



Sander Lourens
Hatchery & Chick Quality Specialist
Aeres Hogeschool Dronten

De originele tekst uit het onderzoek is voor de Pluimveekrant aangepast. Specifieke verwijzingen uit de literatuurstudie van Sander Lourens zijn voor de leesbaarheid weggelaten, maar kunt u in het originele rapport vinden. Literatuur op aanvraag beschikbaar.

Beschermingsmechanismen van broedeieren tegen pathogenen en de aanwezigheid van cuticula

De cuticula is een belangrijk onderdeel van het beschermingsmechanisme van broedeieren tegen het binnendringen van pathogenen. Ook lijkt de cuticula een belangrijke rol te spelen met betrekking tot de gasuitwisseling tijdens het broedproces. Een goed werkend beschermingsmechanisme zou dus wel eens nadelig kunnen zijn voor het embryo tijdens het broedproces.

In de studie van Sander Lourens van Aeres is een objectieve methode ontwikkeld en geautomatiseerd om de aanwezigheid van de cuticula te bepalen via digitale scantechnologie. Er blijken duidelijke verschillen te bestaan in de aanwezigheid van de cuticula tussen broedeieren van verschillende koppels

vleeskuikenouderdieren. Het is te verwachten dat eieren met een lage score meer gevoelig zullen zijn voor besmetting met pathogenen.

De leeftijd van de ouderdieren heeft effect op de aanwezigheid van de cuticula. Het bepalen van de cuticula op de broedeieren is

gedaan bij onbebroede eieren en het zou interessant zijn om te bepalen of de cuticula verdwijnt tijdens het broedproces om zo de gasuitwisseling te faciliteren. Wanneer zou blijken dat de cuticula aanwezig blijft tijdens het broedproces en de gasuitwisseling hierdoor belemmerd wordt dan zou een methode kunnen worden toegepast om de cuticula te verwijderen. Te denken valt hierbij aan het gebruik van ontsmettingstechnieken die na tien tot twaalf dagen broeden de cuticula verwijderen, dus voor de intrede van de plateau fase in gasuitwisseling.

Het is te verwachten dat eieren met een lage cuticula score meer gevoelig zullen zijn voor het binnendringen van pathogenen. Deze eieren zullen daarom met meer aandacht moeten worden behandeld, en het contact met pathogenen zou vooral voor deze eieren zo veel mogelijk voorkomen moeten worden.

PROEF: AANWEZIGHEID VAN DE CUTICULA

Een ei bevat een aantal verdedigingsmechanismen tegen het binnendringen van bacteriën. Een hele sterke verdedigingslinie mag dan wel de bacteriën buiten houden,

maar kan ook de mogelijkheden tot gasuitwisseling tijdens het broedproces verminderen. De aanwezigheid van de cuticula bepaald deels de mogelijkheden voor gasuitwisseling. Onbekend is of op alle eieren evenveel cuticula aanwezig is en of deze cuticula evenredig verdeeld is over het ei. Daarom is een studie uitgevoerd met eieren van verschillende moderne rassen vleeskuikenouderdieren van dezelfde leeftijd, gehouden op hetzelfde bedrijf en onder dezelfde omstandigheden. Van deze eieren is bepaald hoeveel cuticula aanwezig op de eischaal. Daarbij werd



2%



5%



70%



95%



40%



50%



98%



100%

onderzocht of de cuticula evenredig verdeeld is over het hele ei, of dat bepaalde delen van de eischaal meer of minder cuticula bevat.

Er werden in deze studie in totaal 240 broedeieren gebruikt, afkomstig van 4 koppels moederdieren van 36 weken leeftijd en gehouden onder hetzelfde management. Van ieder koppel moederdieren werden dus 60 eieren beoordeeld. De cuticula score is gedaan door de eieren gedurende 1 minuut onder te dompelen in een oplossing van Tartrazine en Green S of Edicol Pea Green. Hierna werden de eischalen gespoeld, en werd er een digitale foto gemaakt. De aanwezigheid van de groene kleur werd computermatig geanalyseerd d.m.v. Image Pro-plus software. Deze score is recht evenredig met de aanwezigheid van de cuticula. Door middel van een macro konden alle eieren op dezelfde manier worden beoordeeld. De resultaten van de cuticula scores staan weergegeven in de onderstaande figuur.

