



Dierengezondheidszorg Vlaanderen vzw



Activiteitenrapport VEEPEILER VARKEN

2018

Inhoudsopgave	
1	Inleiding..... 4
2	Praktijkgerichte deelprojecten Veepeiler afgelopen in 2018 5
2.1	Voorkomen en samenstelling van biofilms in drinkwaterleidingen van varkensbedrijven 5
2.1.1	Inleiding 5
2.1.2	Doelstellingen 5
2.1.3	Resultaten en discussie..... 5
2.1.4	Conclusie 9
2.1.5	Referenties 9
2.2	Invloed van ontsmetten van de uier bij zeugen op de gezondheid en de productie van de biggen..... 11
2.2.1	Inleiding 11
2.2.2	Doelstelling 11
2.2.3	Materiaal en methoden 11
2.2.4	Resultaten en discussie..... 17
2.2.5	Conclusie 22
2.3	PED..... 24
2.3.1	Inleiding 24
2.3.2	Doelstelling 24
2.3.3	Materiaal en methoden 25
2.3.4	Resultaten en discussie..... 25
2.3.5	Conclusie 25
3	Praktijkgerichte deelprojecten nog lopende in 2018..... 26
3.1	Evaluatie van een Brix refractometer om de antistoffenconcentratie in serum van pasgeboren biggen te bepalen..... 26
3.1.1	Inleiding 26
3.1.2	Doelstelling 26
3.1.3	Materiaal en methoden 26
3.1.4	Stand van zaken..... 27
3.2	Onderzoek naar factoren met invloed op de werpduur bij zeugen 28
3.2.1	Inleiding 28
3.2.2	Doelstelling 28
3.2.3	Materialen en Methodes 28
3.2.4	Stand van zaken..... 29
3.3	Belang van pH meting van de feces van zeug en big in relatie tot darmgezondheid..... 30
3.3.1	Inleiding 30
3.3.2	Doelstellingen 30
3.3.3	Materiaal en methoden 31
3.3.4	Stand van zaken..... 31
3.4	Oorzaken en risicofactoren van diarree bij zuigende biggen op Waalse varkensbedrijven. . 32
3.4.1	Inleiding 32
3.4.2	Doelstelling 32

3.4.3	Materiaal en methoden	32
3.4.4	Stand van zaken	33
3.5	Kreupelheid bij vleesvarkens	34
3.5.1	Probleemstelling	34
3.5.2	Doelstelling	34
3.5.3	Materiaal en methoden	34
3.5.4	Stand van zaken	36
4	Bedrijfsbezoeken tweedelijnsdiergeneeskunde.....	37
4.1	Aantal bezoeken	37
4.2	Redenen tot aanvraag van de bedrijfsbezoeken	38
4.3	Vermoedelijke oorzaken van de problematiek op bedrijven	39
4.4	Trendobservatie: vergelijking van redenen tot aanvraag en vermoedelijke oorzaken in de laatste vier jaar	40
5	Analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken.....	41
5.1	Autopsies.....	41
5.1.1	Meest voorkomende afwijkingen op autopsie	41
5.1.2	Trendobservatie – vergelijking met voorgaande jaren	42
5.2	Aanvullende onderzoeken.....	43
6	Publicaties Veepeiler Varken 2018.....	44

1 Inleiding

Veepeiler Varken is in het leven geroepen om de varkenssector in België te ondersteunen met praktisch onderzoek en tweedelijnsadvies. Veepeiler Varken kwam tot stand op initiatief van DGZ en de faculteiten Diergeneeskunde van de Universiteit Gent en Université de Liège, en wordt financieel gesteund door het Sanitair Fonds.

Veepeiler Varken heeft twee belangrijke pijlers: tweedelijnsdiergeneeskunde en korte, praktijkgerichte onderzoeksprojecten.

Tweedelijnsdiergeneeskunde:

Veepeiler Varken verleent tweedelijnsadvies op praktijkbedrijven die te kampen hebben met problemen waarvan de oorzaak na verschillende onderzoeken niet werd gevonden. De verschillende partijen (Veepeilerdierenarts, varkenshouder, bedrijfsdierenarts, voederadviseur, adviseur van de fokbedrijven, ...) zitten samen rond de tafel om het probleem multidisciplinair en met meer diepgang te benaderen en zo tot een oplossing te komen. In samenspraak met de bedrijfsdierenarts, kunnen er aanvullende onderzoeken worden uitgevoerd (bv. labo-onderzoeken van biologische monsters, drinkwater en voeder, autopsies, slachthuisonderzoek, enz.). Van elk bedrijfsbezoek wordt een verslag opgesteld, met adviezen en een plan van aanpak. De veehouder, bedrijfsdierenarts en de eventuele andere betrokken personen ontvangen een kopie van het verslag. Het bedrijf wordt meerdere keren bezocht voor verdere opvolging van de problematiek en bespreking en evaluatie van de genomen maatregelen.

Korte, praktijkgerichte onderzoeksprojecten:

Naast het leveren van tweedelijnsdiergeneeskunde richt Veepeiler Varken zich op het uitvoeren van korte, praktijkgerichte onderzoeksprojecten omtrent een specifieke problematiek binnen de varkensgezondheidszorg.

2 Praktijkgerichte deelprojecten Veepeiler afgelopen in 2018

2.1 Voorkomen en samenstelling van biofilms in drinkwaterleidingen van varkensbedrijven

2.1.1 Inleiding

De aanwezigheid en groei van kiemen in drinkwaterleidingen is een algemeen voorkomend probleem in dierlijke productie-eenheden, waaronder varkensbedrijven (demoproject DGZ, afgerond in 2009). Omdat dit probleem niet direct zichtbaar is, wordt het nog altijd onderschat. Ook al is de drinkwaterkwaliteit ter hoogte van de waterbron in orde, toch blijkt dit vaak niet meer het geval te zijn aan de drinkpunten van de dieren. Meer dan 95% van de bacteriën in drinkwatersystemen maken bovendien deel uit van een biofilm (Costerton *et al.*, 1995). Exacte data over de samenstelling van deze biofilms, in drinkwaterleidingen of cijfers over de financiële draagwijdte van de negatieve gevolgen ervan in de varkenshouderij, zijn echter tot op heden niet beschikbaar.

De aanwezigheid van biofilms in drinkwaterleidingen heeft een negatieve invloed op zowel de gezondheid als het welzijn van productiedieren. Commensale, pathogene en zoönotische bacteriën kunnen zich vasthechten in deze biofilms en zo ontsnappen aan de antibacteriële werking van de al dan niet op continue basis gebruikte reinigings- en ontsmettingsproducten (Schwering *et al.*, 2013). Hierdoor vormen ze typisch een continue bron van besmetting, met chronische en subklinische infecties tot gevolg. Ook kiemen die een belangrijke rol spelen in de voedselveiligheid - waaronder *Salmonella spp.*, bepaalde *Streptococcus* stammen, *Campylobacter spp.* en vele andere zoönosen - kunnen door de aanwezigheid van een biofilm worden beschermd tegen afdoding waardoor ze ontsmetting overleven (Reeser *et al.*, 2007; Cook *et al.*, 2010; Ica *et al.*, 2012; Hao *et al.*, 2013; Nicholson *et al.*, 2013).

Een ander ernstig risico voor de diergezondheid is de negatieve invloed van biofilms op de orale biologische beschikbaarheid van drinkwatermedicatie bij productiedieren. De aanwezigheid van een biofilm geeft mogelijk aanleiding tot resistentie-ontwikkeling. Dit belangrijk probleem is enerzijds het gevolg van een te lage effectieve dosering omwille van captatie van een deel van de toegediende medicatie in de biofilm (Høiby *et al.*, 2010) en anderzijds van de mogelijke transfer van resistentiegedragende plasmiden tussen de bacteriën in de biofilm (Król *et al.*, 2011; Savage *et al.*, 2013). De informatie omtrent biofilms bekomen in dit project is dus tevens nuttig voor andere primaire dierlijke sectoren zoals bv. de pluimveehouderij.

2.1.2 Doelstellingen

Antwoorden zoeken op volgende vragen:

- In welke mate komen biofilms voor in drinkwaterleidingen in de Vlaamse varkenshouderij?
- Hoe is het gesteld met de microbiologische belasting van het drinkwater en is dit een indicator voor de aanwezigheid van biofilms in de leidingen?
- Wat zijn de meest voorkomende kiemen aanwezig in de biofilm?
- In welke mate komen antibioticaresistente stammen voor in de biofilms in drinkwaterleidingen?

2.1.3 Resultaten en discussie

In welke mate komen biofilms voor in drinkwaterleidingen in de Vlaamse varkenshouderij?

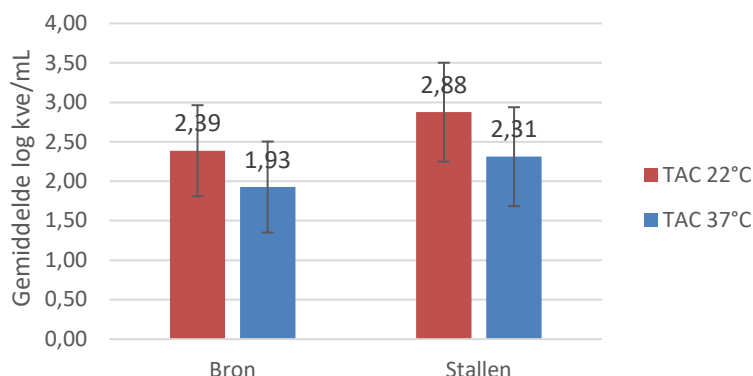
De problematiek van biofilms werd in kaart gebracht in een steekproef van 10 Vlaamse varkensbedrijven. Hiervoor werd in elk bedrijf de binnenkant van de drinkwaterleidingen (bereikbaar via de uiteinden van de leidingen) bemonsterd in zowel de drachtstal, de kraamstal, de biggenbatterij als de vleesvarkensstal. Verder werden er waterstalen genomen aan de bron en in deze vier types stallen.

Microbiologische belasting in de waterstalen

De microbiële belasting in de waterstalen afkomstig van de bron varieerde van 1,04 tot 3,71 log kiemvormende eenheden/mL en van 0,48 tot 2,99 log kve/mL voor de stalen geïncubeerd bij 22°C en 37°C, respectievelijk.

Voor de waterstalen afkomstig van het einde van de leiding varieerde de microbiële belasting van 0 tot 5,18 log kve/mL voor de stalen geïncubeerd bij zowel 22°C als 37°C.

Het gemiddelde totaal aerob kiemgetal van de waterstalen genomen aan de bron en in de stal aan het einde van de leiding wordt weergegeven in Figuur 1.



Figuur 1: Gemiddeld totaal aerob kiemgetal (TAC) bij 22°C en 37°C van de waterstalen afkomstig van de bron (n=10) en de stallen (n=40)

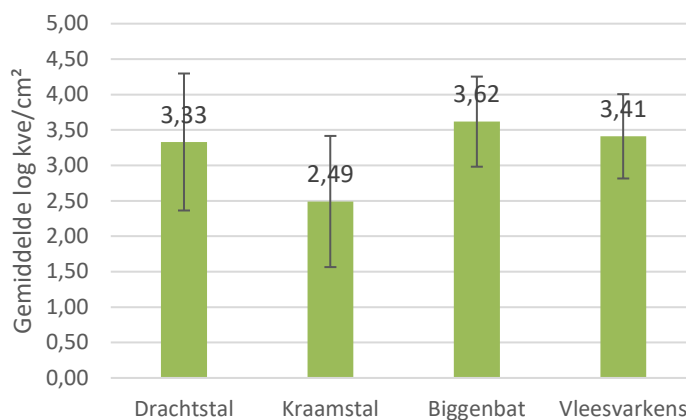
Er wordt een lichte toename van gemiddeld iets meer dan 500 kve/ml (bij 22°C) in microbiologische belasting van het drinkwater vastgesteld tussen de bron en de stallen.

Microbiologische belasting als indicator voor de aanwezigheid van biofilms in drinkwaterleidingen

De swabmonsters van de biofilms aan de binnenkant van de waterleidingen werden verder onderzocht op het totaal aantal aerobe kiemen bij 30°C en op de aanwezigheid van *E. coli*. Het aantal aerobe kiemen aangetroffen op het binnenoppervlak van de drinkwaterleidingen varieerde tussen 0,40 en 5,65 log kve/cm². Gemiddeld lag de microbiologische belasting bij varkens op 3,21 log kve/cm².

Op stalniveau lag de gemiddelde microbiologische belasting voor de drachtstal, de kraamstal, de biggenbatterij en de vleesvarkensstal op 3,33; 2,49; 3,62 en 3,41 log kve/cm², respectievelijk (Figuur 2).

Deze resultaten liggen iets lager dan die in drinkwaterleidingen van Vlaamse vleeskuikenstallen, waar de aantallen op de oppervlakken varieerden tussen 0,67 en 7,70 log kve/cm² volgens een recente studie (Maes S. *et al.*, 2018). Gemiddeld lag de microbiologische belasting bij vleeskuikens op 4,73 log kve/cm².



Figuur 2: Gemiddeld totaal aerob kiemgetal van de drinkwaterleiding in de drachtstal (n=10), de kraamstal (n=10), de biggenbatterij (n=10) en de vleesvarkensstal (n=10)

- Opvallend was dat de vermoedelijke biofilmvorming in de 5 bedrijven die geen continue ontsmetting van hun drinkwater toepasten, gemiddeld lager lag nl. op 2,77 log kve/cm² dan de microbiële belasting voor de 5 andere bedrijven die wel permanente ontsmetting toedienden nl. op 3,66 log kve/cm². Dit ligt in lijn met het BIOCAMRISK FOD-project (Maertens H., ongepubliceerde data) waar voor behandeling van *E. coli* veldstammen met een subinhibitorische concentratie van het quaternaire ammonium ontsmettingsmiddel benzalkoniumchloride een hoger aantal getelde kve/mL opleverde na antibiotica-blootstelling dan wanneer deze stammen niet werden voorbehandeld met benzalkoniumchloride.

In de 40 bemonsterde drinkwaterleidingen werd 8 maal *E. coli* aangetroffen op 5 verschillende bedrijven, waarvan er 7 *E. coli* bacteriën konden uitgezuiverd worden (Tabel 1). Deze *E. coli* isolaten werden verder gebruikt voor de bepaling van de antibioticumresistentie.

Tabel 1: Overzicht van de gedetecteerde en uitgezuiverde *E. coli* Veepeiler (VP) isolaten

Isolaat	Bedrijf	Type stal
VP1	VA	Drachtstal
VP2	VA	Biggenbatterij
VP3	VD	Kraamstal
VP4	VF	Drachtstal
VP5	VF	Kraamstal
VP6	VG	Drachtstal
DeVP7	VG	Biggenbatterij
Niet uit te zuiveren	VI	Biggenbatterij

Welke kiemen hebben de hoogste prevalentie in deze biofilms?

De bekomen stalen van de biofilms werden, indien mogelijk (i.e., wanneer er voldoende microbiel materiaal/DNA beschikbaar was), ook microbiologisch gekarakteriseerd, wat informatie geeft omtrent de (sectorspecifieke) microbiële gemeenschap aanwezig in drinkwaterleidingen van varkensstallen.

Hierdoor werd er inzicht verkregen in de dominante micro-organismen in deze biofilms. Om de populatie aan micro-organismen zo volledig mogelijk in kaart te kunnen brengen, gebeurde de microbiologische karakterisatie met behulp van metagenoom analyse.

De stalen van bedrijf VA werden als enige gepoold. Uiteindelijk bleek voor slechts 10 van de 40 stalen net voldoende genetisch materiaal aanwezig te zijn (Tabel 2).

Tabel 2: Overzicht van de stalen waarvan het DNA na extractie gekarakteriseerd werd via metagenoom analyse

Staal	Bedrijf	Stal	Totaal kiemgetal (log kve/cm ²)
V01	VA	Gepoold	0,70 – 4,28
V02	VB	Drachtstal	4,30
V03	VB	Kraamstal	2,51
V04	VB	Biggenbatterij	5,65
V05	VB	Vleesvarkensstal	4,35
V06	VC	Vleesvarkensstal	4,44
V07	VF	Drachtstal	5,18
V08	VG	Drachtstal	4,96
V09	VI	Biggenbatterij	4,40

V10	VJ	Vleesvarkensstal	2,01
-----	----	------------------	------

Bij deze 10 stalen was de klasse *Alphaproteobacteria* het sterkst vertegenwoordigd. Deze kwam immers bij alle 10 stalen voor met een hoog percentage aan reads. Andere sterk vertegenwoordigde klassen zijn *Betaproteobacteria* (>1% van de reads bij 9 stalen), *Planctomycetacia* (>1% van de reads bij 8 stalen), *Gammaproteobacteria* (>1% van de reads bij 7 stalen), *Nitrospira* (>1% van de reads bij 5 stalen).

De meest voorkomende genera zijn *Nitrospira* en *Planctomyces*, deze werden bij 8 van de 9 stalen teruggevonden. Ook *Pirellula* en *Hyphomicrobium* werden vaak teruggevonden, bij 7 en 6 van de stalen respectievelijk.

Bij verscheidene stalen werden genera geïdentificeerd die mogelijk potentiële pathogenen kunnen bevatten. Voor staal V01 werden de genera *Mycobacterium* (0,2% van de reads) en *Coxiella* (0,2% van de reads) geïdentificeerd. Voor staal V04 werden opnieuw *Mycobacterium* (0,1% van de reads) en *Coxiella* (0,04% van de reads) geïdentificeerd. Voor staal V05 werden *Mycobacterium* (0,1% van de reads), *Staphylococcus* (1,5% van de reads), *Coxiella* (0,05% van de reads) en *Legionella* (0,1% van de reads) teruggevonden. Voor staal V06 werden *Mycobacterium* (0,9% van de reads), *Staphylococcus* (4,8% van de reads) en *Leptospira* (0,05% van de reads) geïdentificeerd. *Mycobacterium* en *Enterococcus* werden teruggevonden bij staal V07 met 0,1% en 0,3% van de reads, respectievelijk. Voor staal V08 werden *Mycobacterium* (1,3% van de reads) en *Staphylococcus* (0,4% van de reads) geïdentificeerd. Tot slot werd *Mycobacterium* ook teruggevonden in staal V09, met 1,2% van de reads.

Zijn er antibioticumresistente bacteriële stammen in deze biofilms?

