

**Aus dem Institut für Tier- und Umwelthygiene  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Luftkeimbelastung und Lufthygienemanagement in der Schlupfbrut von  
Masthähnchen als Einflussfaktor auf die Kükengesundheit**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Josef Benedikt Bachmeier  
Tierarzt  
aus Straubing**

**Berlin 2020**

**Journal Nr.: 4241**



**Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

<b>Dekan:</b>	Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
<b>Erster Gutachter:</b>	Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
<b>Zweiter Gutachter:</b>	Univ.-Prof. Dr. Dr. Hafez Mohamed Hafez
<b>Dritter Gutachter:</b>	Univ.-Prof. Dr. Thomas Amon

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): broilers, animal housing, reproduction, ventilation, climate, airflow, environmental control, livestock, aerosols, enterococcus, enterobacteriaceae, mildews

**Tag der Promotion: 11.12.2020**



# INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS .....	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	VIII
TABELLENVERZEICHNIS .....	XI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	XII
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>13</b>
<b>2 LITERATURTEIL</b> .....	<b>15</b>
2.1 DIE SCHLUPFBRUT – EINE BEGRIFFSDEFINITION .....	15
2.2 VORGESCHALTETE PROZESSE DER KÜKENVERMEHRUNG ALS EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE SCHLUPFBRUT .....	16
2.2.1 <i>Bedeutung der Bruteibeschaffenheit</i> .....	16
2.2.2 <i>Anatomie des Bruteis und Physiologie der Eibildung</i> .....	16
2.2.3 <i>Umweltkontamination</i> .....	21
2.2.4 <i>Bruteilagerung auf der Elterntierfarm</i> .....	25
2.2.5 <i>Bruteitransport</i> .....	27
2.2.6 <i>Brütereier</i> .....	28
2.3 HORIZONTALER TRANSFER VON MIKROORGANISMEN IN DER SCHLUPFBRUT .....	37
2.3.1 <i>Mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut</i> .....	37
2.3.3 <i>Das Küken als Wirtsorganismus in der prä-, para-, und postnatalen Phase der Schlupfbrut</i> .....	40
2.5 BIOZIDEINBRINGUNG IN DEN SCHLUPFBRÜTER WÄHREND DES SCHLUPFES .....	44
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>45</b>
3.1 ERMITTLUNG DER MIKROBIOLOGISCHEN AEROSOLBELASTUNG WÄHREND DER SCHLUPFBRUTPHASE .....	45
3.1.1 <i>Struktur der Produktionskette im Rahmen der Probenentnahme</i> .....	45
3.1.2 <i>Methodik der Probenentnahme</i> .....	46
3.2 EINFLUSS DER SCHLUPFBRUTPHASE AUF DAS VORKOMMEN VON MIKROBIOLOGISCHEN AEROSOLEN WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	48
3.3 EINFLUSS DER PRODUKTIONSPHASE DER ELTERNTIERHERDE AUF DIE ENTWICKLUNG VON MIKROORGANISMEN WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	49
3.4 EINFLUSS DER EINBRINGUNG EINES BIOZIDS IN DIE SCHLUPFBRUT AUF DIE MIKROBIOLOGISCHE AEROSOLBELASTUNG WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	50

