Coördinatiecentrum praktijkgericht onderzoek en voorlichting Biologische Teelt vzw

Eindrapport Project 2021-2022

ALTBIOLEG

Aanvrager: *Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek (ILVO)*

Te bezorgen aan:
carmen.landuyt@ccbt.be

1. INDIENING

Het eindrapport moet opgesteld worden conform het hiernavolgende schema en moet ingediend worden bij het CCBT ten laatste op 1 februari 2023. Het eindrapport dient vergezeld van een vulgariserend eindverslag.

Het CCBT behoudt zich het recht voor bijkomende informatie te vragen, om het project te kunnen beoordelen op basis van volledige informatie.

AANVRAGENDE INSTELLING, VERANTWOORDELIJK VOOR UITVOERING VAN HET PROJECT

Naam: Instituut voor Landbouw, Visserij- en Voedingsonderzoek (ILVO)

Adres: Scheldeweg 68, 9090 Melle

Rechtsvorm: EV-Eigen Vermogen ILVO
Doel en werking: Wetenschappelijke Onderzoeksinstelling

BTW-plichtig: JA **BTW-nummer**: BE 262-172-489

BTW-stelsel: Gewone BTW-belastingsplichtige

Bankrekeningnummer: BE 23 375111174 5291

Telefoon: 09/272 26 00 **Fax:** nvt

E-mail: dier@ilvo.vlaanderen.be

Contactpersoon instelling: Prof Dr. Ir. Bart Sonck
Functie: Afdelingshoofd ILVO-DIER

Budgettair verantwoordelijke: Prof. Ir. Joris Relaes
naam: Prof. Ir. Joris Relaes
telefoon:09/ 272 25 02
e-mailadres: joris.relaes@ilvo.vlaanderen.be

Verantwoordelijke voor de praktische uitvoering van het project:
naam: Dr. Ing. De Grande Annatachja
telefoon: 09 272 26 22
e-mail: annatachja.degrande@ilvo.vlaanderen.be

2. INHOUD VAN HET EINDRAPPORT

INLEIDING + FILMPJE: SAMENVATTING VAN HET PROJECT

In het project ALTBIOLEG werd de wormdruk op biologische leghennenbedrijven opgevolgd aan de hand van drie verschillende indicatoren: aantal wormeieren in de mest (uitgedrukt in EPG), immuunrespons in het bloed en aantal wormen aanwezig in de darmen van de kip. De immuunrespons werd gemeten in serumstalen en het aantal wormen werd bepaald na autopsie. Deze indicatoren werden opgevolgd op 4 leghennenbedrijven, op één opfokbedrijf en op de uitloopkippen op de proeflocatie van ILVO. Tevens werden op 2 leghennenbedrijven en op ILVO producten aan de hennen toegediend die de wormdruk zouden reduceren. Het effect van deze producten werd opgevolgd aan de hand van bovenstaande indicatoren, maar er konden geen significant effecten van de toepassing van deze producten waargenomen worden. Resultaten van dit verkennend onderzoek tonen aan dat verder onderzoek naar alternatieven voor flubendazol vereist is. De verschillende cases waren informatief, maar onderlinge variatie maakt het moeilijk om conclusies omtrent relaties tussen verschillende indicatoren te trekken.

OVERZICHT VAN DE PROJECTREALISATIES

Vul onderstaande tabel in.

Van alle realisaties van dit project dient een rapportering te worden bijgevoegd. De vorm van deze rapportering hangt af van de aard van de activiteit. Technische verslagen van proeven kunnen ofwel als bijlage toegevoegd worden ofwel in de rubriek hieronder, onder 'Technisch Verslag', ingevoegd worden.

Projectrealisatie	**Periode**	**Omschrijving**	**Rapportering (in bijlage)**	**Bereik/opkomst**
Nieuwsbrief Pluimveeloket	Mei 2021	Aankondiging project	Nieuwsbrief in bijlage 1	953 abonnees (50% gem leespercentage)
Biobedrijfsnetwerk: voorstelling van het project:	7-8/7/2021	Tijdens het biobedrijfsnetwerk werd het project voorgesteld en werd opgeroepen tot deelname	Presentatie in bijlage 2	12 aanwezigen
Nieuwsbrief Bioforum	20/09/2021	Voorstelling project, oproep tot deelname	https://www.bioforum.be/nieuws/biologische-pluimveehouders-gezocht-die-willen-deelnemen-aan-onderzoek-rond-worminfecties	NVT
Webpublicatie biojournaal	21/09/2021	Voorstellen project en eerste bevindingen.	Nieuw onderzoek naar worminfecties bij biologische leghennen (biojournaal.nl)	NVT
Artikel in Pluimvee	21/10/2021	Artikel Op zoek naar alternatieve bestrijdingsmethodes voor worminfecties bij bio-leghennen	Artikel in bijlage 3	NVT

Webinar biokennisweek	10/01/2022	Tijdens een webinar van 30 minuten werd het project voorgesteld, werd feedback van de deelnemers gevraagd (voornamelijk over het gebruik van ontwormingsmiddelen) en presenteerde Monique Bestman een komende studie rond het onderwerp.	Presentatie in bijlage 4	100-tal aanwezigen
Webpublicatie	14/01/2022	Voorstellen project.	Nieuw onderzoek naar wormbeheersing pluimvee - Nieuwe Oogst	NVT
Projectvoorstelling aan de hand van een poster op de contactdag leghennen in Geel	18/03/2022	Titel poster: ALTBIOLEG: Alternatieve ontwormingsmiddelen voor biologische leghennen. Presentatie project en eerste resultaten	Poster in bijlage 5	70-tal aanwezigen
Website ILVO	NVT	Voorstelling project	Alternatieve ontwormingsmiddelen voor biologische leghennen - ILVO Vlaanderen	NVT

Webpagina Bioforum	NVT	Voorstelling project	https://www.bioforum.be/altbioleg	NVT
Webpagina Pluimveeloket	NVT	Voorstelling project	Alternatieve bestrijdingsmethodes voor worminfecties bij bio-leghennen | PLUIMVEELOKET	
Proeven op 3 praktijkbedrijven en op de vrije uitloopkippen op ILVO	08/21-09/22	zie technisch verslag	zie technisch verslag	
LLAEBIO draait door!	8/9/2022	Toelichting project bij mobiele stallen ILVO	Verslag in bijlage 6	
Gebruikersgroep	06/12/2022 25/04/2022 13/10/2021	Aanwezigen: CCBT, Departement Landbouw en Visserij, deelnemende landbouwers, leveranciers producten, projectpartners (ILVO, Bioforum, UGent)	Presentaties in bijlage 7, 8 en 9	10-tal aanwezigen
Vulgariserend artikel (cfr. Vulgariserend eindverslag)	1/2/2023	Artikel Biopraktijk, Pluimveeblad en nieuwsbrief Bioforum	Zie vulgariserend eindverslag. Zal bijgewerkt worden om ook in te sturen naar andere persbladen.	NVT

TECHNISCH VERSLAG VAN HET PROJECT

1. LITERATUURSTUDIE EN ERVARINGEN UIT ANDERE PROJECTEN

1.1 Worminfecties bij biologische leghennen

In het voorgaande project, PREBEBIOLEG, werd reeds een uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd naar de verschillende types wormen bij pluimvee. Deze kan teruggevonden worden op de website van het CCBT. Om die reden zal hier heel beknopt de ingegaan worden op de wormproblematiek.

Met het verdwijnen van de kooisystemen, is de prevalentie van worminfecties alleen maar toegenomen, zowel in gangbare als in biologische systemen. Wanneer een buitenloop aanwezig, stijgt de wormdruk nog meer. De relatie tussen het gebruik van de uitloop en tussen de wormdruk is echter niet eenduidig. Bovendien zijn er indicaties dat ook de omgeving in de stal een belangrijke rol speelt bij de verspreiding van worminfecties (Permin et al. 1999; Sibanda et al., 2020; Sherwin et al., 2013; Thapa et al., 2015, Bestman et al., 2022).

Bij legkippen is de meest voorkomende worm de grote spoelworm (*Ascaris galli*). Daarnaast wordt de kleine spoelworm (*Heterakis gallinarum)* ook in toenemende mate teruggevonden bij pluimvee. Beide wormen moeten op zich niet bestreden worden, maar een te hoge infectiedruk kan wel de gezondheid van de dieren ondermijnen, waardoor ze vatbaarder worden voor andere ziektes. Dit kan wel weer lijden tot een verhoogde uitval en dan moet ingegrepen worden. Specifiek gekoppeld aan de kleine spoelworm kan ook *Histomonas* voorkomen, die de blackhead ziekte veroorzaakt. In dat geval moet ook ontwormd worden. Lintwormen (*Cestoda*) kunnen ook voorkomen bij pluimvee en zijn moeilijker te bestrijden dan de spoelwormen. Een laatste soort worm is de haarworm (*Capillaria*) en is zeer schadelijk. Deze wormen kunnen niet waargenomen worden met het blote oog, waardoor monitoring van de mest noodzakelijk is. Bij besmetting moet onmiddellijk overgegaan worden tot ontworming (De Grande,2022).

1.2 Bestrijding van worminfecties in de biologische leghennenhouderij

Zoals in de gangbare pluimveehouderij, worden ook in de biologische pluimveehouderij chemische ontwormingsmiddelen gebaseerd op flubendazole, toegepast. Deze ontwormingsmiddelen kunnen via het drinkwater of het voeder toegediend worden. De literatuurstudie die werd uitgevoerd in het kader van het voorgaande CCBT-project 'PREBEBIOLEG' beschrijft zowel het werkingsmechanisme van deze middelen als de effectiviteit. In deze literatuurstudie werd beschreven dat de effectiviteit

van chemische ontwormingsmiddelen afneemt met de leeftijd van de kippen en dat een herinfectie snel optreedt (De Grande, 2022).