De 7 *E. coli* veldstammen werden met behulp van micro-dilutie (Sensititre) getest op hun resistentie voor een testpanel van de volgende 14 antibiotica: sulfamethoxazole, trimethoprim, ciprofloxacin, tetracycline, meropenem, azithromycine, nalidixine zuur, cefotaxime, chloramphenicol, tigecycline, ceftazidime, colistine, ampicilline en gentamicine.

De bepaling van deze antibioticum-resistentie toonde aan dat 2 (VP2 en VP4) van de 7 *E. coli* isolaten antibioticumresistentie vertonen en dat zij bovendien multi-resistent waren (5).

Tabel 3: Antibiotica-resistentie profielen van de 7 *E. coli* veldisolaten

Isolaat	Resistent voor antibiotica uit het testpanel
VP1	-
VP2	ampicilline, sulfamethoxazole, tetracycline, trimethoprim
VP3	-
VP4	ampicilline, azitromycine, gentamicine, sulfamethoxazole, trimethoprim
VP5	-
VP6	-
VP7	-

Vervolgens werden de 7 veldisolaten 24 uur blootgesteld aan stijgende concentraties (i. e., 8 mg/L, 40 mg/L en 80 mg/L) van het antibioticum ampicilline (AMP) waarvoor beide multiresistente veldisolaten resistent zijn (Tabel 3) en daarna geanalyseerd via niet-cultuur gebaseerde flowcytometrie (Cytoflex). Hiervoor werd er een geoptimaliseerd protocol gebruikt dat de bacteriële viabiliteit (Vanhauteghem *et al.*, 2013) meet door middel van 2 fluorochromen die op basis van de combinatie van verandering in de bacteriële membraanpotentiaal en/of membraanintegriteit 3 bacteriële subpopulaties onderscheiden: een levende, een intermediaire en een dode subpopulatie. Aan de percentages van deze 3 subpopulaties kan dan een mate van antimicrobiële resistentie gekoppeld worden. De intermediaire bacteriën zijn per definitie gepositioneerd tussen levend en dood. Ze vormen dus een risico wegens hun

groeipotentieel wanneer de condities gunstig zijn en hebben een zogenaamde (“viable but not culturable” status).

Naast de behandeling met de 3 dosissen AMP werden voor elk veldisolaat ook steeds 2 interne controles meegenomen, nl. een 100% levende (onbehandelde of “blank”) en 100% dode (verhitte of “dead”) goed gekarakteriseerde veldstam.

De resultaten van de niet-cultuurgebaseerde flowcytometrische analyses zijn complementair aan deze van de cultuurgebaseerde microdilutie (3.1), en ze geven ook meer gedetailleerde informatie over de fysiologische status van de bacteriën. De resultaten bevestigden dat de 2 als resistent geïdentificeerde veldisolaten (VP2 en VP4) na 24h incubatie bij 8 mg/L, 40 mg/L en 80 mg/L AMP inderdaad nog een intacte membraan-potentiaal en -integriteit hebben (cf. benaderen een 100% levende subpopulatie).

Een onverwachte observatie was echter dat de 5 gevoelige veldisolaten VP1, VP3, VP5 tot VP7 (i.e. met een MIC tussen 2 en 4 mg/L AMP) na blootstelling aan de 3 dosissen AMP nog steeds een levende subpopulatie bevatten (bij de lage concentratie van 8 mg/L AMP variërend tussen ongeveer 30% – 75% levend). Bij de beide hogere concentraties is enkel voor VP5 en VP7 een overwegend intermediaire subpopulatie te zien, maar blijft voor alle 5 de veldisolaten het percentage in de subpopulatie van de dode bacteriën zeer laag. Deze resultaten tonen aan dat de flowcytometrische groei-onafhankelijke techniek bijkomende informatie biedt over de viabiliteit van de bacteriën complementair aan de klassieke microbiologische methode (MIC bepaling) die gebaseerd is op groei-inhibitie.

2.1.4 Conclusie

De resultaten uit de beperkte steekproef suggereren dat de biofilm problematiek in drinkwaterleidingen in varkensstallen aanwezig is, maar vermoedelijk iets gunstiger is in vergelijking met deze in vleeskuikenstallen (Maes S. *et al.*, 2018).

Ook de antibioticum-resistentie problematiek van de *E. coli* isolaten uit drinkwaterleidingen is bestaande en vermoedelijk iets gunstiger dan deze vastgesteld bij *E. coli* veldisolaten aangetroffen in de stalomgeving van de biggenbatterij (Maertens H. *et al.*, 2018) waar slechts 21% van de *E. coli* isolaten geen antibioticumresistentie vertoonden (versus 71% in voorliggende studie), al werden er weinig *E. coli* isolaten afkomstig uit slechts 5 bedrijven in de huidige studie getest.

Bij de verdere karakterisatie met behulp van metagenoom-analyse werd vastgesteld dat de helft van de stalen eigenlijk een te lage DNA concentratie bevatten om een kwalitatieve verdere analyse op uit te voeren, waardoor het mogelijk is dat de identificaties op familie- en genusniveau minder accuraat zijn. De sterkst vertegenwoordigde klasse bij deze stalen is *Alphaproteobacteria*. Andere sterk vertegenwoordigde klassen zijn *Betaproteobacteria*, *Planctomycetacia*, *Gammaproteobacteria* en *Nitrospira*. Met name ook de mogelijke aanwezigheid van potentiële pathogenen is hierbij belangrijk.

Tot slot tonen deze steekproef resultaten ook aan dat de flowcytometrische groei-onafhankelijke techniek meer informatie biedt over de viabiliteit van de bacteriën in vergelijking met de klassieke microbiologische methode (MIC bepaling) die gebaseerd is op groei-inhibitie, zoals eerder gerapporteerd in een andere context (Vanhauteghem D. *et al.*, 2013 en 2017). Verder onderzoek naar de zeer lage percentages van dode bacteriën is sterk aangewezen om het risico van de aanwezige meerderheid aan niet-dode (i.e. de som van de levende en intermediaire subpopulaties) beter te kunnen inschatten.

2.1.5 Referenties

Abed, R. M. M. *et al.* (2011) ‘Structure of microbial communities and hydrocarbon-dependent sulfate reduction in the anoxic layer of a polluted microbial mat’, *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier Ltd, 62(3), pp. 539–546. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.11.030.

Cayrou, C., Raoult, D. and Drancourt, M. (2010) ‘Broad-spectrum antibiotic resistance of Planctomycetes organisms determined by Etest’, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(10), pp. 2119–2122. doi: 10.1093/jac/dkq290.

Cook *et al.* (2010). Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in biofilms on livestock watering trough materials.

Costerton *et al.* (1995). Microbial biofilms.

Daims, H. and Wagner, M. (2018) 'Nitrospira', *Trends in Microbiology*, 26(5), pp. 462–463. doi: 10.1016/j.tim.2018.02.001.

Hao *et al.* (2013). Effect of Licochalcone A on growth and properties of *Streptococcus suis*.

Høiby *et al.* (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms.

Ica *et al.* (2012). Characterization of mono- and mixed-culture *Campylobacter jejuni* biofilms.

Król *et al.* (2011). Increased transfer of a multidrug resistance plasmid in *Escherichia coli* biofilms at the air-liquid interface.

Lage, O. M. and Bondoso, J. (2014) 'Planctomycetes and macroalgae, a striking association', *Frontiers in Microbiology*, 5(JUN), pp. 1–9. doi: 10.3389/fmicb.2014.00267.

Maertens H. *et al.* (2018) Biocides and Antibiotic Susceptibility of *E. coli* isolates from Broiler Houses and Pig Nursery units in Flanders. In preparation

Maes S. *et al.* (2018) Occurrence and characterisation of biofilms in drinking water systems of broiler houses. Submitted BMC Microbiology

Nicholson *et al.* (2013). Livestock-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) isolates of swine origin form robust biofilms.

Reeser *et al.* (2007). Characterization of *Campylobacter jejuni* biofilms under defined growth conditions

Savage *et al.* (2013). *Staphylococcus aureus* biofilms promote horizontal transfer of antibiotic resistance.

Schwering *et al.* (2013). Biofouling: The Journal of bioadhesion and biofilm research.

Tian, M. *et al.* (2015) 'The first metagenome of activated sludge from full-scale anaerobic/anoxic/oxic (A2O) nitrogen and phosphorus removal reactor using Illumina sequencing', *Journal of Environmental Sciences (China)*. Elsevier B.V., 35, pp. 181–190. doi: 10.1016/j.jes.2014.12.027.

Vanhauteghem D. *et al.* (2013). Exposure to the proton scavenger glycine under alkaline conditions induces *Escherichia coli* viability loss.

Vanhauteghem D. *et al.* (2017). Flow Cytometry Is a Powerful Tool for Assessment of the Viability of Fungal *Conidia* in Metalworking Fluids.

2.2 Invloed van ontsmetten van de uier bij zeugen op de gezondheid en de productie van de biggen

2.2.1 Inleiding

De zeug is samen met de omgeving in het kraamhok belangrijk voor de overdracht van allerlei ziekteverwekkers naar de pasboren biggen. Vandaar dat in de meeste varkensbedrijven de kraamhokken gereinigd en ontsmet worden alvorens nieuwe hoogdrachtige zeugen erin gebracht worden. Tevens worden de zeugen in veel bedrijven gewassen, vanuit hygiënisch standpunt, voor de gezondheid van de zeug (Maes et al. 2010) en om overdracht van ziekteverwekkers aanwezig op de huid van de zeug naar de biggen te beperken. Voorbeelden van ziekteverwekkers die door de zeug kunnen overgedragen worden naar biggen zijn *E. coli*, Stafylo- en Streptokokken, *Trueperella* sp., Clostridia, parasitaire infecties, virale agentia (PRRS virus), enz. (Wegener and Skov-Jensen, 1992; Bara et al., 1993; Maes et al., 1999; Lorenzen et al., 2015). Infecties met deze pathogenen kunnen aanleiding geven tot diarree, huidaandoeningen, gewrichtsontsteking, sepsis, en sterfte bij de biggen.

Het is echter niet gekend of het wassen van zeugen voldoende is, en in welke mate het bijkomend ontsmetten van de uier van de zeug een gunstig effect kan hebben op de gezondheid en productie van de biggen. Het ontsmetten of dippen van de uier en de spenen wordt algemeen toegepast bij melkvee ter preventie van mastitis.

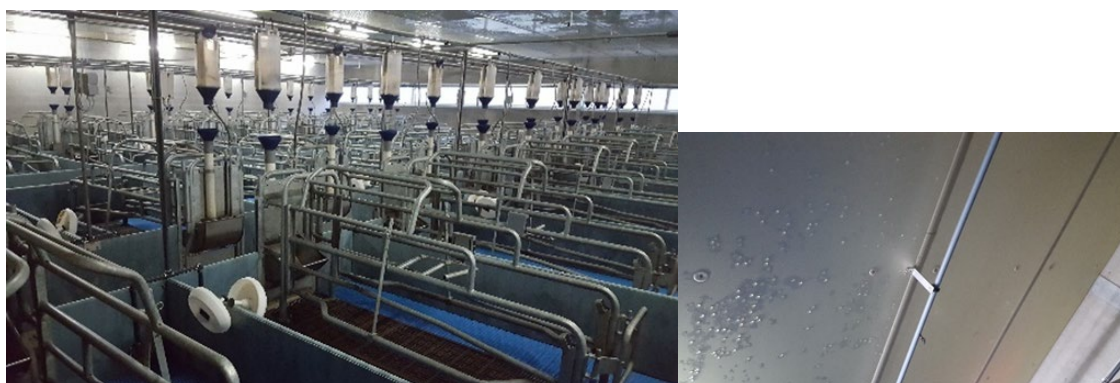
2.2.2 Doelstelling

Nagaan of het ontsmetten van de uier van zeugen bij het overbrengen van de dracht- naar de kraamstal een gunstige invloed heeft op de gezondheid en de prestaties van de biggen en het antibioticumgebruik voor en na het spenen.

2.2.3 Materiaal en methoden

Het bedrijf dat voor het onderzoek in aanmerking kwam, telt 320 Topigs 20 zeugen (Topigs Norsvin, Vlucht, Nederland). Uit deze populatie werden at random een groep van 45 zeugen geselecteerd om deel te nemen aan de proef. Op het bedrijf wordt gewerkt in een drie wekensysteem, waarbij er zeven groepen van ongeveer 45 zeugen zijn. De biggen worden alternerend gespeend om de 25-26 dagen. Ze worden verkocht indien ze in de biggenbatterij een gewicht van ongeveer 25kg hebben bereikt.

De kraamstallen zijn uitgerust met balanskooien, geïllustreerd in Figuur 3, en kanaalventilatie. De stal is opgedeeld in vijf rijen van telkens negen kraamhokken. Er is ook een reservekraamstal met zes kraamhokken aanwezig. Tien dagen voor het verplaatsen van de zeugen wordt de kraamstal gereinigd met water afkomstig van een sproeisysteem aan het plafond, zoals weergegeven in Figuur 4. Er is geen desinfectiestap voorzien. De zeugen worden een week voor het werpen overgeplaatst van de dracht naar de kraamstal.



Figuur 3 (links): Illustratie van de balanskooien in de nieuwe kraamstal (bron: A. Schoos). Figuur 4 (rechts). Illustratie van het sproeiersysteem aanwezig in de kraamstal voor het reinigen met water (bron: A. Schoos).

Studieopzet

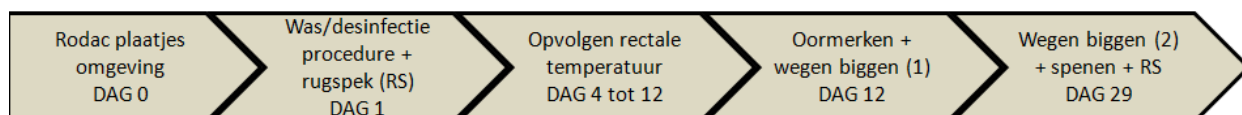
In Figuur 5 wordt een overzicht gegeven van de belangrijkste tijdstippen van de studie. Een aantal dagen voor het verplaatsingsproces, van de dracht naar de kraamstal, werden de zeugen onderverdeeld in drie groepen, waarbij pariteit gelijk werd verdeeld over de testgroepen (Tabel 5). Groep 1 of controle (C) groep: deze groep wordt aan geen enkel protocol onderworpen. Groep 2 of wassen (W) groep: Deze groep worden gewassen met water, door middel van een hogedrukreiniger voor het overplaatsen van de zeugen naar de kraamstal. Groep 3 of wassen en ontsmettings (WO) groep: deze groep wordt op identieke wijze gewassen als groep 2, maar na het opdrogen van de uier wordt nog een desinfecterend middel, op basis van iodine, aangebracht op de tepels (Jodocare spray: 0.3 w/w jodin, AGRO Logic®). Vervolgens kreeg elke groep een kleurcode toegekend en werd al een indeling gemaakt om de zeugen te plaatsen in het kraamhok na het voltooiën van de was- en desinfectieprocedure (Tabel 4). Rood voor de C groep, oranje voor de W groep en groen voor de WO groep. In elke groep bevinden zich telkens 15 zeugen. Finaal werd een at random selectie gemaakt voor het al dan niet onderwerpen van een zeug aan de staalname. In elke testgroep werden slechts 10 van de 15 zeugen onderworpen aan staalname.

Tabel 4: Indeling van de zeugen in de kraamstal met C groep (rood), W groep (oranje) en WO groep (groen). Zeugennummer wordt weergegeven met 3 cijfers. Staalname wordt weergegeven door een vetgedrukt en onderlijnd zeugennummer. Pariteit wordt aangeduid met een klein cijfer, tussen haakjes onder het zeugennummer.

Gang	<u>739</u> (5)	<u>734</u> (5)	gang	<u>668</u> (7)	<u>459</u> (11)	gang	<u>755</u> (5)
	<u>809</u> (4)	691 (6)		713 (6)	<u>440</u> (10)		<u>784</u> (4)
	781 (4)	<u>711</u> (6)		<u>664</u> (6)	<u>568</u> (9)		803 (4)
	<u>841</u> (3)	<u>673</u> (7)		<u>731</u> (5)	<u>429</u> (11)		<u>828</u> (3)
	872 (2)	<u>501</u> (10)		736 (5)	<u>543</u> (10)		830 (3)
	<u>899</u> (2)	535 (10)		<u>804</u> (4)	<u>608</u> (8)		<u>900</u> (2)
	959 (1)	<u>487</u> (11)		843 (3)	609 (7)		<u>960</u> (1)
	<u>956</u> (1)	<u>955</u> (1)		<u>840</u> (3)	<u>709</u> (6)		957 (1)
	<u>898</u> (2)	958 (1)		902 (2)	<u>758</u> (5)		<u>953</u> (1)
grote gang							

Tabel 5: Verdeling van de zeugen over de testgroepen op basis van pariteit. Per pariteit wordt het aantal (#)zeugen weergegeven in iedere testgroep.

C groep		W groep		WO groep	
pariteit	#zeugen	pariteit	#zeugen	pariteit	#zeugen
1	3	1	2	1	2
2	1	2	2	2	2
3	2	3	2	3	1
4	2	4	1	4	2
5	2	5	2	5	2
6	1	6	2	6	2
7	1	7	1	7	1
8	1	9	1	10	2
10	1	10	1	11	1
11	1	11	1		



Figuur 5: Schematische voorstelling van de belangrijkste tijdspunten van de studie.

Staalname van de omgeving

De omgeving werd bemonsterd een dag voor aanvang van de studie. Tien zeugenboxen per testgroep werden willekeurig aangeduid. De rodac-plaatjes plaatjes werden telkens op dezelfde plaatsen genomen in tien aangeduide zeugenboxen per testgroep, meer bepaald: het ligbed van de zeug, het ligbed van de biggen en de kraamkooi (onderkant van de vangbeugel). Per aangeduid kraamhok werden dus telkens drie verschillende rodac-plaatjes plaatjes genomen. De zeugen die werden overgebracht naar de kraamstal, in de zeugenboxen waarvan een staalname van de omgeving werd uitgevoerd, werden later ook onderworpen aan staalnames van de uiers met behulp van uierswabs.