3.5	EINFLUSS DER EINBRINGUNG EINES BIOZIDS WÄHREND DER SCHLUPFBRUT AUF DIE RELATIVE VERLUSTRATE VON MASTHUHNKÜKEN AN MASTTAG 7 .....	52
3.6	EINFLUSS DER MIKROBIOLOGISCHEN AEROSOLBELASTUNG WÄHREND DER SCHLUPFBRUT AUF DIE RELATIVE VERLUSTRATE DER MASTHUHNKÜKEN AN MASTTAG 7 .....	54
4	ERGEBNISSE .....	55
4.1	EINFLUSS DER SCHLUPFBRUTPHASE AUF DAS VORKOMMEN MIKROBIOLOGISCHER AEROSOLE WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	55
4.1.1	<i>Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut</i> .....	55
4.1.2	<i>Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut</i> .....	58
4.1.3	<i>Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut</i> .....	60
4.1.4	<i>Verlaufsuntersuchung Schimmelpilze während der Schlupfbrut</i> .....	62
4.2	EINFLUSS DER PRODUKTIONSPHASE DER ELTERNTIERHERDE AUF DAS VORKOMMEN VON MIKROORGANISMEN WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	63
4.3	EINFLUSS DER EINBRINGUNG EINES BIOZIDS AUF DIE MIKROBIOLOGISCHE BELASTUNG WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	66
4.3.1	<i>Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut</i> .....	66
4.3.2	<i>Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut</i> .....	70
4.3.4	<i>Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut</i> .....	76
4.4	EINFLUSS DER EINBRINGUNG DES BIOZIDS IN DIE SCHLUPFBRUT AUF DIE RELATIVE VERLUSTRATE VON MASTHUHNKÜKEN AN MASTTAG 7 .....	81
4.5	EINFLUSS DER MIKROBIOLOGISCHEN AEROSOLBELASTUNG IN DER SCHLUPFBRUT AUF DIE RELATIVE VERLUSTRATE VON MASTHUHNKÜKEN AN MASTTAG 7 .....	84
4.5.1	<i>Einfluss der Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme auf die 7-Tages Mortalität</i> .....	84
4.5.2	<i>Einfluss von Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme</i> .....	87
4.5.3	<i>Einfluss von Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme</i> .....	89
5	DISKUSSION .....	92
5.1	EINFLUSS DER SCHLUPFBRUTPHASE AUF DAS VORKOMMEN MIKROBIOLOGISCHER AEROSOLE WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	92
5.2	EINFLUSS DER PRODUKTIONSPHASE DER ELTERNTIERHERDE UND DER SCHLUPFBRUTPHASE AUF DAS VORKOMMEN VON MIKROORGANISMEN IN DER SCHLUPFBRUT .	97
5.3	EINFLUSS DER EINBRINGUNG EINES BIOZIDS AUF DIE MIKROBIOLOGISCHE BELASTUNG WÄHREND DER SCHLUPFBRUT .....	102
5.4	EINFLUSS DER EINBRINGUNG EINES BIOZIDS IN DIE SCHLUPFBRUT AUF DIE RELATIVE VERLUSTRATE VON MASTHUHNKÜKEN AN MASTTAG 7 .....	106

5.5	EINFLUSS DER MIKROBIOLOGISCHEN AEROSOLBELASTUNG IN DER SCHLUPFBRUT AUF DIE KÜKENGESUNDHEIT .....	108
5.5.1	<i>Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Küken an Masttag 7.....</i>	<i>108</i>
5.5.2	<i>Weiterführender möglicher Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die Kükengesundheit.....</i>	<i>111</i>
6	ZUSAMMENFASSUNG .....	113
7	SUMMARY.....	114
	LITERATURVERZEICHNIS .....	115
	ANHANG .....	VIII
	PUBLIKATIONSLISTE .....	IX
	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....	X

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1. Probennahme an der Austrittsöffnung des Schlupfbrüters .....	46
Abbildung 2. Prozessablauf Kükenvermehrung .....	53
Abbildung 3. KbE der Gesamtkeimzahl in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut. ....	56
Abbildung 4. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl / 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.....	57
Abbildung 5. KbE der Enterobacteriaceae in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut. ....	59
Abbildung 6. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert Enterobacteriaceae / 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.....	60
Abbildung 7. KbE der Enterokokken in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut. ....	61
Abbildung 8. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.....	62
Abbildung 9. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe der Standardfehlers. ....	63
Abbildung 10. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe der Standardfehlers.....	64
Abbildung 11. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe der Standardfehlers. ....	65
Abbildung 12. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.....	66
Abbildung 13 Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Gesamtkeimzahl zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase.....	67
Abbildung 14. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	68
Abbildung 15. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	69
Abbildung 16. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	70
Abbildung 17. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.....	71