De waarden van de cuticula kleuring liepen uiteen van 0.9 tot 100 procent. Sommige eieren hadden dus bijna geen cuticula, terwijl bij andere eieren een honderd procent dekkinggraad werd gescoord. De meeste eieren hadden een score van boven de negentig. Opvallend was dat veel eieren wel geheel bedekt waren met een cuticula, maar dat er in meer of mindere mate krassen op zaten. Dergelijke krassen konden niet zomaar mechanisch op de eieren worden aangebracht, dus het vermoeden bestaat dat deze krassen zijn ontstaan bij het leggen van het ei in het legnest.

MECHANISMEN VAN MICROBIËLE BESMETTING VAN BROEDEIEREN

Er zijn twee mogelijke routes voor bacteriële infectie van eieren, namelijk verticaal en horizontaal. Bij de verticale transmissie ofwel de transovariële route, raken de dooier, albumen of schaalmembranen besmet door een bacteriële infectie

van de reproductieorganen (ovarium of eileider), dus voor de vorming van de eischaal. Deze besmetting kan via de hen zelf plaatsvinden, maar ook via de cloaca richting de onderzijde van de eileider. Vooral over de verticale transmissie van Salmonella Enteritidis is veel bekend, omdat deze Salmonella schadelijk is voor de mens en daardoor uitgebreid beschreven is.

Bij de horizontale transmissie penetreren bacteriën de eischaal. Op het moment van leg passeert het ei de uiterst vervuilde cloaca en kan het besmet raken uit ieder contact in de periode na leg. Vlak na het leggen is het ei nog nat en komt het ei in een omgeving van rond de 20°C onder de lichaamstemperatuur van de hen. Het ei begint direct af te koelen, waardoor de ei-inhoud krimpt en er een negatieve druk wordt opgebouwd in het ei. Hierdoor kunnen verontreinigingen mee het ei in worden getrokken. Wanneer bacteriën de eischaal penetreren hoeft dit niet direct te leiden tot een gehele besmetting van het ei. De kuikens die uit deze eieren worden geboren dragen de besmetting echter wel mee naar de volgende schakel. Bacteriële besmetting wordt niet beïnvloed door eischaaloppervlakte, eischaaldikte, of het aantal poriën. De aanwezigheid en de positie van de cuticula is wel altijd lager in besmette eieren dan in niet besmette eieren.

