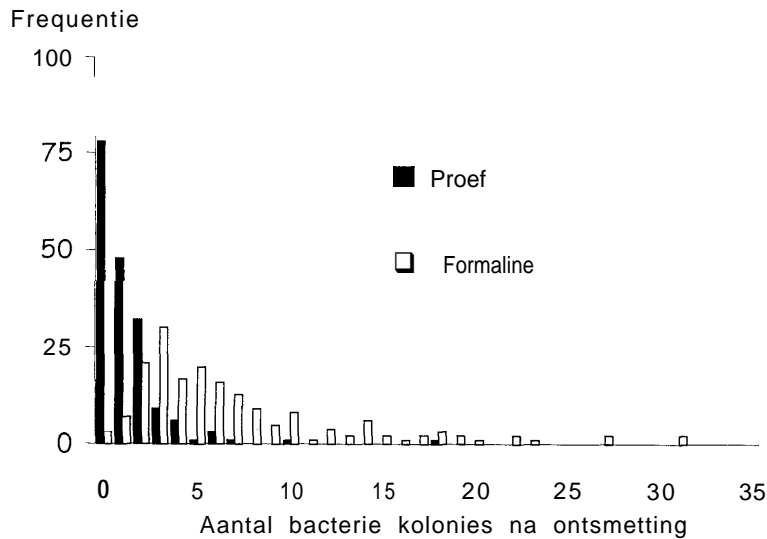
Op de 16^e broeddag werden van iedere kar van de voorkant (zie fig. 1) vijf broedladen genomen, waarvan de eieren handmatig zijn geschouwd. De schouweieren werden opengeslagen om het bevruchtigingspercentage en het patroon van embryonale sterfte te bepalen. Tegelijkertijd werden per behandeling 20 eieren bemonsterd om het kiemgetal te bepalen volgens de bovenbeschreven methode. Ook werd het aantal eieren geteld dat op de kop op de broedladen was geplaatst. De achterste broedladen, die tijdens de handmatige schouw ongemoeid bleven, zijn na 18

broeddagen automatisch geschouwd en overgelegd in de uitkomstkratten. Afgestorven en onbevruchte broedeieren werden ook hier verwijderd.

De broedeieren werden gezamenlijk op een uitkomstkar geplaatst (dus twee karren; één met formaline behandelde broedeieren, één met het proefmiddel behandelde broedeieren). Op de dag van uitkomst werden het aantal eerste en tweede soort kuikens, liggenblijvers en dode kuikens geteld.

Resultaten

Voor dit experiment werden eieren gebruikt afkomstig van moederdieren met een leeftijd van 35 weken. Deze eieren hadden voor de ontsmettingsproef een gemiddeld kiemgetal van 481,3 KVE met een standaarddeviatie van 111,7 KVE (n = 40). De frequentie verdeling van de kiemgetallen van de eieren na beide ontsmettingsmethoden staan weergegeven in figuur 2. Het gemiddelde kiemgetal na de formaline en de proefbehandeling was respectievelijk 6,9 en 1,2 KVE.



Figuur 2: Frequentieverdeling van het aantal bacteriekolonies (totaal kiemgetal KVE) na beide ontsmettingsmethoden.

Uit figuur 2 blijkt dat bij het proefmiddel het gemiddelde kiemgetal hoger is (tabel 1), en de spreiding rond het gemiddelde kleiner. Dit betekent dat deze behandeling wat kiemreductie betreft niet onderdeed voor de traditionele formaline ontsmetting ($P < 0,05$).

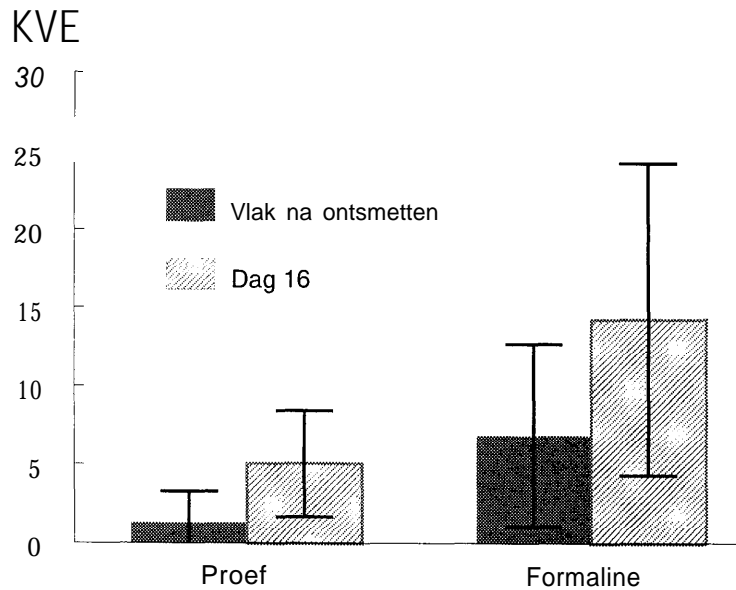
Per behandeling werden geen grote verschillen in kiemgetal tussen de broedladen aangetroffen.

