



Dierengezondheidszorg Vlaanderen vzw



# Activiteitenrapport VEEPEILER VARKEN

**2017**

<b>Inhoudsopgave</b>	
1	Inleiding..... 4
2	Praktijkgerichte deelprojecten Veepeiler afgelopen in 2017 ..... 5
2.1	Optimalisatie van reiniging en ontsmetting van de varkensstal met gebruik van hygiënogrammen ..... 5
2.1.1	Inleiding en probleemstelling ..... 5
2.1.2	Doelstelling ..... 5
2.1.3	Materiaal en methoden ..... 5
2.1.4	Resultaten en conclusies..... 5
2.2	PED ..... 7
2.2.1	Inleiding en probleemstelling ..... 7
2.2.2	Doelstelling ..... 7
2.2.3	Materiaal en methoden ..... 7
2.2.4	Resultaten en conclusies..... 8
2.3	Bepalen van de seroprevalentie van infecties met <i>Ascaris suum</i> bij batterijbiggen aan de hand van een nieuwe serologische test..... 10
2.3.1	Inleiding en probleemstelling ..... 10
2.3.2	Doelstelling ..... 10
2.3.3	Materiaal en methoden ..... 10
2.3.4	Resultaten..... 11
2.3.5	Conclusie ..... 12
2.4	Verband tussen vruchtbaarheidsproblemen en voorkomen <i>Chlamydia suis</i> ..... 13
2.4.1	Inleiding en probleemstelling ..... 13
2.4.2	Doelstelling ..... 14
2.4.3	Materiaal en methoden ..... 14
2.4.4	Resultaten en conclusie ..... 14
2.4.5	Referenties ..... 15
2.5	Efficaciteit van autovaccin tegen <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> ..... 16
2.5.1	Inleiding en probleemstelling ..... 16
2.5.2	Materiaal en methoden ..... 16
2.5.3	Resultaten..... 18
2.5.4	Conclusies ..... 19
2.6	Optimalisatie diagnostiek melkgiftproblemen bij zeugen ..... 20
2.6.1	Inleiding en probleemstelling ..... 20
2.6.2	Doelstellingen ..... 20
2.6.3	Materiaal en Methoden ..... 21
2.6.4	Resultaten..... 22
2.6.5	Conclusies ..... 26
3	Praktijkgerichte deelprojecten nog lopende in 2017..... 27
3.1	Voorkomen en samenstelling van biofilms in drinkwaterleidingen van varkensbedrijven ..... 27
3.1.1	Inleiding en probleemstelling ..... 27
3.1.2	Doelstellingen en resultaten ..... 27
3.1.3	Voorlopige conclusies..... 33

3.1.4	Referenties .....	33
4	Bedrijfsbezoeken tweedelijnsdiergeneeskunde.....	35
4.1	Aantal bezoeken .....	35
4.2	Redenen tot aanvraag van de bedrijfsbezoeken .....	36
4.3	Vermoedelijke oorzaken van de problematiek op bedrijven .....	37
4.4	Trendobservatie: vergelijking van redenen tot aanvraag en vermoedelijke oorzaken in de laatste vier jaar .....	38
5	Analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken.....	39
5.1	Autopsies.....	39
5.1.1	Meest voorkomende afwijkingen op autopsie .....	39
5.1.2	Trendobservatie – vergelijking met voorgaande jaren .....	40
5.2	Aanvullende onderzoeken.....	41
6	Publicaties Veepeiler Varken 2017.....	42

# 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 met een probleem 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 kan meerdere keren worden bezocht voor verdere opvolging van de problematiek en bespreking van het verslag.

## *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 2017**

### **2.1 Optimalisatie van reiniging en ontsmetting van de varkensstal met gebruik van hygiënogrammen**

#### **2.1.1 Inleiding en probleemstelling**

Op een varkensbedrijf kan insleep en versleping van ziektekiemen vermeden worden door een optimale bioveiligheid. Grondig reinigen en ontsmetten vormt een belangrijk onderdeel van deze bioveiligheid. Zo wordt vermeden dat ziektekiemen overleven en een volgende groep dieren besmetten. Hoewel de meeste varkensbedrijven wel degelijk werk maken van reinigen en ontsmetten, is er nog veel ruimte voor verbetering.

Het effect van reiniging en ontsmetting kan nagegaan worden met hygiënogrammen of afdrukplaatjes. Deze plaatjes – die routinematig gebruikt worden in de pluimveesector maar slechts sporadisch in de varkenssector – geven een beeld van de bacteriële verontreiniging.

#### **2.1.2 Doelstelling**

Het doel is de varkenssector bewust te maken van het belang van reinigen en ontsmetten en van de controle van deze reiniging en ontsmetting als onderdeel voor het bereiken van een betere gezondheid. Door protocollen aan te reiken kan de reinigings- en ontsmettingsprocedure in varkensstallen geoptimaliseerd worden.

#### **2.1.3 Materiaal en methoden**

Een oproep tot deelname aan het project gebeurde via persartikels en de nieuwsbrieven van DGZ. Een varkensbedrijf kon deelnemen als het voldeed aan volgende voorwaarden:

- Het bedrijf past het all-in/all-out-principe toe per afdeling en reinigt/ontsmet de afdeling na elke ronde.
- De varkenshouder is bereid om de projectpartners te informeren over het toegepaste protocol voor reiniging en ontsmetting.
- De varkenshouder is ook bereid om dit protocol aan te passen in functie van de laboresultaten en het gegeven advies.

Een deelnemend bedrijf kan na het reinigen en ontsmetten tweemaal een staalname met vijftien afdrukplaatjes laten uitvoeren in de kraamstal, batterij en/of vleesvarkensstal. Op bedrijven die positief zijn voor PCV2 (circovirus) worden in de batterijafdeling bijkomend vijf swabs genomen voor een PCR-test.

Een dierenarts van DGZ verricht de eerste staalnames samen met de bedrijfsdierenarts en neemt samen met de bedrijfsdierenarts en de veehouder het protocol voor reiniging en ontsmetting onder de loep. Op basis van de resultaten van het labo-onderzoek – die worden teruggekoppeld naar bedrijfsdierenarts en veehouder – krijgt de veehouder tips en suggesties om het protocol voor reiniging en ontsmetting bij te sturen. Nadat het protocol is aangepast, gebeurt er een nieuwe staalname, bij voorkeur door de bedrijfsdierenarts.

#### **2.1.4 Resultaten en conclusies**

Hygiënogrammen

Er werden 170 staalnames uitgevoerd op 111 bedrijven. Er werden 31 kraamstallen, 71 batterijen en 38 vleesvarkensafdelingen bemonsterd. De helft van de bedrijven liet een tweede staalname uitvoeren en 87% van deze bedrijven had aanpassingen doorgevoerd tussen de eerste en de tweede staalname. 83% van de bedrijven die een tweede staalname uitvoerden, realiseerde een verbetering (verlaging) van hun hygiënogramscore.

Zoals te verwachten, scoren plaatsen die niet direct in contact staan met de dieren (plafond, ventilatie en muur op ooghoogte) of moeilijk te reinigen zijn door de complexe vorm (voeder-/drinkbak en materiaal) het minst goed. Dit geldt zowel voor de kraamstal, de batterij als de vleesvarkensafdeling. Ook de loopgang scoorde vaak minder goed. Een mogelijke verklaring hiervoor kan herbesmetting zijn wanneer men na reiniging nog de afdeling betreedt.

Verder werd ook gekeken of er verschillen zijn in scores afhankelijk van het wekensysteem of de afdeling. Er konden geen duidelijke verschillen worden waargenomen. Vleesvarkensafdelingen scoren gemiddeld het hoogst (2,44) en kraamstallen het laagst (2,21), maar het verschil is beperkt.

Bedrijven die er door aanpassingen in slaagden om hun score te verbeteren, konden gemiddeld een daling van de hygiënogramscore bekomen met 0,46. De daling varieerde echter van <0,1 tot >2. De aanpassingen die het meest resultaat opleveren zijn gebruik van inweekmiddel, het correct gebruik van ontsmettingsmiddel en het reinigen van de volledige stal (plafond tot en met vloer).

## Enquête

Tabel 1 geeft een overzicht van het percentage bedrijven dat de verschillende stappen in het reinigingsprotocol al dan niet uitvoert en het aantal bedrijven dat een aanpassing doorvoerde al dan niet met een verbetering van de score tot gevolg.

Tabel 1: Percentage bedrijven dat een bepaalde reinigungsstap uitvoerde en aantal bedrijven dat deze stap aanpaste en al dan niet verbeterde in score.

Procedure	Afdelingen	Aangepast bij tweede staalname	Verbeterde score na aanpassing
Droog reinigen	37%	-	-
Inweken	94% → 76% met inweekmiddel	9	8
Natte reiniging	92%	-	-
Gebruik warm water	28%	1	1
Naspoelen	47%	1	1
Visueel proper na reinigen	68%	4	4
Ontsmetten	72%	8	7
Voorschriften ontsmetting respecteren	42%	1	1
Volledige stal meenemen	30%	6	6
Naspoelen	9%	1	1
Leegstand	82%	1	-

## PCV2-swabs

In 50 batterijafdelingen werden bijkomend swabs genomen voor onderzoek op PCV2 in de biggenbatterij. In 14 bemonsterde batterijafdelingen bleken 1 tot 5 swabs positief voor PCV2, met een score variërend tussen  $10^2$  en  $10^6$ . Er kon geen duidelijk verband worden teruggevonden tussen het voorkomen van positieve swabs en de hygiënogramscore.

## 2.2 PED

### 2.2.1 Inleiding en probleemstelling

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 en te rapporteren in het kader van epidemiologische bewaking.

### 2.2.2 Doelstelling

In een eerste luik van het project werd er onderzoek uitgevoerd naar de spreiding van PED in België door analyses van verdachte meststalen. Daarnaast werden alle analyseresultaten omtrent PED gecentraliseerd zodat er een eenduidige communicatie kon gebeuren naar het veld.

In een tweede luik werd nagegaan hoe de situatie in België op langere termijn evolueert aan de hand van serologische screenings (periode vanaf juli 2015).

### 2.2.3 Materiaal en methoden

#### Luik 1

De mestanalyses werden uitgevoerd door de labo's van Dierengezondheidszorg Vlaanderen (Torhout) (labo 1), Dialab (Belsele) (labo 2) en het referentielaboratorium CODA (Ukkel) (labo 3).

Onderzoek (PED-PCR) werd uitgevoerd op 100 verdachte meststalen (waterige diarree) aangeboden aan het labo of darminhoud van verdachte gevallen (waterige darminhoud) in de autopsiezaal. Een bedrijf mocht slechts één staal laten onderzoeken per dag. De eerste 25% van de aangeboden verdachte stalen (n=2x25) in labo's 1 en 2 werd in drie delen verdeeld voor verder onderzoek. Een

gedeelte van het staal werd onderzocht in labo 1 en labo 2, een gedeelte werd doorgestuurd ter controle naar het referentielabo 3 en een gedeelte werd diepgevroren bewaard in de respectievelijke labo's 1 en 2 om eventueel verder te onderzoeken.

De projectleider rapporteerde positieve resultaten naar alle betrokken partijen (veehouder, bedrijfsdierenarts en de verschillende labo's). De positieve resultaten werden ook gecommuniceerd naar de buitenwereld. Zo werd de sector op de hoogte gehouden van de onderzoeken die uitgevoerd werden naar PED en kon de sector zich een beeld vormen van de spreiding van PED in België.

De bedrijfsbegeleidende dierenarts van bedrijven met een positief resultaat werd gecontacteerd door de Veepeilerdierenarts om begeleiding en ondersteuning te bieden aan deze bedrijven in hun strijd tegen PED en verspreiding van de ziekte binnen en buiten het bedrijf te minimaliseren. Hier werd echter geen gebruik van gemaakt.

## Luik 2

In de periode april/mei 2016 werd een serologische screening uitgevoerd op stalen binnengebracht in het kader van de bemonstering voor Aujeszky (juli 2015 - oktober 2015). Deze screening verliep gelijkaardig aan het project van 2014 (onderzoek naar antistoffen via ELISA in CODA/IPMA in faculteit), d.w.z. twaalf bedrijven per provincie en vijf zeugensera per bedrijf. Hieruit kon worden afgeleid of PED al dan niet wijdverspreid is of was in België.

### 2.2.4 Resultaten en conclusies

#### Luik 1

Labo 1 onderzocht 100 stalen van diarree of verdachte darminhoud met PCR in de periode februari 2015 tot oktober 2016. Hierbij testte één staal positief. Ook labo 2 onderzocht 100 stalen met PCR (april 2015 tot september 2015) waarbij er vier stalen positief testten. Voor beide labo's samen testte 2,5% van de stalen positief op het PED-virus. De positieve stalen waren voornamelijk afkomstig van West-Vlaanderen en één staal van Vlaams-Brabant.

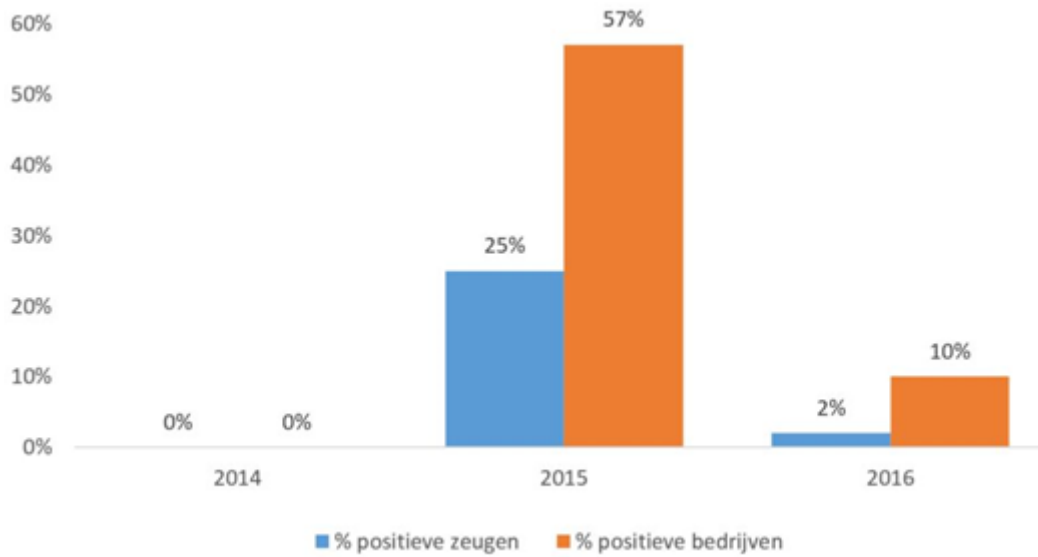
Eind 2016 en begin 2017 stelden labo 1 en labo 2 opnieuw drie diagnoses van PED op meststalen bij varkens met waterige mest. Op twee bedrijven ging het om varkens die ingevoerd waren uit Nederland, vanwaar ze vermoedelijk het virus hadden meegebracht.

Verder werden in de loop van 2017 geen positieve meststalen meer ontvangen.

#### Luik 2

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.





Figuur 1: Overzicht resultaten screenings op PED-antistoffen bij de Belgische zeugenstapel

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.

## 2.3 Bepalen van de seroprevalentie van infecties met *Ascaris suum* bij batterijbiggen aan de hand van een nieuwe serologische test

### 2.3.1 Inleiding en probleemstelling

Spoelwormen (*Ascaris suum*) zijn de meest voorkomende intestinale parasieten bij vleesvarkens. Infecties kunnen leiden tot economische verliezen. In het verleden werd de diagnose voornamelijk gebaseerd op de detectie van 'white spots' op de lever en de aanwezigheid van eieren in de mest (EPG). Beide technieken hebben echter een lage sensitiviteit. Sinds de ontwikkeling van de serologische SERASCA-test – gebaseerd op de herkenning van *A. suum*-hemoglobine door de antistoffen van geïnfekteerde varkens – blijkt dat ongeveer 50% van de Vlaamse vleesvarkensbedrijven positief test voor deze parasiet.

Met de SERASCA-test is het mogelijk om blootstelling aan deze parasiet te detecteren bij mestvarkens naar het einde van de afmestronde toe (lichaamsgewicht hoger dan 80 kilogram). Deze test laat toe om bij de volgende afmestronde in te grijpen en eventueel het ontwormingsschema aan te passen.

Op welk tijdstip in de productiefase de varkens geïnfecteerd worden met *A. suum* is nog niet volledig duidelijk. Bijgevolg kwam de vraag of het ook mogelijk is om de biggen aan het einde van de batterijperiode of bij opzet te screenen. Dit laat toe om het ontwormingsschema eventueel aan te passen bij aanvang van een nieuwe afmestronde. Zo kan voorkomen worden dat patente infecties zich ontwikkelen en dat de omgeving besmet wordt met eitjes uitgescheiden door volwassen spoelwormen.