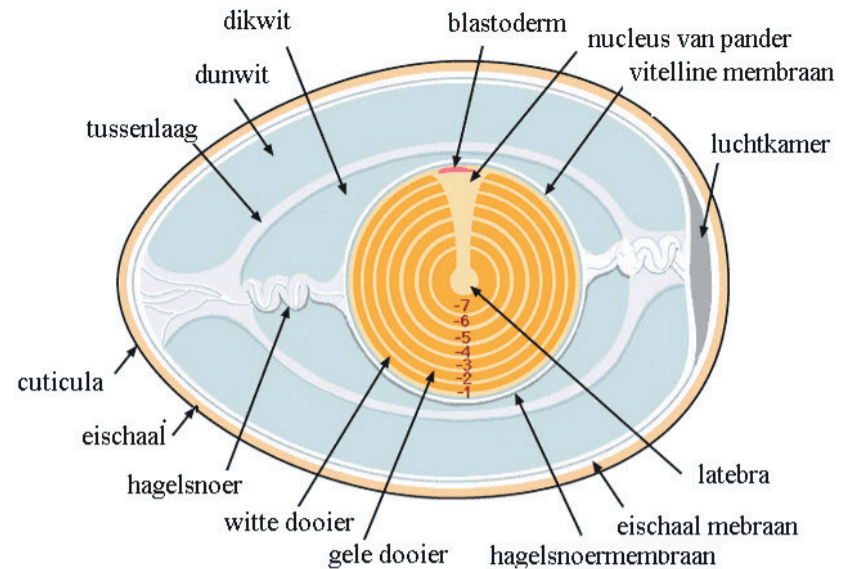
DE BELANGRIJKSTE COMPONENTEN VAN EEN EI

CUTICULA

De eischaal van gedomesticeerde hennen is slechts beperkt doorlaatbaar voor gassen en waterdamp, gedeeltelijk door de aanwezigheid van de cuticula: Een dun, organisch laagje dat de buitenkant van het ei bedekt. Verder kan de cuticula in meer of mindere mate als een plug de poriën in de eischaal blokkeren. De dikte van de hydrofobe cuticula varieert tussen

de 0,5 en 12,8 µm, gemeten over de oppervlakte van eenzelfde ei. Er komen echter ook eieren voor zonder cuticula. De dikte van de cuticula kan variëren met de leeftijd van de hennen, met ras en met omgeving of managementfactoren. Bij moederdieren nam de dikte tussen 28 en 38 weken leeftijd toe van 2,2 naar 2,7 µm; daarna nam de dikte weer af tot gemiddeld 2,2 µm. Verder is de cuticula niet over de hele eischaal even dik. De gemiddelde dikte van de cuticula was dan wel 2,3 µm, maar op de plaatsen van de poriën vormde de cuticula een 50 µm diepe plug. De cuticula is een complex van eiwitten en suikers met een vesculaire structuur met onregelmatige gaten tussen de vesicels variërend in diameter tussen de 0,5 tot 2,8 µm. Het gewicht van de cuticula is ongeveer 0,2 procent van het totale eigewicht en bestaat voor 85-87% uit eiwit, 3,5-4,4 procent uit suikers, 2,5-3,5 procent uit vet en 3,5 procent as.

De cuticula is de eerste barrière tegen het binnendringen van bacteriën. Sparks and Board (1985) lieten zien dat de cuticula verandert wanneer een ei is gelegd en dat deze verandering van grote invloed is op de gevoeligheid voor een bacteriële infectie op dat moment. De cuticula van een pas gelegd ei is nat, en het duurt gemiddeld drie minuten voordat de cuticula is opgedroogd. Wanneer de cuticula nat is, is de kans op het binnendringen van bacteriën veel groter dan wanneer de cuticula is opgedroogd. Electronenmicroscopie laat zien dat de cuticula van een pas gelegd ei een open, granulaire structuur heeft. Een droge cuticula heeft een dichtere, beter ontwikkelde structuur waardoor bacteriën minder goed kunnen binnendringen. Uit een besmettingsstudie van Drysdale (1985) bleek dat eieren met een onregelmatige, slecht



Figuur 2.

gevormde cuticula een hogere kans op besmetting hadden (40 procent) dan eieren met een goed gevormde cuticula (26 procent). Alls et al. (1964) toonden in een besmettingsstudie aan dat door het verwijderen van de cuticula de bacteriële besmetting in consumptie eieren opliep van 20 naar 60 procent. Nascimento et al. (1992) en Messens et al. (2005a) konden echter niet de eerstelijnsdefensie van de cuticula onderschrijven, en wellicht heeft dit te maken met de effectiviteit van de overige beschermingsmechanismen. De aanleg van de cuticula neemt af met het toenemen van de leeftijd van de hennen, hetgeen zou kunnen bijdragen aan de toenemende sensitiviteit van eieren van oudere hennen voor bacteriële infecties.

Onder invloed van relatieve vochtigheid kan de cuticula meer of minder gassen en waterdamp doorlaten. Van eendeneieren is bijvoorbeeld bekend dat specifieke bacteriën sommige eiwitten van de cuticula tijdens het broedproces wegvreten waardoor de cuticula degradeert. Bij een effectieve broedeiontsmetting worden nagenoeg alle bacteriën gedood; het ontsmetten met formaline kan zo indirect een negatieve impact hebben op het vochtverlies van deze eieren. Bacteriegroei is verder vaak afhankelijk van temperatuur en vochtigheid, en wanneer deze factoren ook van optimaal afwijken dan zal de bacteriegroei en hiermee ook de gasuitwisseling en vochtverlies ook afnemen. Een tijdelijk lage RV heeft op deze manier maar een beperkt effect op het totale vochtverlies.