Voor het opmaken van een hygiënogram van de stal maakt men gebruik van steriele rodac-plaatjes-plaatjes van ongeveer 5,5 cm doorsnede gevuld met agar voor de totale koloniegeteltelling. Het plaatje wordt gedurende 10 seconden op het te bemonsteren oppervlak gedrukt. De plaats van staalname wordt zo uitgekozen opdat zoveel mogelijk vloeroppervlak wordt meegenomen in geval van roosters (niet van toepassing op volle vloer) en de staalname plaats moet volledig zijn opgedroogd. Na staalname worden de plaatjes geïncubeerd bij 37°C gedurende twee dagen. Hierna wordt per plaatje een score toegekend afhankelijk van het aantal aanwezige kolonies. De toekenning van de score kan waargenomen worden in Tabel 6. De afzonderlijke scores per staalnameplaats staan op het beproevingsverslag vermeld. In

onze studie werd een gemiddelde gemaakt van de individuele scores van de drie plaatjes per kraamhok (zie 2.1.0, Tabel 7). De range voor een reine kraamstal is gelegen tussen 0 en 2.

Tabel 6: Toekenning van een score aan de rodac-plaatjes.

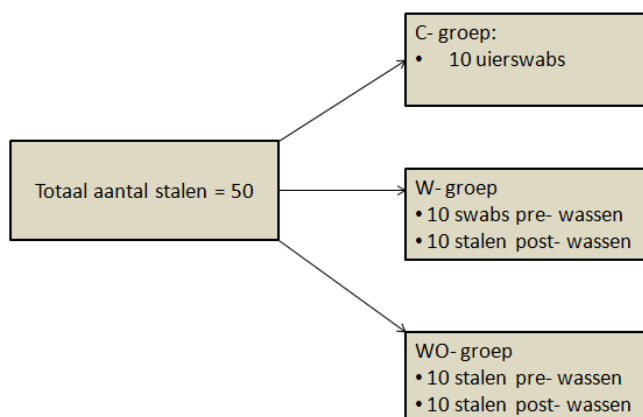
Score	Aantal bacteriekolonies per plaatje	Interpretatie individuele scores
0	0	Uitstekend
1	1-40	Zeer goed
2	41-120	Goed
3	121-400	Matig
4	>400	Slecht
5	Ontelbaar	Zeer slecht

Rugspekmeting

Bij alle zeugen van de testgroepen werd vóór het aanvangen van de wasprocedure, de rugspekdikte van de zeugen gemeten. Respectievelijk op D1 en D29 van het onderzoek. Het meten van de spekdikte gebeurde steeds bilateraal ter hoogte van het dorsale deel van de rug, caudaal van de laatste rib en vijf centimeter paramediaan. Om artefacten te minimaliseren moesten de rugharen van de zeug worden geknipt of geschoren. Nadien werd een olie-substantie aangebracht op de huid om het contact met het meettoestel, Renco Lean-Meater®, te optimaliseren. Vervolgens werd voor iedere zeug van beide bilaterale metingen op D1 en D29 een gemiddelde waarde berekend op basis van de bilaterale meetwaardes (links en rechts). Eveneens werd het verlies aan spekdikte per zeug berekend. Per testgroep werd finaal een gemiddelde waarde voor D1, D29 berekend alsook het gemiddeld verlies aan spekdikte.

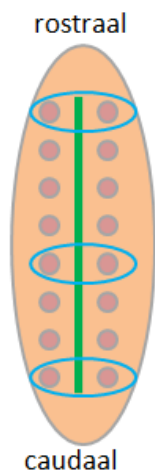
Staalname van de uier

De stalen van de uiers werden genomen met behulp van sponsswabs. De zeugen van de controlegroep werden als eerste onderworpen aan de staalname, in de drachtstal, omdat ze niet beïnvloed mochten worden door de wasprocedure uitgevoerd in de W en WO groep. In de controlegroep werd telkens een staal genomen bij 10 van de 15 zeugen. Omdat in deze groep geen handelingen werden uitgevoerd werden er geen "post" stalen verzameld. Hierdoor hebben we tien stalen van de C groep. In de W en WO groep werden zowel voor- als na het wassen (pre-en post interventie) stalen genomen waardoor het totaal aantal stalen in deze groepen 20 is. Zo werden in totaal 50 stalen genomen van 30 zeugen, geïllustreerd in Figuur 6.



Figuur 6: Schematisch overzicht van het aantal (n=50) te verzamelen stalen van de uiers (n=30).

De stalen in de C alsook de pre-stalen in de W en WO groep, werden genomen in de drachtstal wanneer de zeugen vaststonden in een zeugenbox. De stalen werden altijd genomen op een staand dier. De zeug werd hierbij benaderd vanaf de linker- of rechterzijde afhankelijk van de meest comfortabele en mogelijke manier voor de staalnemer. De staalname werd uitgevoerd door een en dezelfde persoon. De stalen werden genomen rondom de voorste-middelste- en achterste tepelparen. Voor de voorste- en middelste tepels werd telkens slechts een der beide zijde van de swab aangewend. De andere swabzijde werd voorbehouden voor het meest caudale, achterste tepelpaar. De caudale of tepelparen zijn altijd veel sterker bevuild dan deze die meer thoraco-craniaal geïoriënteerd zijn. Er werd steeds gestart met bemonstering van het meest craniale tepelpaar, vervolgens werden de drie opeenvolgende caudale tepelparen overgeslagen, om dan met dezelfde zijde van de steriele swab het middelste tepelpaar te bemonsteren. Afhankelijk van het aantal tepelparen van de zeug werd dus het vierde of vijfde tepelpaar geswabt. Er werden telkens twee volledige ovaalvormige bewegingen gemaakt rondom ieder tepelpaar (geïllustreerd in Figuur 7). De middenlijn (sulcus intermedius mammarius) tussen beide tepels werd hierbij vermeden. Na staalname werden de swabs onmiddellijk weer in hun steriele medium (plastic omhulsel) geplaatst en werd het zeugnummer met alcoholstift aangebracht op de buitenkant van het zakje.



Figuur 7: Illustratie methode staalname met roze kleine cirkels: individuele tepels, groene verticale lijn: sulcus intermedius mammarius en blauwe cirkels: swabbewegingen rondom de drie bemonsterde tepelparen.

De stalen van de controlegroep werden samen met de pre-was stalen van de W en WO groep meteen getransporteerd naar het labo. De laatste twintig stalen, genomen na het wassen in de W groep en na het desinfecteren in de WO groep, werden nadien getransporteerd naar het labo. Alle stalen werden binnen de twee uur na verzameling binnengebracht bij het labo. Bij aankomst werd aan de swabs nog 10 mL Buffered Peptone Water toegevoegd en de sponsjes enkele malen in het zakje uitgeknepen om zo veel mogelijk bacterieel materiaal te bekomen. Daarna werd 1ml op een Plate Count Agar, Violet

Red Bile Agar with Lactose, Slanetz-Bartley en Staphylococcus hyicus-plaat gepipetteerd en uitgestreken. Additioneel werd er 1 ml overgebracht in 9ml Maximum Recovery Diluent om te verdunnen. Hiervan werd ook 1ml uitgeplaat op de vier bovenstaande platen. Alle platen werden twee dagen geïncubeerd bij 37°C en afgelezen.

Was- en desinfectieprocedure

Het was essentieel voor de resultaten van de proef dat de wasprocedure beperkt bleef tot de drachtstal en dat deze niet werd uitgevoerd in de kraamstal om de omgeving niet terug te hercontamineren na de reiniging die een week eerder had plaatsgevonden. Aangezien er geen zeugendouche aanwezig was in de drachtstal, werd de wasprocedure manueel uitgevoerd met een hogedrukreiniger. De zeugen van de W en WO groep werden zo goed mogelijk van elkaar gescheiden, respectievelijk voor-en achteraan in de zeugenboxen. De eerste zeugen die onderworpen werden aan de wasprocedure, waren deze uit de WO groep. De reden hiervoor was dat de uiers van deze zeugen na het wassen nog gedesinfecteerd moesten worden met joodtinctuur in kraamstal en dit kan enkel op een gedroogde huid. Het wassen van de zeugen gebeurde telkens door eenzelfde persoon. Deze maakte hierbij gebruik van een hogedrukreiniger die kon worden aangesloten op een waterreservoir in de drachtstal. Het water werd eerst dorsaal ter hoogte van de rug aangebracht en vervolgens werd via de flanken neergedaald naar de lenden en de uier. De uiers werden zo optimaal mogelijk gereinigd en hierna werden de zeugen zo snel mogelijk overgebracht naar de kraamstal.

Het ontsmetten van de uier in de WO groep vond, in tegenstelling tot de wasprocedure, plaats in de kraamstal. Er werd een tijdsperiode van 30 minuten ingecalculeerd om de zeugen goed te laten opdrogen aangezien de joodtinctuur het meest effectief is wanneer deze wordt aangebracht op een droge huid. Het ontsmetten van de uier werd uitgevoerd door dezelfde persoon als deze die verantwoordelijk was voor het nemen van alle uierswabs. Voor het aanbrengen van het desinfecterend product hanteerde deze persoon een speciale spuitbus (AGRO logic®, Wervik, België), uitgerust met een naar dorsaal gerichte spray-opening om loodrecht de tepels te benaderen. Per tepel werd tweemaal gesprayd vanop drie centimeter afstand van de tepel en zonder deze aan te raken met de spuitbus om kruiscontaminatie tussen de uiers te vermijden. Alle tepels werden besproeid. De mediaanlijn werd niet mee opgenomen in het spray proces (Figuur 7). Na 10 minuten, nodig om de Jodocare te laten drogen, kon worden overgegaan tot het nemen van de post-desinfectiestalen op identieke wijze als het nemen van de pre-desinfectiestalen (Figuur 7). Tot slot werden de zeugen van de W groep nog bemonsterd (post-wasstalen).

Wegen van de biggen

Het wegen van de biggen (kg) werd uitgevoerd op twee verschillende momenten. Het eerste weegmoment vond samen plaats met het oormerken van de biggen (D12). Alle biggen werden op eenzelfde moment gewogen. De oudste biggen waren maximaal zes dagen oud, de jongste drie dagen. De biggen werden een tweede maal gewogen op de dag van het spenen (D29). Zo is er tussen beide weegmomenten een intervalperiode van 17 dagen. De tijdstippen van het wegen zijn weergegeven op bovenstaande tijdlijn (Figuur 5).

Rectale temperatuur zeugen

De rectale temperatuur werd in totaal negen dagen opgevolgd (dag 4 tot dag 12 van de studie). De eerste meting werd uitgevoerd drie dagen voor de verwachte werpdatum (dag 7 van de studie) en werd verdergezet tot vijf dagen na de verwachte werpdatum. Dit bij iedere zeug, telkens met eenzelfde thermometer. De gemiddelde temperatuur per testgroep werd berekend. Tevens werd een gemiddelde temperatuur bij de zeugen gemeten, per zeug per groep en per drie periodes(P): (P1) de temperatuur gemeten over de ganse opgevolgde periode: D4-D12, (P2) de temperatuur gemeten in de periode voor de verwachte werpdatum: D4-D6, (P3) de temperatuur gemeten vanaf de verwachte werpdatum: D7-D12.

Opvolging overige klinische parameters

Om eventuele verschillen te detecteren tussen de testgroepen werden een aantal parameters opgesteld aangaande de zeug en de biggen. Hiervoor werden fiches opgemaakt om aan te brengen in de kraamstal met de parameters die dienden opgevolgd te worden, bij de zeugen en biggen, door de varkenshouder. Elke zeug werd voorzien van een dergelijke fiche, gepersonaliseerd met het oornummer van de zeug en de testgroepkleur: rood, oranje of groen. De fiches werden op D1 van de studie aangebracht op de opstaande wanden van de zeugenbox, en verwijderd na D29. Volgende parameters werden opgevolgd bij de zeug: eetlust en het aantal uitgevoerde behandelingen met het oog op antibioticumgebruik. Bij de biggen werden ook het aantal behandelingen (antibioticumgebruik), ziekte

incidentie en sterfte in acht genomen. Er werd de varkenshouder verzocht ook deze waarden nauwkeurig te noteren op de fiches.

Statistische verwerking

Voor het verwerken van de data om de gewenste resultaten te bekomen, werd gebruik gemaakt van Microsoft Office® Excel2007 in combinatie met SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences) versie 25 (IBM®). De gecollecteerde data werden ingevoerd in Microsoft Office® Excel 2007. De verdere verwerking die vereist was om de data te kunnen interpreteren werd uitgevoerd met behulp van SPSS Statistics. De onafhankelijke groepsvariabele werd voorgesteld door de verschillende testgroepen: C, W en WO.

Verder waren de belangrijkste afhankelijke variabelen in onze studie bij de zeugen: kiemgetallen uierswabs, rectale temperatuur, behandelingen, biggenmortaliteit en het aantal gespeende biggen. De bestudeerde afhankelijke hoofdvariabelen bij de biggen waren: gewicht op D12 en D29, dagelijkse groei, antimicrobiële behandelingen en het voorkomen van diarree.

Naast de reeds opgesomde afhankelijke variabelen werden bijkomend nog descriptieve gegevens van enkele parameters verzameld: hygiënogrammen van de omgeving (resultaten rodac-plaatjes), het aantal levend geboren biggen, eetlust zeugen, aandoeningen bij de biggen: gezwollen gewrichten, spreidzit, huidafwijkingen, abdominale of scrotale hernia's en finaal rugspekdicke bij de zeugen op D1 en D29.

Voor alle afhankelijke continue variabelen (kiemgetal uierswabs, rectale temperatuur, aantal levend geboren biggen, aantal gespeende biggen per zeug, sterfte biggen per zeug, gewichten op D12 en D29, dagelijkse groei) werd nagegaan of deze normaal verdeeld waren. Volgende parameters waren normaal verdeeld: rectale temperatuur, aantal levend geboren biggen, gewicht biggen op D12 en D29 en dagelijkse groei. Een one-way analysis of variance (ANOVA) werd uitgevoerd in geval van deze normaal verdeelde data, met de Scheffé post-hoc test om de vergelijkingen te kunnen maken tussen de verschillende groepen. De rectale temperatuur op D4-D12, D4-6 en D7-12 werd geanalyseerd door middel van een repeated measurement ANOVA en eveneens een Scheffé post-hoc test. In geval van de niet normaal verdeelde data (kiemgetal uierswabs, biggensterfte per zeug, aantal gespeende biggen per zeug) werd een non-parametrische Kruskal-Wallis test uitgevoerd met de Dunn-Bonferroni test om de vergelijking te kunnen maken tussen de verschillende groepen. In geval van binaire afhankelijke variabelen (behandelingen zeugen en biggen, biggendiarrée, eetlust van de zeugen), werd een binomiale logistische regressie uitgevoerd. Waarden met een $P < 0.05$ worden als significant beschouwd.

2.2.4 Resultaten en discussie

De allereerste stap in ons onderzoek, na het vinden van een geschikt bedrijf voor onze proef, was het verdelen van de zeugen over drie testgroepen. De groepsindeling van de zeugen werd gebaseerd op de pariteit van de zeugen. Iedere testgroep werd gevormd uit zeugen van verschillende pariteiten om invloed van leeftijd en hiermee samenhangende nevenfactoren uit te sluiten. Deze factoren hebben veelal effect op toomgrootte en geboortegewicht. Oudere zeugen werpen over het algemeen grotere tomen en het geboortegewicht van de biggen ligt gemiddeld hoger dan bij jonge zeugen (Peadar en Brendan, 2007). Balzani et al. (2016) toonden aan dat de pariteit van de zeug een invloed heeft op de morfologie van de uier waardoor het aantal functionerende tepels, melkgift, biggengewicht, enz. mogelijks worden beïnvloed.

De controlegroep fungeerde als referentie voor de huidige werkwijze op het bedrijf waarbij geen was- noch desinfectieprocedure werd uitgevoerd. De W groep waarin de zeugen enkel werden gewassen vormt een intermediair tussen de C en WO groep. Deze groep kan aantonen of een bijkomende desinfectieprocedure, zoals voltrokken in de WO groep, een meerwaarde biedt.

Voor het aanvangen van de eigenlijke was- en desinfectieprocedure werd de omgeving onderworpen aan staalname, met behulp van de rodac-plaatjes. Het doel van deze staalname was om na te gaan hoe het algemeen gesteld was met de hygiëne in de kraamstal en om uitgesproken, onverwachte verschillen tussen de uierswabs eventueel te kunnen verklaren. Indien enorm hoge aantallen kiemen gevonden werden in de WO groep, waarvan de uiers eveneens gedesinfecteerd werden, zou dit resultaat eventueel te wijten kunnen zijn aan een hogere graad van bevuilding in de omgeving. Dit aangezien het neerliggen van de hoogdrachtige zeugen tussen het wassen en desinfecteren of tussen het opdrogen en post-staalname onvermijdelijk was.

Opvallend is dat er opmerkelijke verschillende waren tussen de bemonsterde plaatsen in de zeugenbox. Dit kan te maken hebben met het feit dat kraamhokken onder de sprinklersystemen beter ingeweekt worden. Een verschillende graad van bevuilding werd gevonden tussen de zeugen- en biggenligbedden. De biggenligbedden scoorden beduidend slechter dan deze van de zeugen.

Daarnaast werden verschillen opgemerkt tussen bepaalde zones in de kraamstal. We zouden verwachten dat de gehele kraamstal evenredig scoort aangezien deze in zijn totaliteit op eenzelfde manier gereinigd wordt. De plaats in de kraamstal waar de C groep gestationeerd werd scoorde het beste en was dus de meest reine plaats. De W groep scoorde het slechtste, hetgeen duidt op een hogere graad van bevuilding. De W en WO groep gingen dus in een minder 'reine' kraamstal van start. Het feit dat er verschillen zijn in reinheid naargelang de lokalisatie (Tabel 7) is voor de varkenshouder een interessant gegeven. Dit wijst erop dat de huidige manier van reinigen, met het sprinkler systeem, niet overal even effectief en homogeen gebeurt. Dit kan een indicatie zijn om de huidige protocol te verbeteren en aan te passen door een additionele desinfectiestap toe te voegen zoals in de studie van Pletinkx et al. (2013).

Tabel 7: Resultaten van de rodac-plaatjes weergegeven naar de normen van het hygiënogram.

Hygiënogram	C groep	W groep	WO groep	P-waarde
Zeugenligbed	1,9	2,2	2,4	n.v.t.
Kraamhok (beugel)	1,4	2,0	1,6	n.v.t.
Biggenligbed	3,4	3,8	3,9	n.v.t.
Kraamhok gemiddeld	2,23	2,67	2,63	n.v.t.