Alleen de onderste broedladen in de "formaline karren" gaven een gemiddeld

hogere besmettingsgraad ($P < 0,05$), waarvoor de verklaring is dat deze broedeieren visueel vuil waren en het waarschijnlijk grondeieren betrof. Na 16 dagen broeden werden voor beide behandelingen willekeurig 20 monsters genomen om het aantal kolonievormende eenheden te bepalen. Deze resultaten zijn vergeleken met de resultaten van de monsternamen direct na ontsmetting (figuur 3).

Tabel 1: Kiemtellingen (KVE) na broedeiontsmetting met formaline en het proefmiddel.

| Lade | Plaats op de broedlade | | | | | | | | | | Totaal | | |
|---------------|------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | A | | B | | C | | D | | E | | Gem | Std | |
| | Gem | Std | Gem | Std | Gem | Std | Gem | Std | Gem | Std | | | |
| Proef | 1 | 0,8 | 0,9 | 1,5 | 3,1 | 1,6 | 1,7 | 1,6 | 2,0 | 0,3 | 0,6 | 1,1 | 1,9 |
| | 8 | 2,7 | 5,3 | 0,8 | 0,9 | 0,8 | 1,2 | 0,8 | 1,0 | 0,7 | 1,2 | 1,1 | 2,6 |
| | 16 | 1,4 | 1,2 | 2,2 | 2,0 | 0,8 | 0,8 | 1,5 | 1,9 | 1,4 | 1,2 | 1,5 | 1,5 |
| Formaline | 1 | 5,9 | 5,9 | 5,7 | 4,8 | 5,8 | 4,1 | 5,1 | 2,6 | 5,0 | 3,4 | 5,5 | 4,2 |
| | 8 | 8,8 | 7,9 | 6,3 | 3,2 | 4,5 | 3,6 | 6,5 | 5,8 | 5,2 | 3,2 | 6,3 | 5,1 |
| | 16 | 11,0 | 8,7 | 4,9 | 2,1 | 8,0 | 7,5 | 10,4 | 8,1 | 9,6 | 7,8 | 8,8 | 7,4 |
| Proef | | 1,6 | 3,2 | 1,5 | 2,2 | 1,1 | 1,3 | 1,3 | 1,7 | 0,8 | 1,1 | 1,2 | 2,0 |
| Formaline | | 8,7 | 7,7 | 5,6 | 3,4 | 6,1 | 5,4 | 7,3 | 6,2 | 6,6 | 5,5 | 6,9 | 5,2 |
| Totaal | | 5,1 | 6,8 | 3,5 | 3,5 | 3,6 | 4,7 | 4,3 | 5,4 | 3,7 | 4,9 | 4,1 | 5,2 |

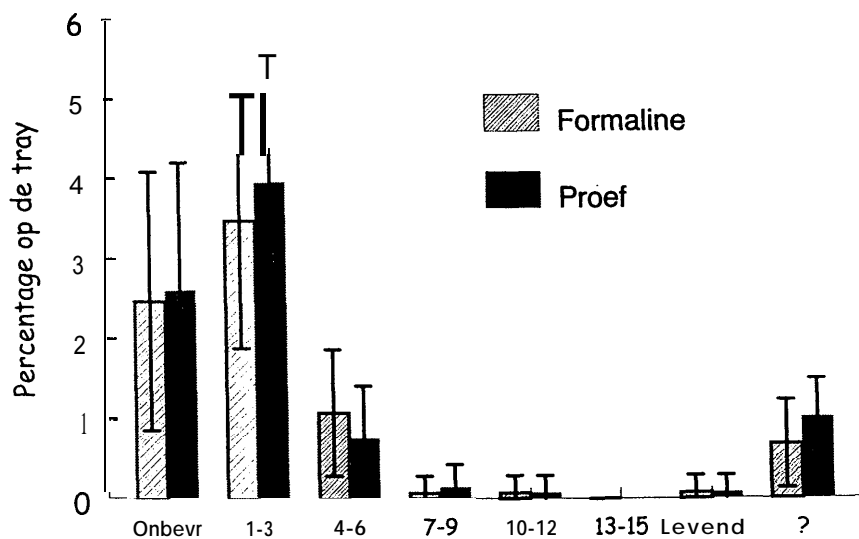


Figuur 3: Aantal KVE (en standaarddeviatie) direct na broedei-ontsmetting en na 16 dagen broeden voor zowel de proef- als de formalinebehandeling.

Hoewel voor de ontsmetting met het proefmiddel het aantal KVE in 16 dagen toenam tot 5,1 KVE (toename met een factor 4), was deze waarde nog steeds niet hoger dan het gemiddeld aantal KVE van de met formaline behandelde eieren direct na ontsmetting. De resultaten van de handmatige schouw op 16 dagen staan weergegeven in figuur 4. Het patroon van de embryonale sterfte is weergegeven als sterftepercentage per broedlade in klassen van 3 dagen. Op 16 dagen was het gemiddelde percentage onbe-

vruchte eieren per broedlade voor de formaline behandeling 2,5 % en voor de proefbehandeling 2,6 %.