Sinds 1 januari 2022 is er in de biologische leghennenhouderij een wachttijd gekoppeld aan het gebruik van chemische geneesmiddelen. Dat wil zeggen dat tijdens de toediening van deze middelen en gedurende een daaropvolgende wachttijd van 48 uur, de eieren niet als biologisch kunnen verkocht worden. Afhankelijk van het gebruikte middel, varieert de toedieningsperiode tussen de 7 en de 9 dagen, waardoor de eieren gedurende 9 tot 11 dagen niet als biologisch kunnen verkocht worden. Afhankelijk van de bestemming van de eieren, resulteert dit voor een bedrijf met 12 000 biologische leghennen in een inkomensverlies variërend tussen de 10 000 en 16 000 euro. Een bijkomend nadeel, dat bovendien ook implicaties heeft voor de gangbare houderij, is dat het veelvuldig gebruik van chemische ontwormingsmiddelen kan resulteren in resistentie.

In de biologische productie staan preventie en algemene diergezondheid centraal. Het gebruik van plantgebaseerde middelen om worminfecties onder controle te houden lijkt daarom wenselijk. Het idee achter deze middelen is niet dat ze de worminfectie tot nul kunnen terug brengen, maar wel dat ze de worminfectie op een controleerbaar niveau houden en/of dat ze de algemene gezondheid van de kippen zodanig ondersteunen dat de kip in staat is om om te gaan met de worminfectie. In de literatuurstudie van PREBEBIOLEG werd reeds uitvoerig beschreven hoe plantgebaseerde middelen werken en welke actieve stoppen een rol spelen in dit proces.

1.3 Parallel onderzoek in PPILOW

In kader van het Europese project PPILOW, waar Bioforum projectpartner is, loopt momenteel een onderzoek naar het effect van plantgebaseerde middelen op worminfecties met grote spoelworm bij leghennen. Het experiment vindt plaats met leghennen van 18 weken oud die werden ontwormd bij aankomst en tijdens de proef in een gesloten faciliteit werden gehouden. Er werd getest of een experiment kon worden opgezet om de commerciële productieomgeving na te bootsen, waarbij *A. galli*-eieren continu uit de omgeving kunnen worden ingenomen door de leghennen. Deze infectiestrategie zorgde echter voor een grote individuele variatie van de parasietbelasting, zelfs binnen dezelfde behandelingsgroepen. Verder werd co-infectie waargenomen met *Cestodes*, *Capillaria* spp. en *Heterakis gallinarum*. Daarom werd voor deel twee besloten om een experimenteel model te gebruiken waarbij de dieren na ontworming werden verplaatst en enkel infectieuze A. galli-eieren via de orale route werden toegediend.

In de eerste studie werd het effect bestudeerd van voedingssupplementatie met gefermenteerd raapzaadmeel inclusief zeewier (6%) op productiviteit, korte-ketenvetzuurconcentraties in de darm en immunoprofielen van hennen die geïnfecteerd waren met *A. galli*. Bovans Brown leghennen (192 hennen) kregen ofwel een voer aangevuld met gefermenteerd koolzaadmeel met zeewier ofwel een niet aangevuld controlevoer. De hennen werden met *A. galli* geïnfecteerd op een leeftijd van 20 weken door middel van twee verschillende infectiemethoden, waaronder orale inoculatie met 764 geëmbryoneerde *A. galli*-eieren of natuurlijke blootstelling aan besmet strooisel. Productie, immuuncompetentie en darmgezondheidsparameters werden gevolgd tot 12 weken na infectie, waar het experiment werd beëindigd en het aantal volwassen darmwormen werd beoordeeld. Supplementatie van gefermenteerd raapzaadmeel met zeewier had geen invloed op productie, wormbelasting of immuuncompetentie. Vergeleken met niet-gesupplementeerde controles hadden de gesupplementeerde hennen echter een lagere humorale *A. galli*-specifieke immuunrespons. Lymfocytpopulaties werden bestudeerd in Meckel's diverticulum (MD) en in het darmepitheel en gefermenteerde voersuppletie verhoogde de frequentie van een subset van geactiveerde T-cellen in het darmepitheel, wat aangeeft dat het gefermenteerde voer mogelijk een immuun modulerend effect heeft.

Het tweede deel omvatte de studie van plantenadditieven. Plantenadditieven kunnen efficiëntere, goedkopere en lokaal toegankelijkere opties bieden bij de bestrijding van parasieten, maar er zijn tal van uitdagingen en kennislacunes. De concentratie van de verschillende bioactieve en anthelmintische bioverbindingen varieert met bijvoorbeeld het seizoen, de geografische locatie en de verwerking van de plant. Er zijn talloze onderzoeken gerapporteerd waarin medicinale planten worden gebruikt voor parasietenbestrijding bij zoogdieren, maar dit vertaalt zich niet noodzakelijkerwijs naar vogelsoorten. Hoewel reeds een reeks plantaardige derivaten ook in kippen is getest, ontbreekt het grotendeels aan kwaliteit en standaardisatie van de onderzoeken, evenals beoordeling van toxiciteit en productieparameters. Er werd een literatuuronderzoek uitgevoerd om bruikbare plantsoorten te identificeren met de volgende opnamecriteria: 1) Mogelijkheid om lokaal te groeien binnen de EU, 2) Gemakkelijke/goedkope bereidingsmethode (waterextracten of gedroogde bladeren/vruchten), 3) Eerder aangetoond effect, 4) Bij voorkeur andere gecombineerde gunstige effecten zoals antibacteriële of immuunregulerende eigenschappen. Er werden 10 potentiële plantensoorten geïdentificeerd voor verdere in vitro beoordeling. Deze experimenten lopen momenteel nog.

Ook werd een tweede in vivo experiment opgestart, bestaande uit 4 behandelingsgroepen: 1) controlegroep, geen toevoegingsmiddel, 2) *Allium sativum* 1%, 3) *Aronia melanocarpa* 1%, 4*) Allium*

*sativu*m 0,5% en *Aronia melanocarpa* 0,5%. Na ontworming werden in totaal 96 kippen oraal geïnoculeerd met 1000 geëmbryoneerde *A. galli*-eieren op een leeftijd van 20 weken. Productie, immuuncompetentie en darmgezondheidsparameters werden gevolgd tot 10 weken na infectie, waar het experiment werd beëindigd en het aantal volwassen darmwormen werd beoordeeld na autopsie. Voorlopige resultaten tonen aan dat suppletie met de twee plantenadditieven geen invloed had op de productie of het immuunsysteem. *Allium sativum* verzachtte echter de voorbijgaande piek van *A. galli*-specifieke antilichamen in perifeer bloed in vergelijking met de andere behandelingsgroepen, wat wijst op een mogelijk gestopte ontwikkeling of lagere larvale belasting tijdens de histotrope fase van de levenscyclus van de parasiet. Ook werd een numeriek maar niet statistisch significant effect van *Allium sativum* op de totale wormbelasting waargenomen (Kjærup et al. 2021)

2. Proefopzet

2.1 Experimenten

Vier praktijksituaties (cases) werden opgevolgd gedurende het CCBT-project.

	CASE I	CASE II	CASE III	CASE IV en V
Project	Prebebioleg Altbioleg	Prebebioleg Altbioleg	Altbioleg	Altbioleg
Looptijd	Aug '21 – Apr '22	Aug '21 – Juli '22	Apr'22 – sept '22	Apr '22 – sept '22
Type	Lopende ronde + opstart volgende ronde	Start – einde ronde	Start- einde ronde	Opfok + overgang
Strategie	Chemische ontworming + alternatief (vanaf 2022)	Geen chemische middelen + controle vs. alternatief	Monitoring + Controle vs. alternatief	Monitoring
Parameters	EPG, antistoffen, wormtellingen, productie	EPG, antistoffen, wormtellingen, productie	EPG, antistoffen wormtellingen	EPG, wormtellingen, antistoffen
Stavaza	Afgerond, behalve serum analyse	Afgerond	Afgerond	Afgerond, behalve serum analyse

Case 1

Case 1 betreft een bedrijf met 15 000 biologische leghennen, verdeeld over 5 compartimenten die verbonden zijn met één drinklijn en één voederlijn. Op dit bedrijf wordt chemisch ontwormd wanneer de pluimveehouder een vermoeden heeft van een worminfectie (bij productiedaling of algemene verslechterende conditie van de leghennen) gecombineerd met een wormtelling na autopsie en advies van de voederleverancier en dierenarts.

In case 1 worden om de 8 weken EPG-monsters (30 fecale en 30 cecale mestmonsters) en serumstalen verzameld, wordt een autopsie uitgevoerd op 5 leghennen en worden productiecijfers verzameld. Na de staalname werden de stalen koel bewaard en zo spoedig mogelijk geanalyseerd aan de hand van de McMaster methode. Ascaridia en capillaria eieren werden in alle individuele stalen bepaald, vervolgens werd een gemiddelde EPG berekend.

Er werd gestart met dataverzameling in augustus 2021. Op dat moment was de lopende ronde (case I A) 60 weken oud. In september 2021 en in december 2021 werden de leghennen chemisch ontwormd. In november 2021 werd op dit bedrijf gestart met de toediening van Herb-All Para-X. Op 15/11/2021 ging de ophokplicht in. In de 2^{e} ronde (case IB) werden meststalen en bloedstalen verzameld, en werden er geen autopsies verricht.

Case 2

Case 2 is een biologisch leghennenbedrijf met een stal met 500 leghennen en een stal met 1500 leghennen. De twee tomen hebben niet dezelfde leeftijd. Op dit bedrijf werd nog nooit ontwormd. De kippen van de verschillende tomen komen niet in contact met elkaar.
In case 2 werden om de 8 weken 30 EPG-monsters (zowel fecaal als cecaal), en serumstalen van 5 dieren, alsook autopsie op 5 dieren verricht. Er is geen gedetailleerde opvolging van de productie mogelijk, de eieren worden niet dagelijks geteld.
Er werd gestart met dataverzameling in augustus 2021 vlak voordat de lopende ronde werd stopgezet. Met deze staalname werd de wormdruk in de omgeving in kaart gebracht. In september 2021 werd een nieuwe ronde opgezet. Deze ronde werd na opzet opgevolgd. Negen weken na opzet werd Ascarom toegediend in één stal. Op 15/11/2021 ging de ophokplicht in.