### 2.3.2 Doelstelling

De doelstelling van dit project was in een eerste stap na te gaan of biggen seroconverteren na blootstelling aan *A. suum* en in een tweede fase het bepalen van de seroprevalentie van *A. suum*-infecties bij batterijbiggen in Vlaanderen.

### 2.3.3 Materiaal en methoden

#### Experimentele infectiestudie

Om na te gaan of biggen seroconverteren na blootstelling aan *A. suum* werd een experimentele infectiestudie uitgevoerd. Hierbij werden er 70 gespeende biggen van 4 weken oud gedurende 7 opeenvolgende weken experimenteel geïnfecteerd met verschillende dosissen van infectieuze *Ascaris*-eitjes (10, 20, 40, 60, 80, 100 en 500 eitjes/dag). Eén groep van 100 dieren fungeerde als negatieve controle en werd niet geïnfecteerd. Wekelijks werd van alle dieren bloed afgenomen voor serologische analyse.

#### Serologie

De serumstalen verzameld tijdens de experimentele infectiestudie werden met drie verschillende serologische testen geanalyseerd die elk gebaseerd zijn op herkenning van verschillende *Ascaris*-antigenen: (1) het hemoglobine-antigen zoals gebruikt in de SERASCA-test, (2) een extract van de infectieuze L3-larven aanwezig in de eitjes (L3-ei) en (3) een extract van de larven die doorheen de longen migreren (L3-long).

#### Seroprevalentiestudie

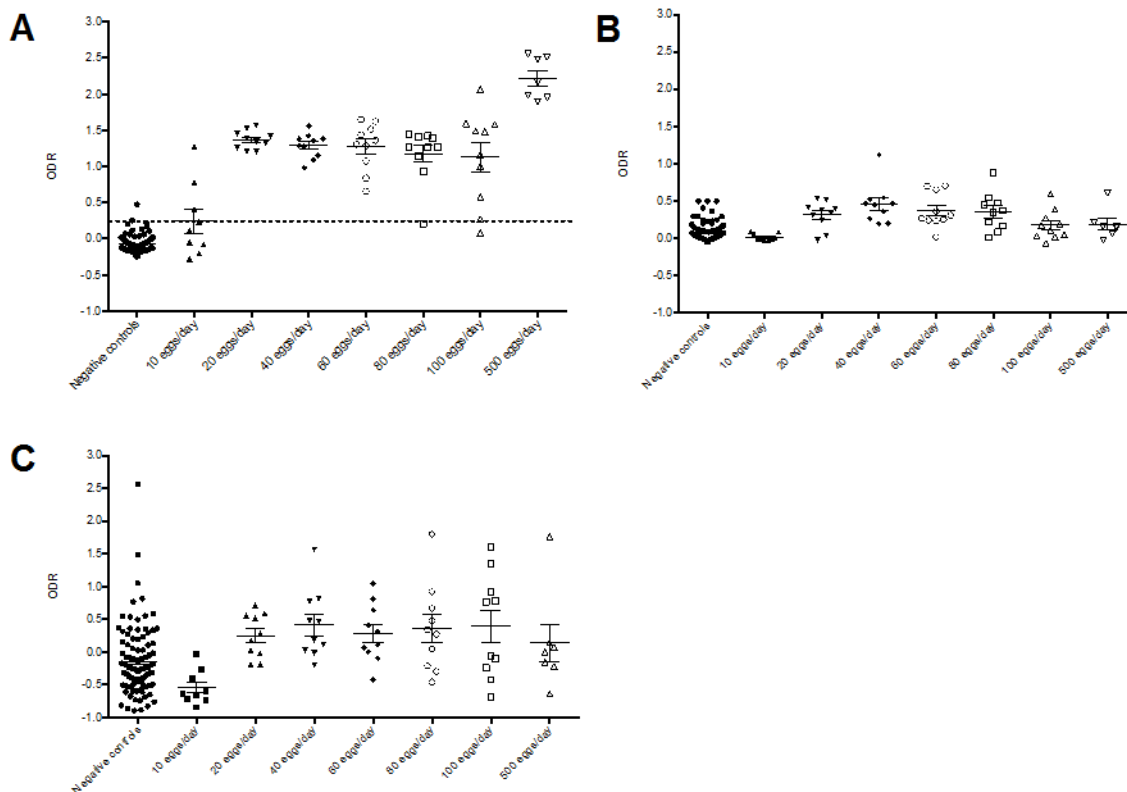
Op 35 vermeerderingsbedrijven werden bloedstalen verzameld van tien biggen op het einde van de batterijperiode of binnen de week na opzet in de vleesvarkensstal (circa 9-12 weken leeftijd en 20 kilogram lichaamsgewicht). Alle stalen werden geanalyseerd met de L3-longtest in het laboratorium voor Parasitologie. De serumstalen van de negatieve biggen werden als negatieve controle gebruikt.

De positieve controle waren stalen van drie groepen van tien biggen die experimenteel geïnfecteerd werden met respectievelijk 10, 100 en 500 eitjes/dag.

## 2.3.4 Resultaten

### Serologie bij experimenteel geïnficeerde biggen

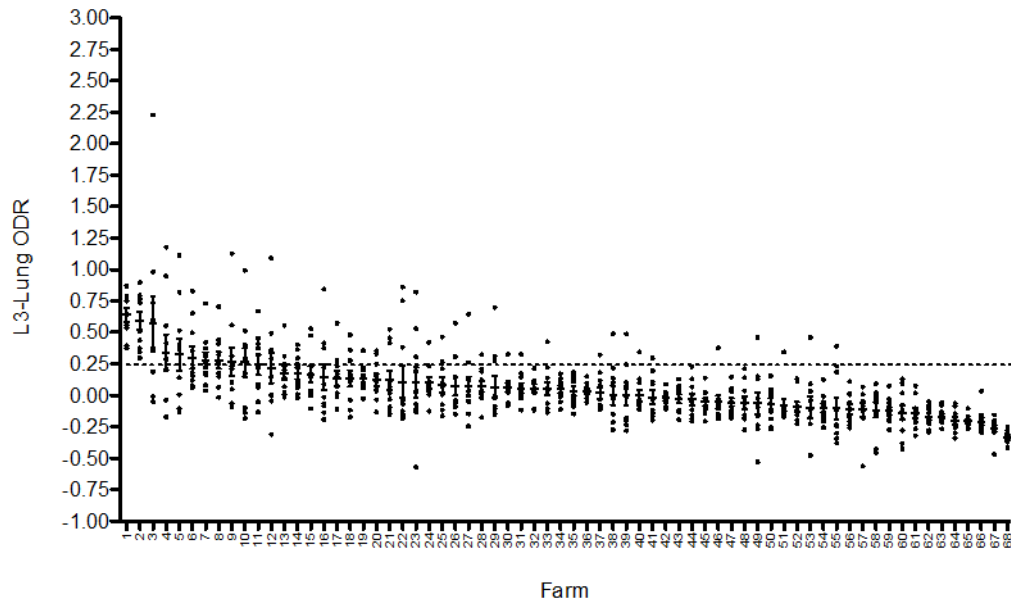
Figuur 2 geeft de resultaten van de serologische analyses bij de experimenteel geïnficeerde biggen weer. Hieruit bleek dat er na een blootstelling van zeven weken een dosisafhankelijke seroconversie meetbaar was met de ELISA gebaseerd op het extract van de L3-larven die doorheen de longen migreren (Figuur 2A). De stijging in anti-*Ascaris* antistoffen, in vergelijking met niet-geïnficeerde controledieren, werd voornamelijk duidelijk vanaf een infectiedosis van twintig eitjes per dag. Met een ROC-analyse werd de diagnostische threshold van deze test berekend en geplaatst op 0,250 ODR. Seroconversie was niet meetbaar met de ELISA's gebaseerd op het hemoglobine-antigen (Figuur 2B) of het volledig extract van de infectieuze L3-larven (Figuur 2C).



Figuur 2: Anti-*Ascaris*-antistofniveaus gemeten bij kunstmatig geïnficeerde biggen tegen extract van het L3-longstadium (A), het hemoglobine-antigen (B) en extract van infectieuze L3-larven aanwezig in het ei (C) na zeven opeenvolgende weken van infectie. Als negatieve controle zijn de ODR-niveaus van honderd wormvrije biggen weergegeven.

### Seroprevalentiestudie

Op basis van de resultaten van de experimentele infectiestudie werd beslist om de serumstalen verzameld op 68 Vlaamse bedrijven eind batterijperiode te analyseren op L3-long ELISA. Figuur 3 geeft de resultaten van deze seroprevalentiestudie weer. Op elf bedrijven lag het gemiddelde testresultaat van de tien biggen boven de diagnostische grenswaarde van 0,250 ODR. Dit wijst op een blootstelling van de biggen aan *A. suum* tijdens de batterijperiode.



Figuur 3: Resultaten van bloednames bij tien batterijbiggen op 68 Vlaamse bedrijven. De rode stippellijn stelt de diagnostische grenswaarde van 0,250 voor. Serumstalen van 100 wormvrije biggen dienden als negatieve controle. Als positieve controle werden tien serumstalen gebruikt van biggen geïnfecteerd met 10, 100 en 500 eitjes/dag gedurende zeven dagen.

### 2.3.5 Conclusie

Seroconversie bij biggen na blootstelling aan *A. suum* kan gemeten worden met een ELISA gebaseerd op volledig eiwitextract van de L3-larven die door de longen migreren. Bij het toepassen van deze test op stalen verzameld op 35 Vlaamse bedrijven bleek ongeveer 20% positief te testen voor blootstelling aan *A. suum* tijdens de batterijperiode. Dit toont aan dat er ook bij jongere dieren reeds transmissie is van *A. suum* en dat het verplaatsen van dergelijk besmette biggen naar een afmeststal een mogelijke bron van insleep is van *A. suum*. De besmettingsbron van de batterijen is momenteel onduidelijk maar hoogstwaarschijnlijk spelen de zeugen hier een belangrijke rol.

Met deze nieuwe serologische test kan men het blootstellingsniveau van de biggen aan *A. suum* meten en met deze resultaten zowel de behandelingsschema's als de reinigingsprocedures zo nodig bijsturen.

## 2.4 Verband tussen vruchtbaarheidsproblemen en voorkomen *Chlamydia suis*

### 2.4.1 Inleiding en probleemstelling

Goede kengetallen van vruchtbaarheid zijn fundamentele pijlers voor een rendabele varkensindustrie. Zowel infectieuze als niet-infectieuze factoren kunnen aan de basis liggen van vruchtbaarheidsproblemen. Het stellen van een etiologische diagnose is echter dikwijls teleurstellend, hoewel dit cruciaal is voor het instellen van een geschikte therapie.

Een *Chlamydia* (*C.*) infectie is een van de mogelijke infectieuze oorzaken van reproductief falen bij varkens. Bij varkens worden twee *Chlamydia species* in verband gebracht met vruchtbaarheidsproblemen: *C. abortus* en de meer recent ontdekte kiem *C. suis*. Onder andere Eggemann *et al.* (2000) toonden een positieve correlatie aan tussen *C. suis* infecties en reproductiestoornissen bij zeugen. De diagnose van een *Chlamydia*-infectie is echter duur, langdurig (celkweek) en vereist staalname op specifieke transportmedia en gekoeld transport. Hierdoor wordt de diagnostiek naar een *Chlamydia*-infectie slechts zelden ingesteld. Gebrek aan epidemiologische data draagt ook bij tot een lage veterinaire aandacht voor deze varkenspathogenen.

*Chlamydia suis* is fylogenetisch zeer sterk verwant aan de humane pathogeen *C. trachomatis*. Deze kiem kan bij de mens (afhankelijk van de stam) vruchtbaarheidsstoornissen of een oogontsteking veroorzaken. Dit is de 'kliniek' die we in associatie met *C. suis*, op dit moment in de varkenspopulatie meer en meer waarnemen.

Een bijkomend probleem is dat er de laatste jaren tetracycline-resistente *C. suis*-stammen geïsoleerd werden uit varkens<sup>1</sup> in zowel Belgische, Nederlandse, Zwitserse, Italiaanse, Duitse, Cypriotische als Israelische bedrijven (Di Francesco *et al.*, 2008; Pantchev *et al.*, 2010; Borel *et al.*, 2012; Schautteet *et al.*, 2013; Vanrompay *et al.*, 2014 ongepubliceerde resultaten). Het ging hier in alle gevallen om bedrijven die te kampen hadden met conjunctivitis en/of vruchtbaarheidsstoornissen. Tevens werden KI-centra in Duitsland (Schautteet *et al.*, 2013) en Nederland (Vanrompay, 2014, ongepubliceerde resultaten) positief bevonden voor tetracycline-resistente *C. suis*-stammen. De symptomatologie van vruchtbaarheidsproblemen door *C. suis* zag er als volgt uit:

- 90% van de zeugen bleek drachtig op echo 25-28 dagen na inseminatie;
- Bij een tweede echo 50 dagen na inseminatie was het drachtigheidspercentage teruggevallen tot minder dan 65%;
- Onregelmatig terugkeren en witvuilen werd gezien bij de zeugen met embryonale sterfte;
- De worpgrootte was bij 10 tot 20% van de zeugen slechts 2 à 5 levend geboren biggen, bovendien waren de geboortegewichten binnen de tomen sterk variabel;
- Negatief voor de klassieke varkenspathogenen gelinkt aan reproductiestoornissen<sup>1</sup>;
- Behandeling met antibiotica (doxycycline gecombineerd met trimethoprim en sulfamethoxazole) gaf geen verbetering in geval van de aanwezigheid van tetracycline-resistente *C. suis*-stammen. In dat geval kon enkel enrofloxacin voor de oplossing zorgen (nochtans een van de antibacteriële middelen op de kritisch belangrijke klassenlijst van de WHO en reeds verboden in bepaalde landen);
- Bij beren: daling van de spermakwaliteit. Hiermee bedoelen we het snelle afsterven van de spermacellen nadat ze in een commerciële spermaverdunner gebracht zijn.

Deze gegevens duiden op een belangrijke rol van *C. suis*-infecties in bedrijven met reproductieproblemen en/of conjunctivitis. Dit benadrukt de nood aan efficiëntere en goedkopere

---

<sup>1</sup> Negatief voor: *Leptospira* spp., *Mycoplasma* spp., *Brucella suis*, *Mycobacterium* spp., porcien reproductief en respiratoir syndroom (PRRSV), Aujeszkyvirus, varkensgriep, porcien enterovirussen, porcien parvovirus, porcien circovirus type 2 (PCV2) en porcien encephalo-myocarditis virus (EMCv)

methoden voor diagnostiek, alsook het belang van epidemiologische monitoring van *C. suis* in de Belgische varkensstapel.

#### 2.4.2 Doelstelling

We weten dat *C. suis* sterk verspreid is in de Belgische varkenspopulatie, maar de associatie met vruchtbaarheidsproblemen werd nog niet onderzocht. We willen bijgevolg een epidemiologische steekproef uitvoeren naar het voorkomen van *C. suis* in de Belgische varkensstapel en het verband met reproductiestoornissen.

Daarvoor zullen zeugen onderzocht worden aan de hand van een recent ontwikkelde *C. suis*-specifieke real-time PCR (De Puysseleyn et al., 2014) en een recent ontwikkelde antistof ELISA (De Puysseleyn et al., 2014, ongepubliceerde resultaten). Hierbij zullen zeugen met en zonder reproductiestoornissen onderzocht worden.

#### 2.4.3 Materiaal en methoden

Het project wordt beperkt tot 5 deelnemende bedrijven – geselecteerd op vrijwillige aanmelding bij DGZ – met een of meerdere klinische symptomen die mogelijk gelinkt kunnen worden aan *C. suis*-infectie (kleine worpen, teveel terugkomers, witvuilers, ...).

Per bedrijf worden 20 zeugen – 15 probleemzeugen en 5 controlezeugen – vaginaal bemonsterd en wordt een bloedstaal genomen. Selectie van zeugen gebeurt op basis van de zeugenkaart, rekening houdende met de criteria voor selectie van bedrijven. Een bijkomende voorwaarde voor keuze van varkens is dat geen antibioticabehandeling gegeven mag zijn gedurende minimum 3 weken vóór de staalname.

#### Analyses

Van de bloedstalen wordt het serum gecollecteerd en gebruikt voor analyse met een nieuw-ontwikkelde ELISA voor de detectie van *C. suis*-specifieke antistoffen (Vanrompay et al., 2014, ongepubliceerde resultaten).