Het percentage afgestorven embryo's per broedlade bedroeg respectievelijk 5,3 % en 5,9 %. Deze percentages waren voor beide behandelingen het hoogst in de eerste drie dagen van het broedproces. Het percentage eieren dat per broedlade op de kop was geplaatst, bleek voor de ultrasoon behandelde groep eieren 1,3 %, voor de met formaline ontsmette groep 1,0 %.



Figuur 4: Percentage onbevruchte eieren, het patroon van embryonale sterfte, en het percentage levende embryo's voor beide behandelingen en uitgedrukt als het percentage eieren per tray.

De schouwgegevens op 18 dagen volgens de automatische schouw- en overlegmachine staan vermeld in tabel 2. Met “verwijderd” worden de broedeieren bedoeld die voor het schouwen van de broedladen zijn gehaald (bijvoorbeeld klapeieren). Het percentage schouweieren op 18 dagen volgens de automatische schouw- en overlegmachine was 9,29 % voor de met formaline behandelde broedeieren en 9,27 % voor de broedeieren uit de proefbehandeling. De indeling “onbevruucht/-afgestorven” komt niet geheel overeen met de resultaten van de handmatige schouw op 16 dagen. Waarschijnlijk heeft dit te maken met de afstelling van de machine, omdat verschillen tussen onbevruchte eieren en vroeg afgestorven kiemen moeilijk zijn waar te nemen zonder deze schouweieren open te breken.

De broedeieren die na schouw in de uitkomstkasten zijn geplaatst (formaline: 4354, proef: 4355, zie tabel 2), waren na uitkomst apart genomen.

Van de 32 uitkomstbakken per behandelingsbehandeling werd het aantal en het percentage liggenblijvers en dode kuikens bepaald. Het aantal eerste soort kuikens werd bepaald door middel van een automatische teller, de tweede soort kuikens werden handmatig van de eerste soort kuikens gescheiden en geteld (tabel 3). Het lijkt erop dat de broedeieren uit de proefbehandeling een hoger percentage liggenblijvers en dode kuikens geeft (0,7% verschil met de formaline behandelde broedeieren). Dit betreft een enkele proef waarbij met totale aantallen gewerkt werd. Daarom kunnen hier geen statistisch harde uitspraken over gedaan worden.

Tabel 2: Resultaten automatische schouw / overleg op 18 dagen.

| | Formaline | | Proef | |
|--------------------|-----------|------------|--------|------------|
| | Aantal | Percentage | Aantal | Percentage |
| <i>Onbevruucht</i> | 381 | 7,9 | 367 | 7,7 |
| <i>Afgestorven</i> | 54 | 1,1 | 72 | 1,5 |
| <i>Verwijderd</i> | 11 | 0,2 | 6 | 0,1 |
| <i>Broedeieren</i> | 4354 | 90,7 | 4355 | 90,7 |
| <i>Totaal</i> | 4800 | 100 | 4800 | 100 |

Tabel 3: Het aantal en percentage eerste en tweede soort kuikens, liggenblijvers en dode kuikens bij uitkomst.

| | Formaline | | Proef | |
|-------------------------------------|-----------|------------|--------|------------|
| | Aantal | Percentage | Aantal | Percentage |
| <i>Broedeieren</i> | 4354 | 100 | 4355 | 100 |
| <i>Eerste soort kuikens</i> | 4122 | 94,7 | 4098 | 94,1 |
| <i>Tweede soort kuikens</i> | 55 | 1,3 | 51 | 1,2 |
| <i>Liaanblijvers + dode kuikens</i> | 177 | 4,0 | 206 | 4,7 |

Conclusie

Op basis van deze proef is er geen reden om te veronderstellen dat de proefbehandeling onderdoet voor de traditionele broedeiontsmetting met formaline. Kiemtellingen wezen uit dat de nieuwe methode de infectiedruk op het broedei goed kan verminderen en in staat is om effectief tussen de broedladen door te dringen. Er werden geen duidelijke verschillen waargenomen in embryonale sterfte tussen beide behandelingen. Verder onderzoek waarbij broedladen individueel gevolgd worden in een grotere proefopzet in meer geconditioneerde omstandigheden, zal moeten aantonen of hier sprake is van een significant verschil. Ook is het nog maar de vraag of het geteste middel in staat is om de infectiedruk van een hevig met entero bacteriën besmette partij eieren (Salmonella, E. coli e.d.) te reduceren tot een vergelijkbaar niveau. Verder is nog niet duidelijk of het middel ook effectief werkt tegen schimmels, sporen of virussen en of het in staat is om net als formaline tussen de eischaal en de eivliezen door te dringen.