Case 3

Case 3 omvat 4 groepen met 50 biologische leghennen, gehuisvest in een mobiele stal. De uitloop van de 4 groepen is identiek. In de voorgaande rondes werd ontwormd met gallifen indien dit nodig werd geacht door de bedrijfsdierenarts, en dit op basis van uitval% en autopsies.
In case 3 worden om de 4 weken mengmestmonsters en serumstalen verzameld bij 5 dieren. Wegens het lage aantal aanwezige dieren, wordt geen autopsie uitgevoerd. De productie en mortaliteit worden eveneens opgevolgd.
Er werd gestart met dataverzameling in april 2022 bij de start van de ronde en de dataverzameling liep door tot september 2022. Aan twee groepen werd Ascarom toegediend via het drinkwater. De andere twee groepen dienden als controle.

Case 4

In case 4 werden jonge leghennen in een opfokbedrijf opgevolgd. De stalen werden verzameld wanneer de kuikens 4, 8, 12 en 16 weken oud waren. Ook na plaatsing op het leghennenbedrijf (zie case 5) werden de hennen nog twee keer opgevolgd.
Om de 4 weken werden 30 EPG-monsters verzameld, werden serumstalen genomen bij 5 dieren en werden wormtellingen uitgevoerd bij diezelfde 5 dieren.

Case 5

In case 5 werden de leghennen uit case 4 verder opgevolgd net na de plaatsing van de leghennen en 4 weken nadien. Er werden 30 EPG-monsters verzameld, werden serumstalen genomen bij 5 dieren en werden wormtellingen uitgevoerd bij diezelfde 5 dieren.
Case 6
In case 6 werd op een biologisch legbedrijf meststalen voor EPG bepaling, serumstalen en autopsies verricht op 5 leghennen per stal. Dit bedrijf heeft echter beslist omwille van vrees voor insleep van Aviaire influenza om niet veder deel te nemen aan het project na deze eerste staalname.

2.2 Sectorparticipatie

Het project werd voorgesteld aan de leghennenhouders tijdens het biobedrijfsnetwerk op 7 juli (regio west) en op 8 juli (regio oost). Op het biobedrijfsnetwerk in regio west waren 5 landbouwers aanwezig, waaronder ook één opfokker van biologische leghennen. Op het biobedrijfsnetwerk in regio oost waren 7 landbouwers aanwezig, waaronder ook één opfokker en één pakstation. Tijdens het biobedrijfsnetwerk werd gestart met de voorstelling van de nieuwe Europese biowetgeving, waarin onder meer het gebruik van traditionele ontwormingsmiddelen aan banden wordt gelegd

door een wachttijd van 48 uur op te leggen na het gebruik van deze middelen. Een ontwormingskuur duurt tussen de 7 en de 9 dagen, afhankelijk van het gebruikte product. Dit betekent dat gedurende minimaal 9 dagen, de biologische eieren niet als biologisch kunnen verkocht worden. Voor de landbouwers is de economische impact hiervan enorm. Tijdens de biobedrijfsnetwerken werd een inventaris opgemaakt van het gebruik van ontwormingsmiddelen, in termen van timing, frequentie, duur en gebruikte producten. Ook werd bevraagd op basis van welke indicatoren men beslist om ontwormingsmiddelen toe te passen. In het voorgaande CCBT-project (PREBEBIOLEG) werd reeds dieper ingegaan op de ontwormingsstrategieën en op de interpretatie van EPG-waarden. Deze resultaten werden voorgesteld en vergeleken met de strategieën van de landbouwers. De proefzet van ALTBIOLEG werd voorgesteld aan de landbouwers, en er werd gediscussieerd over de haalbaarheid van de meetprotocollen. Zo bleek dat het omwille van bioveiligheid niet gewenst was dat staalname altijd door externen zou worden uitgevoerd. Er werd geopteerd om een deel van de stalen door de landbouwers zelf te laten verzamelen. Tijdens de biobedrijfsnetwerken en tijdens persoonlijke contacten erna werden mogelijks geïnteresseerde bedrijven genoteerd en de uiteindelijke proefopzet werd in samenspraak met het bedrijf bepaald.

Na het biobedrijfsnetwerk werden persoonlijke contacten met de landbouwers onderhouden, in eerste instantie om geschikte bedrijven te werven voor de staalnames, maar later ook om voortgang en resultaten van het project te delen, met de bedrijven die deelgenomen hebben worden individuele gesprekken gepland in febuari-maart 2023 om de bekomen resultaten toe te lichten. Hiervoor wordt geopteerd omdat de deelnemers dan in alle anonimiteit vragen kunnen stellen, waar soms nog wat terughoudendheid over bestaat in grotere groepen. De resultaten zullen ook nog voorgesteld worden aan een grotere doelgroep in het voorjaar van 2023.

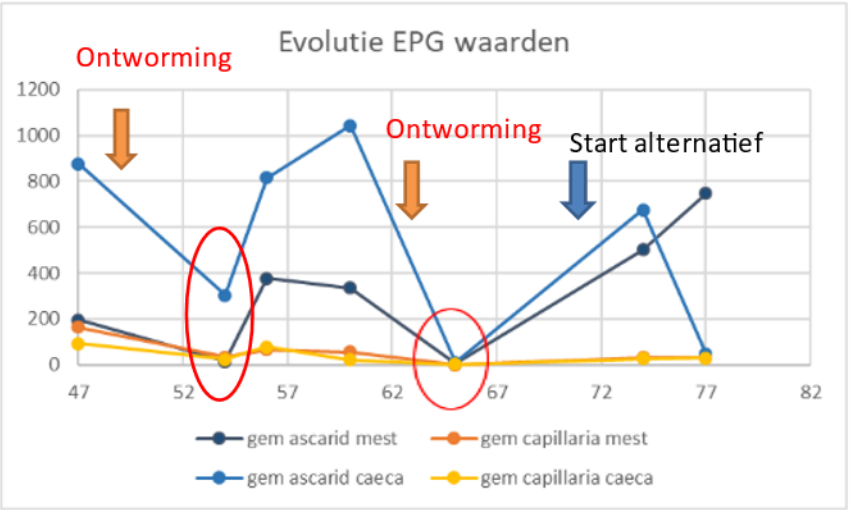
Daarnaast werden zowel de proefopzet als het verloop van de staalnamecampagne als de resultaten op regelmatige basis afgestemd met de leveranciers van de alternatieve producten. Er werden vier online meetings georganiseerd met de leveranciers van Ascarom en drie online meetings met de leveranciers van Herb All Para-X. Bij een aantal van deze meetings was ook de betrokken landbouwer aanwezig. Op die manier kon ingespeeld worden op noden van de landbouwer, veranderende omstandigheden op het bedrijf en de resultaten van de staalnames.

Tijdens het biobedrijfsnetwerk op 26/10 hebben twee landbouwers die meegewerkt hebben aan de experimenten kort hun ervaringen gedeeld. Alle resultaten van het project zullen voorgesteld worden op het volgende biobedrijfsnetwerk, in de loop van 2023.

3. RESULTATEN EN BESPREKING

Case 1A

In figuur 1 worden de gemiddelde EPG waarden weergegeven voor ascaridia en capillaria eieren in fecale mest en cecale droppings en dit in functie van de leeftijd van de dieren. Omwille van verhoogde mortaliteit werd op de leeftijd van 38, 47 en 63 weken overgegaan tot ontworming met flubendazole (in 2021). Vanaf 2022 werd geopteerd om een alternatief product via het voeder te supplementeren.