De swabs in de DNA/RNA stabilisatiebuffer zullen onderzocht worden met behulp van de nieuw ontwikkelde *C. suis*-specifieke real-time PCR (De Puysseleyn et al., 2014).

#### 2.4.4 Resultaten en conclusie

Bij probleemzeugen bleek 5-35% een positieve PCR-test te hebben; ook controlezeugen vertoonden echter een positieve PCR-test. Een verband met vruchtbaarheidsproblemen kon niet worden aangetoond. De resultaten zijn vergelijkbaar met de bevindingen in de geneeskunde betreffende *Chlamydia trachomatis*-infecties bij de vrouw. Ook bij de mens wordt een statistisch hoog percentage PCR-positieven opgemerkt zonder klinische klachten maar waarbij op termijn wel infertiliteit kan voortvloeien uit de infectie indien niet behandeld (Reviewed by Wiesenfeld, 2017; Reviewed by Sahi et al., 2017).

Het onderzoek zou op een statistisch meer relevante populatie moeten worden uitgevoerd maar eigenlijk is de enige manier om te bewijzen dat *C. suis* vruchtbaarheidsproblemen veroorzaakt bij het varken en een invloed heeft op de productieparameters, net zoals *C. trachomatis*, een experiment waarbij de infectie 'uitgeschakeld' wordt door een antibioticumbehandeling of vaccinatie gekoppeld aan monitoring. Het eerste is niet uitvoerbaar in de varkenssector, te meer omdat de meeste *C. suis*-stammen tetracyclineresistent geworden zijn en enrofloxacin (tweede meest effectieve keuze) niet gebruikt mag worden. Vaccinatie kan niet omdat er nog geen vaccin is.

#### 2.4.5 Referenties

- Borel N, Regenscheit N, Di Francesco A, Donati M, Markov J, Masserey Y, Pospischil A. Selection for tetracycline-resistant *Chlamydia suis* in treated pigs. *Vet Microbiol.* 2012 Apr 23;156(1-2):143-6.
- De Puyseleir K, De Puyseleir L, Geldhof J, Cox E, Vanrompay D. (2014). Development and Validation of a Real-Time PCR for *Chlamydia suis* diagnosis in swine and humans. *PLoS One.* 2014 May 9;9(5):e96704. (S.C.I. 3.730).
- Di Francesco A, Donati M, Rossi M, Pignanelli S, Shurdhi A, Baldelli R, Cevenini R. Tetracycline-resistant *Chlamydia suis* isolates in Italy. *Vet Rec.* 2008 Aug 23;163(8):251-2.
- Eggemann G, Wendt M, Hoelzle LE, Jager C, Weiss R, Failin, K, 2000. Prevalence of chlamydial infections in breeding sows and their correlation to reproductive failure. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 107(1):3-10
- Everett KD, Bush RM, Andersen AA, 1999. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International journal of systematic bacteriology*, 49(2):415-440
- Pantchev A, Sting R, Bauerfeind R, Tyczka J, Sachse K. Detection of all *Chlamydophila* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2010 Dec;33(6):473-84.
- Sahi S.V., Rogozińska E., Sobhy S., Khan K..S. (2017). Accuracy of tests used to detect infection with *Chlamydia trachomatis* in asymptomatic pregnant women: a systematic review. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 29: 375-382.
- Schautteet K, De Clercq E, Miry C, Van Groenweghe F, Delava P, Kalmar I, Vanrompay D, 2013. Tetracycline-resistant *Chlamydia suis* in cases of reproductive failure on Belgian, Cypriot and Israeli pig production farms. *Journal of Medical Microbiology*, 62(2):331-334
- Vanrompay D, Geens T, Desplanques A, Hoang TQT, De Vos L, Van Loock M, Huyck E, Miry C, Cox E, 2004. Immunoblotting, ELISA and culture evidence for *Chlamydiaceae* in sows on 258 Belgian farms. *Veterinary Microbiology*, 99(1):59-66
- Wiesenfeld H.C. (2017). Screening for *Chlamydia trachomatis* infections in women. *N. England Journal of Medicine.* 1;376(22):2198. doi: 10.1056/NEJMc1703640.

## 2.5 Efficaciteit van autovaccin tegen *Brachyspira hyodysenteriae*

### 2.5.1 Inleiding en probleemstelling

Varkensdysenterie, een wereldwijd voorkomende ziekte veroorzaakt door *Brachyspira hyodysenteriae*, geeft aanleiding tot enorme productieverliezen in de varkenssector. *B. hyodysenteriae* veroorzaakt een ernstige slijmerige diarree met eventueel bloedbijmenging. Dit gaat gepaard met een slechtere groei en voederconversie. Dit is dan ook de belangrijkste verliespost voor de varkenshouder. Naast deze verliezen moeten de kosten voor de behandeling, de dierenarts, de labo-onderzoeken en eradicatie in rekening gebracht worden.

Voor de bestrijding van *B. hyodysenteriae*-infecties wordt vaak gebruik gemaakt van antimicrobiële middelen. Er zijn evenwel slechts een beperkt aantal middelen werkzaam (natuurlijke gevoeligheid), voornamelijk pleuromutilinen, macroliden en lincosamiden. Bovendien komt verworven resistentie tegen de gebruikte antimicrobiële middelen frequent voor (Vangroenweghe et al., 2010; Hidalgo et al., 2011; Pringle et al., 2012; Herbst et al., 2014). *B. hyodysenteriae* werd in een advies van het wetenschappelijk comité van het FAVV (05-2010) aangeduid als de varkensziekte (samen met *Salmonella*) met de hoogste prioriteit voor inclusie in de controleprogramma's gezien het groeiend economisch belang en de problematiek rond antimicrobiële resistentie.

De bestrijding gebeurt vooral door verbeteringen op het vlak van management en bioveiligheid, voederaanpassingen en het gebruik van antimicrobiële middelen (Klose et al., 2010; Hansen et al., 2011; Sperling et al., 2014). Aanpassingen in de voedersamenstelling kunnen de kolonisatie en het klinisch verloop beïnvloeden, maar zijn onvoldoende als alleenstaande controlemaatregel. Pleuromutilinen (tiamuline, valnemuline), macroliden (tylosine en tylvalosine) en lincosamiden (lincomycine) worden het meest gebruikt voor de behandeling van dysenterie. Momenteel worden antimicrobiële middelen langdurig ingezet voor het bestrijden van dysenterie. Dergelijke medicatie is noodzakelijk omdat behandelde varkens geen beschermende immuunrespons opbouwen tegen de *Brachyspira*-infecties. Dit werkt verworven antimicrobiële resistentie in de hand, niet alleen bij brachyspiren maar eveneens bij zoönotisch belangrijke kiemen en kiemen die behoren tot de microbiota van het varken. Verworven antimicrobiële resistentie bij *B. hyodysenteriae* wordt in toenemende mate vastgesteld (Duijnhof et al., 2008; Vangroenweghe et al., 2010; Hidalgo et al., 2011; Pringle et al., 2012; Zmudzki et al., 2012; DGZ Rapport gezondheidssituatie in Vlaanderen, 2013; Herbst et al., 2014). Er zijn geen commerciële vaccins beschikbaar en de efficiëntie van de tot dusver ontwikkelde experimentele vaccins is onvoldoende.

### 2.5.2 Materiaal en methoden

#### Bedrijfsgegevens en historiek

Veepeiler deed onderzoek op een bedrijf dat reeds jaren met klinische dysenterieproblemen kampt in de vleesvarkensstal. Er werden recent een 10-tal stalen genomen van vleesvarkens met ernstige diarree en uit cultuur bleken 4 stalen positief voor *B. hyodysenteriae* en 1 bleek positief voor de niet-pathogene *B. innocens*. Bovendien werden een 10-tal muizen aangeboden aan DGZ waarvan men 2 pools maakte van dikke-darmmateriaal. Eén pool was positief voor de minder pathogene *B. murdochii*. Labo-resultaten tonen aan dat het om multiresistente stammen gaat (zie tabel 2). Ook klinisch is er een verminderd effect na behandeling met tiamuline, hetgeen vroeger (4 jaar geleden) nog niet het geval was.

Er werd ook nader gekeken naar andere darmpathogenen die diarree bij vleesvarkens veroorzaken. Er werden 6 stalen genomen van dieren met diarree. Deze werden onderworpen aan een PCR specifiek voor *Salmonella* en waren negatief.



Tabel 2: MIC-waarden van 4 stammen geïsoleerd op het betrokken bedrijf in mei 2016

	<b>Brachyspira hyodysenteriae (*1)</b>	<b>Brachyspira hyodysenteriae (*2)</b>	<b>Brachyspira hyodysenteriae (*3)</b>	<b>Brachyspira hyodysenteriae (*4)</b>
<b>Antibiotica</b>	<b>Resultaat</b>	<b>Resultaat</b>	<b>Resultaat</b>	<b>Resultaat</b>
<b>Tiamuline (MIC)</b>	8 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	16 µg/ml
<b>Tylvalosine (MIC)</b>	64 µg/ml	64 µg/ml	64 µg/ml	64 µg/ml
<b>Valnemuline (MIC)</b>	16 µg/ml	16 µg/ml	> 16 µg/ml	> 16 µg/ml

Het gaat om een gesloten bedrijf met een driewekensysteem met ongeveer 30 zeugen per groep en dus ongeveer 420 biggen per groep. Omdat de stammen teruggevonden op het bedrijf multiresistent zijn, lijkt een eradicatie op basis van medicatie niet zinvol, bovendien leent de structuur van dit bedrijf zich hier niet voor omwille van de complexe looplijnen. Depopulatie en repopulatie is voor de varkenshouder economisch niet haalbaar. Sinds de problemen wijzigde de varkenshouder een aantal zaken om de bioveiligheid te verbeteren: voetbaden tussen verschillende gebouwen en specifiek schoeisel per gebouw en de implementatie van een veel strenger ongediertebestrijdingsprogramma. De externe bioveiligheidsscore volgens Biocheck.ugent® bedraagt 65%, de interne 40% en de totale score 53%.

### Vaccinatie

Voor de productie van het vaccin werden vier geïsoleerde stammen (11/05/2016) opgestuurd naar het betrokken labo. Het vaccin bestaat uit 3 verschillende stammen van dit bedrijf. Het vaccin werd geproduceerd door Ridgeway Biologicals (Comptom, UK). Dit bedrijf heeft reeds ervaring met het produceren van autovaccins tegen dysenterie. De toediening van het vaccin gebeurde door een primo-vaccinatie (IM) in de nek op de leeftijd van 6 weken gevolgd door een booster injectie (IM) 2 weken later, i.e. 2 weken voor het verhoeken naar de vleesvarkensstal. De biggen werden gevaccineerd op de leeftijd van 6 weken om zeker te zijn dat er geen maternale interferentie optreedt. In totaal waren ongeveer 840 dosissen vaccin nodig.

### Controlegroep en gevaccineerde groep

Twee opeenvolgende groepen biggen werden opgevolgd. Elke groep werd in twee verdeeld: een controlegroep en een gevaccineerde groep met elk ongeveer 200 biggen. De controlegroep werd geïnjecteerd met een fysiologische zoutoplossing. De controle- en gevaccineerde groep werden zowel in de biggenbatterij als de afmestafdeling fysisch gescheiden (= afzonderlijk compartiment).

### Parameters ter vergelijking

#### *Gemiddelde dagelijkse groei*

Beide groepen biggen werden driemaal gewogen. De eerste weging vond plaats net voor de eerste vaccinatie, de tweede bij opzet en de derde op het einde van de afmestperiode. Op die manier werd per big de gemiddelde dagelijkse groei berekend voor de gevaccineerde en controledieren. Dit kan door het eindgewicht te verminderen met het startgewicht en dit gewicht te delen door het aantal dagen tussen de eerste en derde weging. Een poweranalyse heeft aangetoond dat er 216 dieren per groep nodig zijn om een verschil van 25g in dagelijkse groei (= geschat verwacht verschil) met 90% kans te detecteren met 95% betrouwbaarheid (uitgaande van een standaarddeviatie van 80g).

#### *Serologie*

Er werd op twee momenten bloed genomen van telkens 10 dieren. Een eerste keer op het moment van de eerste vaccinatie om eventuele resterende maternale antistoffen aan te tonen. Twee weken na de vaccinatie werd bloed genomen van dezelfde 10 dieren. Naar analogie met de gevaccineerde groep werd op dezelfde leeftijd bloed genomen bij de niet-gevaccineerde dieren (n = 5 per groep). Hierop

gebeurde serologie aan de hand van een in-house ELISA van het labo Bacteriologie van de faculteit Diergeneeskunde. Dit om na te gaan of er wel degelijk antistoffenopbouw is na vaccinatie. Indien er antistoffenopbouw is, betekent dit dat de vaccinatie het immuunsysteem heeft gestimuleerd. Het is echter geen bewijs dat het vaccin werkzaam is aangezien het niet gekend is in welke mate de systemische immuniteit bescherming biedt tegenover dysenterie. De opgebouwde lokale immuniteit zal waarschijnlijk doorslaggevend zijn bij klinische bescherming.

#### *Kwantificatie uitscheiding B. hyodysenteriae*

Aan de hand van een qPCR werd de uitscheiding van *B. hyodysenteriae* gekwantificeerd. Deze test werd uitgevoerd in het labo Bacteriologie op de faculteit Diergeneeskunde. Op 12 weken en op 14 weken werden at random 15 meststalen genomen bij de controle- en gevaccineerde groep.

#### *Sterftepercentage*

Gegevens over uitgevallen dieren werden nauwkeurig genoteerd (datum, reden sterfte, gewicht). Op deze manier kon per groep het sterftepercentage berekend worden.

Of het vaccin werkzaam is, kan geëvalueerd worden aan de hand van bovenstaande parameters. Verwacht werd dat de uitscheiding en sterfte bij de gevaccineerde groep lager zou zijn, en dat de gemiddelde dagelijkse groei en antistoffentiters na vaccinatie hoger zouden zijn.

### 2.5.3 Resultaten

Tabel 3: Gemiddelde dagelijkse groei

	G1 Gevaccineerd		G1 Controle		p		G2 Gevaccineerd		G2 Controle		p
	Gewicht Kg.	SD	Gewicht Kg.	SD			Gewicht Kg.	SD	Gewicht Kg.	SD	
D 0	13,19	2,52	13,21	3	n.s	D 0	10,45	2,41	10,34	7,03	n.s
Slacht	117,9	11,6	116,7	15,3	n.s	Slacht	100,6	13	102,6	12,9	n.s
	Groei Kg.	SD	Groei Kg.	SD			Groei Kg.	SD	Groei Kg.	SD	
D 0 - Slacht	0,887	0,108	0,877	0,123	n.s	D 0 - Slacht	0,693	0,09	0,708	0,11	n.s

De gevaccineerde dieren van groep 1 wogen bij de slacht ongeveer 1 kg zwaarder dan deze van de controlegroep; de dagelijkse groei van de gevaccineerde dieren uit groep 1 lag m.a.w. 10 gram hoger dan die van de controledieren. Bij de tweede groep wogen de controledieren echter gemiddeld 2 kg zwaarder, wat betekent dat ze een 15 gram betere dagelijkse groei hadden dan de gevaccineerde dieren. Geen enkel gewichts- of groeiverschil was statistisch significant.

#### Serologie

Uitgaande van de Optische Densiteitswaarden gemeten in het serum van de varkens voor en 2 weken na vaccinatie was er bij de gevaccineerden een gemiddelde IgG titerstijging. Maar ook bij de controledieren steeg de titer, weliswaar in iets geringere mate. Het resultaat van deze ELISA-test is moeilijk interpreteerbaar. De dieren verblijven in besmet milieu, dus een reactie op eventuele besmetting valt niet uit te sluiten.

Tabel 4: Optische Densiteitswaarden ELISA-test

	Gevaccineerde dieren		Controledieren	
	Voor Vacc	Na 2e Vacc	Voor Inj.	Na 2e Inj
Dier 1	0,209	0,295	0,101	0,316
Dier 2	0,231	0,359	0,100	0,178
Dier 3	0,105	0,367	0,147	0,485
Dier 4	0,478	0,252	0,153	0,343
Dier 5	0,239	0,473	0,418	0,277
Dier 6	0,149	0,550	0,179	0,785
Dier 7	0,196	0,686	0,298	0,475
Dier 8	0,392	0,411	0,378	0,133
Dier 9	0,157	0,600	0,112	0,372
Dier 10	0,232	1,018	0,124	0,407
Gemiddelde	<b>0,24</b>	<b>0,5</b>	<b>0,2</b>	<b>0,38</b>

#### Kwantificatie uitscheiding *B. hyodysenteriae*

Via qPCR werd slechts 1 meststaal positief bevonden, met een concentratie van  $6,5 \times 10^4$  kiemen per gram mest. Dit dier behoorde tot de gevaccineerde Groep 2.