Abbildung 18. Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Enterobacteriaceae zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase (n=59 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35). .....	72
Abbildung 19. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	73
Abbildung 20. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	74
Abbildung 21. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	75
Abbildung 22. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers. ....	76
Abbildung 23. Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Enterokokken zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase (n=59 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35). .....	77
Abbildung 24. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	78
Abbildung 25. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	79
Abbildung 26. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers. ....	80
Abbildung 27. Einfluss des angewandten Biozids in der Schlupfbrut auf die kumulierte Mortalitätsrate der geschlüpften Küken an Masttag 7 unter Angabe der Standardfehlers. ....	81
Abbildung 28. 7-Tages Mortalität gruppiert nach Versuchsgruppe in Abhängigkeit der Produktionswoche der Mastelterntierherde. Die Ordinate bildet den Mittelwert der 7-Tages Mortalität in der jeweiligen Produktionswoche ab. ....	82
Abbildung 29. Einfluss des angewandten Biozids in der Schlupfbrut auf die Mortalitätsrate der geschlüpften Küken an Masttag 7 gruppiert nach Produktionsphase der Elterntierherde. Die Ordinate zeigt den Mittelwert der 7-Tages Mortalität. ....	83
Abbildung 30. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7. ....	84

Abbildung 31. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11..... 85

Abbildung 32. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23... 86

Abbildung 33. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35... 86

Abbildung 34. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7. .... 87

Abbildung 35. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11..... 88

Abbildung 36. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23... 88

Abbildung 37. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35... 89

Abbildung 38. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7. .... 89

Abbildung 39. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11..... 90

Abbildung 40. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23... 91

Abbildung 41. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35... 91

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1. Verwendete Nährböden zur Beprobung der mikrobiologischen Aerosolbelastung während der Schlupfbrut .....	47
Tabelle 2. Zeitliches Beprobungsschema der Schlupfbrutphase .....	48
Tabelle 3. Biologisch aktive Bestandteile des eingebrachten Biozids .....	50
Tabelle 4. Verteilung und Tröpfchengröße der zur Einbringung des Biozids verwendeten Düse .....	50
Tabelle 5. Deskriptive Statistik Bioaerosolverlauf der Kontrollgruppe in Abhängigkeit des Probennahmezeitpunktes .....	VIII
Tabelle 6. Deskriptive Statistik KbE/ 50 l Schlupfbrutluft in Abhängigkeit zur Schlupfbrutphase .....	VIII
Tabelle 7. Deskriptive Statistik Einfluss der Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf KbE/ 50 l Schlupfbrutluft der Kontroll- und Versuchsgruppe.....	IX
Tabelle 8. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert der mikrobiologischen Belastung pro 50 l Schlupfbrutluft .....	VIII
Tabelle 9. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut.....	VIII
Tabelle 10. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut .....	IX
Tabelle 11. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut.....	X
Tabelle 12. Rohdaten 7-Tages Mortalität in Abhängigkeit von der Gruppierung im Versuchsdesign und Produktionswoche der Masteltern-tierherde .....	VIII
Tabelle 13. Deskriptive Statistik 7-Tages Mortalität in Abhängigkeit von der Gruppierung im Versuchsdesign und der Produktionsphase der Masteltern-tierherde .....	VIII