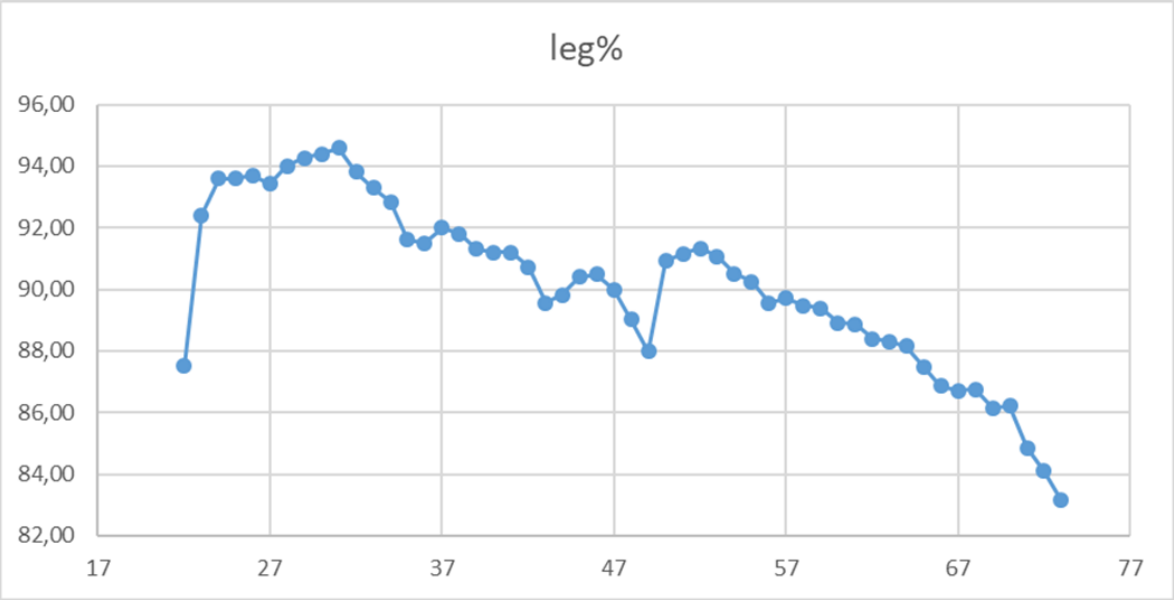


Ontworming op 38, 47 en 63 weken leeftijd

Alternatief vanaf 69 weken leeftijd

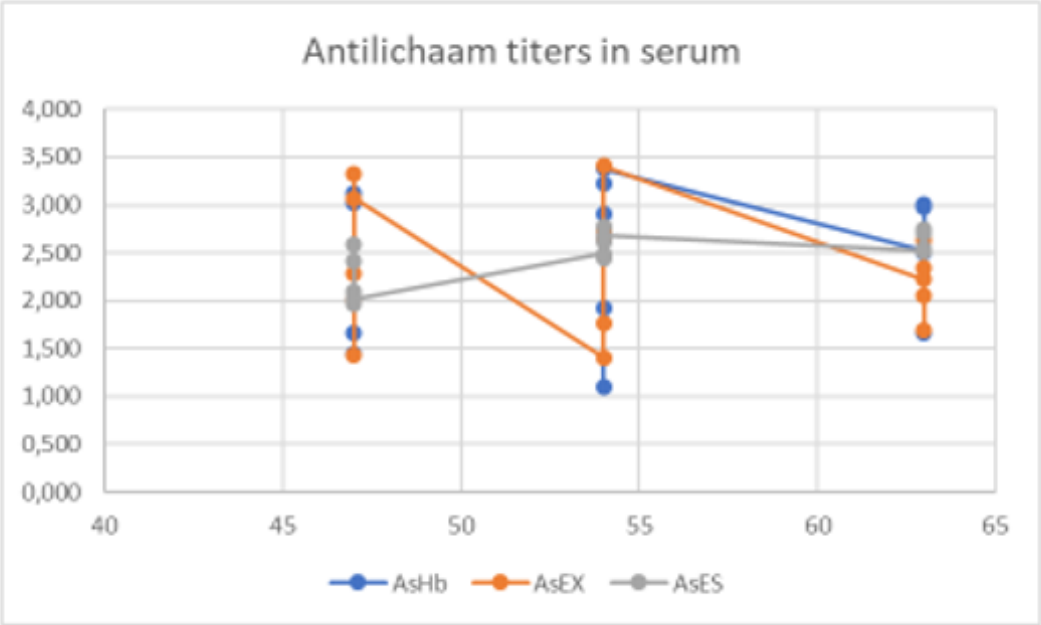
Figuur 1: Gemiddelde EPG waarden voor fecale en cecale meststalen in functie van de leeftijd van de leghennen.

In figuur 2 wordt het legpercentage in functie van de leeftijd weergegeven. Op de leeftijd van 38 weken werd ontwormd (flubendazole), voorafgaand werd een daling in legpercentage waargenomen, waarbij een snelle daling wordt waargenomen tussen de leeftijd van 45 en 47 weken. Op de leeftijd van 47 weken werd opnieuw ontwormd (flubendazole), waarna een herstel van het legpercentage wordt waargenomen. Op de leeftijd van 64 weken werd opnieuw ontwormd, waarbij de wormdruk tot bijna nul werd herleid, maar het legpercentage kende geen herstel. In deze proef werd een relatie tussen wormdruk en legpercentage waargenomen, waarbij telkens hoge EPG waarden werden genoteerd op de momenten dat legpercentage onderuit ging, dit ging ook gepaard met verhoogde mortaliteit.



Figuur 2: Legpercentage in functie van leeftijd van de leghennen.

In figuur 3 worden de resultaten weergeven van antistoffen bepaald in het serum van de leghennen. De opvolging van deze ronde werd gestart op de leeftijd van 47 weken, waarbij reeds gekend was dat de leghennen al een ontwormingskuur achter de rug hadden. Uit deze resultaten blijkt dat alle waarden >0.3, wat wijst op een sterke immunoconversie, wat overeenkomt met de voorgeschiedenis van de leghennen. Aangezien er weinig evolutie in deze waarden zit, was het weinig zinvol om stalen op latere leeftijd verzameld te analyseren. Er kon geen relatie vastgesteld worden tussen de antilichaamtiters in het serum en EPG of legpercentage.



Figuur 3: Antistoffen bepaald in serumstalen van leghennen op verschillende leeftijden.

In tabel 1 worden de resultaten van de wormtellingen weergegeven, waarbij zowel volwassen wormen als larvaire stadia werden geteld. Deze tellingen geven de hoge individuele variatie, die reeds gekend is, nog eens weer. En toont ook het belang van voldoende grote steekproef te selecteren, indien op basis van autopsie wordt beslist om al dan niet te ontwormen. Uit deze resultaten blijkt ook dat er geen éénduidige relatie is tussen EPG-waarden en wormtellingen, waaruit volgt dat EPG waarden als niet invasieve methode geen volledig beeld geven van de ernst van een worminfectie in een toom. Op de leeftijd van 65 weken werden Heterakis eieren geobserveerd in de cecale mest stalen, ondanks recente ontworming op 63 weken. Dit kan een indicatie zijn voor resistentie, want op 2 weken tijd kunnen er geen volwassen wormen ontwikkelen die reeds eieren produceren. Het is echter ook mogelijk dat deze wormeieren werden opgenomen uit het strooisel.

Tabel 1:resultaten wormtellingen op verschillende leeftijden.

Leeftijd dieren Wormtellingen

47

Dier	dunne darm (Ascaridia)	digestie dunne darm (larven Ascaridia)	Capillaria	caeca (Heterakis)	digestie caeca (larven Heterakis)
1	39	11	102	120	2
2	12	0	0	11	0
3	34	5	6	11	2
4	39	2	9	20	1
5	84	3	52	268	5

56

Dier	dunne darm (Ascaridia)	digestie dunne darm (larven Ascaridia)	Capillaria	caeca (Heterakis)	digestie caeca (larven Heterakis)
1	0	0	13	3	0
2	0	0	6	35	0
3	0	9	7	172	0
4	0	0	0	3	2
5	0	6	4	12	0

65 weken

Dier	dunne darm (Ascaridia)	digestie dunne darm (larven Ascaridia)	Capillaria	caeca (Heterakis)	digestie caeca (larven Heterakis)
1	0	0	0	4	0
2	0	0	0	1	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	3	0
5	0	0	0	1	0

74 weken

Dier	dunne darm (Ascaridia)	digestie dunne darm (larven Ascaridia)	Capillaria	caeca (Heterakis)	digestie caeca (larven Heterakis)
1	2	0	31	2	0
2	5	1	2	84	0
3	19	146	34	46	3
4	6	12	12	16	0
5	0	0	8	2	0

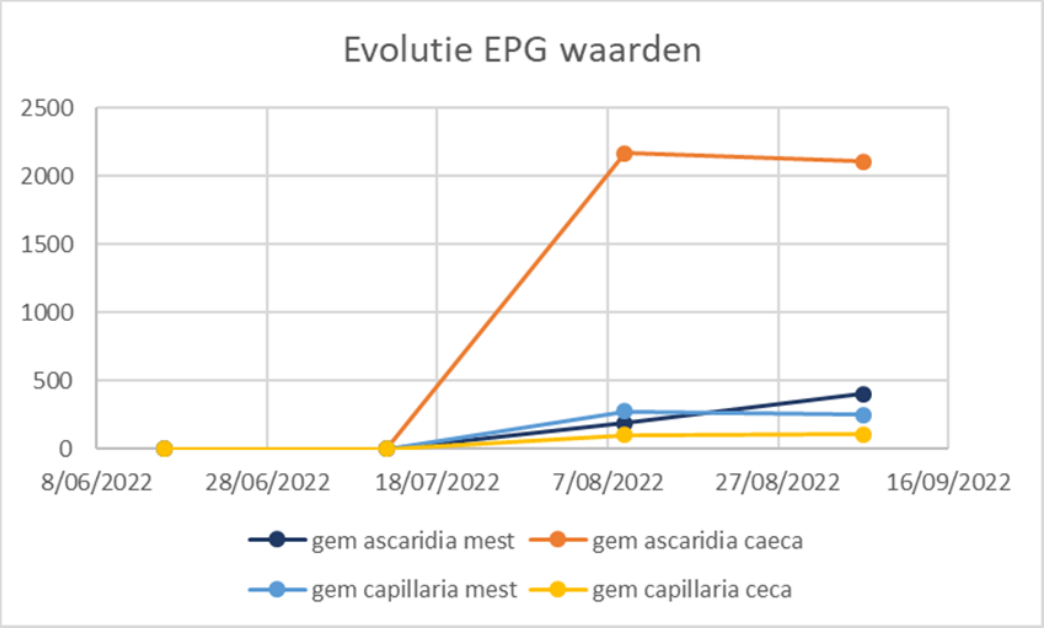
<u>Samenvatting resultaten:</u>

Link tussen wormdruk en productie?

Bij een zware worminfecties wordt een daling in productie waargenomen, maar herstel na ontworming is niet consistent in deze case. Mogelijks is dit te wijten aan de invloed van het type infectie nl. ascarida vs. capillaria.