We zouden verwachten dat de zeugen van de W en WO groep meer blootgesteld worden aan omgevingskiemen aangezien zij in een meer bevuilde omgeving van start gingen. Dit kan een effect hebben op de gezondheid van de uier en de biggen. Mogelijks worden andere geteste parameters hierdoor beïnvloed zoals melkgift, behandelingen bij zeugen en biggen, biggendarree en andere aandoeningen. Het is zeer weinig waarschijnlijk dat een effect vanuit de omgeving kan worden waargenomen op de resultaten van de uierswabs. Dit omdat deze vrijwel meteen, na het overplaatsen van de zeugen naar de kraamstal, werden geïncubeerd. De tijd voor mogelijke blootstelling was minimaal maar kan niet worden uitgesloten.

De resultaten met betrekking tot de uierswabs toonden aan dat er geen significant verschil werd opgemerkt in bacteriële status van de uier tussen de drie testgroepen. Deze bevindingen kunnen indiceren dat de toegepaste was- en desinfectieprocedure niet effectief waren om een reductie van kiembesmetting op de uier te bekomen. Alvorens de wasprocedure aan te vangen werden 20 pre-was stalen genomen van de zeugen uit de W en WO groep. Deze vormen een maatstaf voor de effectiviteit van de wasprocedure en worden vergeleken met de post-was stalen van dezelfde zeugen. Zo vormen de post-was stalen een controle binnen de eigen testgroep.

We zouden verwachten dat er na het uitvoeren van een wasprocedure een reductie zou zijn van de bacteriële load van de uier in de W groep ten opzichte van de zeugen in groep C. Dit bleek niet het geval te zijn ($P > 0,05$). Bij de zeugen uit de WO groep zouden we een nog lager kiemgetal verwachten op de uierhuid aangezien er in deze testgroep een additonele desinfectieprocedure werd uitgevoerd, maar ook hier was geen significant verschil te bemerken in vergelijking met de controlegroep ($P > 0,05$). Enerzijds zou dit als een negatief resultaat beschouwd kunnen worden omdat het, indien effectief gebleken, een goedkope preventieve manier zou kunnen zijn om het aantal medicamenteuze behalingen bij de biggen en de zeug te reduceren. Het inzetten van geneesmiddelen is immers vaak een kostelijke zaak. Anderzijds kan dit als positief aanschouwd worden aangezien dergelijke arbeidsintensieve procedures niet uitgevoerd dienen te worden als ze geen meerwaarde kunnen bieden voor het bedrijf.

Waarom geen significant verschil opgetreden is tussen de W en de C groep kan verklaard worden door multipele factoren. Om te beginnen kunnen we de methode waarop de uiers gewassen en gedesinfecteerd werden van naderbij bekijken. De keuze voor deze methode was gebaseerd op een

praktijkgerichte aanpak aangezien het wassen van de zeugen zich in de meeste varkensbedrijven beperkt tot het afspuiten met hogedrukspuit. Ten eerste is het mogelijk dat verwijderen van het 'gros' van het zichtbare vuil onvoldoende was om een reductie te bekomen in het kiemgetal. De zeugen zagen er visueel beduidend schoner uit na het reinigen maar het meest hardnekkige vuil bleef soms nog achter. Het is niet eenvoudig om bepaalde delen van de zeug te bereiken en sommige plaatsen zijn te gevoelig om langdurig bloot te stellen aan een waterstraal. Tijdens de staalname werd getracht zo min mogelijk van het resterende vuil mee te swabben dus verwachten we hiervan geen grote impact op de resultaten. Opvallend is dat de meest caudale melkklierpakketten bij oudere zeugen of zeugen met een lagere lichaamsbouw vaker meer bevuild waren. Deze tepels hangen dicht bij de stalbodem en de anus. Echter kan dit geen effect hebben op de bacteriële contaminatie na het wassen van de zeugen. Indien we dit echt zouden willen achterhalen zou het interessant zijn om de staalname op te splitsen in twee zones, een swab voor de craniale en een swab voor de caudale melkklierpakketten. Ook in de literatuur vinden we indicaties dat morfolgie van de uier en positionering van de tepels een belangrijk effect hebben op de gezondheid van de zeug en de biggen (Kim et al., 2000; Balzani et al., 2016).

Ten tweede werd geen gebruik gemaakt van wasborstels. Tijdens het reinigen onder hoge druk, mag er slechts een minimale mechanische kracht aangewend worden om het vuil te verwijderen. Teveel mechanische kracht is oncomfortabel voor de zeug en kan schade berokkenen aan de huidbarrière waardoor de huid vatbaarder wordt voor infecties. Er werd bewust gekozen om te reinigen vanop zekere afstand. Men zou kunnen proberen om de uierhuid meer mechanisch te reinigen met behulp van borstels, sponzen of doeken zonder de huidbarrière te beschadigen. In het onderzoek van Verheghe et al. (2013) werd notie gemaakt van mogelijke kruiscontaminatie tussen de zeugen indien men telkens eenzelfde borstel gebruikte voor het wassen van alle zeugen. Uit ons onderzoek is gebleken dat de mechanische reiniging veroorzaakt door een licht verhoogde druk vanop een zekere afstand, te miniem is om een reductie te bekomen in het kiemgetal op de uierhuid.

Ten derde werd enkel gereinigd met water. Uit ons onderzoek kunnen we concluderen dat enkel reinigen met water door het aanwenden van een hogedrukreiniger onvoldoende effect heeft gehad op de geteste kiemsoorten. Om voldoende reductie van het kiemaantal te bekomen is het mogelijk dat het gebruik van zeep nodig is. Zeep kan effectiever zijn om vuil weg te nemen en pathogenen te reduceren. Echter zou deze methode, indien effectief, minder snel kunnen worden uitgevoerd op bedrijven aangezien deze meer arbeidsintensief is (schrobben van de zeugen) en ook kostelijker dan onze methode met enkel water. Volgens de bevinding van de varkenshouder ondervonden de zeugen reeds stress van deze kortdurende ingreep, die onder de normale gang van zaken in het bedrijf niet plaatsvond, aangezien bijna alle zeugen later hebben geworpen. Dit stress gerelateerde aspect zou kunnen verminderen indien de varkenshouder de procedure iedere productiecyclus zou toepassen. Stressreductie door het herhaaldelijk toepassen van een wasprocedure werd waargenomen door een Duitse varkenshouder². Mogelijks zou een zeugendouche, in tegenstelling tot het afspuiten van de zeugen met een hogedrukreiniger, ook een stressreducerend effect kunnen hebben. Deze optie was helaas niet mogelijk op het bedrijf.

Ten vierde zou het niet significante verschil tussen de W en WO groep te maken kunnen hebben met een onvoldoende effectiviteit van het desinfecterend product. Iodine is een zeer effectief topicaal antimicrobieel desinfectant (Sibbald et al., 2011). Het is werkzaam tegen zowel bacteriële agentia, mycotische agentia en fungi. Waarom geen resultaat bekomen werd in onze studie is niet geheel duidelijk. De aangewende concentratie kan eventueel in twijfel getrokken worden. Echter is in de literatuur geen standaard concentratie beschreven. Meer onderzoek naar de ideale concentratie van jodium kan nuttig zijn. In de studie van Anggrahita et al. (2016) wordt het anti-septisch effect van jodium bij humane chirurgische ingrepen vergeleken met chlorhexidine-alcohol. Povidone-jodium was de minst effectieve van de twee.

Het gevaar van een te hoge concentraties is irritatie van de huid (Wilson et al., 2005). Hierdoor treedt mogelijks schade op aan de huidbarrière en wordt deze meer vatbaar voor lesies en zo infecties. Vervolgens bestaat de mogelijkheid dat een hogere frequentie van desinfecteren nodig is om reductie en effectiviteit te bekomen. In onze studie werd het desinfecterend product slechts eenmalig aangebracht een week voor de uitgerekende werpdatum. De behandeling zou mogelijks meer effect kunnen hebben indien dit korter voordien zou gebeuren, maar dit brengt mogelijks ook meer stress met zich mee hetgeen een invloed kan hebben op de partus (overschrijden van de werpdatum). Er werd hierom besloten om de desinfectie- en was stap niet meermaals of dicht bij de uitgerekende werpdatum uit te voeren.

Ten vijfde zou hercontaminatie en dilutie van de stalen kunnen plaatsvinden. Alvorens de uiers in de W groep te bemonsteren na het wassen en in WO groep te desinfecteren na het wassen werd gecontroleerd of de uier voldoende droog was. Dit om extra dilutie van de de post-stalen te beperken tot een minimum. We achten dit goed te hebben uitgevoerd aangezien er geen lagere kiemgetallen werden terug gevonden in deze twee testgroep. Hoe langer gewacht zou worden met het swabben van de uiers na het wassen en desinfecteren, hoe groter de kans op hercontaminatie uit de omgeving aangezien hoogdrachtige zeugen allicht sneller gaan neerliggen.

Ten zesde werden enkel de meest voorkomende bacteriën getest. Het is mogelijk dat onze methode wel effect heeft gehad op andere kiemen die niet nader bepaald werden. Omdat de normale flora van de huid niet optimaal beschreven is in de literatuur (Bara et al., 1993; Maes et al., 1999; Lorenzen et al., 2015) is het moeilijk om bacteriën te selecteren die van belang zijn voor ziekteoverdracht en men wenst te onderzoeken. Finaal kan de onverwachte hoge kiemtelling bij de W en WO groep niet te wijten zijn aan de verwerking van de stalen. Deze werden zonder twijfel tijdig geanalyseerd in het DGZ labo aangezien ze meteen na verzamelen werden getransporteerd in een correct transportmedium. Een invloed uitgaande van deze aspecten is dus uitgesloten.

Tabel 8: Overzicht van de geanalyseerde afhankelijke hoofd- en overige variabelen.

Parameter	Testgroepen			P-waarde
	C (#=15)	W (#=15)	WO (#=15)	
Uierswabs				
Totaal aantal bacteriën	>100.000	>100.000	>100.000	>0,05
Enterobacteriaceae	>100.000	>100.000	>100.000	>0,05
Streptococcus sp.	>100.000	>100.000	>100.000	>0,05
Staphylococcus sp.	>100.000	>100.000	>100.000	>0,05
Temperatuur zeugen (rectaal)				
D4-12	38,2±0,59	38,3±0,58	38,3±0,74	0,425
D4-6	37,8±0,38	37,8±0,35	37,8±0,44	0,854
D7-12	38,4±0,57	38,5±0,57	38,6±0,74	0,289
Behandelingen zeugen	0,33 ± 0	0,33 ± 0	0,06 ± 0	0,099
Mortaliteit biggen per zeug	2,64 ± 2,02	1,80 ± 2,25	1,87 ± 1,92	0,21
Aantal gespeende biggen per zeug	12,47 ± 0,83	12,80 ± 0,94	12,40 ± 1,00	0,35
Gewicht 1 biggen (D12) (kg)	1,88 ± 0,44 ^a	1,61 ± 0,48 ^b	2,00 ± 0,48 ^c	<0.001
Gewicht 2 biggen (D29) (kg)	5,24 ± 1,39 ^a	5,72 ± 1,24 ^b	5,76 ± 1,38 ^c	<0.001
Dagelijkse groei (kg/d/varken)	0,21 ± 0,07	0,22 ± 0,05	0,22 ± 0,06	0,163
Behandelingen biggen (per nest) ja/nee	20 (3/15)	6 (1/15)	6 (1/15) ± 0	0,26
Biggendiarrée (per nest) % (n aangetaste tomen/ totaal n tomen)	13 (2/15)	13 (2/15)	6 (1/15)	0,56
Aantal levend geboren biggen per zeug	15,33 ± 1,44	14,73 ± 3,26	15,13 ± 2,53	0,96
Eetlust zeug	2 ± 3,07	1,14 ± 1,6	1,6 ± 1,35	n.v.t.

Verschillende superscripts in één rij wijzen op een statistisch verschil $P < 0.05$, n = aantal

Na het was- en desinfectieprotocol werden de zeugen onderworpen aan een rectale temperatuursmeting. Zeugen die een infectie doormaken ontwikkelen vaak koorts ten gevolge van de inflammatie. Het al dan niet ontwikkelen van een infectie en inflammatie wordt mede bepaald door de omgeving (stalklimaat), profylactische medicatie (vb.: vaccinaties) en het immuunsysteem van het dier

zelf. Door het wassen en desinfecteren van de uierhuid zouden we verwachten dat er een reductie is opgetreden in het aantal kiemen aanwezig op de uierhuid. Hoe minder bacteriën aanwezig hoe minder de gastheer hieraan wordt blootgesteld. Indirect zouden we kunnen verwachten dat er dus meer infectie, inflammatie en koortsontwikkeling zou zijn in de C groep aangezien de zeugen in deze testgroep een hogere bacteriële load zouden hebben hetgeen de uier vatbaarder maakt voor infecties. Een lokale infectie van de uier kan uitbreiden met systemische gevolgen, zoals koorts. De resultaten toonden aan dat de gemiddelde temperatuur hoger lag bij de zeugen van de WO groep hetgeen tegenstrijdig is met onze verwachtingen zoals hoger aangehaald.

Naast rectale temperatuur werd ook het aantal levend geboren biggen per zeug geregistreerd. Deze parameter is echter niet van grote waarde in onze proefopzet aangezien we niet verwachten dat het wassen en ontsmetten van de uiers hier enige invloed op heeft. Dit bleek ook uit de resultaten die een niet significant verschil aantoonde.

Het aantal antimicrobiële behandelingen werd bij de zeugen, net zoals bij de biggen, opgevolgd. Deze parameter vormt een onderdeel van de proefopzet om te evalueren of het wassen en ontsmetten van de uier doeltreffend inwerkt op de gezondheid van de zeug. De hygiënische interventie zou kunnen leiden tot een reductie van het gebruik in antimicrobiële middelen, zowel voor het behandelen van de zeug als voor het behandelen van de biggen. In de C en de W groep werden telkens vijf zeugen behandeld, in de WO groep slechts een zeug. Na statistische analyse bleek dit niet om een significant verschil te gaan. Dit kan te wijten zijn aan meerdere factoren. De resultaten van de uierswabs waren voor alle testgroepen gelijk, dus alle zeugen zouden met een gelijke bacteriële load gestart moeten zijn. De rodac-plaatjes van de omgeving gaven wel een verschil aan, er was een hogere contaminatie van de omgeving in de W en WO groep. De hogere graad van bevuilding resulteert in een grotere infectiedruk waardoor de zeugen meer kunnen worden blootgesteld aan pathogenen aanwezig in de omgeving. Ook de immuniteit van de zeug zelf speelt allicht een rol in het al dan niet ontwikkelen van een infectie. Immuniteit kan beïnvloed worden door pariteit. Hoe ouder de zeug hoe meer ze blootgesteld is geweest aan bepaalde infecties en hoe meer immuniteit ze hiertegen kan ontwikkelen. Zeugen met een hogere pariteit zijn mogelijk ook minder vatbaar voor stress en hierdoor blijft hun immuniteit beter op peil waardoor er minder makkelijk infecties kunnen aanslaan (Zimmerman et al., 2012). Er werd getracht om deze factor uit te schakelen, door een gelijke pariteitsverdeling in de drie testgroepen te hanteren.

Biggensterfte is, in tegenstelling tot aantal levend geboren biggen, een parameter die wel invloed kan ondervinden van de uitgevoerde was- en desinfectieprocedure. Mortaliteit bij biggen is een veel voorkomend probleem in de varkenshouderij (Loncke et al., 2008). Sterfte kan te wijten zijn aan infectieuze factoren, onder meer bacteriële agentia, welke afkomstig kunnen zijn van microbiota op de uier. Vele studies tonen aan dat uiergezondheid een grote impact op debiggensterfte (Bäckström et al., 1984; Papadopoulos et al., 2010; Kemper et al., 2013). Het belang van deze parameter in het onderzoek is om na te gaan of er een hogere biggensterfte is in de C groep in vergelijking met de W en WO groep. We zouden verwachten dat er gunstigere omstandigheden zijn in deze groepen door het wassen en desinfecteren van de uier waardoor dit een positieve invloed kan hebben op de sterfteratio. Er werd aan onze verwachtingen voldaan. Het sterftecijfer lag beduidend hoger in de controlegroep. Onze resultaten omtrent deze parameter waren echter niet significant. Wellicht zal dit te wijten zijn aan de beperkte groepsgrootte.

Naast biggensterfte is ook het aantal gespeende biggen per toom per zeug een interessant gegeven aangezien het indirect gelinkt kan worden aan de gezondheid van de uier. Hoe gezonder de uier, hoe beter de kwaliteit van de zeugenmelk zal zijn. Kwaliteitsvolle zeugenmelk zal een meerwaarde bieden voor de groei van de biggen en finaal een grotere toom grootbrengen indien de big- en omgevingsfactoren ook gunstig zijn. Hoewel biggengroei en -ontwikkeling een complex gegeven is, zouden we toch verwachten dat het optimaliseren van de uierhygiëne in het voordeel kan zijn voor het aantal biggen dat gespeend wordt per zeug. Aan de hand van onze proefopzet zouden we verwachten dat het aantal gespeende biggen het laagst is in de C groep. Wegens het verplaatsen van biggen tussen de testgroepen onderling moeten we de resultaten voorzichtig interpreteren. Echter werd geen significant verschil gevonden.

Het gewicht van de biggen wordt ook gelinkt aan een goede uiergezondheid aangezien de melkgift hier sterk afhankelijk van is en deze onmisbaar is voor de biggen. Aan de hand van deze variabele zouden we indirect het effect van de uierhygiëne kunnen nagaan. Analyse van de data wees op een significant verschil, tussen de testgroepen, voor beide gewichten. Voor beide gewichten scoorde de WO groep het hoogst. Dit resultaat zou van significante waarde zijn indien in iedere groep gestart was met eenzelfde

startgewicht. Na vergelijken van de verschillende werpdata kon geconcludeerd worden dat er veel variatie was wat betreft de leeftijd van de biggen hetgeen aan de basis ligt voor een ongelijk startgewicht. De grootste leeftijdsrange werd gezien in de WO groep, waar biggen van drie tot zeven dagen oud in voorkwamen. In de C en W groepen was dit stabiel en waren de biggen gemiddeld vijf dagen oud. Hierdoor kan het gemiddeld gewicht hoger liggen in de WO groep. Een oplossing hiervoor was de biggen vóór colostrumopname wegen, echter dit werd niet uitgevoerd omdat dit een relatief arbeidsintensieve procedure is wat waken bij de zeugen vereist gedurende de totale werpperiode.