#### Sterftepercentage

De sterfte bij de gevaccineerde dieren bedroeg 2,25% en bij de controledieren 2,75%. Er zijn dus 2 dieren meer gestorven bij de controledieren. Voor wat betreft de doodsoorzaak is er geen uitsluitel; we weten enkel dat er 3 dieren van de gevaccineerde groep gestorven zijn ten gevolge van longproblemen in die afdeling.

#### 2.5.4 Conclusies

Onder de huidige omstandigheden leidde vaccinatie met een autovaccin niet tot significante effecten op dagelijkse groei, serologische respons, uitscheiding noch sterfte.

## 2.6 Optimalisatie diagnostiek melkgifproblemen bij zeugen

### 2.6.1 Inleiding en probleemstelling

Volgens een eerder uitgevoerde screening op Vlaamse zeugenbedrijven heeft één op drie bedrijven te maken met gedaalde melkproductie in het begin van de lactatie (Papadopoulos et al., 2010). De economische gevolgen van verminderde melkproductie zijn zeer groot. De problematiek leidt tot meer uitval bij de biggen, een tragere en ongelijke groei waardoor het speengewicht lager en meer variabel is, meer antibioticumgebruik bij de biggen en een hoger vervangingspercentage van de zeugen. De onderliggende fysiologische oorzaak is tot op heden onbekend (Maes et al., 2010).

Uit onderzoek is gebleken dat er een verband bestaat tussen het progesterongehalte postpartum en de groei van de biggen tijdens de eerste dagen van lactatie (Quesnel et al., 2013). Dit doet het vermoeden rijzen dat het niet voldoende snel dalen van progesteron postpartum mee aan de basis ligt van het voorkomen van het postpartum hypogalactiesyndroom (PHS). Daarenboven is reeds beschreven dat vettere zeugen meer kans hebben op het ontwikkelen van PHS (Maes et al., 2010). Aangezien progesteron een lipofiel hormoon is dat opgestapeld wordt in het vetweefsel, ondersteunt dit de hypothese van de mogelijke rol van progesteron in de ontwikkeling van PHS. Naast progesteron is ook prolactine belangrijk bij de melkproductie van zeugen (Averette et al., 1999; Quesnel et al., 2013). Tot op heden is het echter niet bekend of de concentratie van deze hormonen in zeugen die effectief lijden aan PHS, anders zijn dan bij gezonde, normaal lacterende zeugen. Hypogalactie treedt ook op bij infecties met *Mycoplasma suis* (*M. suis*) (Strait et al., 2005) en bijgevolg moet deze infectieuze denkpiste verder onderzocht worden. Naast hormonale disbalans en infecties met *M. suis*, kunnen voeding en kraamstalmanagement ook belangrijke risicofactoren voor PHS inhouden. De impact van de voeding op het gastro-intestinaal metabolisme van zeugen kan worden in kaart gebracht met behulp van state-of-the-art metabolomics fingerprinting. Een initiële screening bij 6 zeugen heeft aangetoond dat er inderdaad significante verschillen bestaan in de metabole samenstelling van de feces van gezonde zeugen versus zeugen met PHS. Een multifactoriële aanpak is daarom vereist om hypogalactie op hoogproductieve bedrijven in kaart te brengen, en diagnostisch te onderbouwen.

### 2.6.2 Doelstellingen

De algemene doelstelling van het project is om meer inzicht te krijgen in het ontstaan van hypogalactie bij zeugen, om uiteindelijk de behandeling, controle en preventie te optimaliseren. Hierbij zullen een aantal parameters tussen zeugen met en zonder PHS vergeleken worden.

- Via bloedname bij zeugen die effectief lijden aan PHS nagaan wat de progesteron- en prolactineconcentraties zijn en deze vergelijken met deze van gelijkaardige (zelfde ras en pariteit) niet-aangetaste zeugen. Aan de hand van de resultaten de achterliggende fysiologie van PHS proberen op te helderen, komen tot duidelijke diagnostische concentraties voor deze hormonen en nagaan welk hormoon het meeste potentieel biedt om PHS via diagnostiek te bevestigen op bedrijfsniveau.
- Via bloedname bij zeugen nagaan of de zeugen besmet zijn met *M. suis*, en nagaan of dit verband houdt met anemie door hematocrietbepaling.
- Via fecesafname bij zeugen achterhalen welke verschillen in metabolische samenstelling bestaan tussen met PHS aangetaste en niet-aangetaste zeugen. Met behulp van deze gestandaardiseerde fecale metabolomics methodologie (Vanden Bussche et al., 2015) worden meer dan 200 relevante (al dan niet microbiële) fecale metaboliëten in kaart gebracht (suikers, aminozuren, galzuren, carboxylzuren, polyamines, etc.) en hun diagnostisch potentieel en fysiologische rol binnen PHS nagegaan.
- Via spekdiktemetingen op dag 85 van de dracht, bij werpen en bij spenen de conditie en het conditieverloop in kaart brengen bij probleemzeugen en normale zeugen.

- De mate van constipatie scoren en de rectale temperatuur bepalen bij zeugen de 1ste en 2de dag na werpen.

### 2.6.3 Materiaal en Methoden

Vijf probleembedrijven waren bereid mee te werken aan de proef. Op 1 van de 5 bedrijven werd het drachtvoeder van de proefgroep aangekocht bij een andere voederfirma. Op dit probleembedrijf stelden we, wellicht daardoor, vast dat er in de proefgroep geen lactatieproblemen voorkwamen. Dus hier was een vergelijking binnen de zeugen van de proefgroep onmogelijk. Alle data van deze zeugen werden meegenomen in de "normale" groep.

Op een tweede probleembedrijf gaf de varkenshouder aan dat we toevallig met een proefgroep te maken hadden waar er weinig problemen opdoken. Normaal gezien had tot de helft van de zeugen lactatieproblemen. In deze proefgroep had slechts 1 van de 10 zeugen een lichte vorm van hypogalactie.





Een derde bedrijf was net voor aanvang van de proef veranderd van bedrijfsdierenarts. Daardoor werd er wat gesleuteld aan het drachtvoederschema. Omwille van het dierenwelzijn hebben we op dit bedrijf de spekdikte einde dracht (normaal gemeten ongeveer 1 maand voor werpen) niet gemeten in de groepshuisvesting. De onrust bij de dieren was veel te hoog, en we wilden overmatige stress vermijden.

Op de overige 2 bedrijven had ongeveer de helft van de zeugen (respectievelijk 5/11 en 4/9 zeugen) lactatieproblemen. Uiteindelijk werden 38 zeugen zonder problemen en 12 zeugen met tekenen van PHS opgenomen in de studie.

Op de 5 probleembedrijven werd bij een eerste bezoek onderzocht of het effectief om PHS ging, werd de checklist ingevuld en werden de spekdiktemetingen opgestart bij de op te volgen groep (1ste meting op d85 van de dracht, Renco, P2 positie). De voederetiketten van dracht, transit en lactatievoeder werden toegevoegd aan de checklist. Het drinkwater voor de lacterende zeugen werd onderzocht: zowel aan de bron als aan de nippel werden stalen genomen en deze werden chemisch en bacterieel onderzocht.

Tijdens het tweede bezoek werd de spekdikte bij werpen gemeten en werden er nuchtere bloedstalen ter hoogte van de vena jugularis en rectale monsters genomen ('s ochtends voor voederen) op de dag na werpen van verschillende zeugen. Naargelang het aantal zeugen dat geworpen had, werd een 3de bezoek voor bloedname en fecesbemonstering gepland. Achteraf (ongeveer 1,5-2 dagen na werpen treedt problematiek pas op) werd nagegaan welke zeugen het probleem al dan niet vertoonden. Op basis hiervan werden de monsters van alle zeugen zonder problemen en alle stalen van zeugen met PHS geselecteerd. Tijdens de fecesbemonstering werd ook de rectale temperatuur bepaald en mestconsistentie gescoord op basis van tabel 5 (naar Oliviero et al., 2009).

Tabel 5: Scoring mestconsistentie naar Oliviero et al., 2009

	<b>0</b>	Absence of faeces
	<b>1</b>	Dry and pellet-shaped (unformed)
	<b>2</b>	Between dry and normal (pellet-shaped and formed)
	<b>3</b>	Normal and soft, but firm and well formed
	<b>4</b>	Between normal and wet; still formed, but not firm
	<b>5</b>	Very wet faeces, unformed and liquid

Op de geselecteerde bloedstalen werd de concentratie van progesteron (serum) en prolactine (serum) bepaald. Tevens werd de hematocriet (ongestold bloed) en de aanwezigheid van *M. suis* onderzocht (PCR op ongestold/EDTA bloed, Strait et al., 2005). Op de fecesstalen werd hoge-resolutie massaspectrometrie-gebaseerde metabolomics uitgevoerd (Vanden Bussche et al., 2015).

Bij het derde of vierde bezoek werd de spekdikte bij spenen gemeten (Renco, P2 positie) en de uniformiteit en het gewicht van de biggen beoordeeld.

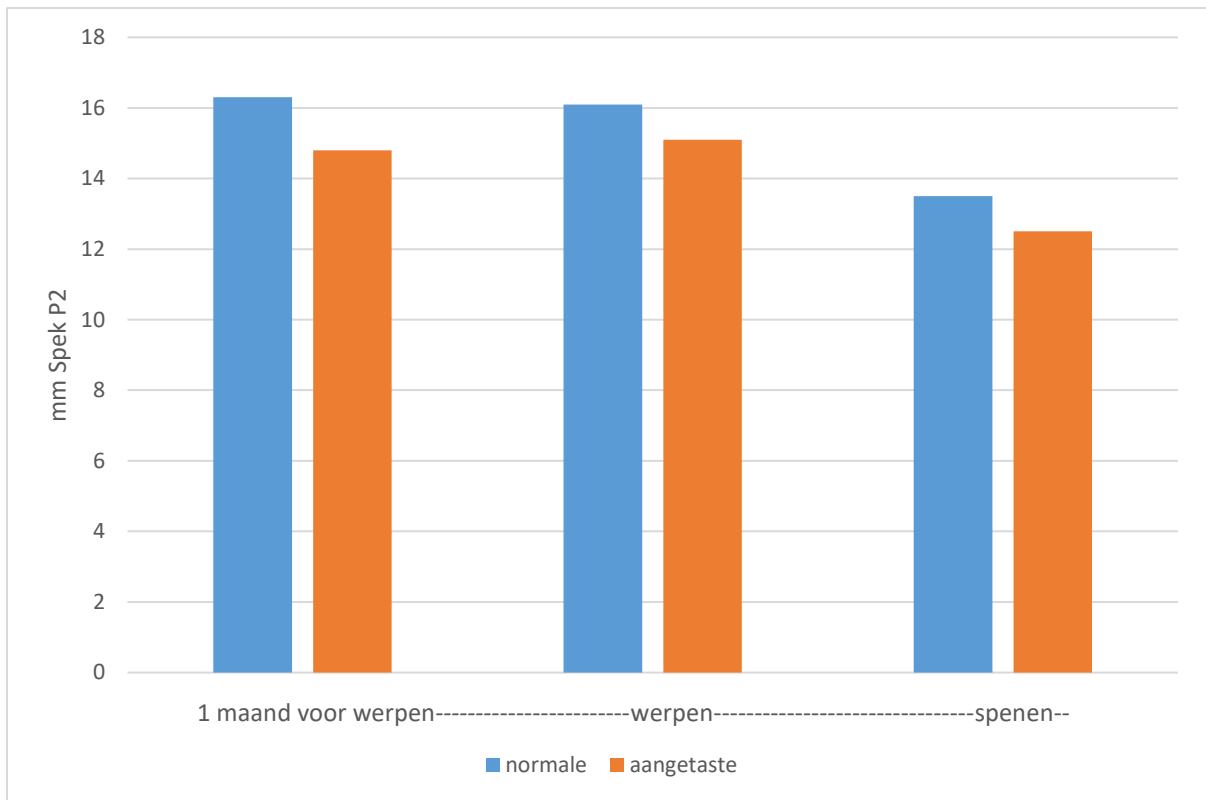
#### 2.6.4 Resultaten

De resultaten van de verschillende parameters bij de zeugen zonder en met PHS worden in tabel 6 weergegeven. De resultaten van de spekdiktes en lichaamstemperatuur worden in figuur 4 en 5 weergegeven.

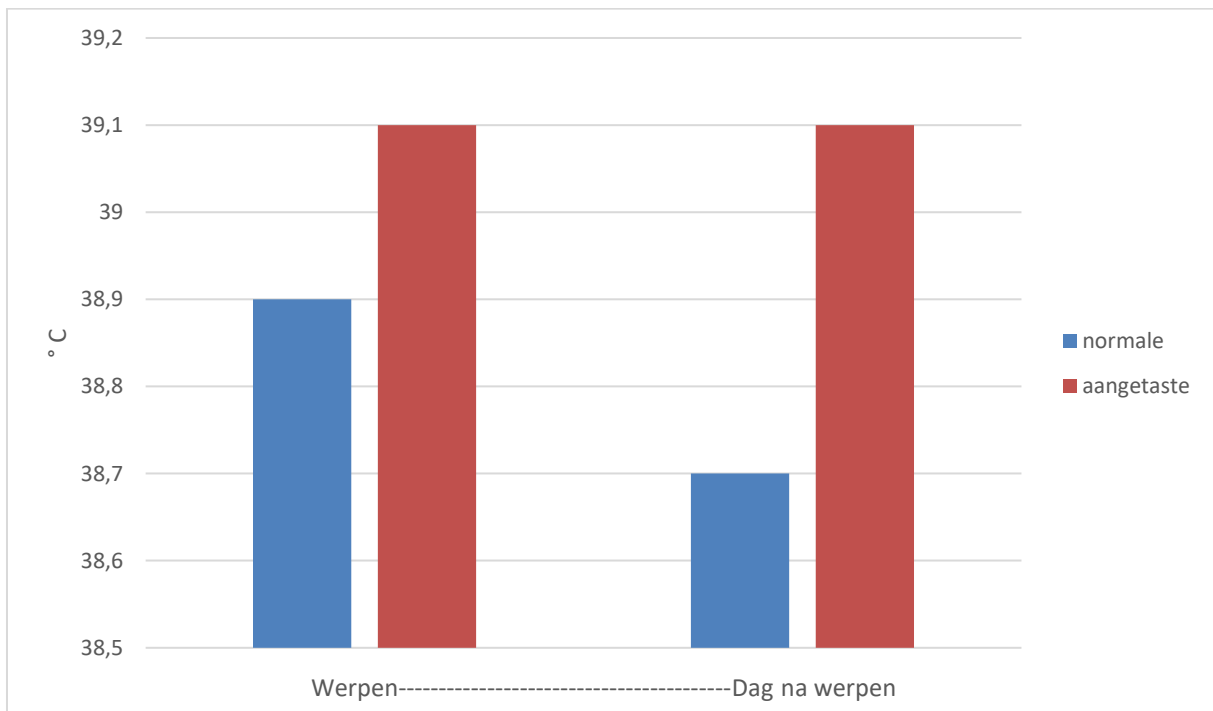
Tabel 6: Resultaten van analyses van stalen van zeugen zonder en met PHS

	Zeugen zonder PHS (n=38)	Zeugen met PHS (n=12)
Progesteronconcentraties.(ng/ml)	3,09	3,25
Prolactineconcentratie (ng/ml)	4,46	4,08
Aantal zeugen positief voor <i>M. suis</i> op dag na werpen	34,3	16,7
Hematocriet (%)	32,8	31,8
Consistentie van de mest (0-5)	2,1	2

- Het progesterongehalte is op de dag na werpen gemiddeld licht hoger bij de zeugen met PHS.
- Het prolactinegehalte is op de dag na werpen gemiddeld licht lager bij de zeugen met PHS.
- *M. suis* is aangetoond bij 1/3 van de normale zeugen, en slechts bij 1/6 van de zeugen met PHS.
- De hematocriet is slechts licht lager bij zeugen met PHS
- De gemiddelde consistentie van de mest daags na werpen is bij beide groepen zeugen (normale t.o.v. zeugen met PHS) ongeveer gelijk.
- De gemiddelde spekdiktes op de drie tijdstippen waren iets lager bij aangetaste zeugen.
- De spekdikte 1 maand voor werpen is 1,5 mm dikker bij zeugen met normale lactatie.
- De spekdikte bij werpen is lichtjes gedaald bij normale zeugen, terwijl ze bij zeugen met PHS lichtjes is toegenomen t.o.v. de meting 1 maand voor werpen.
- Beide groepen zeugen verliezen evenveel spek tijdens de lactatie (figuur 4), hoewel de zeugen met PHS wellicht minder melk geven.
- De lichaamstemperatuur op de dag na werpen is licht hoger bij de zeugen met PHS, en die temperatuur daalt de volgende dag bij de normale zeugen, terwijl ze gelijk blijft bij de zeugen met PHS (figuur 5).
- Voor wat betreft de metabolomic fingerprinting wijzen de resultaten in de richting van een kleine metabole variatie tussen de gezonde en PHS (+) zeugen. Geen van de modellen voldoet aan alle vooropgestelde criteria. Dit is vermoedelijk te wijten aan een te lage statistische power door het beperkt aantal stalen. Op 1 van de 5 bedrijven werd er een iets groter onderscheid gevonden tussen de meststalen van PHS (+) en PHS (-) zeugen, maar ook hier voldeed het model niet aan alle validatiecriteria door het beperkt aantal stalen.