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb. = Abbildung  
ANOVA = analysis of variance  
BAA = Bile-Aesculin Agar  
BALT = Bronchus associated lymphoid tissue  
Ca. = Circa  
Ca<sup>2+</sup> = Calcium  
CAS. No. = Chemical Abstracts registration number  
CH<sub>2</sub>O = Methanal  
CI = Confidence interval  
cm = Zentimeter  
CO<sub>3</sub><sup>-</sup> = Carbonat  
DG-18 = Dichloran Glycerin Chloramphenicol  
DNA = Desoxyribonukleinsäure  
EC No. = European community number  
EG & K =  
et al. = et alii / et aliae/ et aliaa = und andere  
g = Gramm  
GALT = Gut associated lymphoid tissue  
HACCP = Hazard analysis of critical control points  
HCO<sub>3</sub> = Hydrogencarbonat  
IFN- $\gamma$  = Interferon gamma  
IgY = Immunglobulin Y  
ISO = International Organization for Standardization  
KbE = Kolonie-bildende Einheiten  
l = Liter  
LPS = Lipopolysaccharid  
MAC3 = Mac Conkey 3 Agar  
Max = Maximum  
MHC = Major histocompatibility complex  
Min = Minimum  
mm = Millimeter  
N = Stichprobenumfang  
PAMP = Pathogen associated molecular pattern  
PC = Plate Count Agar  
pH = potentia hydrogenii  
p.i. = post incubationem

p.n. = post natum  
PRR = Pattern recognition receptor  
PW = Produktionswoche  
Q1 = Unteres Quartil  
Q2 = Mittleres Quartil/ Median  
Q3 = Oberes Quartil  
R<sup>2</sup> = Regressionskoeffizient  
RNA = Ribonukleinsäure  
SAS = Surface Air sampler  
SEM = Standardfehler  
Spp. = Spezies  
STAB = Standardabweichung  
TRGS = Technische Regelung für Gefahrstoffe  
WHO = World Health Organization  
 $\mu$ m = Mikrometer

## 1 EINLEITUNG

Der Gesundheitsstatus von Broiler- bzw. Hähncheneintagsküken bei Auslieferung an die Aufzuchtfarm besitzt große veterinärmedizinische, produktionstechnische und sozio-ökonomische Bedeutung.

Kumulierte Mortalität und Futtermittelnutzung sind dabei wichtige Key Performance Indikatoren für den Hähnchenaufzüchter. Die Kükenqualität beeinflusst beide Parameter direkt und indirekt (Tona 2005).

Für das Erfüllen gesellschaftlicher Anforderungen verschiedener Interessensgruppen an die deutsche Mastgeflügelhaltung, i) einer niedrigen antibiotischen Behandlungsinzidenz (Soisontes 2017), ii) der Einhaltung von durch die im Rahmen der Tierschutznutztierhaltungsverordnung definierten Rahmenbedingungen bezüglich Tierhaltung und Tierschutz sowie iii) der Freiheit von Zoonosen, ist der Zustand bzw. die Gesundheit des Eintagsküken bei Auslieferung von der Brüterei an den Aufzüchter wesentlich.

Der Idealzustand eines Eintagsküken bei Auslieferung wurde bereits im Jahr 1955 folgendermaßen formuliert: „Ein Eintagsküken von guter Beschaffenheit muss sauber, trocken, frei von Schmutz und Kontamination, mit klaren und hellen Augen, frei von Deformationen, mit einem vollständig verheilten und sauberem Nabelbereich sein. Der Körper sollte straff bei Berührung sein und das Tier sollte keine Zeichen von respiratorischem Stress aufweisen. Das Tier sollte aufmerksam und an seiner Umwelt interessiert sein und auf Geräusche reagieren. Die Ständer sollten eine normale Konformation zeigen, ohne Schwellung und ohne Fersen- oder Hautläsionen; der Schnabel sollte gut geformt und die Zehen straff und gerade sein“ (Funk 1955, Decuypere 2001).

Es wurden Versuche unternommen, die Beschaffenheit des Eintagsküken zu erfassen und in einem numerischen Bewertungssystem auszudrücken (Tona 2005). Die Aussagekraft der bekannten Bewertungssysteme werden jedoch kritisch hinterfragt (Willemsen, Everaert et al. 2008) und es bestehen weiterhin keine definierten, allgemein anerkannten und harmonisierten Bewertungsmethoden für die Kükenqualität.