Een interessantere parameter was de dagelijkse groei van de biggen. Zoals eerder aangehaald speelt de hygiëne van de uier een belangrijke rol in de transmissie van bepaalde kiemen van de zeug naar de biggen. De zeug levert de voornaamste voedingsbron voor de biggen gedurende de eerste drie tot vier levensweken (lactatieperiode). Het is vanzelfsprekend dat de melkgift hoger is indien de uier in goede gezondheid verkeerd (Papadopoulos et al., 2010; Haesebrouck, 2014). Hoe beter de melkgift, hoe meer de biggen de kans krijgen om melk op te nemen en om te zetten in groei. Indien er een reductie zou zijn in het aantal kiemen aanwezig op de uierhuid in de W en WO groep, door de toegepaste hygiënische maatregelen, zou dit een effect kunnen hebben op de gezondheid van de uier en dus op de melkgift. We zouden verwachten dat de dagelijkse groei het hoogste zou zijn in de W of WO groep. Bij het berekenen van de dagelijkse groei is het startgewicht niet van belang aangezien het een relatief cijfer betreft. Na verwerking van de data bleek er geen significant verschil te zijn tussen de groepen. Hierdoor kunnen we eveneens concluderen dat het verschil in gewicht tussen de groepen op het tweede meetpunt niet veroorzaakt is door onze behandeling.

Niet alleen dagelijkse groei maar ook de uitgevoerde behandelingen bij de biggen kunnen aan de gezondheid van de uier worden gelinkt. Hoe minder bacteriën aanwezig op de uierhuid hoe lager het risico op transmissie van kiemen naar de biggen. We zouden verwachten dat hoe lager de bacteriële load van de uier is, hoe minder zieke biggen we zouden aantreffen in de toom en hoe minder antimicrobiële behandelingen werden toegepast. We zouden op basis van deze resultaten kunnen concluderen dat er een hoger verbruik is in de C groep. Dit resultaat was eveneens niet significant. Indien deze parameter gemonitord zou worden in een grotere steekproef zou dit misschien wel een statistisch significant resultaat kunnen opleveren.

Bij de biggen werden multiple ziektefactoren opgevolgd. Enkel biggendiarrée wordt als hoofdvariabele beschouwd omdat deze de voornaamste problemen veroorzaakt bij biggen jonger dan drie tot vier weken en omdat deze het sterkst beïnvloed kan worden door de was- en desinfectieprocedure. De infectiebron kan afkomstig zijn van omgeving (inerte materialen of lucht/aërogeen) of van de zeug (vulvaire mucosae, huid en mest) (Zimmerman et al., 2012; Haesebrouck, 2014). De laagste frequentie diarree werd gezien in de WO groep. De daling van, die mogelijks te wijten is aan de was- en desinfectieprocedure, is onvoldoende om significant te zijn. Wat betreft de overige aandoeningen bij de biggen: gezwollen gewrichten, spreidzit, dermale aandoeningen en hernia's verwachten we enkel een effect van de was- en desinfectieprocedure op de dermale aandoeningen. Er werd slechts eenmalig een dermale afwijking waargenomen in een toom van de WO groep en geen significant verschil werd opgemerkt tussen de drie testgroepen. Dit strookt niet met onze verwachtingen aangezien in de WO groep de meeste hygiënische maatregelen zijn genomen. We nemen aan dat het om een toevalsbevinding gaat. Echter is het mogelijk dat door het mengen van de biggen, tussen de testgroepen, de verschillen in de biggenparameters minder opmerkelijk waren.

Naast voorgaande parameters werd tot slot nog de eetlust van de zeug opgevolgd. Een verminderde eetlust kan optreden door multiple factoren zoals ziekte, stress, moeilijke partus, enz. Dit werd ondermeer beschreven bij Actinomycose, een pijnlijke aandoening die de uier kan aantasten (Haesebrouck, 2014). We zouden verwachten dat de omstandigheden in de WO en W groep gunstiger zijn dan in de C groep waardoor de eetlust van de zeugen in deze testgroepen hoger zou kunnen liggen. Er werd niet aan onze verwachtingen voldaan aangezien de gemiddelde eetlust het beste was in de door ons minst optimaal beschouwde testgroep, groep C.

2.2.5 Conclusie

Er werd geen significant verschil opgemerkt tussen de drie testgroepen wat de betreft de meerderheid van de afhankelijke variabelen in deze proef. Hieruit kunnen we concluderen dat de methode die wij hebben toegepast in onze studie onvoldoende effectief blijkt te zijn om een reductie te bekomen in de bacteriële status van de uier. Hierdoor was geen significant verschil aantoonbaar tussen de controlegroep en de twee andere testgroepen die werden onderworpen aan onze was- en desinfectie procedure. Het enige significante gegeven dat aanwezig was met betrekking tot de gewichten van de biggen kan, zoals eerder aangehaald in de discussie, verworpen worden en heeft geen significante waarde voor het onderzoek. De resultaten hebben de verwachtingen niet kunnen vervullen. De keuze voor een praktisch haalbare proef werd gemaakt met de intentie ze eventueel in de praktijk te kunnen toepassen. Uit onze studie blijkt echter dat een wasstap, louter met hoge druk en eventueel een additionele ontsmetting van de uier, geen reductie van de kiemen op de uier geeft. Andere interventies zoals het wassen met zeugenshampoo of het aanwenden van aparte borstels of sponzen bij iedere zeug kan mogelijk verbetering opleveren. Meer onderzoek is echter nodig om dit te bevestigen.

2.3 PED

2.3.1 Inleiding

Porciene Epidemische Diarree (PED) is een ziekte die veroorzaakt wordt door een coronavirus. In de jaren tachtig werd het virus frequent geïsoleerd in verschillende Europese landen waaronder België. De symptomen waren eerder mild en troffen vooral zeugen en vleesvarkens. Na 1990 daalde het voorkomen van PED in Europa en uitbraken werden een uitzondering. In 1997 werden geen antistoffen meer gevonden op vleesvarkensbedrijven in België. Ook een studie van Veepeiler in 2014 heeft aangetoond dat er in de Belgische varkensstapel geen antistoffen aanwezig zijn. In 2013 werd PED voor het eerst ook gedetecteerd in Noord-Amerika. Het virus spreidde verder binnen Noord-Amerika maar ook daarbuiten. In de VS gaat het om een variant die ernstige diarree en hoge mortaliteit veroorzaakt. De sterfte bij de biggen loopt bij sommige bedrijven op tot 100%. Bij zeugen wordt echter ook een mildere variant van PED teruggevonden, met weinig tot geen sterfte. Eind 2014 werd PED opnieuw gedetecteerd in verschillende Europese landen (Frankrijk, Duitsland, Nederland). In deze landen gaat het eveneens om een mildere variant. Begin 2015 was er ook een eerste geval in België.

Het voornaamste symptoom van PED is waterige diarree die bij verschillende leeftijden kan voorkomen. Het aantal dieren dat ziek wordt en het sterftepercentage kunnen sterk variëren. Deze zijn afhankelijk van het virus, maar ook van de immuniteit van de dieren. De tijd tussen de besmetting en het voorkomen van symptomen ligt tussen de één en vijf dagen.

Vooraf bij de agressieve stammen kan de impact enorm zijn. De invloed is het grootst op zeugenbedrijven, aangezien bij zuigende biggen de sterfte kan oplopen tot meer dan 80%. Bij gespeende biggen en vleesvarkens schommelt het sterftepercentage tussen 1 en 5% maar zal er eveneens verlies zijn door dalende groei. Vleesvarkens die de ziekte doormaken, herstellen doorgaans na zeven tot tien dagen. Besmetting van een bedrijf met PED kan bijgevolg ernstige financiële gevolgen hebben met een verlies tot 207 euro per zeug en 6,5 euro per vleesvarken.

Sinds de eerste positieve diagnose eind januari 2015 in Wallonië, meldden ook privé-labo's meerdere positieve gevallen verspreid over het land. Er was nood aan een centraal punt om alle gegevens omtrent PED-diagnostiek te verzamelen op en te rapporteren en de evolutie van de situatie op langere termijn op te volgen.

2.3.2 Doelstelling

Het doel is nagaan hoe de situatie in België op langere termijn evolueert aan de hand van serologische screenings (periode vanaf juli 2015 tot 2018).

2.3.3 Materiaal en methoden

Sinds 2014 vind een jaarlijkse serologische screening bij zeugen uitgevoerd op de stalen binnengebracht in het kader van de Aujeszkybemonstering plaats.

In 2018 gebeurde deze screening in de periode juli/augustus. Deze screening verliep gelijkaardig als de voorbije jaren namelijk via onderzoek naar antistoffen (IPMA) en dit op twaalf bedrijven per provincie en op vijf zeugensera per bedrijf. Hieruit kan worden afgeleid of PED al dan niet wijdverspreid is of is in België.

2.3.4 Resultaten en discussie

Bij de eerste screening door Veepeiler in 2014 testten alle 500 stalen, afkomstig van 100 bedrijven, negatief op antistoffen. Dit betekent niet alleen dat er op dat moment geen spreiding was van PED in de zeugenstapel, maar ook dat de Belgische varkenspopulatie niet beschermd was.

Bij de screening in 2015 (380 stalen, 76 bedrijven) had 25% van de onderzochte zeugenpopulatie antistoffen tegen het virus. 57% van de bedrijven had minstens één zeug met antistoffen tegen het virus. Dit wijst op een duidelijke aanwezigheid van PED op de Belgische bedrijven, al dan niet met klinische symptomen.

Bij de derde screening in december 2016 – februari 2017 (334 stalen, 68 bedrijven) was slechts 2% van de zeugen positief en dit op op 10% van de bedrijven onderzocht door Veepeiler. Dit wijst terug op een daling van het aantal zeugen met antistoffen in Vlaanderen, waardoor ze ook opnieuw gevoelig worden. Deze daling kan een verklaring zijn voor de recente PED-gevallen.

Bij de laatste screening uitgevoerd in 2018 (395 stalen, 79 bedrijven) testten alle stalen negatief. Er werden geen antistoffen tegen PED teruggevonden in de zeugenpopulatie. Dit betekent dat we opnieuw te maken hebben met een gevoelige populatie.

2.3.5 Conclusie

Uit de resultaten van de laatste screening in 2018 blijkt dat er geen antistoffen tegen PED meer aan te treffen zijn in de Belgische zeugenpopulatie. Dit betekent enerzijds dat er geen recente spreiding is geweest van PED maar anderzijds ook dat er geen bescherming is tegen het virus. Bijgevolg moeten we waakzaam blijven voor insleep van PED en de nodige bioveiligheidsmaatregelen blijven hanteren om het risico op infectie te beperken.

3 Praktijkgerichte deelprojecten nog lopende in 2018

3.1 Evaluatie van een Brix refractometer om de antistoffenconcentratie in serum van pasgeboren biggen te bepalen.

3.1.1 Inleiding

Voldoende colostrum opname bij biggen is essentieel voor de overleving en de prestaties van de biggen. De effecten zijn niet enkel van belang tijdens de lactatie, maar blijven aanhouden tot slachtleeftijd (Declerck et al., 2016). Recent onderzoek door de aanvragers heeft aangetoond dat de colostrumproductie en –opname zeer variabel zijn, en dat veel zeugen onvoldoende colostrum produceren en veel biggen onvoldoende colostrum opnemen (Decaluwé et al., 2013; Declerck et al., 2015, 2016, 2017). Dit bevestigt eerder onderzoek (Le Dividich et al., 2005a; Foisnet et al., 2010). Deze onderzoekers toonden aan dat 30-45% van de zeugen onvoldoende colostrum produceert voor de biggen. In tegenstelling tot de melkproductie neemt de colostrumproductie bij zeugen immers niet toe met stijgende worpgrootte.

Een goede colostrumopname is ook belangrijk voor de werkzaamheid van bepaalde vaccinaties bij zeugen die als doel hebben de biggen te beschermen bv. vaccinatie tegen geboortediarrée, atrofische rhinitis, enz. Dergelijke vaccinaties zijn enkel zinvol als de biggen voldoende colostrum opnemen. Voldoende colostrumproductie en –opname zullen in de toekomst belangrijk blijven en mogelijk nog aan belang winnen. Daarom is het essentieel om de colostrumopname door de biggen op een eenvoudige manier te kunnen meten.

Het gebruik van een Brix refractometer is een goedkope, snelle en goede methode om de immunoglobuline G (IgG) concentratie in colostrum van zeugen te bepalen (Hasan et al., 2016). Echter, een voldoende concentratie in colostrum garandeert nog niet een voldoende IgG concentratie in de biggen omdat colostrumproductie en -opname ook een rol spelen. Het zou dus interessant zijn om na te gaan of een Brix refractometer ook gebruikt kan worden voor het bepalen van IgG in het serum bij biggen, en om aldus na te gaan of biggen voldoende colostrum hebben opgenomen. Brix refractometers werden reeds succesvol gebruikt om kalveren met voldoende en onvoldoende serum IgG concentratie te identificeren (Morril et al., 2013; Deelen et al., 2014).

Opname van IgG door de biggen is enkel mogelijk tijdens de eerste 24 uur na de geboorte. Biggen moeten minstens 160-170 g colostrum per kg geboortegewicht opnemen (Le Dividich et al., 2005a). Volgens Le Dividich et al. (2005b) bedraagt de maximale serum IgG concentratie bij biggen ongeveer 25-26 mg/mL en wordt dit bereikt wanneer de biggen minstens 280 g colostrum per kg lichaamsgewicht opnemen. Anderzijds werd een minimum van 11 mg/mL vastgesteld wanneer de biggen gemiddeld 140 g colostrum per kg geboortegewicht opnamen.

3.1.2 Doelstelling

Deze studie zal het gebruik van een Brix refractometer onderzoeken om het serum IgG gehalte in neonatale biggen te bepalen. Dit zou toelaten om in de praktijk op een eenvoudige manier te kunnen nagaan in welke mate biggen voldoende colostrum hebben opgenomen.

3.1.3 Materiaal en methoden

Studiepopulatie

De studie wordt op drie varkensbedrijven uitgevoerd. Binnen elk bedrijf zijn 15 zeugen van verschillende pariteit geselecteerd. Per zeug zijn biggen ad random geselecteerd (n=90 biggen per bedrijf, 270 voor de 3 bedrijven).

Staalnames

Biggen:

- Bloedname 24h na de geboorte
- Colostrumopname tijdens de eerste 24h volgens de methode van Decaluwé et al. (2013). Hierbij worden de biggen gewogen bij geboorte, na 17-24h en wordt de tijd gemeten tussen de geboorte en de eerste zuigbeurt.

Zeug:

- Colostrum (van verschillende tepels) binnen 3h na de geboorte van eerste big

Analyses

Colostrum:

- IgG concentratie d.m.v. Brix refractometer (Brix%) (Hasan et al. 2016)
- IgG en IgA d.m.v. kwantitatieve ELISA (Pig IgG ELISA kit, Bethyl Laboratories, Montgomery, USA). Alle stalen zullen in duplo getest worden op dezelfde plaat zoals beschreven in eerder onderzoek (Decaluwé et al. 2013)
- Totaal eiwit met refractometer

Serum:

- IgG concentratie d.m.v. Brix refractometer (Brix%)
- IgG en IgA d.m.v. kwantitatieve ELISA (Pig IgG ELISA kit, Bethyl Laboratories, Montgomery, USA). Alle stalen zullen in duplo getest worden op dezelfde plaat. (Decaluwé et al. 2013)
- Totaal eiwit met gewone refractometer
- Elektroforese en totaal eiwit (DGZ)

Analyse van de gegevens

- Gemiddelde waarden in colostrum en serum van biggen, gemeten via de verschillende methoden, en eventuele verschillen naargelang pariteit van de zeug en gewicht van de big
- Associaties tussen de Brix waarden in serum enerzijds, en de andere parameters gemeten in het serum, de Brix colostrum waarden en de colostrumopname anderzijds. In eerste instantie zullen de werkelijke resultaten (continue waarden) gebruikt worden. Associaties zullen dan onderzocht worden m.b.v. Bland-Altman grafieken en regressie analyses. Er zal nagegaan worden of er beter met bepaalde cutoff waarden voor de Brix resultaten gewerkt wordt. In dit laatste geval zullen binaire analyses gebeuren. De elektroforese resultaten kunnen als gouden standaard dienen.

3.1.4 Stand van zaken

Het project startte in november 2018. De bedrijven werden geselecteerd en de staalnames werden uitgevoerd. De laatste resultaten worden afgewacht alvorens de gegevens kunnen worden verwerkt.

De resultaten zullen aangeven in welke mate de Brix refractometer betrouwbare resultaten geeft om de colostrumopname door de biggen te beoordelen.

3.2 Onderzoek naar factoren met invloed op de werpduur bij zeugen

3.2.1 Inleiding

In de periode rond het werpen ondergaan zeugen zeer veel veranderingen zoals verplaatsing van uit de groepshuisvesting naar een beperktere bewegingsvrijheid in de kraamhokken, ander voeder (werpmeel overgaande naar lactatiemeel) [1, 2] en hormonale en metabole veranderingen [3].

In de kraamstal zelf zijn er veel factoren zoals huisvesting, management, medicatie, voederschema, drinkwatervoorziening en zeugfactoren (ras, leeftijd), die het werpproces kunnen beïnvloeden. Een vlot werpproces is belangrijk. Hoe vlotter het werpen verloopt, hoe minder doodgeboortes er optreden [4, 5], hoe minder arbeid en hoe meer biggen er over blijven. Ook vanuit welzijnsoverwegingen en diergezondheid is het belangrijk dat het werpproces vlot verloopt [5-7]. Biggen die tijdens de partus blootgesteld zijn aan zuurstoftekort, door bv. een langdurige partus, vertonen de eerste tien dagen een verminderde vitaliteit, groeien minder snel en hebben meer kans op sterfte [5]. Een vlotte partus zal de gezondheid van de zeug positief beïnvloeden, wat dan eveneens de volgende partus ten goede komt. Een normale partus duurt gemiddeld 3 uur [4], maar kan variëren van anderhalf uur tot wel bijna 6 uur volgens De Roth en Downie [8].