Figuur 4: Spekdikte P2 bij aangetaste en niet aangetaste zeugen



Figuur 5: Lichaamstemperatuur bij aangetaste en niet aangetaste zeugen

## Bespreking individuele bedrijven

Dit zijn de tendensen die we zien als we de gemiddelden van alle zeugen met PHS vergelijken met de gemiddelden van de zeugen met normale lactatie over alle 5 de bedrijven heen. Als we de resultaten per bedrijf analyseren, dan zien we soms tegengestelde bevindingen die niet overeenstemmen met de algemene gemiddelden.

Zo zijn het, op 1 bedrijf, net de vette zeugen (+0,9 mm) en de zeugen die meest vet aanzetten tijdens de laatste maand van de dracht (+2,6 mm vs. +1,9 mm) die symptomen van PHS vertonen. Op dit bedrijf verliezen de aangetaste zeugen ook meer spek tijdens de lactatie (-4,4 mm vs. -2,5 mm). De lichaamstemperatuur is, daags na werpen, gelijk in beide groepen, maar gemiddeld hoog (39,3°C). Hier daalt de temperatuur op dag 2 wel fors bij de normale zeugen (38,8°C), maar nauwelijks bij de aangetaste zeugen (39,2°C). De hematocriet is beduidend lager bij de zeugen met PHS (29,9 vs. 37,9). Het progesterongehalte ligt hoog bij alle zeugen, maar het hoogst bij zeugen met PHS (4,46 ng vs. 4,29 ng). Het prolactinegehalte ligt beduidend hoger bij de normale zeugen (7,05 ng/ml vs. 4,63 ng bij PHS-zeugen).

Op een tweede bedrijf is 1 zeug met PHS ook het vetst 1 maand voor werpen (13 mm vs. 11,1 mm). Die zeug verliest daarentegen wel 2 mm spek gedurende de laatste maand van de dracht, terwijl de andere zeugen 0,8 mm vet bij aanzetten. De normale zeugen verliezen 2,1 mm spek tijdens de lactatie, terwijl de zeug met PHS slechts 1 mm verliest. Verder zijn er op dit bedrijf geen verschillen tussen normale zeugen en die ene zeug met PHS, behalve dat 2 normale zeugen positief zijn voor *M. suis*.

Op het derde bedrijf zijn de zeugen met PHS magerder dan de normale (11 mm vs. 14,3 mm). Alle zeugen verliezen hier spek gedurende de laatste weken dracht. Op dit bedrijf is de spekdikte einde dracht pas gemeten in de kraamafdeling, ongeveer 2 weken voor de verwachte worp (in plaats van 4 weken). Vandaar wellicht een kleinere schommeling in spekdikte tussen de eerste 2 tijdstippen van spekdiktemeting. De normale -1 mm, die met PHS -0,5 mm. Tijdens de lactatie verliezen de normale zeugen 1,7 mm spek, de aangetaste slechts 0,5 mm. Verder hebben de zeugen met PHS hier beduidend hardere mest dan de normale (score 1 = harde keutels) t.o.v. score 2,6 (= normaal tot zacht). De lichaamstemperatuur is normaal (38,7°C) bij de normale zeugen op beide meetdagen. Bij de aangetaste is de temperatuur hoger op de dag na werpen (39,1°C) en daalt deze nauwelijks de volgende dag (38,9°C). Hier is de hematocriet beduidend hoger bij de normale zeugen (30,8 bij de zeugen met PHS vs. 36,8 bij de normale). Hier is 37,5% van de normale zeugen ook positief voor *M. suis*, terwijl de zeugen met PHS negatief waren. Het progesterongehalte bij de PHS-zeugen is hier merkwaardig genoeg net iets lager dan bij de normale (2,18 ng vs. 2,41 ng/ml). Het prolactinegehalte ligt hier dan hoger bij de PHS-zeugen (8,65 ng/ml vs. 5,94 ng bij de normale zeugen).

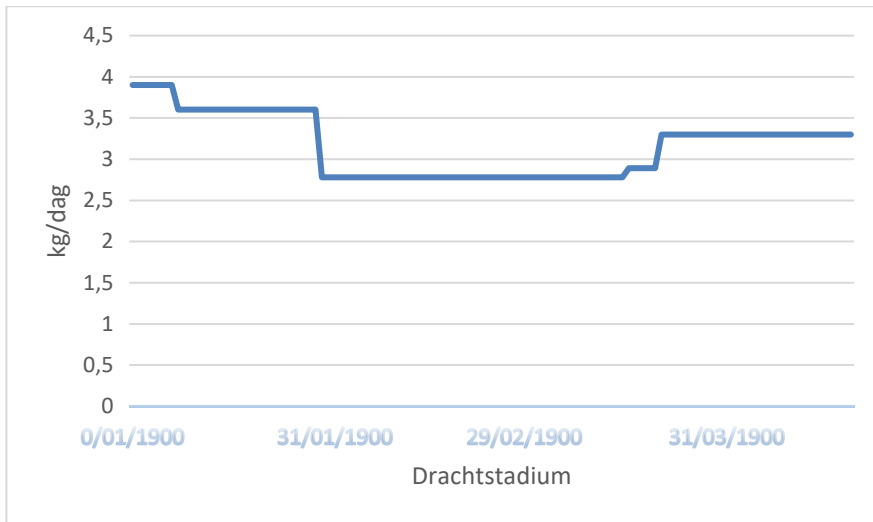
Op het laatste bedrijf waar vergelijking mogelijk is zijn de zeugen met PHS ook het magerst 1 maand voor de worp (14,3 mm vs. 16,2 mm). De normale zeugen hebben nog wat spek aangezet in de laatste maand dracht (+0,6 mm) terwijl de zeugen met PHS nog magerder zijn geworden (-1,8 mm). De normale zeugen verloren dubbel zoveel spek tijdens de lactatie als de aangetaste zeugen (3,6 mm vs. 1,8 mm). Daags na werpen hadden de aangetaste zeugen een lagere temperatuur dan de normale (38,9°C vs. 39,2°C), maar bij de zeugen met PHS steeg de temperatuur naar dag 2 toe, terwijl die bij de normale zeugen goed daalde (39,2°C vs. 38,8°C). De hematocriet was hier bij beide groepen ongeveer gelijk. Voor *M. suis* waren er dit keer meer positieve dieren bij de zeugen met PHS dan bij de normale (50% vs. 40%). Het progesterongehalte was ook hier lager bij de zeugen met PHS (2,28 ng vs. 2,89 ng/ml). Het prolactinegehalte lag op dit bedrijf dan weer veel lager bij de PHS-zeugen (1,11 ng/ml vs. 4,22 ng/ml bij de normale zeugen).

## Analyse voedercurves

Op het bedrijf waar de vetste zeugen problemen van PHS lieten zien, wordt er ook het ruimst gevoederd (figuur 6). De conditie van de zeugen is hier ook algemeen vrij ruim. Vooral tussen dag 28 en 75 van de

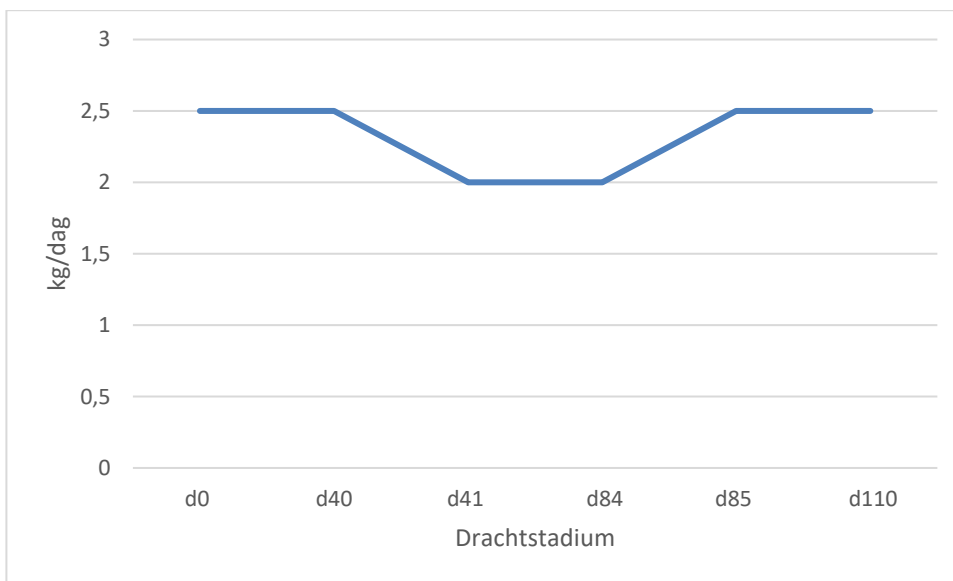


dracht wordt er nog bijna 2,8 kg voeder per zeug per dag gegeven. Mogelijk is dat in deze periode van de dracht op dit bedrijf meer dan ruim genoeg.

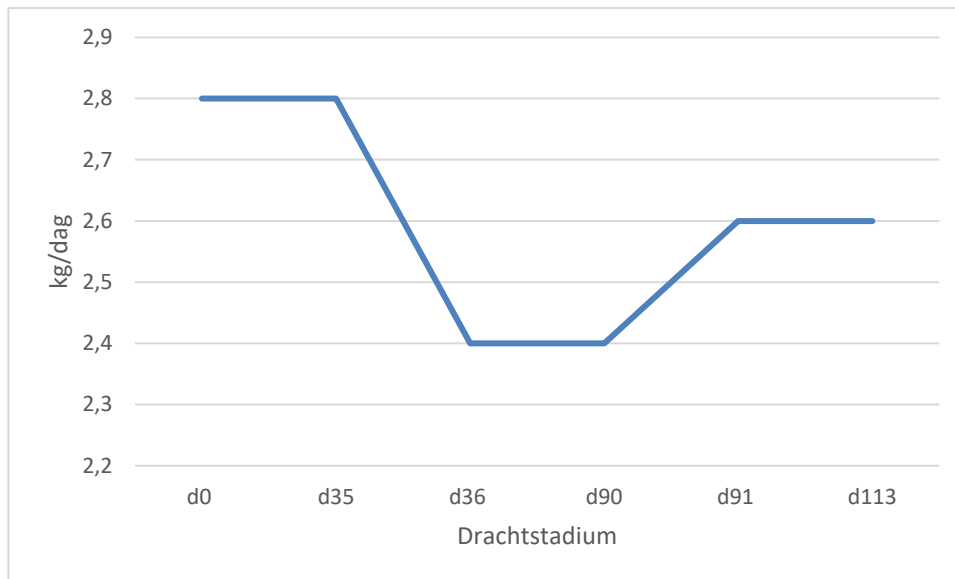


Figuur 6: Voedercurve op het bedrijf waar de vetste zeugen PHS lieten zien

Op de bedrijven waar de gemiddeld magerste zeugen problemen van PHS vertonen, wordt er een veel lager voederniveau aangehouden tijdens de dracht (figuur 6 en 7). Bovendien is de conditie van de zeugen hier wisselend. Op het bedrijf met de laagste voedergift is het voeder bovendien ook nog het minst energetisch.



Figuur 6: Voedercurve op één van de bedrijven waar de gemiddeld magerste zeugen PHS vertonen



Figuur 7: Voedercurve op een tweede bedrijf waar de gemiddeld magerste zeugen PHS vertonen

Op het bedrijf waar in de proefgroep geen probleemzeugen voorkwamen, valt het op dat de spekdikte van de proefgroep net voor werpen liefst 5 mm hoger was dan de groep ervoor. Door de voederverandering had slechts 3% van de zeugen een spekdikte lager dan 12 mm, daar waar dat in de vorige groep 12,2% was. In de vorige werpgroep had slechts 23% van de zeugen een spekdikte boven de 18 mm voor werpen. In onze proefgroep was dat 54%.

### 2.6.5 Conclusies

Bedrijven die geconfronteerd worden met lactatieproblemen zouden er goed aan doen om de lichaamstemperatuur van de zeugen op te volgen na het werpen. Als de temperatuur na werpen te hoog oploopt (> 39,3°C), en zeker als die temperatuur niet daalt op dag 2 na werpen, lijkt het raadzaam om die zeugen te behandelen

Indien de gebruikte voedercurves aan de hoge of lage kant liggen, dan is het nuttig om op te volgen of de lactatieproblemen zich niet voordoen bij de vetste of magerste zeugen van de groep. Indien dit het geval is, dan is het aangewezen om de voedercurve bij te stellen.

Harde mest of constipatie lijkt ook een predisponerende factor te zijn voor PHS.

### 3 Praktijkgerichte deelprojecten nog lopende in 2017

#### 3.1 Voorkomen en samenstelling van biofilms in drinkwaterleidingen van varkensbedrijven

##### 3.1.1 Inleiding en probleemstelling

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 afgeschermd van 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. Zo wordt drinkwatermedicatie bijvoorbeeld standaard toegepast bij vleeskuikens en naar de toekomst mogelijk ook meer bij varkens. De aanwezigheid van een biofilm geeft mogelijk aanleiding tot resistentieontwikkeling. Dit 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 resistentiegen-dragende plasmiden tussen de bacteriën in de biofilm (Król et al., 2011; Savage et al., 2013).

##### 3.1.2 Doelstellingen en resultaten

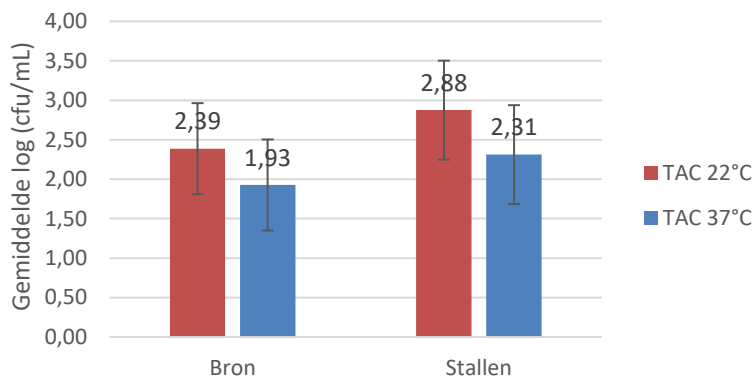
In welke mate komen biofilms voor in drinkwaterleidingen in de varkenshouderij?

De problematiek van biofilms werd in kaart gebracht in een steekproef van 10 varkensbedrijven. Hiervoor werd in elk bedrijf de binnenkant van de drinkwaterleidingen bemonsterd in de drachtstal, de kraamstal, de biggenbatterij en de vleesvarkensstal. Verder werden er waterstalen genomen aan de bron en in de 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(CFU/mL) en van 0,48 tot 2,99 log(CFU/mL) voor de stalen geïncubeerd bij 22°C en 37°C, respectievelijk. Voor de waterstalen afkomstig van de stallen varieerde de microbiële belasting van 0 tot > 5,18 log(CFU/mL) voor de stalen geïncubeerd bij zowel 22°C als 37°C.

Het gemiddelde totaal aeroob kiemgetal van de waterstalen genomen aan de bron en in de stallen wordt weergegeven in Figuur 8.



Figuur 8: Gemiddeld totaal aerob kiengetal (TAC) bij 22°C en 37°C van de waterstalen afkomstig van de bron (n=10) en de stallen (n=40)

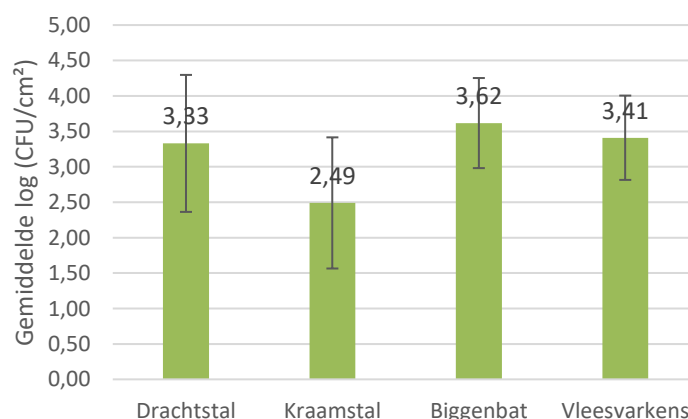
Er wordt een lichte toename in microbiologische belasting van het drinkwater vastgesteld tussen de bron en de stallen.