Im Gegensatz zur Produktqualität, der Bewertung des Küken selbst, ist es im Fall der Broilervermehrung möglich, die Qualität von Prozessen zu bewerten, die zur Herstellung des Produktes führen. Nach ISO 9000:2015 2.3.4 bildet der „prozessorientierte Ansatz“ einen von sieben Qualitätsmanagementgrundsätzen: „Beständige und vorhersagbare Ergebnisse werden wirksamer und effizienter erzielt, wenn Tätigkeiten als zusammenhängende Prozesse, die als kohärentes System funktionieren, verstanden, geführt und gesteuert werden.“

Die der Kükenauslieferung im Herstellungsprozedere vorgeschaltete Einzelprozesse im Elterntier- und Brüteriebetrieb beeinflussen die Kükenqualität wesentlich (Decuypere 2001,

Tona 2005, Hausleitner 2011, Iqbal 2016). Sie können im Rahmen eines HACCP-Konzeptes beobachtet und gesteuert werden.

Die Schlupfbrut nimmt in dieser Prozesskette einen sehr wichtigen Platz ein. Der näheren Betrachtung der mikrobiologischen Zusammensetzung der Luft in der Schlupfbrut und deren Einfluss auf die Kükengesundheit kommt dabei eine einzigartige Bedeutung zu. In kommerziellen Schlupfbrutanlagen schlüpfen tausende Küken auf begrenztem Raum. Ab dem externen Pipping können Pathogene freigesetzt werden, welche die Eischale in der Elterntierproduktion während des Bruteitransportes oder bei der Eilagerung in der Brüterei penetrierten und während der Brut in Kalkschalenporen, Luftkammer oder zwischen innerer und äußerer Schalenhaut persistieren können (Berrang 1999). Die Küken trocknen während der Schlupfbrut ab, im weiteren Verlauf bildet abgetrocknetes organisches Material sogenannten Kükenstaub. Dieser kann für vorhandene Pathogene als unbelebter Vektor fungieren und kann zur Bildung von Bioaerosolen bakterieller Natur führen. Infolgedessen kann in der Schlupfbrut eine horizontale aerogene Übertragung von Mikroorganismen vonstattengehen (Cox, Berrang et al. 2000).

Der obere Respirationstrakt des Tieres ist während des Schlupfensters diesen Bioaerosolen ausgesetzt und bildet oral, nasal und konjunktival eine Eintrittspforte für Pathogene. Ein unvollständig geschlossener Nabel bildet eine zusätzliche Eintrittspforte für Infektionserreger. Der Abheilungsgrad des Nabels konnte in der Vergangenheit bereits mit dem Gewicht des Eintagsküken am 7. Lebenstag signifikant korreliert werden (Tona 2005).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, das Vorkommen von Mikroorganismen im Schlupfbrüter während der Schlupfbrutphase quantitativ zu erfassen und deren Auswirkungen auf die relative Mortalität der Küken am Masttag 7 zu untersuchen. Zudem wird eine Biozidanwendung während der Schlupfbrut zur Reduzierung der mikrobiologischen Belastung der Schlupfbrutluft auf ihre lufthygienischen Effekte und die Effekte hinsichtlich der Kükengesundheit evaluiert.

## 2 LITERATURTEIL

### 2.1 Die Schlupfbrut – Eine Begriffsdefinition

Die gesamte Brutdauer des Haushuhnes sowie dessen Hybridlinien (*Gallus Gallus domesticus*) beträgt ca. 21 Tage (Siegmann 1992). Die Schlupfbrut bezeichnet in der kommerziellen Brut von Masthähnchen eine definierte Phase der Inkubation, in der der Austritt des Embryos aus dem Brutei, umgangssprachlich der Schlupf, der Tiere erfolgt.