<u>Case 1B</u>

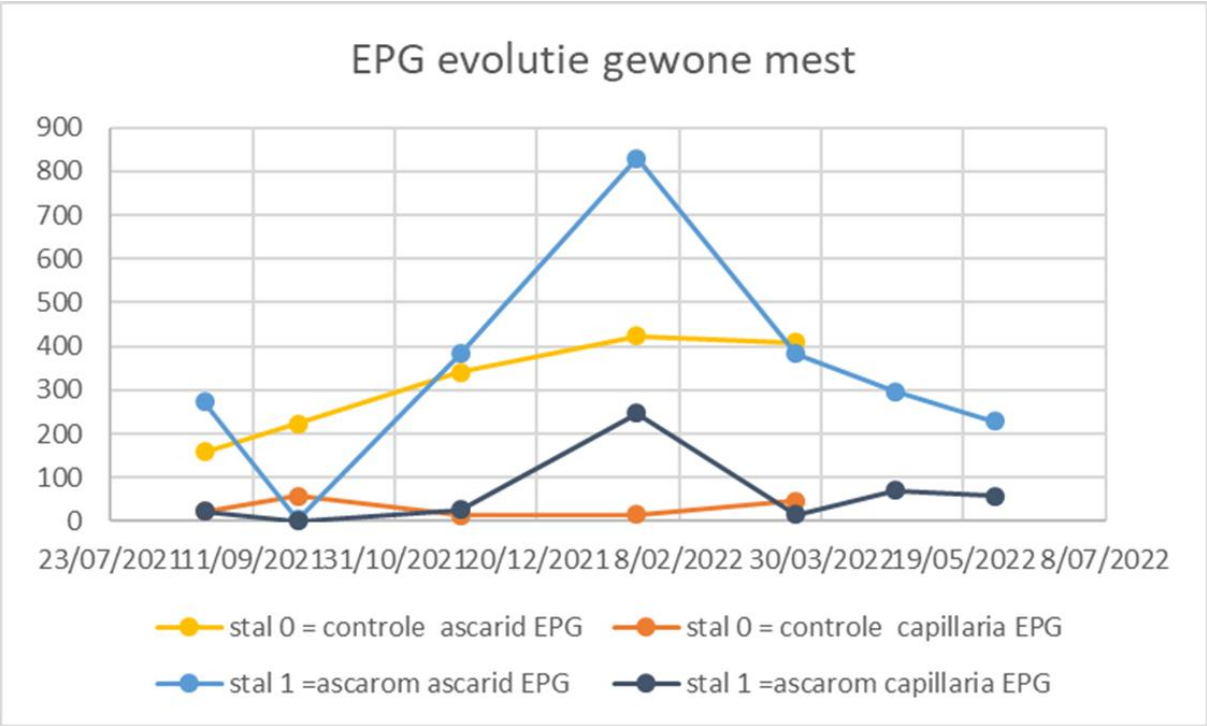
De nieuwe opzet werd tevens opgevolgd op dit bedrijf , waarbij de EPG waarden initieel negatief waren(Figuur 4), dit is echter geen garantie dat de dieren nog niet besmet waren met wormen vooraleer ze toegekomen zijn op het legbedrijf. Hieromtrent zullen de serumstalen uitsluitsel kunnen geven (resultaten nog niet beschikbaar). In deze ronde werden geen autopsies verricht, gezien de plotse snelle stijging in EPG waarden, is het zeer waarschijnlijk dat leghennen al besmet waren met wormen op 18/7/22, maar dit nog onvolwassen wormen waren die geen eitjes produceerden. Dit toont dat wormtellingen nog steeds de gouden standaard zijn om worminfecties vast te stellen. De leghennen zijn vlot in de leg gekomen, waarbij reeds een legpercentage van 90% werd genoteerd op 12/7/22, gevolgd door 91.5% op 9/8/22 en 89,5% op 6/9/22. Omwille van de hoge mortaliteit, vermoedelijk te linken aan de hoge druk van capillaria wormen, werd vrij snel overgegaan tot chemische ontworming. Omwille van een zeer besmettelijke bacteriële infectie op het bedrijf werd omwille van bioveiligheidsoverwegingen, en in samenspraak met de pluimveehouder en bedrijfsdierenarts beslist om geen verdere staalnames meer uit te voeren.



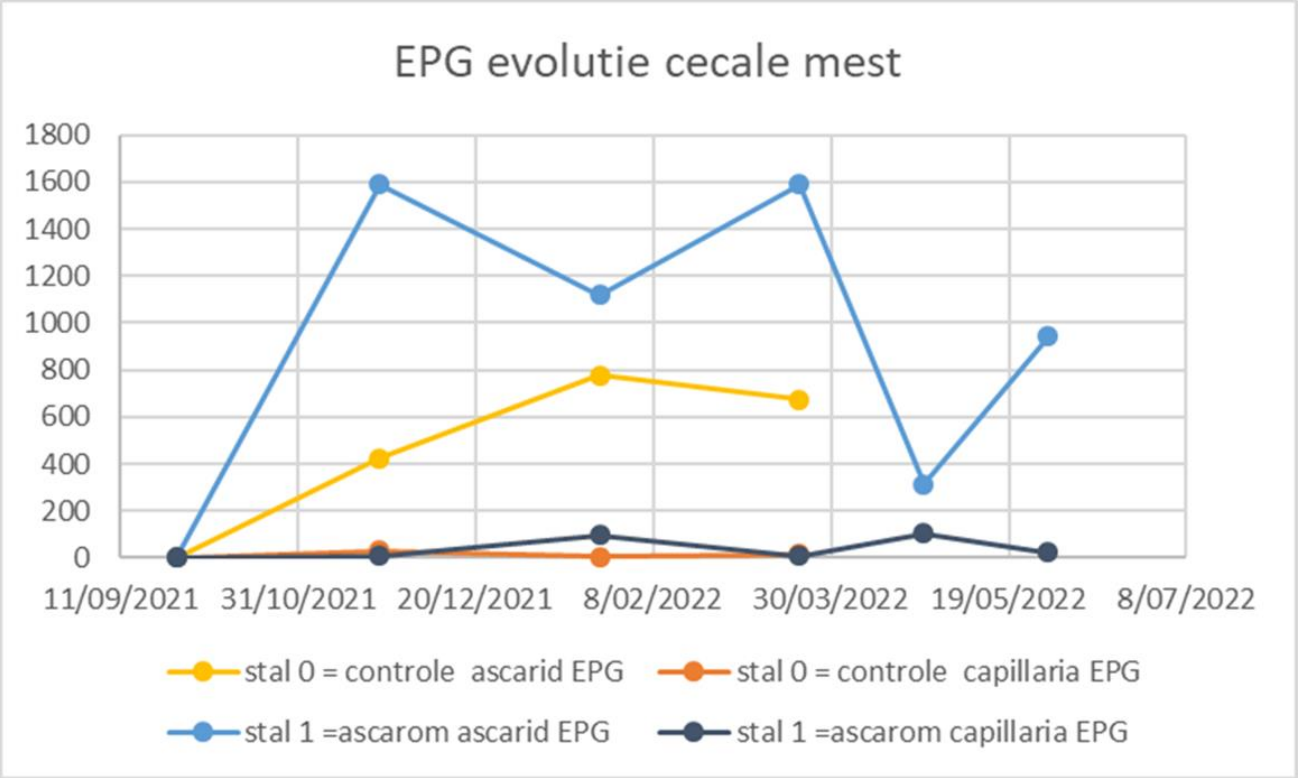
Figuur 4: Evolutie gemiddelde EPG waarden in functie van de leeftijd van de leghenen vanaf opzet.

<u>Case 2</u>

In figuur 5 en figuur 6 wordt de evolutie van de gemiddelde EPG waarden weergegeven van fecale mest en cecale mest stalen. Deze vertonen duidelijk een verschillende evolutie. In stal 1, waar het product ascarom werd toegediend worden overwegend hogere EPG waarden geobserveerd.

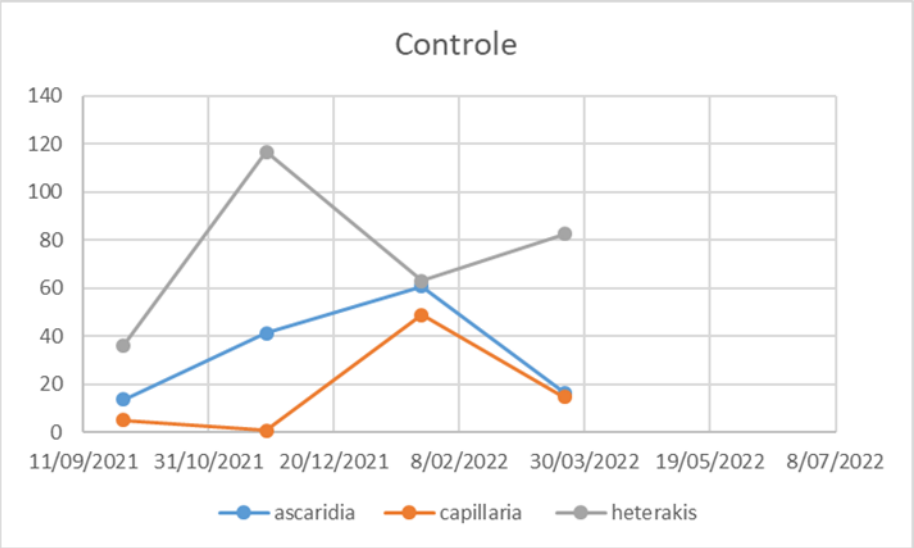


Figuur 5: Gemiddelde EPG waarden in fecale mest stalen in functie van de leeftijd van de leghennen.

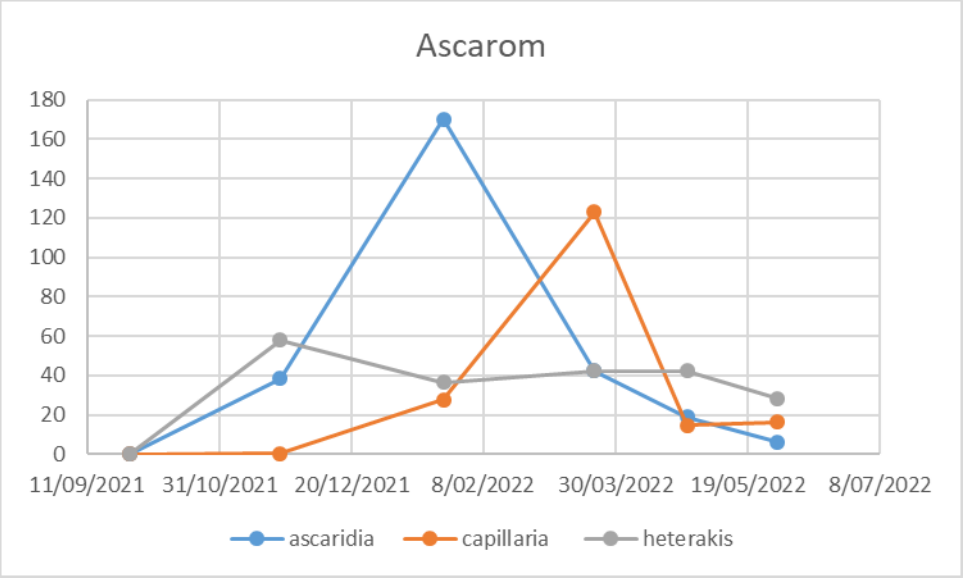


Figuur 6: Gemiddelde EPG waarden in cecale mest stalen in functie van de leeftijd van de leghennen