### Microbiologische belasting als indicator voor de aanwezigheid van biofilms in drinkwaterleidingen

De swabmonsters van de biofilms aan de binnenkant van de waterleidingen werden onderzocht op het totaal aantal aerobe kiemen bij 30°C en de aanwezigheid van *E. coli*. Het aantal aerobe kiemen aangetroffen op het binnenoppervlak van de drinkwaterleidingen varieerde tussen 0,40 en 5,65 log(CFU/cm<sup>2</sup>).

Op stalniveau lag de gemiddelde microbiologische belastingen voor respectievelijk de drachtstal, de kraamstal, de biggenbatterij en de vleesvarkensstal op 3,33; 2,49; 3,62 en 3,41 log(CFU/cm<sup>2</sup>) (Figuur 9).

Deze resultaten liggen iets lager dan in drinkwaterleidingen in vleeskuikenstallen waar de aantallen op de oppervlakken varieerden tussen 0,67 en 7,70 log(CFU/cm<sup>2</sup>) volgens een recente studie van onze groep (Maes et al. 2018). Gemiddeld lag de microbiologische belasting bij vleeskuikens op 4,73 log(CFU/cm<sup>2</sup>).



Figuur 9: Gemiddeld totaal aerob kiengetal 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 toepassen gemiddeld lager lag, nl. op 2,77 log(CFU/cm<sup>2</sup>), terwijl de microbiële belasting voor de 5 andere bedrijven die wel permanente ontsmetting toedienen hoger lag, nl. op 3,66 log(CFU/cm<sup>2</sup>).

In de 40 bemonsterde drinkwaterleidingen werd 8 maal *E. coli* aangetroffen op 5 verschillende bedrijven waarvan er 7 *E. coli*-bacteriën uitgezuiverd konden worden ( 7).

Tabel 7: Overzicht van de gedetecteerde en uitgezuiverde *E. coli* Veepeiler (VP) isolaten

Isolaat	Bedrijf	Stal
VP1	VA	Drachtstal
VP2	VA	Biggenbatterij
VP3	VD	Kraamstal
VP4	VF	Drachtstal
VP5	VF	Kraamstal
VP6	VG	Drachtstal
VP7	VG	Biggenbatterij
Niet uit te zuiveren	VI	Biggenbatterij

Welke kiemen hebben de hoogste prevalentie in deze biofilms?

De bekomen stalen van de biofilms zullen waar mogelijk (i.e. bij voldoende microbieel materiaal/DNA) microbiologisch gekarakteriseerd worden, wat zal toelaten kennis te verwerven omtrent de (sectorspecifieke) microbiële gemeenschap aanwezig in drinkwaterleidingen. Er zal hierdoor een inzicht verkregen worden over de dominante micro-organismen in deze biofilms. Om de populatie aan micro-organismen zo volledig mogelijk in kaart te kunnen brengen, zal de microbiologische karakterisatie gebeuren met behulp van metagenoomanalyse.

In bepaalde gevallen werden de stalen per bedrijf gepoold. Uiteindelijk bleek voor 10 van de 40 stalen net voldoende genetisch materiaal aanwezig te zijn. De metagenoomanalyses hierop zijn momenteel lopende en worden gerapporteerd in het eindverslag.

Zijn er antibioticumresistente bacteriële stammen in deze biofilms?

De 7 *E. coli*-velstammen werden met behulp van microdilutie (Sensititre) getest op resistentie voor 14 antibiotica: sulfamethoxazole, trimethoprim, ciprofloxacin, tetracycline, meropenem, azithromycine, nalidixinezuur, cefotaxime, chloramphenicol, tigecycline, ceftazidime, colistine, ampicilline en gentamicine.

De bepaling van deze antibioticumresistentie toonde aan dat 2 van de 7 *E. coli*-isolaten antibioticumresistentie vertonen en bovendien multiresistent waren (Tabel 8).

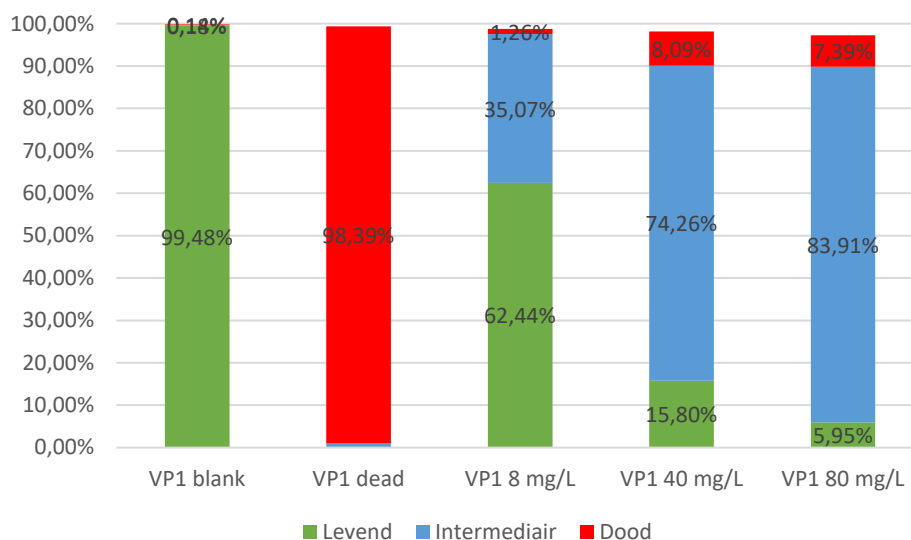
Tabel 8: Antibiotica-resistentie profielen van de 7 *E. coli*-veldisolaten

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

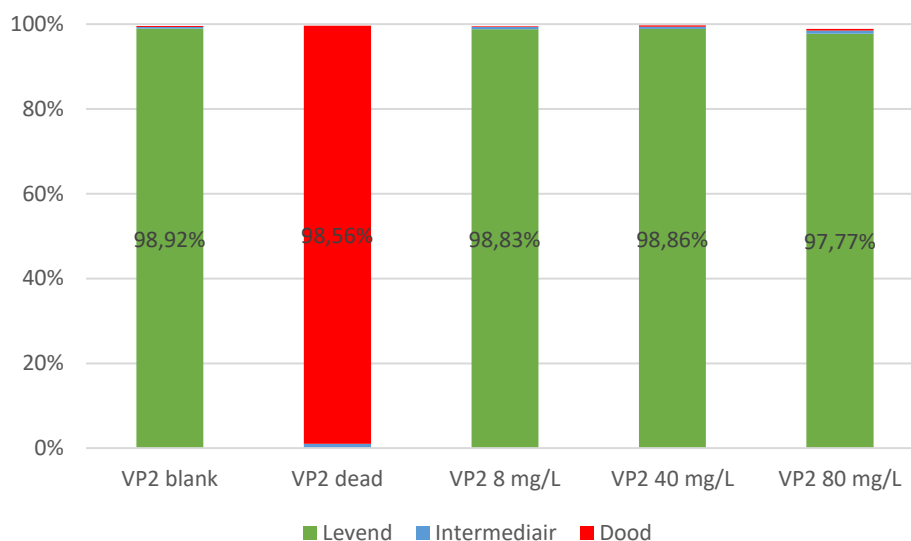
Vervolgens werden de 7 veldisolaten 24 uur blootgesteld aan stijgende concentraties (8 mg/L, 40 mg/L en 80 mg/L) van het antibioticum ampicilline (AMP) waarvoor 2 van de 7 veldisolaten resistent zijn (Tabel 8) en vervolgens geanalyseerd via niet-cultuur gebaseerde flowcytometrie (Cytoflex). Hiervoor 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 een risico wegens hun groeipotentieel wanneer de condities gunstig zijn ("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) en 100% dode (verhitte) veldstam.

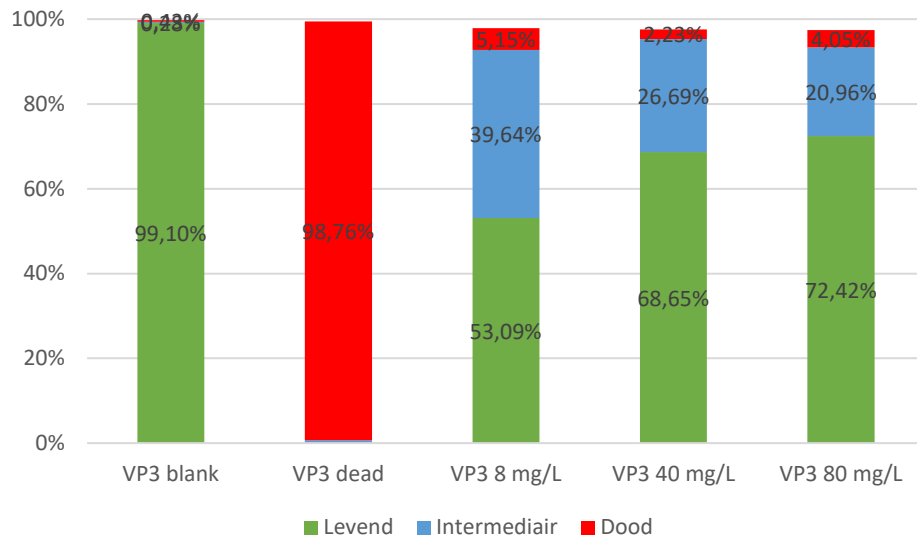
De resultaten voor elk isolaat worden weergegeven in figuren 10 A-G.



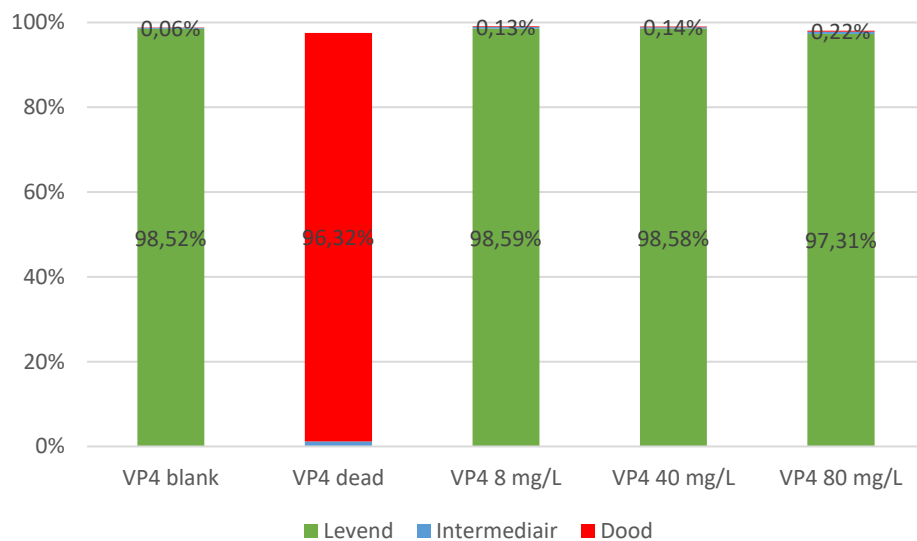
Figuur 10A: Flowcytometrische analyse van isolaat VP1 (gevoelig voor AMP; MIC: 4 mg/L)



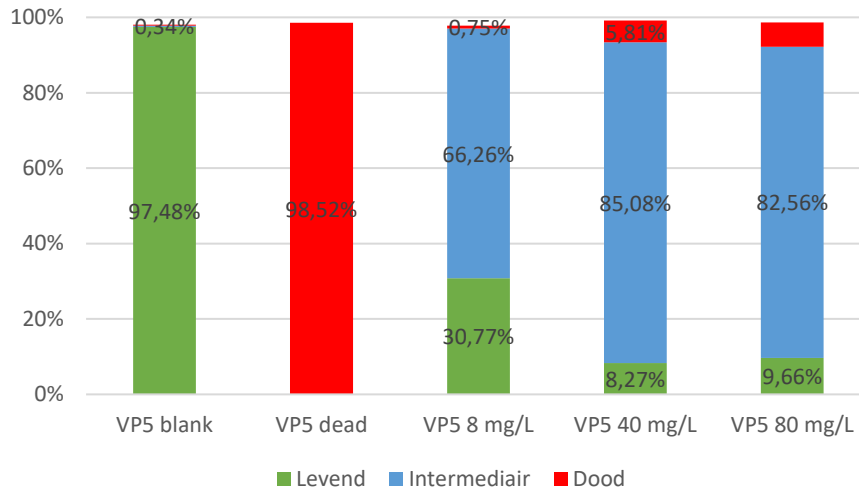
Figuur 10B: Flowcytometrische analyse van isolaat VP2 (resistent voor AMP; MIC: >64 mg/L)



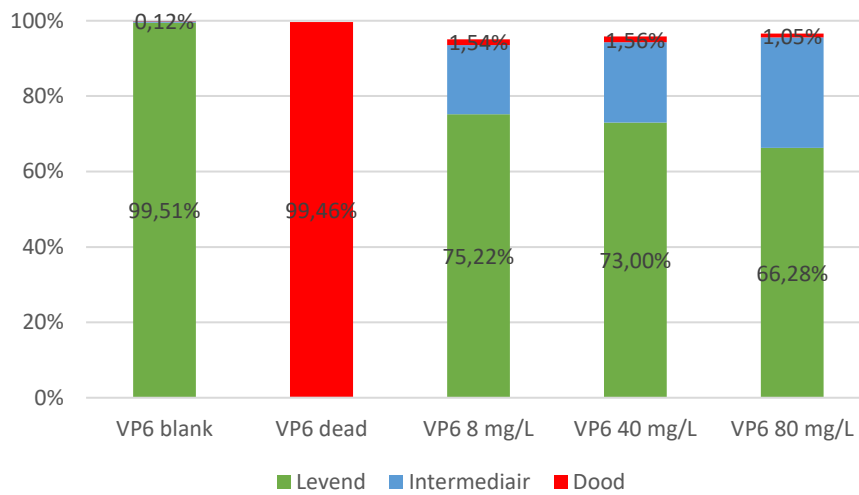
Figuur 10C: Flowcytometrische analyse van isolaat VP3 (gevoelig voor AMP; MIC: 4 mg/L)



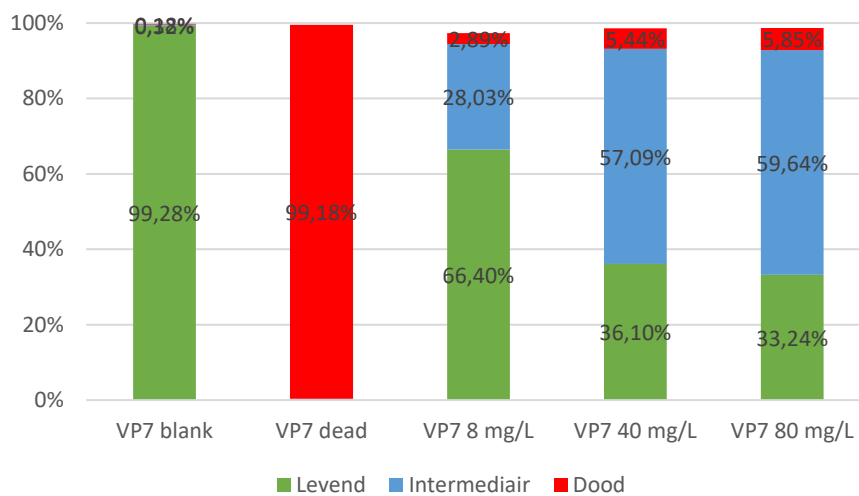
Figuur 10D: Flowcytometrische analyse voor isolaat VP4 (resistent voor AMP; MIC: >64 mg/L)



Figuur 10E: Flowcytometrische analyse voor isolaat VP5 (gevoelig voor AMP; MIC: 2 mg/L)



Figuur 10F: Flowcytometrische analyse voor isolaat VP6 (gevoelig voor AMP; MIC: 4 mg/L)



Figuur 10G: Flowcytometrische analyse voor isolaat VP7 (gevoelig voor AMP; MIC: 2 mg/L)



De flowcytometrische analyses werden uitgevoerd wegens hun complementariteit aan de cultuur-gebaseerde microdilutie en bevestigen 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 membraanpotentiaal en -integriteit hebben (benaderen een 100% levende populatie).

Onverwacht was echter dat de 5 gevoelige veldisolaten (i.e. 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 veldisolaten het percentage 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.