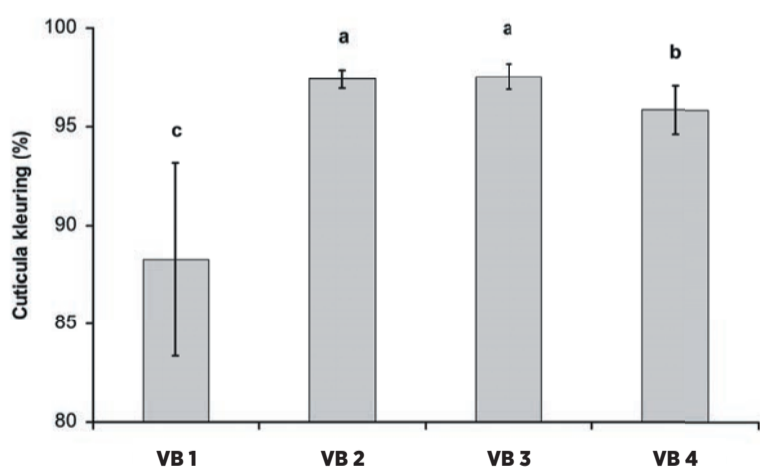
PORIËN

In de schaal van kippeneieren bevinden zich tussen de 7.000 en 17.000 poriën. De meeste poriën bevinden zich op de equator en stompe kant van een ei. Messens et al. (2005a) vond op 120 mm²

eischaloppervlak tussen de 0 en 9.360 poriën. De diameter van de poriën varieert tussen de 6-23 µm aan de binnenkant van de eischaal, en tussen de 15-65 µm aan de buitenkant van de eischaal. Overigens, niet alle poriën monden uit aan de binnenkant van de eischaal, dus sommige lopen dood. Verschillende onderzoekers hebben een verband proberen aan te tonen tussen eischaldoorlaatbaarheid en bacteriologische besmetting. Met wisselend resultaat. Kraft et al. (1958) en Fromm en Monroe (1960) onderschreven een correlatie, terwijl Reinke en Bakker (1966), Nascimento et al. (1992) en Messens et al. (2005a) deze bevindingen weerlegden.

EISCHAAL

Onder de cuticula bevindt zich de eischaal. Een eischaal bestaat voor 95-98% uit calcium. Zoals in alle verkalkte structuren bestaat de eischaal uit een organische matrix. Wanneer alle kalk zou worden weggenomen, blijft er een delicaat web van schaal matrix eiwitten over. Zonder deze matrix zou de eischaal makkelijk uiteenvallen. De eischaal bestaat uit twee delen. Onder de cuticula ligt allereerst een spongieuze palissadelaag, dat het grootste gedeelte van de eischaal uitmaakt. Deze palissade laag bestaat uit kristal kolommen die fuseren tijdens de aanmaak van de eischaal. Hoe eerder ze fuseren, hoe sterker de eischaal wordt. Daaronder bevindt zich een smalle band van verticaal georiënteerde calciet kristallen. Deze mammilaire laag maakt contact met de buitenste schaal membraan. Het eerste contact tussen de buitenste schaalmembraan met de eerste kristallen is kritiek voor de formatie van de volgende lagen van de eischaal. Een haarscheur ontstaat dan ook eerst op het niveau van de mammilaire laag. ●



Figuur 1.

OP DE HOOGTE BLIJVEN?

Op de website PluimveeActueel.nl/wur-aeres worden regelmatig artikelen en reportages geplaatst over het pluimveeonderwijs en -onderzoek in Nederland en België. Meer informatie over de samenwerking tussen de Aeres Groep, Proefbedrijf Geel en de Pluimveekrant kunt u krijgen bij Sander Lourens (s.lourens@aeres.nl) of Eline Kortjes (eline.kortjes@prosu.nl). ●