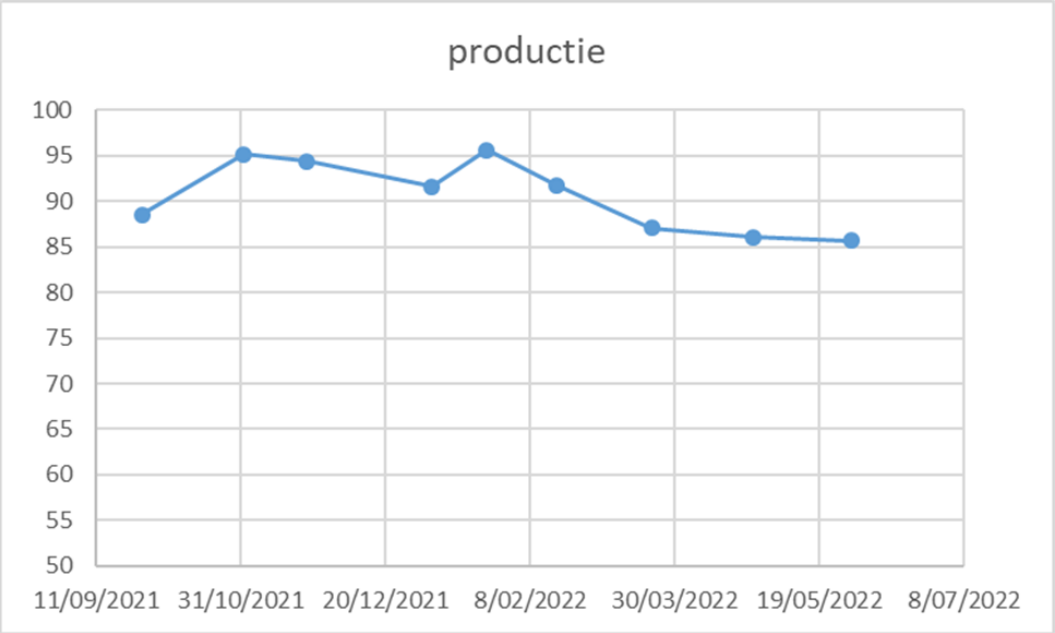
In figuur 7 en 8 worden de wormtellingen weergegeven voor beide groepen (controle vs. ascarom). In deze case is er ook geen eenduidige relatie tussen EPG-waarden en wormtellingen. In de met Ascarom behandelde groep neemt de wormdruk af in functie van de leeftijd, wat minder het geval is in de controle groep. Uit figuur 9 blijkt wel dat het legpercentage daalt wanneer de infectiedruk van de wormen toeneemt.



Figuur 7: Evolutie wormtellingen voor Ascaridia, Capillaria en Heterakis wormen in functie van de leeftijd van de leghennen van de controle groep.

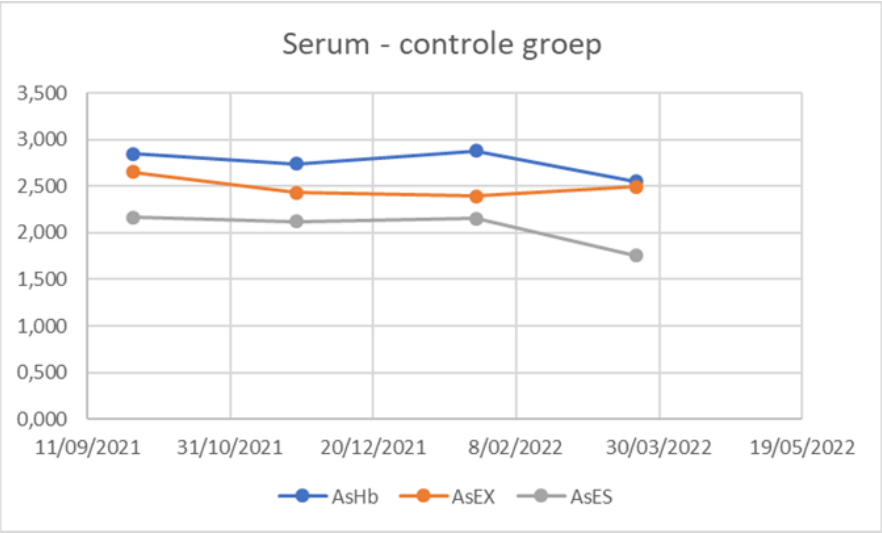


Figuur 8: Evolutie wormtellingen voor Ascaridia, Capillaria en Heterakis wormen in functie van de leeftijd van de leghennen van de met ascarom behandelde groep.

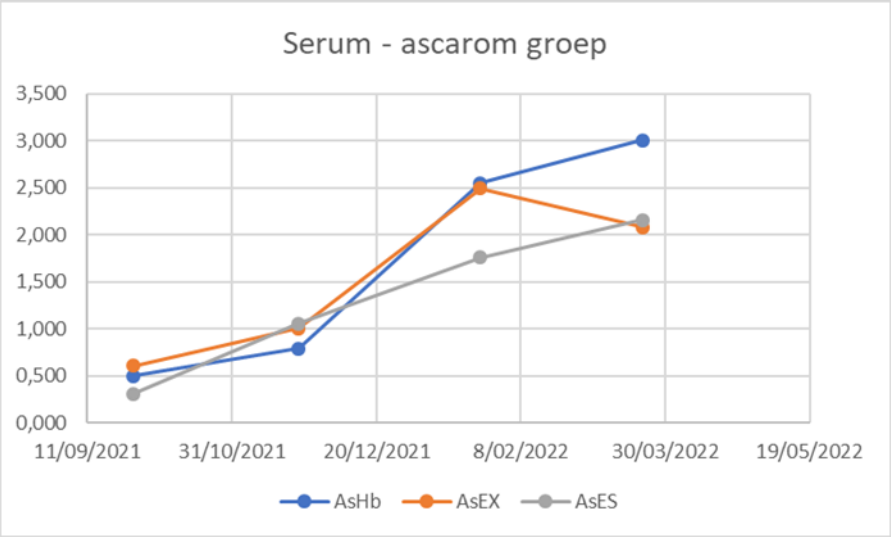


Figuur 9: Gemiddelde productiecijfers in functie van de leeftijd van de leghennen van de ascarom behandelde groep.

In figuur 10 en 11 worden de antistof-titers weergegeven bepaald in serumstalen van telkens 5 leghennen per meetmoment, hieruit blijkt dat er reeds een verschil was in besmettingsniveau van bij de start van de proef, waardoor het moeilijk is om het effect van het additief te evalueren. Hieruit blijkt ook dat leghennen reeds besmet uit de opfok zijn afgeleverd op het bedrijf, na een 3-tal maanden wordt een hoog plateau bereikt aan antilichamen. Verdere analyse van serumstalen op latere leeftijd is weinig zinvol.



Figuur 10: Antistoffen bepaald in serumstalen van leghennen op verschillende leeftijden voor de controle groep.



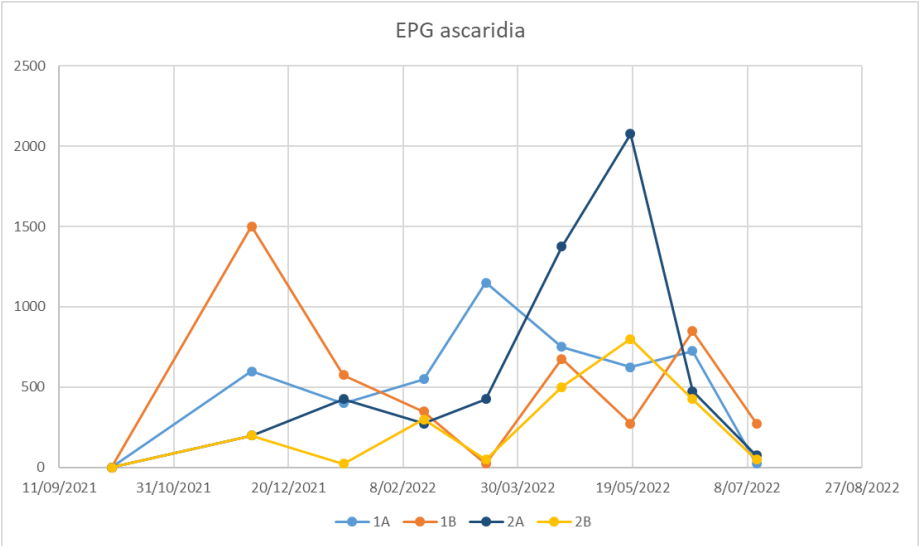
Figuur 11: Antistoffen bepaald in serumstalen van leghennen op verschillende leeftijden voor de ascarom behandelde groep.

<u>Samenvatting:</u>

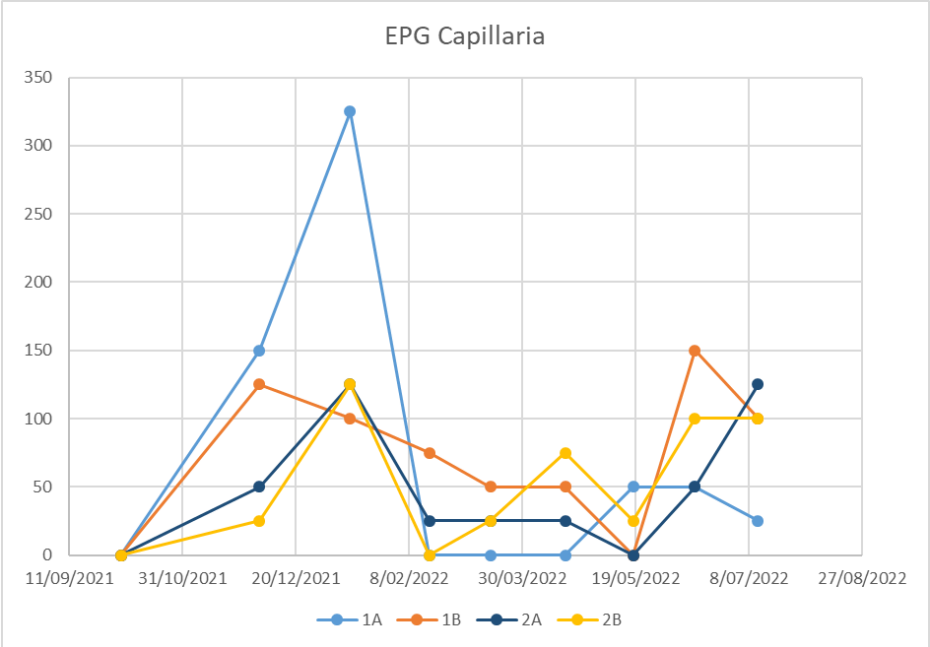
Op dit bedrijf heerst een hoge wormdruk, wat niet onlogisch is aangezien ervoor gekozen wordt om niet chemisch te ontwormen. Ondanks de hoge wormdruk van zowel grote en kleine spoelwormen (Ascaridia), haarwormen (Capillaria) en lintwormen is de algemene conditie van de leghennen goed, en blijft tevens de productie op peil. Op basis van de gangbare drempelwaarde gehanteerd door dierenartsen (Ascaridia EPG >1000 en Capillaria EPG >200), zou het advies hier kunnen zijn om te ontwormen. Op basis van de goede algemene gezondheid en legpercentage blijkt dat het eerder belangrijk is om evoluties op te volgen, dan algemene drempelwaarden te hanteren. In de controle groep werd meer uitval waargenomen, mogelijk te linken aan een hogere infectiedruk.