### 3.1.3 Voorlopige conclusies

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

Ook de antibioticumresistentie 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 (niet gepubliceerde data Maertens et al., 2018) waar slechts 21% van de *E. coli*-isolaten geen antibioticumresistentie vertoonden (versus 71% in voorliggende studie).

De verdere karakterisatie met behulp van metagenoomanalyse zal een vollediger beeld geven van de microbiële gemeenschap aanwezig in de biofilms.

Deze steekproefresultaten tonen tot slot 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 (Vanhauteghem et al., 2013 en 2017). Verder onderzoek naar de zeer lage percentages van dode bacteriën is aangewezen om het risico van de niet-dode (levende en intermediaire subpopulaties) beter te kunnen inschatten.

### 3.1.4 Referenties

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

Costerton et al. (1995). Microbial biofilms.

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.

Maes et al. (2018). Occurrence and characterization of biofilms in drinking water systems of broiler houses. (submitted)

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.

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

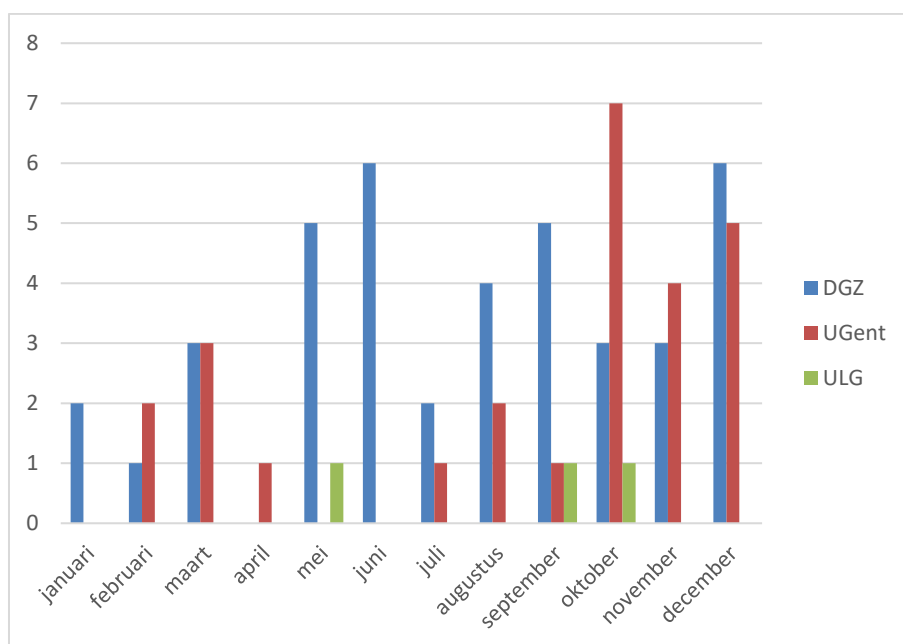
Vanhauteghem et al. (2017). Flow Cytometry Is a Powerful Tool for Assessment of the Viability of Fungal Conidia in Metalworking Fluids.

## 4 Bedrijfsbezoeken tweedelijnsdiergeneeskunde

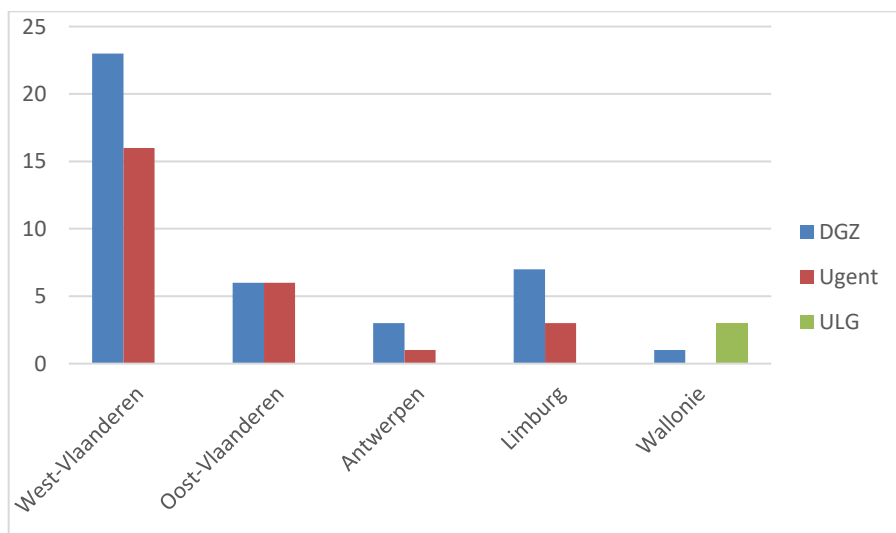
### 4.1 Aantal bezoeken

In 2017 kreeg Veepeiler 39 aanvragen tot bedrijfsbezoeken in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde. Dit resulteerde in 69 bedrijfsbezoeken (waarvan 30 herhalingsbezoeken) uitgevoerd in het kader van Veepeiler (figuur 11). Hiervan werden er 40 (16 herhalingsbezoeken) uitgevoerd door DGZ, 26 (14 herhalingsbezoeken) door de eenheid gezondheidszorg varken van de vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde van de faculteit Diergeneeskunde van UGent. Daarnaast werden ook 3 bezoeken op 3 bedrijven uitgevoerd door de Universiteit Luik.

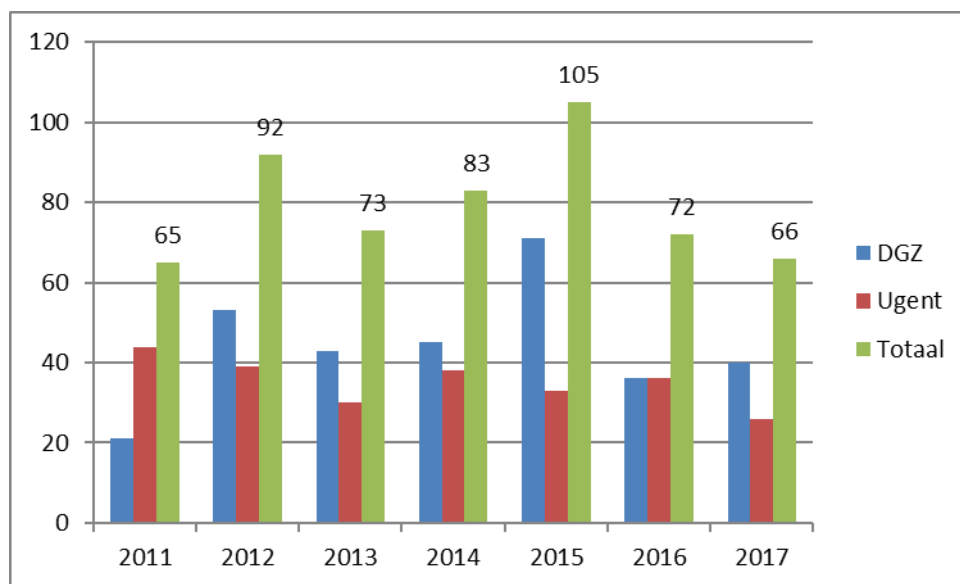
De meeste bezoeken werden uitgevoerd in de provincie West-Vlaanderen (figuur 12). Dit is wellicht te verklaren door het hoge aantal varkensbedrijven in deze provincie.



Figuur 11: Maandelijks aantal bedrijfsbezoeken uitgevoerd in 2017 in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler.

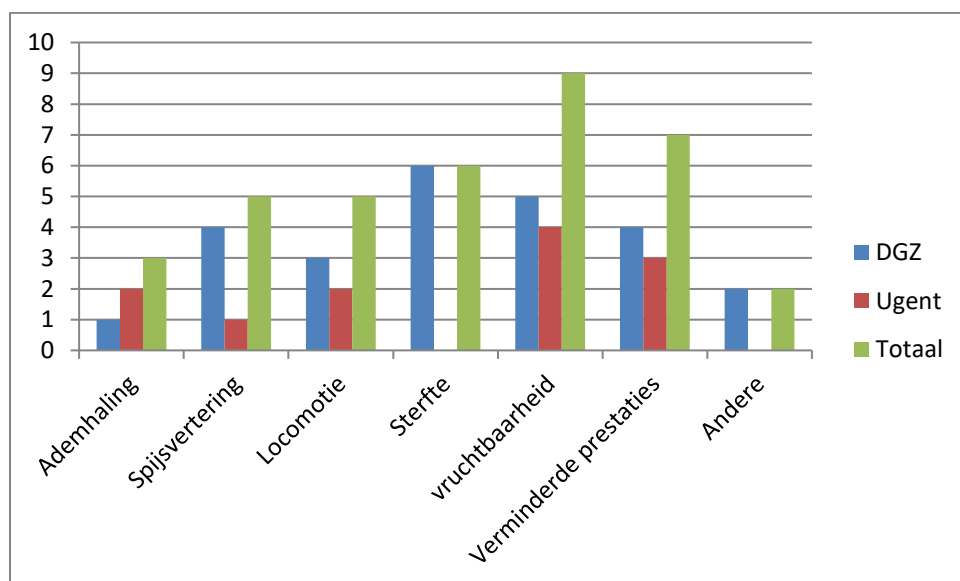


Figuur 12: Bedrijfsbezoeken uitgevoerd in 2017 in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler, weergegeven per provincie.



Figuur 13: Evolutie aantal bedrijfsbezoeken in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler over de jaren heen.

## 4.2 Redenen tot aanvraag van de bedrijfsbezoeken



Figuur 14: Redenen tot aanvraag tweedelijnsdiergeneeskundig bedrijfsbezoek van Veepeiler Varken in 2017.

De meest voorkomende reden tot aanvraag voor begeleiding via Veepeiler zijn vruchtbaarheidsproblemen. Onder vruchtbaarheidsproblemen vallen onder andere te veel doodgeboren biggen, verwerpers of herlopers. Verminderde presentaties is de tweede meest voorkomende reden tot aanvraag voor een Veepeileropvolging. Verminderde prestaties omvatten slechte groei, voederconversie of te veel achterblijvers bij de biggen of de vleesvarkens. Sterfte omvat te hoge uitval in alle categorieën, zowel in kraamstal, in biggenbatterij, bij vleesvarkens als bij zeugen. Onder spijsverteringsproblemen verstaan we diarree bij biggen, vleesvarkens en zeugen. De aanvragen

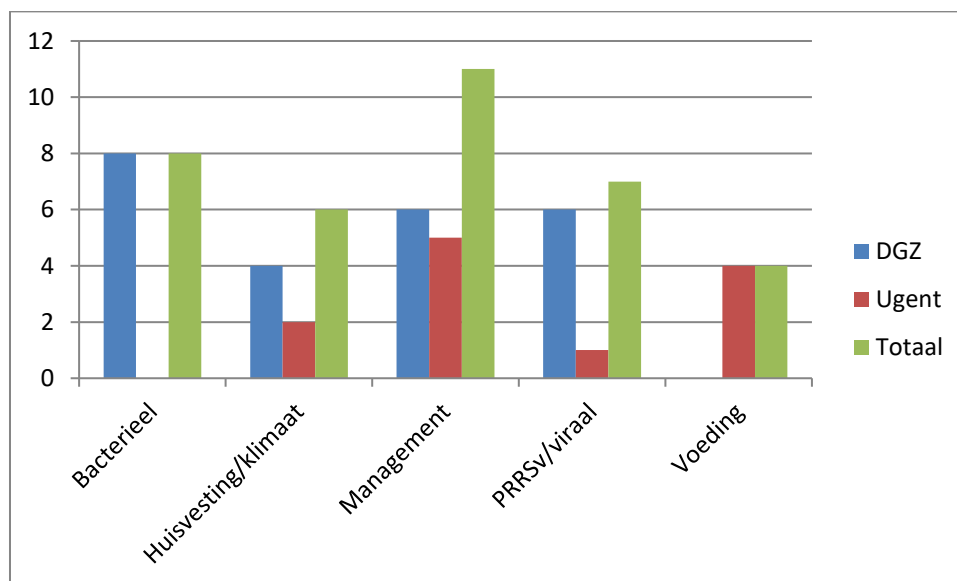
omwille van ademhalingsproblemen hadden te maken met hoest bij zowel gespeende biggen als vleesvarkens. Onder locomotieproblemen vallen mankende zeugen, gelten of vleesvarkens, opgezette gewrichten bij biggen en beenwerkproblemen bij vleesvarkens. Tot slot waren er ook nog een aanvraag omwille van zieke zeugen en een omwille van oortopnecrose in de batterij (zie 'Andere' in figuur 14).

### 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.

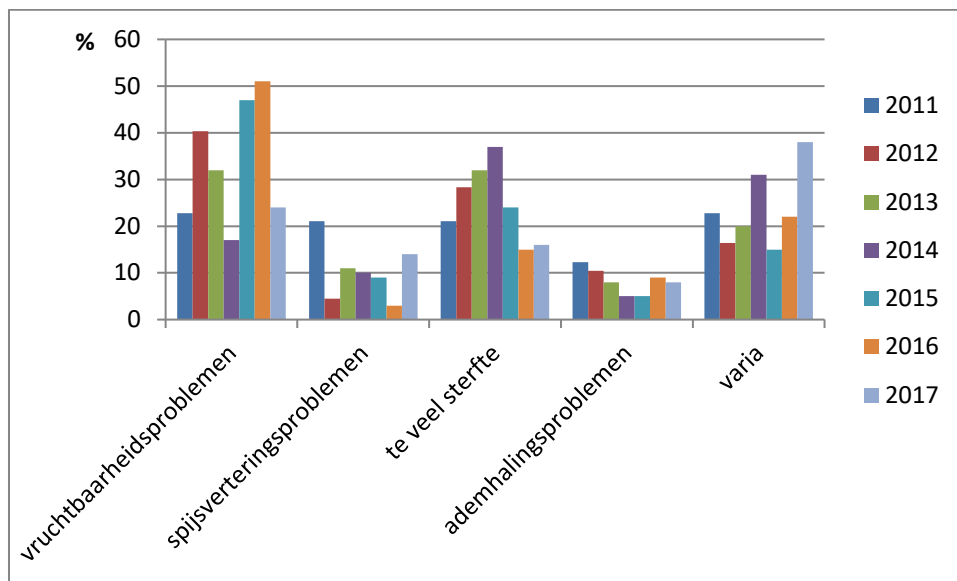
Tekortkomingen in het management waren ook in 2017 de hoofdoorzaak van de problemen. Hierbij denken we vooral aan bioveiligheid, hygiëne en voederstrategieën, maar ook aan vaccinatie en medicatiebeleid en stress bij de dieren en de rol van genetica. Bij de bacteriële oorzaken werden problemen met onder andere *Streptococcon*, *App*, *E.Coli*, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Salmonella* en *Mycoplasma hyosynoviae* gemeld. Bij de virale oorzaken ging het hoofdzakelijk om PRRS en PCV2. Onder het luikje voeder vallen de samenstelling van het voeder en de drinkwaterkwaliteit.

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.



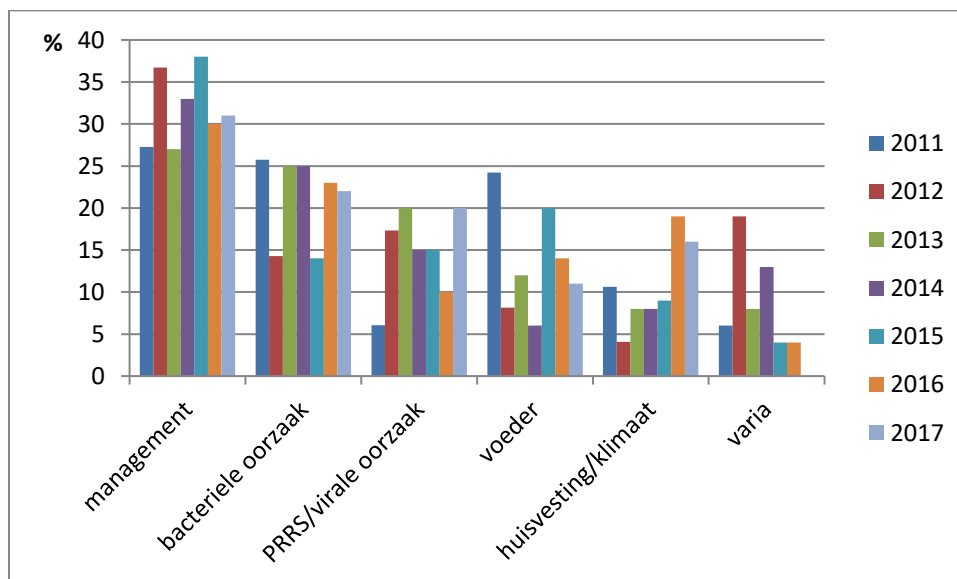
Figuur 15: Vermoedelijke oorzaken van de problematiek op bedrijven bezocht in het kader van de tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler in 2017.