Het onderzoek van Vanderhaeghe et al. [9, 10] toonde aan dat volgende factoren geassocieerd waren met het aantal doodgeboortes: ras, douchen van de zeugen, toezicht bij de partus, spekdikte van de zeug bij het werpen, werpen gedurende de dag of nacht. Het zou interessant zijn om na te gaan of deze factoren eveneens invloed hebben op de partusduur. Door Oliviero et al. [11] werden reeds belangrijke factoren aan het licht gebracht die een invloed kunnen hebben op de duur van de partus: mogelijkheid tot het vrij rondlopen in het kraamhok, constipatie en vervetting tijdens het finale stadium van de dracht vermijden. Echter, over de invloed van de mogelijkheid van het loslopen van de zeugen in de kraamperiode op de duur van de partus zijn de meningen verdeeld [12], en naast deze factoren zijn er nog tal van andere factoren (zie hogerop) die het werpproces kunnen beïnvloeden.

3.2.2 Doelstelling

Factoren onderzoeken die de partusduur bij zeugen beïnvloeden. Er zal vooral gezocht worden naar factoren die binnen een bedrijf tussen zeugen verschillen en die door de varkenshouder gemakkelijk kunnen verbeterd worden.

3.2.3 Materialen en Methodes

Selectie van de bedrijven

- bedrijven met >100 zeugen in een 3, 4 of 5 wekensysteem (voldoende grote zeugengroepen)
- bereid zijn om mee te werken aan de studie
- beschikken over technische data van de zeugen

Algemene bedrijfsgegevens

Deze informatie zal via een vragenlijst bekomen worden.

- aantal zeugen
- vaccinatieschema's en medicatie bij zeugen en biggen
- kengetallen van de zeugen van het afgelopen jaar: productiegetal, worpgetal, worpindex, aantal levend en doodgeboren, % biggensterfte kraamstal, vervangingspercentage zeugen
- algemene bedrijfsvoering
- voeding en drinkwater
- huisvesting

Verder zal geïnformeerd worden naar de belangrijkste problemen bij de zeugen, zuigende en gespeende biggen

Opvolgen van de zeugengroepen

Per bedrijf zullen er 2 zeugengroepen opgevolgd worden. In de mate van het mogelijke zullen zo veel mogelijk zeugen van de werpgroep opgevolgd worden (30 zeugen per werpgroep, afhankelijk van het aantal zeugen van het bedrijf en het wekensysteem):

Algemene zeugfactoren

Pariteit, rustige/onrustige zeug (subjectieve beoordeling varkenshouder), gegevens vorige worp (indien geen eerste worpszeug): zoals doodgeboren biggen, totaal levend geboren, partusinductie, drachtduur, ras / zeugenlijn

Huisvesting

Soort groepshuisvesting tijdens dracht, inrichting kraamhokken, temperatuur en relatieve vochtigheid voor en tijdens werpen, is de kraamstal droog wanneer zeugen binnengebracht worden, al dan niet nestmateriaal en soort (stro, zaagsel, jute zak, touw,...)

Voeder & drinkwater

- conditie van de zeug: rugspekdicke bij spenen / insemineren vorige cyclus , dag 85 dracht, bij werpen
- consistentie van de mest volgens scoringsstelsel van Oliviero et al., [13] 0= afwezigheid van feces, 1=droog en korrelvormig, 2= tussen droog en normaal, 3=normaal en zacht, goed gevormd, 4=tussen normaal en dun, nog gevormd maar niet stevig, 5= zeer dunne ontlasting
- voederschema en samenstelling van het voeder (algemeen, mineralen, vezels) tijdens dracht en rondom werpen
- drinkwatervoorziening tijdens dracht en rondom werpen; soort en kwaliteit van het drinkwater

Bedrijfsvoering

- tijdstip waarop zeugen naar de kraamhokken worden verplaatst
- manier waarop zeugen naar kraamstal gaan (1 gemakkelijk, rustig 2 aansporing nodig 3 moeizaam)
- rust in de kraamstal (de lichten aan/uit, radio aan/uit, frequentie rondgang varkenshouder...)
- Reinigen en ontsmetten van kraamstal

Werproces

De partusduur zal bepaald worden. De partus wordt verondersteld te zijn beëindigd als er 1) voldoende aantal biggen zijn geboren, 2) de biggen zijn opgedroogd en 3) de nageboortes zijn afgekomen. Verder zullen volgende gegevens genoteerd worden:

- oxytocine toediening: schema, tijdstip werpen, product
- mate van toezicht tijdens de partus en geboortehulp (wanneer, hoe, door wie, enz.)
- tussenbigtijd
- aantal levend en doodgeboren biggen en gemummificeerde biggen,
- tijdstip van werpen tijdens dag / nacht

Via deze hogergenoemde factoren zal gekeken worden welke risicofactoren een belangrijke invloed uitoefenen op de partusduur. Op basis van de analyse zal dan kunnen besloten worden aan welke van deze opgesomde risicofactoren de varkenshouder meer belang moet hechten.

3.2.4 Stand van zaken

Het project startte in november 2018. De bedrijven werden reeds geselecteerd en momenteel worden de bedrijfsgegevens verzameld.

Met deze gegevens willen we aantonen in welke mate factoren die binnen een bedrijf verschillen tussen zeugen en door de varkenshouder eenvoudig kunnen aangepast worden (bv. conditie van de zeug, constipatie, partusinductie enz.) de partusduur bij onze huidige hoogproductieve zeugen beïnvloeden.

3.3 Belang van pH meting van de feces van zeug en big in relatie tot darmgezondheid

3.3.1 Inleiding

Neonatale diarree bij biggen is een frequent voorkomend probleem. In veel gevallen is de oorzaak te wijten aan *E. coli* infecties en kan het probleem verholpen worden door de zeug te vaccineren tijdens de dracht. Echter, op sommige bedrijven blijven de problemen aanslepen, ondanks een correct vaccinatiebeleid en passende bedrijfsvoering, en is de oorzaak van de neonatale diarree niet duidelijk. Sinds enkele jaren wordt deze problematiek frequent gezien in Deense en Zweedse varkensbedrijven, en wordt beschreven als New Neonatal Piglet Diarrhea syndrome (NNPD). (Konsted et al. 2013; Hermann-Bank et al. 2015; Larsson et al. 2016). Een infectieuze oorzaak is niet gekend, en er wordt gesuggereerd dat de intestinale gezondheid van de zeug een belangrijke rol speelt, omdat de microbiota van de zeug belangrijk is voor het ontwikkelen van de microbiota van de neonatale biggen. Ook in een aantal Belgische varkensbedrijven hebben de aanvragers van dit project, via Veepeiler varken deze problematiek in de praktijk gezien.

Het is momenteel niet duidelijk welke parameters er kunnen gebruikt worden om op een eenvoudige manier de intestinale gezondheid van zeugen te kunnen inschatten. De pH van de feces zou mogelijk een indicatie kunnen geven. Het meten van de pH kan ook op een vrij eenvoudige manier uitgevoerd worden. Uit een beperkt aantal praktijkmetingen in een bedrijf met neonatale diarree (via bedrijfsbezoeken Veepeiler varken) bleek dat de pH van de zeugenfeces soms zeer hoog kan zijn (>8,5), wat er op kan wijzen dat de eiwitvertering niet goed verloopt waardoor er ammoniak gevormd wordt in de dikke darm. Dit kan leiden tot een verstoring van de intestinale microbiota bij de zeug en vervolgens ook bij de biggen. Het is echter niet gekend wat de normale pH waarden zijn bij zeugen doorheen de productiecycclus, en bij zuigende biggen met en zonder diarree, en of er een verband kan gelegd worden tussen pH waarden van feces en diarree. Gegevens aangaande pH van feces bij varkens dateren van de jaren '60 en '70 (zie tabel 9).

Tabel 9: pH warden t.h.v. het maag-darmstelsel bij varkens van verschillende leeftijden

Leeftijd	Maag	Dunne darm		Caecum	Colon
		Voorste	Achterste		
Neonataal	4.0 - 5.9	6.4 – 6.8	6.3 – 6.7	6.7 – 7.7	6.6 – 7.2
Voor spenen	3.0 – 4.4	6.0 – 6.9	6.0 – 6.8	6.8 – 7.5	6.5 – 7.4
Volwassen	2.3 – 4.5	3.5 – 6.5	6.0 – 6.7	5.8 – 6.4	5.8 – 6.8

Compilatie van studies: Smith and Jones (1963), Smith (1965), Boucourt and Ly (1975), Clemens et al. (1975), Braude et al. (1976), Cranwell et al. (1976), Barrow et al. (1977), Schulze (1977), Schulze and Bathke (1977).

3.3.2 Doelstellingen

- De pH bepalen in de feces van zeugen doorheen de reproductiecycclus (lactatie, dracht) en referentiewaarden vastleggen
- Verschillen nagaan tussen pH waarden in feces van zeugen op bedrijven met en bedrijven zonder problemen met neonatale diarree bij de biggen

3.3.3 Materiaal en methoden

Studie populatie

Er zullen 6 bedrijven geselecteerd worden: 3 met (>10% van de tomen) en 3 zonder (<10% van tomen) problemen met neonatale diarree bij de biggen. In elk bedrijf zullen 30 zeugen van verschillende pariteiten geselecteerd worden, en drie biggen (lichte, matige, zware) per zeug.

Studieopzet

Van de zeugen zullen op verschillende tijdstippen fecesmonsters genomen worden: 7 dagen na spenen, tijdens de dracht (dag 30, 60, 90) en tijdens de lactatie (dag van werpen, dag 3, 7, 14 en 21). Er zullen ook feces monsters genomen worden van biggen op dag 1, 2, 3, 7, 14 en 21 na geboorte.

De samenstelling van de verschillende zeugenvoeders doorheen de productiecycclus (dracht, rondom werpen, lactatie, na spenen) zal onderzocht worden, samen met het voederschema. Tevens zal de rugspekdicke bepaald worden op dag 30 en 90 van de dracht, bij werpen en rond spenen. Op elk bedrijf zal ook de drinkwaterkwaliteit t.h.v. de drinknippel bepaald worden.

Op elk bedrijf zullen ook volgende gegevens onderzocht worden: het voorkomen van diarree bij de biggen, het antibioticumgebruik, en in geval van diarree (geboortediarree of later tijdens de lactatie) zullen mogelijke infectieuze oorzaken worden nagegaan.

Metingen

De pH van de feces van zeug en big zal gemeten worden volgens de methode van Houdijk et al. (1998) and Dai en Karring (2014).

De rugspekdicke van de zeugen zal echografisch gemeten worden met een 5 MHz lineaire probe (Tringa 50 S, Esaote Pie Medical Tringa Linear, Maastricht, The Netherlands) t.h.v. de laatste rib.

Het drogestofgehalte van de feces van zeug en big zal onderzocht worden volgens de methode gebruikt in het laboratorium van diervoeding van de faculteit diergeneeskunde.

Er zal een Weende analyse toegepast worden op de zeugenvoeders en ook de fijnheid van de voeders zal bepaald worden. De fijnheid kan immers ook de verteerbaarheid beïnvloeden (Maxwell et al., 1970).

Op elk bedrijf zal de drinkwaterkwaliteit (bacteriologisch en chemisch) onderzocht worden.

Analyse van de gegevens

De gemiddelde pH waarden zullen berekend worden samen met de variatie.

Associaties tussen de samenstelling van het zeugenvoeder en de andere gemeten parameters (drinkwaterkwaliteit, rugspekdicke) enerzijds en de pH van de feces bij zeug en big anderzijds zullen onderzocht worden d.m.v. lineaire regressie.

Associaties tussen pH waarden van de feces van zeugen en biggen enerzijds en het voorkomen van diarree anderzijds zal onderzocht worden d.m.v. linear mixed regression analyses.

3.3.4 Stand van zaken

Het project startte in november 2018 en de deelnemende bedrijven zijn reeds geselecteerd. De gegevens worden verzameld en zullen gebruikt worden om aan te tonen in welke mate het meten van de zuurtegraad van de feces bij zeugen belangrijk is om de (darm)gezondheid van de zeugen en biggen in te schatten. Mocht dit bruikbaar zijn onder bepaalde omstandigheden, dan vormt dit een eenvoudige manier voor de varkenshouder en dierenarts om de frequent voorkomende intestinale problemen bij zuigende biggen op te sporen en te remediëren.

3.4 Oorzaken en risicofactoren van diarree bij zuigende biggen op Waalse varkensbedrijven.

3.4.1 Inleiding

Diarree is één van de meest voorkomende problemen en een belangrijke oorzaak van sterfte bij zuigende biggen. Meestal wordt diarree veroorzaakt door een onevenwicht tussen de maternale immuniteit en de infectiedruk. Diarree in de kraamstal is een multifactorieel probleem waarbij verschillende pathogenen (virussen/bacteriën/parasieten) en niet-infectieuze factoren een rol kunnen spelen. De meest voorkomende infectieuze oorzaken zijn *Escherichia coli* ETEC, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus hirae*, rotavirus, *Clostridium difficile*, *Cystoisospora suis*. Neonatale diarree kan een behoorlijke economische impact hebben op een bedrijf. Dit omwille van het effect op het sterftecijfer en het gewicht van de biggen in de kraamstal en op moment van spenen. Bovendien zal er een effect zijn op de darmgezondheid waardoor absorptie van nutriënten vermindert en de biggen gevoeliger worden voor infecties tijdens de batterijperiode. Tot slot leidt diarree in de kraamstal vaak tot een verhoogd antibioticaverbruik.

3.4.2 Doelstelling

Het doel van het project is enerzijds bepalen welke pathogenen een rol spelen bij diarree bij zuigende biggen op vermeerderingsbedrijven al dan niet met afmest in Wallonië. Anderzijds willen we met dit project de risicofactoren die hiermee verband houden in kaart brengen. Naast de routine onderzoeken zullen in het kader van dit project de virulentiefactoren van de geïsoleerde *E. Coli* stammen en de toxines van de *Clostridium perfringens* worden onderzocht.

3.4.3 Materiaal en methoden

Aan dit project zullen 12 bedrijven kunnen deelnemen waarbij per deelnemend bedrijf maximum 3 biggen zullen worden onderzocht. Deelnemende bedrijven moeten reeds langere periode problemen ondervinden met diarree in de kraamstal. Op de deelnemende bedrijven zal een enquête worden afgenomen om het voorkomen van risicofactoren in kaart te brengen.

Bedrijven zullen vrijwillig kunnen deelnemen aan het project op voorwaarde dat er problemen zijn met diarree bij biggen in de kraamstal. Deze bedrijven zullen bezocht worden op het moment dat problemen verwacht worden. Tijdens het bezoek zullen maximum 3 biggen voor autopsie geselecteerd worden. Deze biggen moeten representatief zijn voor de problematiek en mogen niet behandeld zijn. Bij zeugen van de aangetaste groepen zal rectale temperatuur worden gemeten en spekdiktemeting worden uitgevoerd. Ook zal de temperatuur gemeten worden van de biggen uit hetzelfde nest van de biggen aangeboden voor autopsie. Tijdens dit eerste bezoek zal eveneens de enquête worden afgenomen van de veehouder en zijn bedrijfsdierenarts. Tijdens een tweede bezoek zal bijkomende info verzameld worden en zullen indien nodig extra onderzoeken worden uitgevoerd. Tijdens dit bezoek zullen de resultaten van de eerste analyses worden besproken samen met de veehouder en zijn dierenarts en vergeleken met de risicofactoren op het bedrijf.

Volgende onderzoeken zullen worden uitgevoerd bij de biggen:

- Aerobe cultuur: *E. coli* en *Enterococcus hirae*
- Anaerobe cultuur: *C. perfringens*
- Specifieke cultuur: *C. difficile*
- ELISA: rotavirus
- PCR: coronavirus, TGE en PED (1 pool per bedrijf)
- Antibioqram bij een positief bacteriologie
- PCR virulentiefactoren *E. coli* (STx2e, F41, F4, F18, Lt1, F5, F6, Sta, Stb) (één pool per bedrijf)
- PCR toxines *Clostridium perfringens* (alpha, bèta, bèta2, iota, epsilon, enterotoxine) (één pool per bedrijf)
- Flottatie voor *Cystoisospora suis* afhankelijk van de leeftijd van de dieren

- Histopathologie indien de tijd tussen sterfte van de big en staalname minder dan één uur bedraagt
- PCR PRRS (max 9 dieren, pool per 3) indien er een vermoeden is van virale circulatie
- Bacteriologisch onderzoek van het drinkwater in de kraamstal.

3.4.4 **Stand van zaken**

Omwille van het voorkomen van de Afrikaanse Varkenspest in bepaalde delen van Wallonië in 2018 werd het project voorlopig on hold gezet.

3.5 Kreupelheid bij vleesvarkens

3.5.1 Probleemstelling

Veepeiler varken krijgt steeds meer vragen vanuit de het veld in verband met pootproblemen bij varkens. 8% van de aanvragen voor begeleiding door Veepeiler in 2017 had te maken met locomotieproblemen bij vleesvarkens.

Pootproblemen bij vleesvarkens kunnen verschillende oorzaken hebben. Kreupelheid kan onder andere een infectieuze oorzaak hebben, traumatisch zijn of een gevolg zijn van een verstoord calciummetabolisme. Welke oorzaken voornamelijk een rol spelen op de Vlaamse bedrijven die met de problematiek te maken hebben, is nog niet duidelijk.

Kreupelheid bij varkens kan erg nadelige gevolgen hebben. De productiviteit van deze dieren daalt wat een economisch nadeel betekent voor de varkenshouder. Bovendien worden deze dieren vaak behandeld wat tot een verhoogd antibioticagebruik kan leiden. Bovendien is kreupelheid door de pijn en het ongemak dat dit veroorzaakt nefast voor het dierenwelzijn. Tot slot worden manke dieren niet geslacht.

Het is bijgevolg van belang dat een correcte diagnose kan worden gesteld. Eenmaal de oorzaak gekend, kan gezocht worden naar een preventieve aanpak voor het probleem.

Om na te gaan welke de belangrijkste oorzaken zijn van kreupelheid bij vleesvarkens in Vlaanderen en ons op deze manier dichterbij te brengen bij de mogelijke risicofactoren voor het probleem, stellen we dit project voor.

3.5.2 Doelstelling

Het project zal a.d.h.v. autopsies en analyses een antwoord geven op de vraag welke diagnoses er kunnen gesteld worden in geval van kreupelheid bij vleesvarkens. Dit zal ons dichterbij brengen bij de oorzaken of de risicofactoren van dit probleem. Hoe duidelijker of specifieker de diagnose, de omschrijving van het probleem of de letsels, hoe gemakkelijker het zal worden om tot controle- en preventievemaatregelen te komen die als doel hebben de nadelige gevolgen van het probleem (daling rendabiliteit en dierenwelzijn en verhoogd geneesmiddelenverbruik) te beperken.