Case 3

In figuur 12 en 13 worden de EPG waarden voor Ascaridia en Capillaria weergegeven. Kort na opzet vertonen de leghennen reeds vrij hoge EPG waarden, met vrij grote variatie tussen de verschillende afdelingen, ondanks de identieke opzet en inrichting. De EPG waarden bereiken slechts sporadisch de gangbare drempelwaarden gehanteerd om te ontwormen. Gezien er geen verhoogde mortaliteit werd vastgesteld, en de dieren in goede gezondheid verkeerden, werd er geen chemische ontworming ingezet.

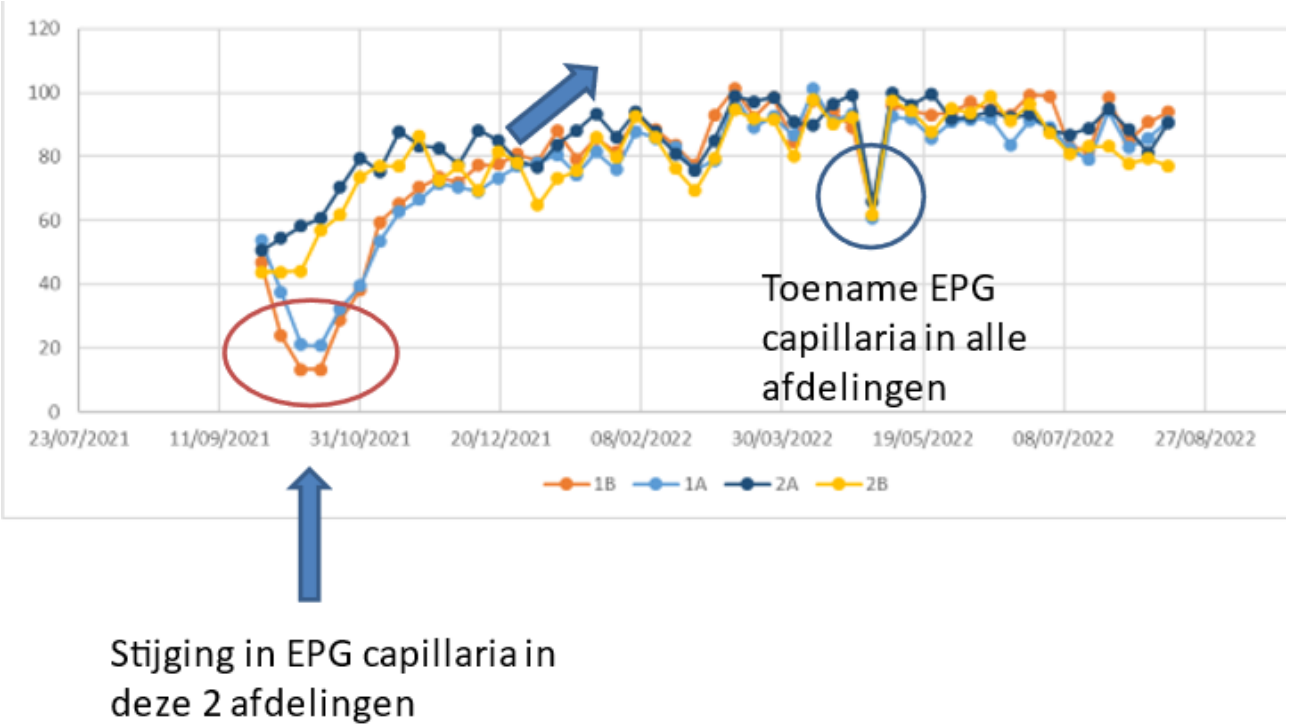


Figuur 12: Evolutie EPG waarden Ascaridia eieren in mengmeststalen in functie van de leeftijd van de leghennen in de 4 afdelingen (A= ascarom en B= controle).



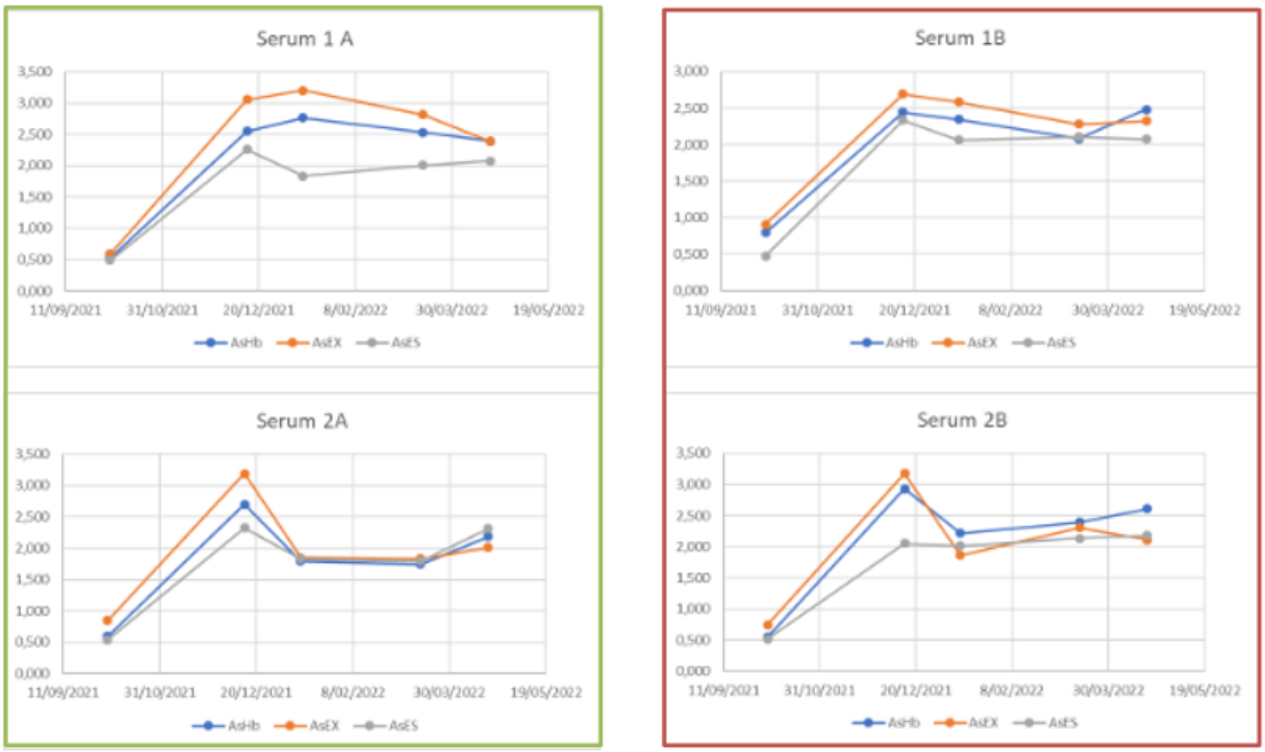
Figuur 13: : Evolutie EPG waarden Capillaria eieren in mengmeststalen in functie van de leeftijd van de leghennen in de 4 afdelingen (A= ascarom en B= controle).

In figuur 14 wordt de evolutie van het legpercentage weergegeven, waarbij het legpercentage telkens een significant daling vertoond waanneer de EPG waarden voor Capillaria gestegen waren. In figuur 15 worden de antilichaam titers weergegeven, waarbij de grootste daling in antilichaam titers in serum voor afdeling 2A en 2B aanleiding geeft tot stijging in legpercentage.



Figuur 14: Legpercentage in functie van de leeftijd van de leghennen (A= ascarom en B= controle).

In figuur 15 worden de antilichaam-titers weergegeven voor de verschillende afdelingen, waarbij de waarden reeds hoger zijn dan 0.3 bij de initiële staalname, waarbij de EPG bepaling nog negatief is, dit duidt aan dat deze test voornamelijk van belang is om het begin van een infectie te detecteren. Hoe hoger de infectiedruk, hoe sneller een plateau zal bereikt worden. Ondanks de grote schommelingen in de EPG waarden, tonen de antilichaamtiters welk een gelijkaardig verloop van de infectie in de verschillende afdelingen en lijkt beter geschikt als parameter om groepen onderling te vergelijken.



Figuur 15: Antistoffen bepaald in serumstalen van leghennen op verschillende leeftijden voor de ascarom behandelde (groen) en controle groepen (rood).

<u>Samenvatting resultaten:</u>

Link tussen indicatoren (EPG, serum en wormtellingen)?

Link tussen verschillende indicatoren is binnen deze case niet mogelijk aangezien er geen wormtellingen werden uitgevoerd, EPG waarden en antilichaam-titers vertonen een ander verloop. Een link tussen serumindicatoren met productie lijkt mogelijk, en moet verder onderzocht worden. Ernst van capillaria-infectie lijkt een effect te hebben op productiviteit.