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



Figuur 16: Percentage redenen tot aanvraag voor een bedrijfsbezoek in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken in de laatste zeven 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.



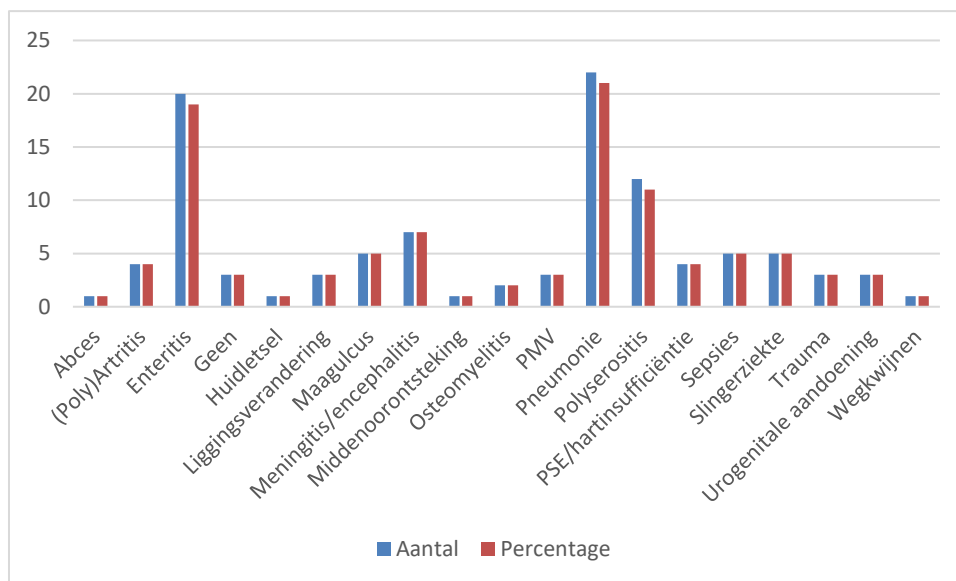
Figuur 17: Percentage vermoedelijke oorzaken van bedrijfsproblematiek in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken in de laatste zeven jaar.

## 5 Analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken

### 5.1 Autopsies

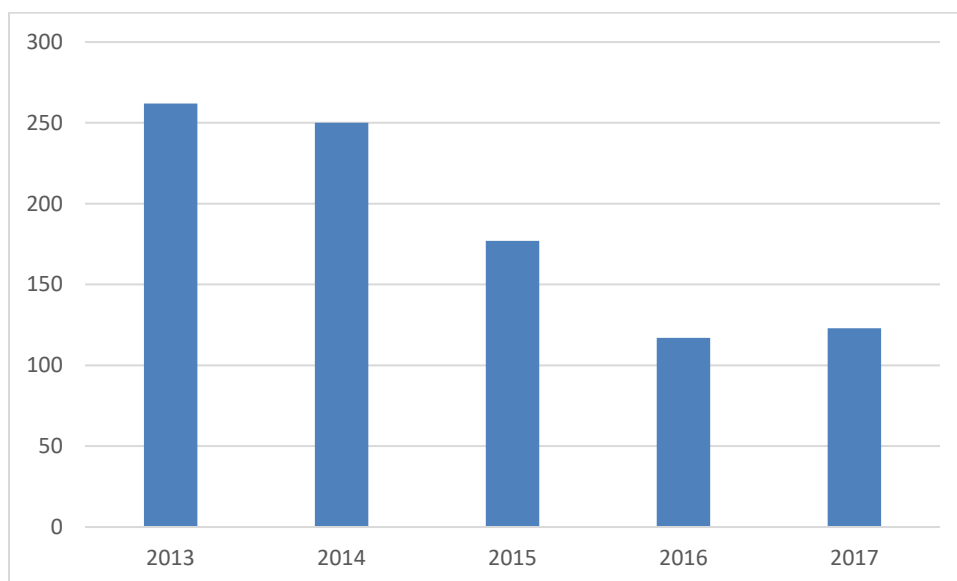
De kadavers aangeboden bij DGZ voor autopsie in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde staan steeds in verband met een bedrijfsbezoek dat op het betrokken bedrijf werd uitgevoerd. In 2017 verrichtte DGZ voor Veepeiler 105 autopsies, met een totaal van 177 kadavers. Bijkomend werden in het kader van Veepeiler 18 autopsies op foeti uitgevoerd met een gemiddelde van 7 foeti per dossier. Tot slot werden ook nog eens 22 verwerpingen binnengebracht waarbij geen autopsie maar enkel onderzoeken werden aangevraagd.

#### 5.1.1 Meest voorkomende afwijkingen op autopsie



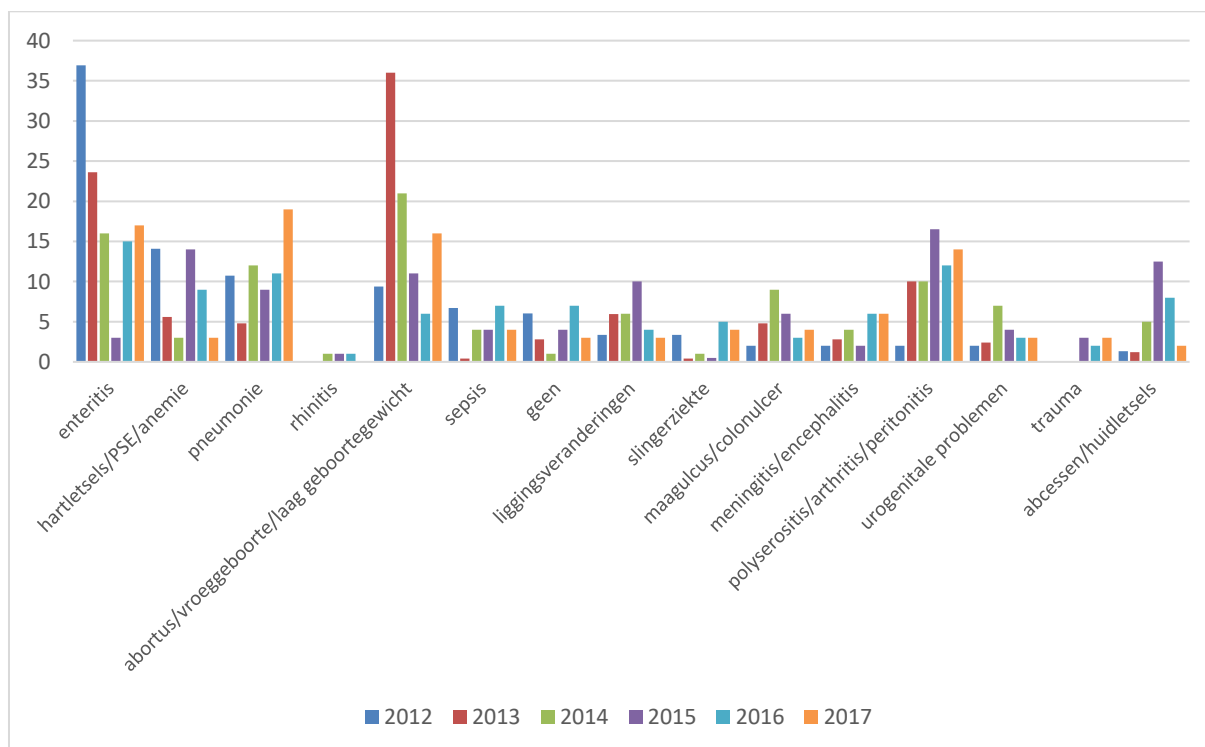
Figuur 18: Vastgestelde afwijkingen van kadavers aangeboden voor autopsie in het kader van tweedelijnsdiergeneeskunde van Veepeiler Varken 2017.

### 5.1.2 Trendobservatie – vergelijking met voorgaande jaren



Figuur 19: Evolutie aantal autopsies uitgevoerd in het kader van Veepeiler Varken per jaar.

De daling van het aantal autopsies in 2015 is het gevolg van een daling van het aantal onderzochte verwerpingen. In 2014 was er nog de nasleep van het deelproject ‘abortusprotocol’ van 2013. Daarenboven werd bij het binnenbrengen van foeti in 2015 vaak enkel een PCR aangevraagd en geen autopsie. In 2016 werden minder bedrijfsbezoeken uitgevoerd. Dit vertaalt zich in een daling van het aantal autopsies. Het aantal autopsies in 2017 blijft ongeveer gelijk aan het aantal in 2016.



Figuur 20: 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 2017 wordt weergegeven in tabel.

Tabel 9: Aantal analyses uitgevoerd voor Veepeiler Varken in 2017

Onderzoek	Aantal uitgevoerd voor Veepeiler	
	DGZ	Extern labo
Aantal aangelegde antibiogrammen	102	
Bacteriologie	262	6
Onderzoeken in klinische biochemie	57	2
Microscopische onderzoeken	16	
Mycologie	1	
Histologie	61	
Toxicologie		24
Hygiënogrammen	69 dossiers (15 plaatjes per dossier)	
Serotypering ( <i>App</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Streptococci</i> )	21	6
Onderzoeken op urine	30	
Serologie (ELISA)	874	25
Serologie (HI)	355	
Serologie (MAT)		5
Serologie (IPMA)		6
Immunohistochemie	6	
PCR	566	157
Sequencing PRRSv		17
Onderzoeken op water	89 individuele parameters + 27 pakketten	
Onderzoeken op voeder		2

## 6 Publicaties Veepeiler Varken 2017

### Artikels in vulgariserende tijdschriften

- Brossé C. Haal het maximum uit de reiniging van je varkensstal. *Management & Techniek*, 9 juni 2017, 8-9
- Brossé C. Hoe scoor ik beter met reinigen en ontsmetten? *Landbouwleven*, 9 juni 2017, 22-23
- de Jong E. Blijf waakzaam voor PED. *Varkensbedrijf*, maart 2017, 30-31
- de Jong E. Nitriet, het onzichtbare gif. *Drietand*, 31 maart 2017, 11
- de Jong E. Blijf waakzaam voor PED. *Vlaamse Dierenartsenvereniging*, april 2017, 22-23
- de Jong E. Nitriet, het onzichtbare gif. *Management & Techniek*, 7 april 2017, 42-43
- de Jong E. DGZ wijst varkensboeren op gevaar van nitriet. *Vilt*, 11 april 2017, online
- DGZ. DGZ waarschuwt voor nitrietvergiftiging na lange leegstand stal. *Varkensbedrijf*, april 2017, 7
- DGZ. DGZ wijst op risico van nitrietvergiftiging via het drinkwater bij varkens. *Agriholland*, 3 april 2017, online
- DGZ. Nitriet, onzichtbaar maar fataal vergif. *Landbouwleven*, 28 april 2017, 22-23
- Vandersmissen T. Plotse sterfte bij vleesvarkens is niet altijd een probleem van ziekten. *Drietand*, 28 april 2017, 27
- Van Limbergen T., Jooren I. Gebruik van thermografie bij biggen, *Varkensbedrijf* Januari 2017
- Vandersmissen T. Veepeiler onderzoekt case van plotse sterfte bij vleesvarkens. *Management & Techniek*, 19 mei 2017, 33

### Artikels in internationale wetenschappelijke tijdschriften

- Arsenakis I., Appeltant R., Sarrazin S., Rijsselaere T., Van Soom A., Maes D., 2017. Relationship between semen quality and meat quality traits in Belgian Piétrain boars. *Livest Sci* 205, 36-42.
- Van Limbergen T., Devreese M., Croubels S., Broekaert N., Michiels A., De Saeger S., Maes D., 2017. Role of mycotoxins in herds with and without problems with tail necrosis in neonatal pigs. *Vet Rec* 181, 539.
- Vansteenkiste K., Van Limbergen T., Decaluwé R., Caij B., Maes D., 2016. Clinical problems due to encephalomyocarditis virus infections in two pig herds. *Porcine Health Management* 2,19.

### Papers in abstracts en proceedings van wetenschappelijke congressen

- Arsenakis I., Boyen F., Maes D., 2017. A clinical approach on investigating and auditing semen production practices in an artificial insemination center facing reduced sow fertility results. In: 9th European Symposium of Porcine Health Management, 2017, 3-5 May, Prague, Czech Republic, 406.
- Arsenakis I., Boyen F., Maes D., 2017. Successful use of an autogenous vaccine against *Staphylococcus hyicus* in a herd facing severe exudative epidermitis problems in weaned piglets. In: 9th European Symposium of Porcine Health Management, 2017, 3-5 May, Prague, Czech Republic, 407.
- Arsenakis I., Boyen F., Maes D., 2017. Auditing semen production practices in an artificial insemination center facing reduced sow fertility results. In: 10th International Conference on Pig Reproduction, 2017, 9-16 June, Missouri US, 58.

### Case reports (masterthesissen) over een Veepeileronderwerp

*Masterproeven 2de Master (literatuur)*

- Laura Stroobants - Invloed van douchen en uierhygiëne bij zeugen op de gezondheid van biggen. Promotoren: D. Maes, J. Dewulf

*Masterproeven 3de Master:* (gebaseerd op bedrijfsbezoeken in kader van Veepeiler varken – sommige ervan met openbare verdediging)

- Eva Deroo – Casus 1: Factoren met een invloed op de biggensterfte in de kraamstal. Promotoren: D. Maes, I. Arsenakis
- Eva Deroo – Casus 2: Vruchtbaarheidsproblemen bij zeugen: terugkomen en witvuilen. Promotoren: D. Maes, T. Van Limbergen
- Ewoud Vanhee – Casus: Evaluatie van verhoogde uitval in de kraamstal. Promotoren: D. Maes, W. Neiryck
- Joachim De Backere – Casus: Vroeggeboorte en zwakke biggen: een bedrijfsprobleem. Promotoren: D. Maes, A. Michiels
- Kobe Buyse – Ijzersupplementatie aan neonatale biggen: effect van verschillende strategieën op gezondheid en productie. Promotoren: D. Maes, G. Janssens, I. Arsenakis (Prijs IPVS Belgian branch 2017)
- Nicole Tjon-Lim-Sang – Casus: Toenemende negatieve resultaten bij zeugen, vier weken na de inseminatie. Promotoren: D. Maes, I. Arsenakis
- Suzan Vanhooren – Casus 1: Aanslepende peripartale hypofagie problemen in de kraamstal. Promotoren: D. Maes, A. Michiels
- Suzan Vanhooren – Casus 2: Multifactorieel probleem als oorzaak van vroeggeboorte en lage bigvitaliteit. Promotoren: D. Maes, A. Matthijs
- Fien Roggeman – Casus 1: Problematiek van baarmoederprolapsen bij zeugen. Promotoren: D. Maes, A. Matthijs
- Fien Roggeman – Casus 2: Opvolging verhoogde uitval in de kraamstal. Promotoren: D. Maes, W. Neiryck

#### Presentaties tijdens nationale studiedagen of IPV activiteiten

- Willem Neiryck – Ontwikkelen van evalueren van eradicatiestrategieën voor *Brachyspira hyodysenteriae* infecties op varkensbedrijven. IPVS Belgian branch casusnamiddag, Faculteit Diergeneeskunde, april 2017
- John Arsenakis – Resultaten van *Stafylococcus hyicus* autovaccinatie in een probleembedrijf – IPV refresher course, Faculteit Diergeneeskunde, januari 2017
- Klaas Vansteenkiste – Encephalomyocarditis virus infecties bij zuigende en gespeende biggen: casuïstiek – Klaas Vansteenkiste, IPV refresher course, Faculteit Diergeneeskunde, januari 2017
- John Arsenakis – *Stafylococcus hyicus* infecties bij varkens – Les vakdierenarts varken, Faculteit Diergeneeskunde, oktober 2017
- Martine Laitat - *Mycoplasma suis* infecties op Belgische varkensbedrijven: de praktijksituatie – IPVS Belgian branch, Faculteit Diergeneeskunde, november 2017.
- Willem Neiryck – Efficacy of an autogenous vaccine against *Brachyspira hyodysenteriae*. Jaarlijkse studiedag IPVS Belgian branch, Faculteit Diergeneeskunde, November 2017.
- Kobe Buyse – Ijzersupplementatie aan neonatale biggen: effect van verschillende strategieën op gezondheid en productie. Jaarlijkse studiedag IPVS Belgian branch, Faculteit Diergeneeskunde, november 2017.
- Willem Neiryck – *Brachyspira* infecties bij varkens: vaccinatie en praktische tips bij eradicatie. Les vakdierenarts varken, Faculteit Diergeneeskunde, november 2017

Er werd een activiteitenrapport 2016 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.