3.5.3 Materiaal en methoden

Bedrijven die te maken hebben met de problematiek zullen zich via de bedrijfsdierenarts vrijwillig kunnen opgeven om deel te nemen aan het project.

Het bestaan van het project en de mogelijkheid tot deelname zal gecommuniceerd worden via nieuwsbrieven, de vakpers en door middel van persoonlijke contacten met bedrijfsdierenartsen.

Er zullen maximum 10 bedrijven kunnen deelnemen aan het project.

Voorwaarde voor deelname is het aanwezig zijn van zichtbare pootproblemen (kreupelheid) bij de vleesvarkens met economische gevolgen (sterfte, niet kunnen leveren van de dieren,...) voor de veehouder. Verder moet ook de voorgeschiedenis van het bedrijf en de dieren gekend zijn. Indien het gaat over een vleesvarkensbedrijf moeten bijvoorbeeld ook gegevens beschikbaar of op te vragen zijn over de batterijperiode.

Op de deelnemende bedrijven zal volgende worden uitgevoerd:

- Uitgebreide autopsie van maximum 5 aangetaste dieren (met de typische problemen) verspreid over minstens 2 rondes met bijkomende onderzoeken om infectieuze oorzaken of botafwijkingen op te sporen. Voorwaarden voor het insturen van dieren voor autopsie:
 - Dieren met duidelijke symptomen van kreupelheid in de acute fase (chronische mankers worden niet aanvaard). Om veehouders te motiveren om dieren in de acute fase van het probleem op te offeren zal een vergoeding worden voorzien van 1 euro/kg voor elk dier dat wordt aangeboden in de acute fase van het probleem.
 - Dieren die niet recent behandeld zijn met antibiotica.

- Er wordt een duidelijke anamnese meegegeven met het kadaver waarin ook beschreven staat op welke poten het dier kreupelheid vertoont.
- Het dier werd geëuthanaseerd omwille van pootproblemen.

Het autopsieprotocol bestaat uit:

- Standaard autopsieverslag
 - Macroscopische beoordeling van alle gewrichten van de ledematen en het bekken
 - Macroscopische beoordeling van de wervelkolom
 - Macroscopische beoordeling van de klauwen
 - Macroscopische beoordeling van de hersenen
 - Staalname: 1 mengswab van tarsus en carpus voor PCR Mycoplasma hyosynoviae, PCR Mycoplasma hyorhinis, PCR Haemophilus parasuis en bacteriologisch onderzoek
 - Indien een afwijking in andere gewrichten worden waargenomen: Eén extra swab van de aangetaste gewrichten voor de hierboven beschreven analyses.
 - Staalname voor histologisch onderzoek: mediale condyl van de femur en de humerus van zowel de linker als de rechter poten inclusief groeischijven van de deze beenderen.
 - Indien een macroscopische afwijking in een ander gewricht wordt waargenomen: een extra staal voor histologisch onderzoek van het aangetaste gewricht.
 - Histologisch onderzoek van het botweefsel van minstens 4 condylen (mediale condylen van humerus en femur) en 4 groeischijven (humerus en femur) per dier en bijkomend extra histologisch onderzoek van eventuele gewrichten met zichtbare macroscopische letsels.
 - Bewaren van de klauwen.
 - Indien op autopsie duidelijk wordt dat het om een klauwproblematiek gaat zullen de swabs en stalen voor histologisch onderzoek niet onmiddellijk worden onderzocht maar in bewaring worden gehouden.
 - Indien tijdens de autopsie afwijkingen worden waargenomen aan andere organen kunnen stalen in bewaring worden genomen of extra onderzoeken worden uitgevoerd in samenspraak met de bedrijfsdierenarts. Deze onderzoeken vallen buiten dit project en worden dus niet vergoed door dit project.
- Voederonderzoek waarbij enkele parameters die van belang zijn voor het botmetabolisme worden onderzocht. Wanneer de problematiek begint kort nadat de dieren zijn overgeschakeld van voeder, zullen beide voeders worden onderzocht. Indien de varkens reeds meerdere weken hetzelfde voeder toegediend krijgen op het moment van de problemen zal enkel dit voeder worden onderzocht :
 - Ca/P verhouding
 - Zink en Koper
 - Voederetiket wordt opgevraagd en de voederfirma wordt geïnformeerd over het project en geconsulteerd over de samenstelling van het voeder.
 - Drinkwateronderzoek aan het einde van de leiding.
 - Eerste bedrijfsbezoek waarbij een enquête wordt afgenomen en een bedrijfsrondgang wordt uitgevoerd om mogelijke risicofactoren op het bedrijf in kaart te brengen. In de enquête komen onder andere volgende onderwerpen aanbod:
 - Genetica
 - Huisvesting biggen en vleesvarkens (type en staat vloer, bevuilding, ...)
 - Bezettingsdichtheid biggen en vleesvarkens
 - Voorkomen staartbijten/oortopnecrose
 - Prestaties/kengetallen
 - Vaccinatie- en behandelingschema
 - Additieven drinkwater (zuren)
 - Anamnese: leeftijd ontstaan symptomen, percentage aangetaste dieren, geslacht aangetaste dieren,
 - Een tweede bedrijfsbezoek wanneer alle resultaten gekend zijn om deze resultaten te bespreken met de bedrijfsdierenarts en de veehouder om de vermoedelijke oorzaak te identificeren en adviezen voor preventieve maatregelen te formuleren.

3.5.4 **Stand van zaken**

Tien bedrijven werden geselecteerd voor deelname en 8 ervan werden minstens eenmaal bezocht voor het afnemen van de enquête en het bepreken van de problematiek. Ook voeder- en drinkwateronderzoek werd reeds op alle bedrijven uitgevoerd. Autopsie, staalname en histologie werd uitgevoerd bij 25 dieren.

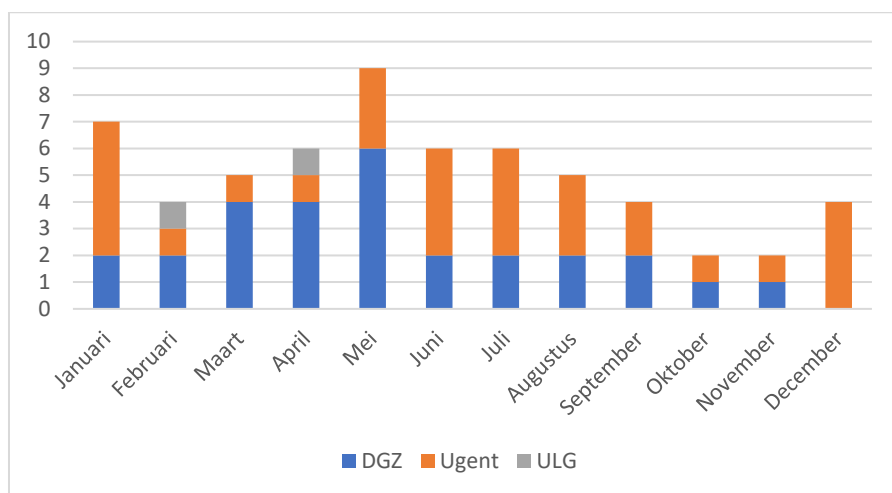
De deelnemende bedrijven, waar de problematiek nog aanwezig is, zullen verder gemotiveerd worden om het nog ontbrekend aantal varkens aan te bieden voor autopsie. De bedrijven zullen een tweede maal onderzocht worden om de evolutie van de problematiek en de resultaten van de uitgevoerde onderzoeken te bespreken. Wanneer alle gegevens beschikbaar zijn, zullen de gegevens van de verschillende onderzoeken worden samengevoegd en worden vergeleken om zo zicht te krijgen op mogelijke risicofactoren en controle- en preventiemaatregelen.

4 Bedrijfsbezoeken tweedelijnsdiergeneeskunde

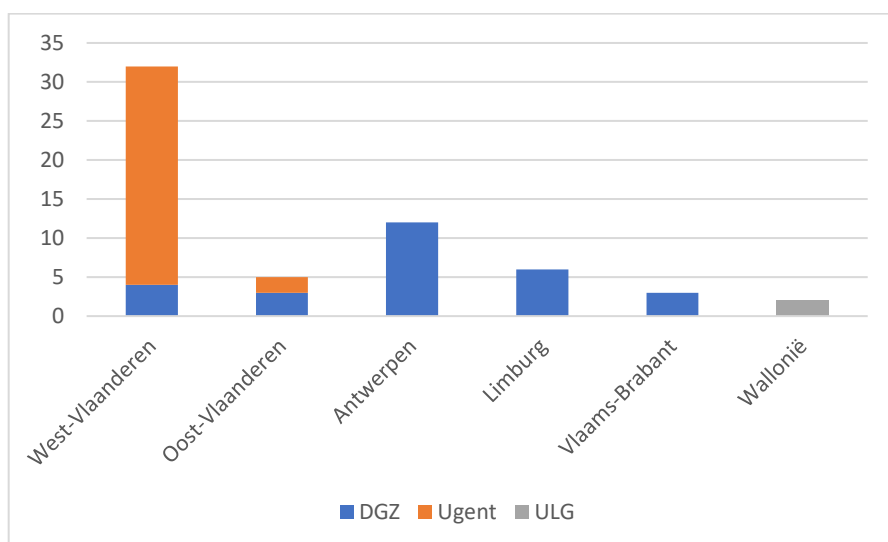
4.1 Aantal bezoeken

In 2018 kreeg Veepeiler 31 aanvragen tot bedrijfsbezoeken in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde. Dit resulteerde in 60 bedrijfsbezoeken (waarvan 29 herhalingsbezoeken) uitgevoerd in het kader van Veepeiler (figuur 8). Hiervan werden er 28 (15 herhalingsbezoeken) uitgevoerd door DGZ, 30 (14 herhalingsbezoeken) door de eenheid gezondheidszorg varken van de vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde van de faculteit Diergeneeskunde van UGent. Daarnaast werden ook 2 bezoeken op 2 bedrijven uitgevoerd door de Universiteit Luik.

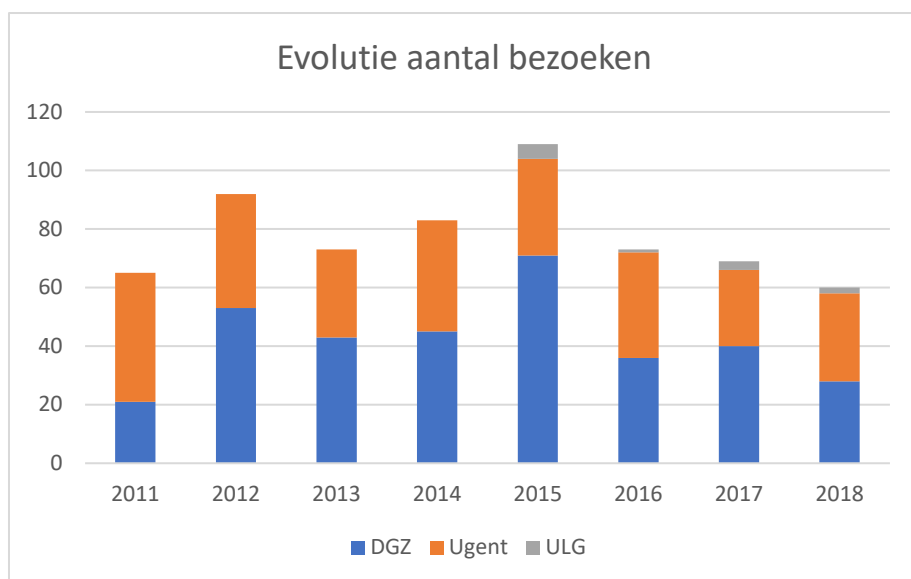
Zoals ook de voorgaande jaren het geval was werden de meeste bezoeken werden uitgevoerd in de provincie West-Vlaanderen (figuur 9). Dit is wellicht te verklaren door het hoge aantal varkensbedrijven in deze provincie.



Figuur 8: Maandelijks aantal bedrijfsbezoeken uitgevoerd in 2018 in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler.

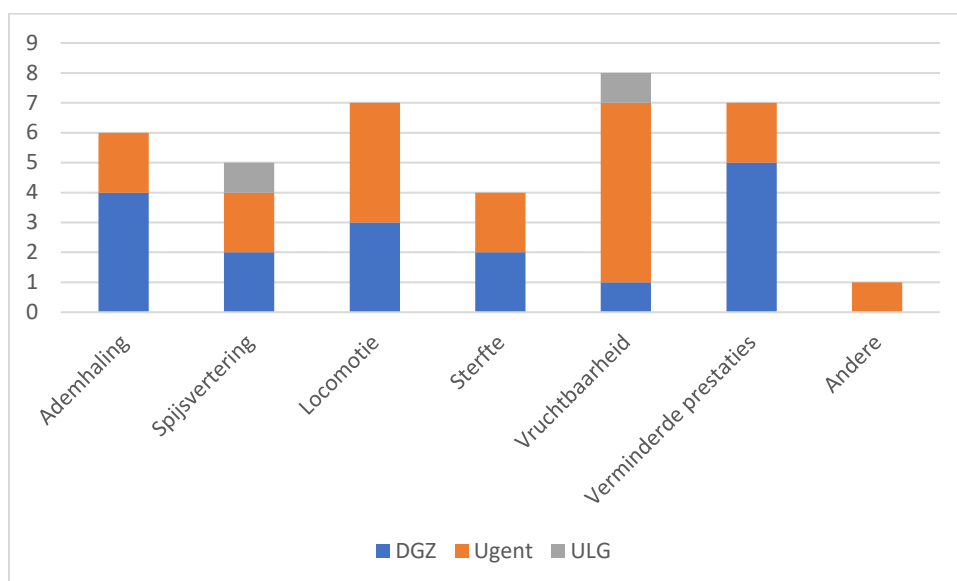


Figuur 9: Bedrijfsbezoeken uitgevoerd in 2018 in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler, weergegeven per provincie.



Figuur 10: Evolutie aantal bedrijfsbezoeken in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler over de jaren heen.

4.2 Redenen tot aanvraag van de bedrijfsbezoeken



Figuur 11: Redenen tot aanvraag tweedelijnsdiergeneeskundig bedrijfsbezoek van Veepeiler Varken in 2018.

De meest voorkomende reden tot aanvraag voor begeleiding via Veepeiler zijn vruchtbaarheidsproblemen. Onder vruchtbaarheidsproblemen vallen onder andere te veel doodgeboren biggen, verwerpers of herlopers maar eveneens problemen met de spermakwaliteit.

Problemen met locomotie en verminderde prestaties zijn de twee volgende meest voorkomende redenen om beroep te doen op Veepeiler. Locomotie gaat voornamelijk over kreupelheid bij zeugen of vleesvarkens. Op één bedrijf ging het echter om klauwproblemen bij pasgeboren biggen. Verminderde prestaties slaat op het voorkomen van te veel achterblijvers of wegwijners voornamelijk bij biggen in de kraamstal en de batterij. Tot slot was er ook een aanvraag omwille van het voorkomen van prolapsen bij zeugen, deze aanvraag werd ondergebracht onder de categorie 'andere' in figuur 11.

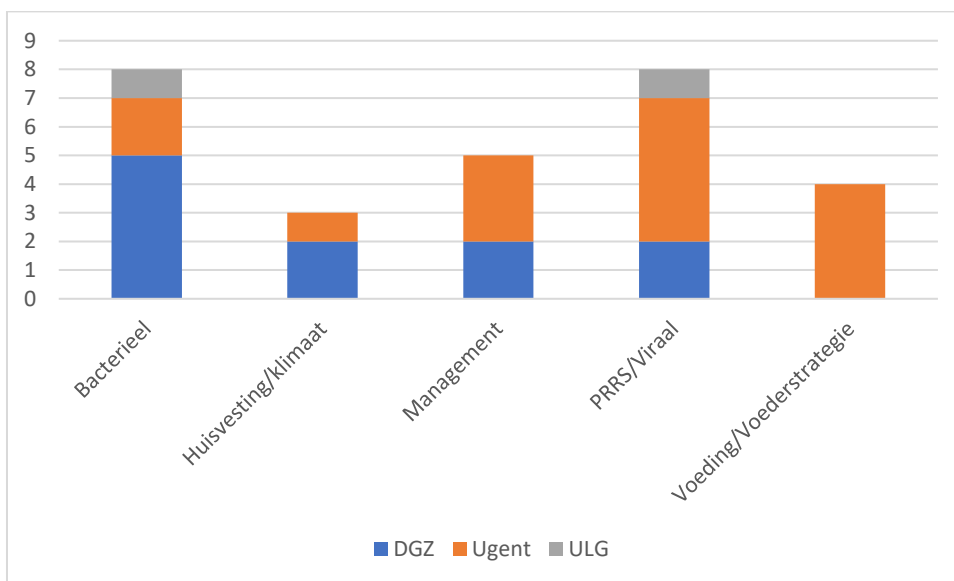
4.3 Vermoedelijke oorzaken van de problematiek op bedrijven

Bij veel bedrijfsproblemen is de oorzaak multifactorieel. Veepeiler zet aan tot verder onderzoek en treedt op als onafhankelijke partij tussen de verschillende partners (laboratoria, voederspecialisten, ...). Zo kan tot een etiologische diagnose gekomen worden met oplossen of verbeteren van de problematiek.

In tegenstelling tot vorig jaar waarin management het vaakst naar vorkwam als de belangrijkste oorzaak van de problemen werden in 2018 de meeste problemen gelinkt toegewezen aan een infectieuze oorzaak. *Actinobacillus pleuropneumiae*, *Brachyspira hyodysenteriae*, *E.Coli* en *Salmonella* werden teruggevonden als bacteriële oorzaken. PRRS en PCV2 zijn de belangrijkste virale boosdoeners.