<u>Case 4 en 5</u>

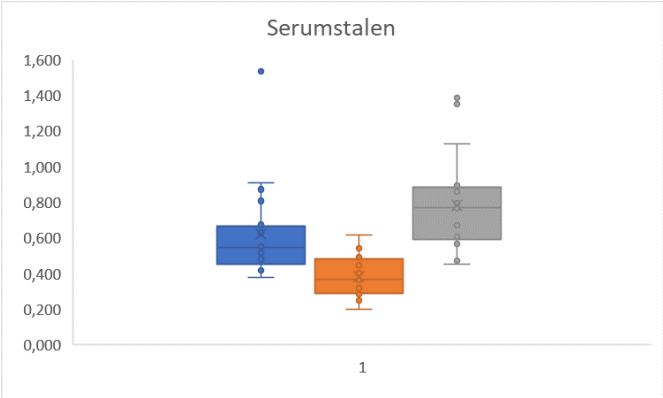
De meststalen genomen tijdens de opfokfase op de leeftijd van 4, 8, 12, en 16 weken waren allemaal negatief voor EPG bepaling. Op autopsie werden geen wormen vastgesteld, ook larviaire stadia werden niet teruggevonden. De serumstalen vertoonden tevens dat de leghennen nog niet werden blootgesteld aan wormen. Nadat de dieren werden geplaatst op het legbedrijf werden er nog stalen verzameld op 20 en 24 weken, tevens allemaal negatief. De staalnames op het legbedrijf werden niet meer verder gezet omwille van AI, maar na 35 weken leeftijd werden er toch wormen vastgesteld op autopsie door de dierenarts. De infectie heeft in deze specifieke case niet plaatsgevonden in de opfokfase.

Case 6

Uit tabel 2 blijkt dat reeds bij de opzet van de leghennen op het biologisch legbedrijf wormen werden teruggevonden. De verzamelde mestmonsters waren allemaal negatief op EPG bepaling. Uit figuur 16 blijkt dat ook de antilichaam-titers boven de treshold van 0.3 liggen, en de leghennen reeds geseroconverteerd zijn, of met andere woorden reeds antilichamen hebben aangemaakt tegen wormen waarmee ze besmet zijn.

Tabel 2: Wormtellingen van biologische leghennen die net uit de opfokfase kwamen.

Animal	dunne darm (Ascaridia)	digestie dunne darm (larven Ascaridia)	Capillaria	caeca (Heterakis)	digestie caeca (larven Heterakis)
S6.1	0	1	0	0	0
S6.2	0	0	0	2	0
S6.3	2	1	0	0	0
S6.4	3	7	1	0	0
S9.1	0	0	0	18	0
S9.2	0	0	0	5	0
S9.3	0	2	0	4	2
S9.4	2	5	0	21	0



Figuur 16: Antilichaam-titers in serumstalen verzameld van biologische leghennen op het einde van de opfokfase.

4. CONCLUSIE EN TOEKOMSTPERSPECTIEVEN VOOR VERDER ONDERZOEK

Binnen dit project werd een verkennend onderzoek verricht, de diverse cases zijn informatief op zich, maar moeilijk onderling te linken omwille van verschillen in type bedrijfsvoering en huisvesting, aantal leghennen en management. Hierdoor is het moeilijk om relaties tussen indicatoren onderling in te schatten. Er zijn een aantal zaken die verdere aandacht vragen. Uit verschillende cases blijkt toch een negatieve impact van worminfecties op prestaties. Het bepalen van het niveau aan antilichamen in serumstalen is vnl. bij begin van een worminfectie informatief. Wormtellingen na autopsie blijven de beste methode om de ernstgraad om een infectie in te schatten. Zowel aan de hand van autopsie als serumanalyse is het mogelijk om worminfecties sneller te detecteren als met EPG bepalingen.

Om advies over drempelwaarden voor ontworming te kunnen formuleren moet diagnostiek nog verder geoptimaliseerd worden, dit is nodig om verder onderzoek te kunnen doen naar de relatie tussen de ernstgraad van worminfecties en prestaties.

Aan de hand van de verschillende cases in dit project zijn er geen duidelijke effecten van alternatieve producten om worminfecties onder controle te houden. Hiervoor is onderzoek op grotere schaal vereist, en dit zowel in vitro als in vivo. De economische evaluatie werd niet mee opgenomen in dit project, maar speelt wel een belangrijke rol gezien de kleine marges in de sector.

Dit onderzoek toont aan dat er nog veel opportuniteiten, maar ook noodzaak is voor verder onderzoek. Enerzijds het verder optimaliseren van de diagnostiek, met name om meer inzicht te krijgen in de relatie tussen de verschillende indicatoren.

De voorgestelde alternatieven voor chemische ontwormingsmiddelen zijn geen ontwormingsmiddelen, naast deze middelen is er nood aan onderzoek richting nieuwe geneesmiddelen, aangezien er reeds indicaties zijn dat de efficiëntie van de huidige middelen reeds is afgenomen. Dit is een problematische ontwikkeling, en niet enkel binnen de biologische leghennenhouderij, maar ook binnen de gangbare leghennenhouderij waar ontwormingsmiddelen aan een hoge frequentie worden ingezet. Alternatieve voor flubendazol moeten verder onderzocht worden.

CONCLUSIE/EVALUATIE

- **Zijn de doelstellingen van het project gehaald?**

De doelstelling van het project was tweeledig. Enerzijds was het de bedoeling om de wormdruk op biologische leghennen in kaart brengen aan de hand van drie verschillende indicatoren (EPG, wormtellingen en immunoconversie). Om hieraan te voldoen werden op 5 verschillende bedrijven stalen verzameld. Op drie van de 5 bedrijven werden de drie indicatoren op regelmatige basis opgemeten. Op de andere twee bedrijven werden geen wormtellingen uitgevoerd omdat het niet opportuun was om iedere keer leghennen te euthanaseren. Op alle bedrijven werd gedurende een voldoende lange tijd de wormdruk opgevolgd om het verloop van de infectie te kunnen inschatten.
De tweede doelstelling van het project was het evalueren van het effect van alternatieven voor ontwormingsmiddelen. Twee verschillende producten werden toegepast op de bedrijven. Op geen enkel bedrijf werd een significant effect van de producten waargenomen. Hiervoor kunnen verschillende verklaringen zijn. Mogelijks moet het effect langer toegepast worden vooraleer een effect kan waargenomen worden. Mogelijks is het effect te klein om gecapteerd te worden in de beperkte dataset. Ook speelt het feit dat niet iedere ronde vanaf de start kon opgevolgd worden hoogstwaarschijnlijk een rol.

- **Wordt het project onder een of andere vorm verdergezet?**

Recent werd aan het Laboratorium voor Parasitologie van de Faculteit Diergeneeskunde – Ugent een technologie ontwikkeld waarmee het aantal wormeieren aanwezig in bodemmateriaal kan bepaald worden. In 2022 is een doctoraatsonderzoek gestart waarin met behulp van deze technologie het worminfectieniveau in de stallen en in de uitloop (indien aanwezig) kan bepaald worden. De bedoeling is om meer inzicht te krijgen in de evolutie van de omgevingsbesmetting tijdens een productieronde. Een aantal biologische leghennenbedrijven hebben zich kandidaat gesteld om mee te werken, waaronder ook twee bedrijven die al deelnamen aan PREBEBIOLEG en ALTBIOLEG. De mogelijkheden om een Europees of VLAIO project uit te werken worden verder bekeken in het voorjaar van 2023, bedoeling is hier telkens brede consortia op te stellen om expertise te bundelen en snellere kennisoverdracht te bekomen. Dit project en de opgebouwde relaties zijn alvast een goede basis om op verder te bouwen.

- **Hoe verliep de eventuele samenwerking met landbouwers en/of partners?**

De samenwerking met de partners (Bioforum en UGent) verliep heel goed. Er werd regelmatig (online) overleg gepleegd en de taakverdeling verliep vlot. Gezien het belang van verder onderzoek en de goede verstandhouding tussen de partners, worden de mogelijkheden voor een vervolgproject open gehouden. Een concrete piste of financieringskanaal ontbreekt voorlopig nog. Daarnaast heeft ILVO samen met het Proefbedrijf Pluimveehouderij een nieuw CCBT-project uitgewerkt omtrent nieuwe potentiële eiwitbronnen binnen de biologische leghennenhouderij. Dit project werd in april 2022 goedgekeurd.

De samenwerking met de landbouwers verliep probleemloos. Wanneer omwille van sanitaire redenen niet mogelijk was om stalen te verzamelen op het bedrijf, werd een alternatieve procedure opgesteld waarbij de landbouwer zelf de stalen verzamelde. De deelnemende landbouwers waren tevreden over de samenwerking.

Ook was er regelmatig (online) overleg met de twee leveranciers van de producten, dit om de proefopzet gezamenlijk op te stellen en gedurende het project bij te stellen en om de resultaten te bespreken.

- **Hoe verliep de communicatie met de doelgroep?**

De voornaamste doelgroep zijn de landbouwers. De deelnemende landbouwers werden om de 8 weken bezocht, waarbij resultaten werden toegelicht en een algemene stand van zaken werd gedeeld. Naar de volledige biologische sector werd teruggekoppeld via de biobedrijfsnetwerken. De resultaten van het project zullen gedeeld worden begin 2023.

- **Welke factoren hebben ertoe geleid dat het project geslaagd is of niet geslaagd is?**

- De goede samenwerking en communicatie met de landbouwers heeft ervoor gezorgd dat het project kon worden verdergezet in tijden van vogelgriep (en dus ophokplicht)
- De samenwerking met de UGent heeft ervoor gezorgd dat de dataset kon uitgebreid worden en dat relevante expertise werd ingebracht
- De samenwerking en afstemming met de leveranciers van de alternatieve producten heeft ervoor gezorgd dat de proefopzet kon aangepast worden aan veranderende omstandigheden
- De diversiteit in de deelnemende bedrijven en de lokale context op de bedrijven heeft ervoor gezorgd dat het moeilijk is om statistische conclusies te trekken uit de metingen.
- De beperkte dataset heeft ervoor gezorgd dat de statistische power laag is.
- Het werken in praktijkomstandigheden heeft ervoor gezorgd dat het heel moeilijk of onmogelijk is om gestandaardiseerde experimenten op te zetten.