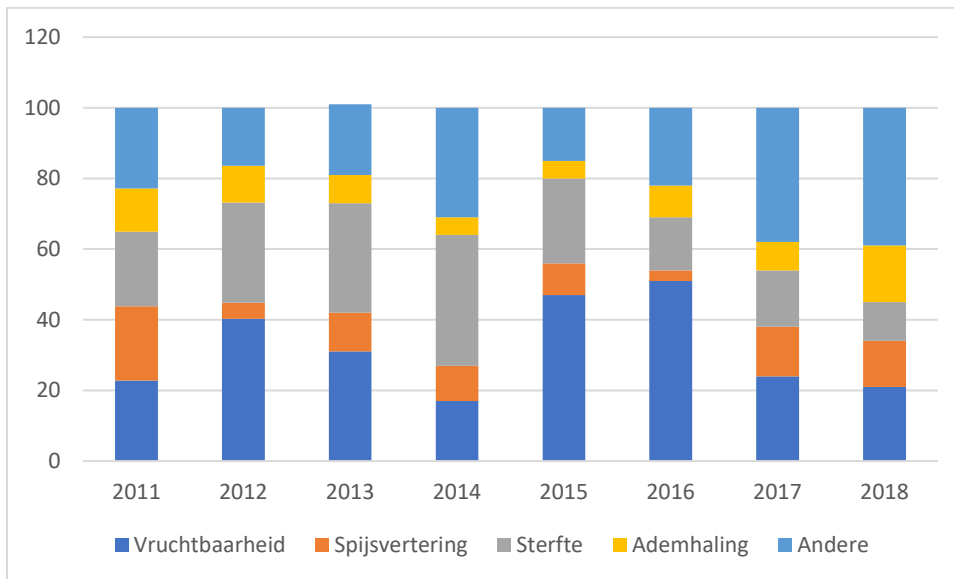
Tekortkomingen in het management blijven in 2018 een belangrijke reden voor het voorkomen van problemen op een varkensbedrijf. Dit jaar vallen onder problemen met management de leeftijdsstructuur van de zeugen, vaccinatiebeleid en eenmaal het toezicht in de kraamstal tijdens het werpen. Onder het luikje voeder vallen zowel de samenstelling van het voeder als de voederstrategie. Huisvesting en klimaat tot slot had vooral te maken met fouten aan de klimaatinstelling en slechte ventilatie.

Het is echter niet steeds mogelijk om met zekerheid een etiologische diagnose te stellen en vaak zijn de problemen het gevolg van een combinatie van tekortkomingen in het management met daarbovenop een infectieuze oorzaak.



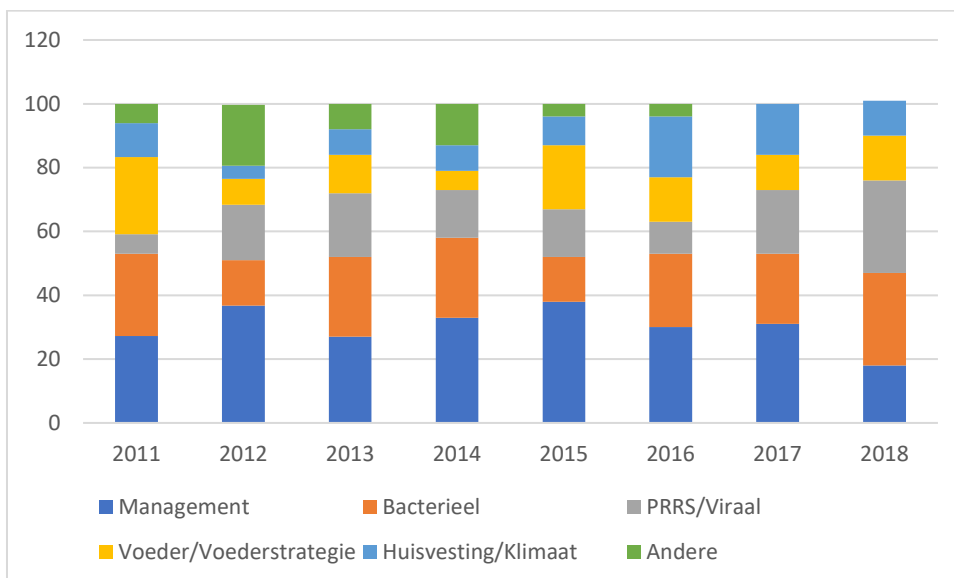
Figuur 12: Vermoedelijke oorzaken van de problematiek op bedrijven bezocht in het kader van de tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler in 2018.

4.4 Trendobservatie: vergelijking van redenen tot aanvraag en vermoedelijke oorzaken in de laatste vier jaar



Figuur 13: Percentage redenen tot aanvraag voor een bedrijfsbezoek in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken in de laatste acht jaar.

Bij de interpretatie van de cijfers in bovenstaande grafiek moet rekening worden gehouden met het feit dat de aantallen vrij klein zijn en dat enkele bezoeken meer of minder procentueel al een groot verschil kunnen veroorzaken. Voor de jaren 2017 en 2018 bevat de categorie andere voornamelijk problemen met locomotie en verminderde prestaties.



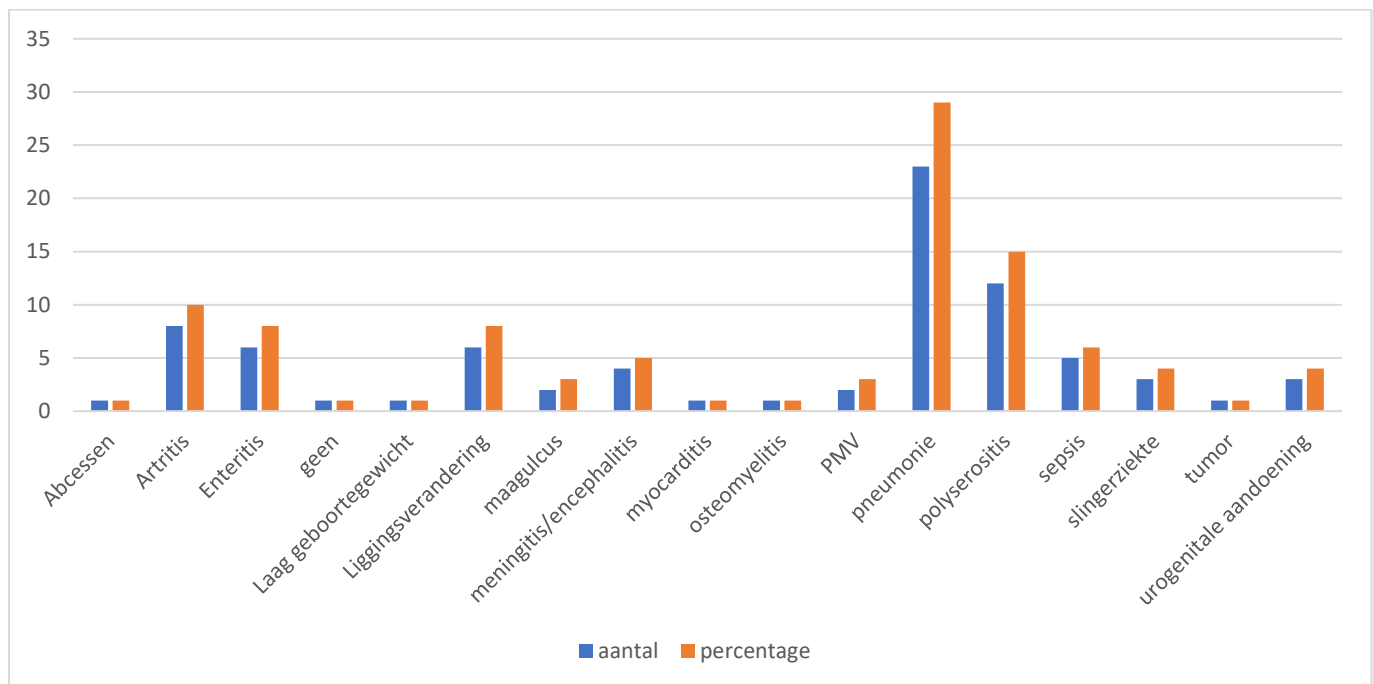
Figuur 14: Percentage vermoedelijke oorzaken van bedrijfsproblematiek in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken in de laatste acht jaar.

5 Analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken

5.1 Autopsies

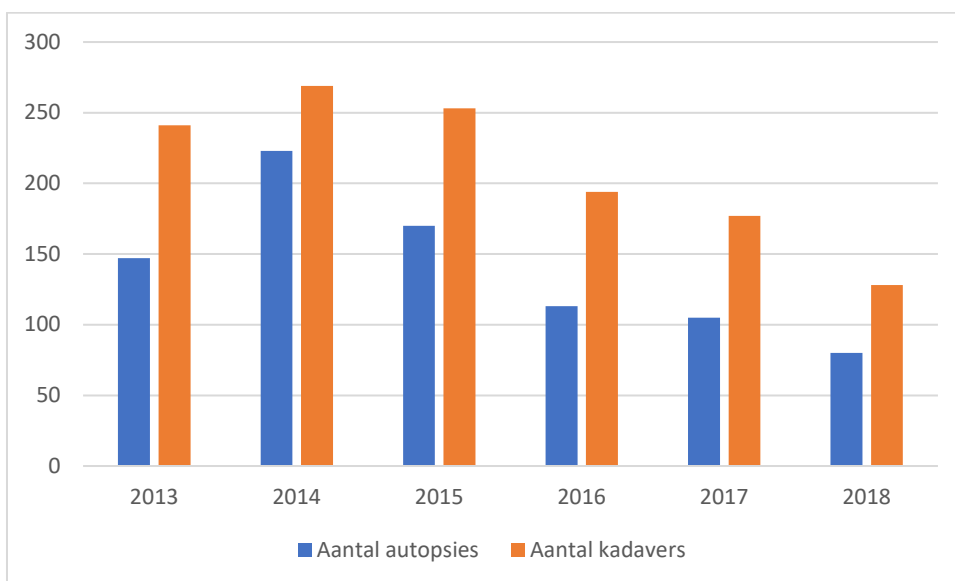
De kadavers aangeboden bij DGZ voor autopsie in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde staan steeds in verband met een bedrijfsbezoek dat op het betrokken bedrijf werd uitgevoerd. In 2018 verrichtte DGZ voor Veepeiler 80 autopsies, met een totaal van 128 kadavers. Bijkomend werden in het kader van Veepeiler 6 staalnames uitgevoerd bij foeti en 15 kadavers binnengebracht enkel voor staalname zonder autopsie. In alle gevallen ging het om staalname van de longen. Tot slot werden ook nog eens 23 kadavers binnengebracht in het kader van het Veepeilerproject kreupelheid bij vleesvarkens.

5.1.1 Meest voorkomende afwijkingen op autopsie

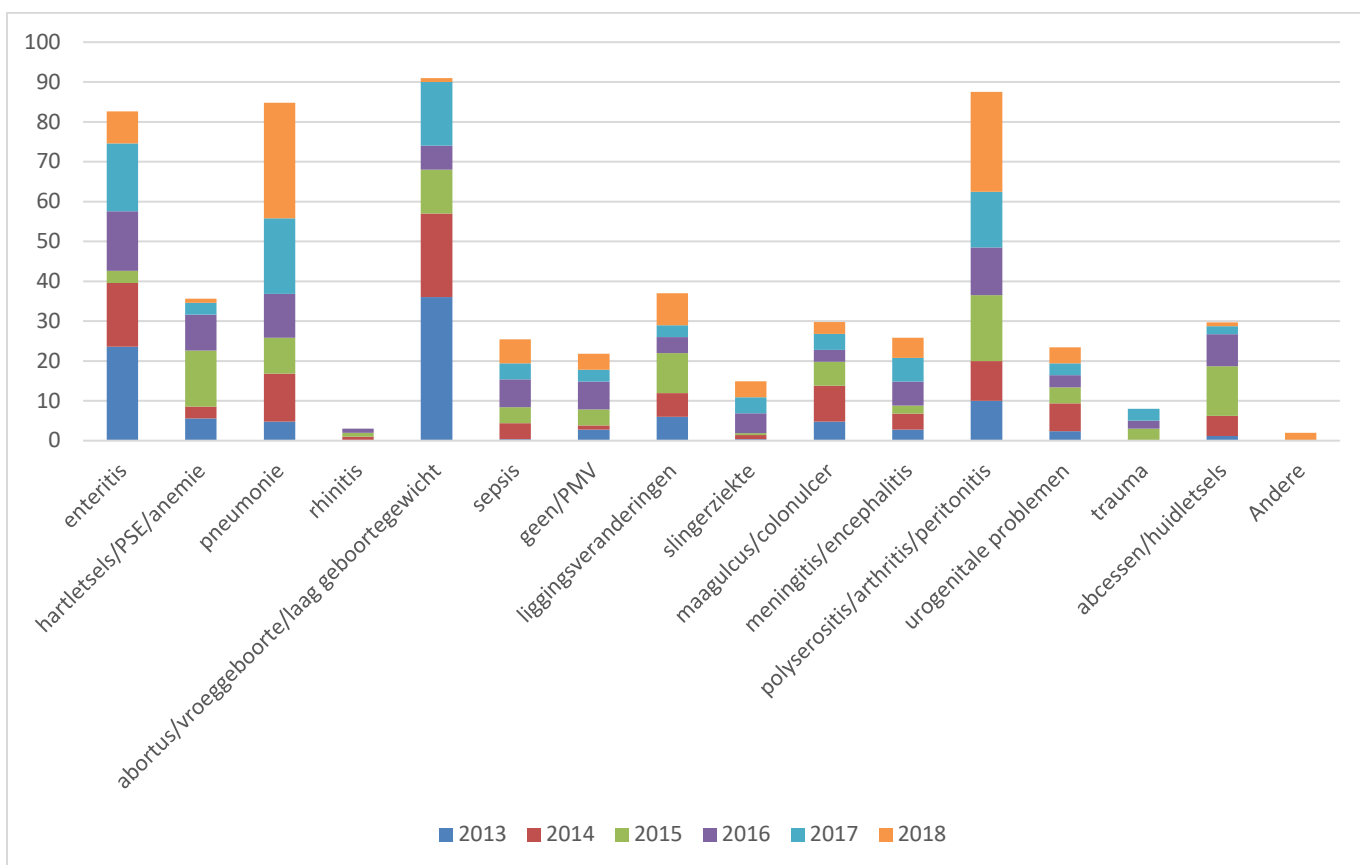


Figuur 15: Vastgestelde afwijkingen van kadavers aangeboden voor autopsie in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken 2018.

5.1.2 Trendobservatie – vergelijking met voorgaande jaren



Figuur 16: Evolutie aantal autopsies uitgevoerd in het kader van Veepeiler Varken per jaar, autopsies op foeti niet meegerekend.



Figuur 17: Percentage vastgestelde afwijkingen van kadavers aangeboden in het kader van Veepeiler Varken in de laatste 6 jaar.

5.2 Aanvullende onderzoeken

Veepeiler biedt naast de autopsies ook de mogelijkheid tot aanvullende onderzoeken om tot een diagnose te komen van een specifieke bedrijfsproblematiek. Een overzicht van de onderzoeken uitgevoerd in 2018 wordt weergegeven in tabel 10.

Tabel 10: Aantal analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken in 2018

	DGZ	Extern labo
Antibiogrammen/MIC-bepalingen	87	6
Bacteriologie	154	0
Klinische biochemie	171	21
Histologie	9	3
Toxicologie	0	1
Hygiënogrammen/tellingen	195	0
Typeringen	18	0
Onderzoeken op urine	20	0
ELISA	581	22
HI	271	0
Seroneutralisatie	0	5
IPMA	0	10
Virologie	0	4
Immunohistochemie	1	0
PCR	446	110*
Sequencing PRRSv	0	5
Water pakket	8	6
Water individuele parameters	17	0
Voeder	0	40
Parasitologie	2	1

*95 van deze analyses (PCR PCV2) werden uitgevoerd in 2016 maar door Coda pas gefactureerd in 2018.

6 Publicaties Veepeiler Varken 2018

Artikels in vulgariserende tijdschriften

- Brossé C. Hoe weet u of uw stal echt gereinigd is? *Landbouwleven*, 28 september 2018, 14
- DGZ. Waarom moet ik de immuniteitsstatus van mijn gelten en zeugen kennen? *Landbouwleven*, 28 september 2018, 15
- De Smet S., Beeckman E., Brossé C., Van Gansbeke S. Bioveiligheid en monitoring sleutels tot antibioticareductie. *Management & Techniek*, 22 mei 2018, 5-7
- Vandersmissen T. Verlagen biggenuitval zeer bedrijfsspecifiek. *Varkensbedrijf*, juni 2018, 14-17

Artikels in internationale wetenschappelijke tijdschriften

- Arsenakis I., Boyen F., Haesebrouck F., Maes D., 2018. Autogenous vaccination reduces antimicrobial usage and mortality rates in a herd facing severe exudative epidermitis outbreaks in weaned pigs. *Vet Rec*, March 2018, doi: 10.1136/vr.104720

Papers in abstracts en proceedings van wetenschappelijke congressen

- Neiryneck W., Vansteenkiste K., Boyen F., Dewulf J., Mahu M., Haesebrouck F., Vandersmissen T., Maes D. Efficacy of an autogenous vaccine against *Brachyspira hyodysenteriae*. In: 10th European Symposium of Porcine Health Management, 2018, 9-11 May, Barcelona, Spain, 105
- Arsenakis I., De Cuyper S., De Letter P., Cools A., Janssens G., Maes D. A clinical approach on resolving a problem of new neonatal porcine diarrhea in a farrow-to-finish herd. In: 10th European Symposium of Porcine Health Management, 2018, 9-11 May, Barcelona, Spain, 115.
- Arsenakis I., Buyse K., Decaluwé R., Pardon B., Cools A., Janssens G., Maes D., Effect of different iron supplementation strategies on the hematological parameters and growth of piglets. In: 10th European Symposium of Porcine Health Management, 2018, 9-11 May, Barcelona, Spain, 116

Case reports (masterthesissen) over een Veepeileronderwerp

Masterproeven 2de Master (literatuur)

- Elena Van Audenhove - Bepalen van antistoffen in colostrum van zeugen
- Eline Vallaey – Belang van feces pH bij zeugen als parameter voor darmgezondheid
- Stien Gevaert – Risicofactoren met invloed op partusduur bij zeugen

Masterproeven 3de Master: (gebaseerd op bedrijfsbezoeken/projecten in kader van Veepeiler varken)

- Laura Stroobants Invloed van douchen op uierhygiëne bij zeugen op de gezondheid van biggen.
- Fien Roggeman – Casus 1: Problematiek van baarmoederprolapsen bij zeugen.
- Fien Roggeman – Casus 2: Opvolging verhoogde uitval in de kraamstal.

Presentaties tijdens nationale studiedagen of IPV activiteiten

-

Er werd een activiteitenrapport 2017 opgesteld, zowel in het Nederlands als in het Frans. Dit rapport werd ter beschikking gesteld aan alle bij Veepeiler betrokken partners en is raadpleegbaar op de website van DGZ.