Je nach Planung, logistischen und arbeitstechnischen Anforderungen an die Brüterei wird der Transfer aus den Vorbrut- in die Schlupfbrutmaschinen an den Bruttagen 17 oder 18 vollzogen. Das Öffnen der Brutmaschinen und die Abnahme der Küken aus dem Schlupfbrüter erfolgt zu einem definierten Zeitpunkt. Alle Küken werden dem Brüter gleichzeitig entnommen. Abgeleitet von der englischen Beschreibung „Pulling“, wird dieser Vorgang im deutschsprachigen Raum entweder als das „Ziehen“ der Küken oder als Kükenabnahme beschrieben. Dieser Vorgang ist als Ende der Schlupfbrut zu definieren.

Zunächst wird im Folgenden auf die, die Schlupfbrut beeinflussenden Faktoren der vorgeschalteten Prozesskette eingegangen, um damit verbundene Prozesse in der Schlupfbrut darlegen zu können.

## 2.2 Vorgeschaltete Prozesse der Kükenvermehrung als Einflussfaktoren auf die Schlupfbrut

### 2.2.1 Bedeutung der Bruteibeschaffenheit

Die Brüterei ist im Rahmen der Kunden-Lieferanten-Beziehung zwischen Bruteiproduzent und Brüterei von dem Infektions- und Kontaminationsstatus des gelieferten Bruteis sowie der Freiheit des Bruteis von vertikal und pseudovertikal übertragbaren Krankheiten abhängig. Der Elterntierhaltung und dem Gesundheitsstatus der Elterntiere kommt als Einflussfaktor darauf maßgebliche Bedeutung zu (Tweed 2014).

### 2.2.2 Anatomie des Bruteis und Physiologie der Eibildung

#### 2.2.2.1 Ovarium und Eidotter

Grundlage des Bruteis bildet nach König (2001) die dotterreiche Eizelle. Das Ovarium beherbergt zahlreiche Follikel, welche in unterschiedlicher Größe, abhängig vom Einlagerungsgrad von Follikelbestandteilen, von 5-40 mm vorliegen (König 2001). Die Ovulation erfolgt größenabhängig an dem größten Follikel. Zum Zeitpunkt der Ovulation wird die Oocyte auf einen endokrinen Stimulus der Hypothalamus-Hypophysenachse hin in den Eileiter entlassen. Der Follikel bildet die Grundlage für den Eidotter, welcher circa 30% der Eimasse bilden wird (Noble and Cocchi 1990, Nichelmann 1992). Strukturell kann der Eidotter nach Noble et al. (1990) in weiße und gelbe Dotterkomponenten unterteilt werden:

Weißer Komponenten bilden die Keimscheibe und vermachen nur 1-2% der gesamten Dottermasse (Noble and Cocchi 1990).

Den Großteil des Eidotters bildet dagegen der gelbe Anteil. Syntheseort der Dotterhauptbestandteile Proteine und Lipide ist die Leber der Elterntierhenne. Sie werden über die Serumfraktion des Blutes zum Ovar transportiert und eingelagert. So liegen die Werte von Serumlipiden und Serumproteinen im Blutplasma von Hühnern in der Legephase deutlich über denen von männlichen oder juvenilen Tieren (Johnson 2014).

Lipide und Proteinfractionen liegen in Suspension in einem Plasma vor (Bellairs 1964, Johnson 2014).

Dotterbestandteile dienen als Energiereservoir für den sich entwickelnden Embryo. Schätzungsweise wird während der embryonalen Entwicklung 90% der genutzten Energie aus der Oxidation von Fettsäuren gewonnen, vor allem in den letzten 7 Tagen der Inkubation (Speake 1998). Nahezu alle Fettreserven sind im Eidotter lokalisiert (Noble and Cocchi 1990). Verfügbarkeit von Energie im Dotter und Verbrauch von Energie des Embryos ist abhängig von dem Alter der Elterntierherde. Embryonen von älteren Elterntierherden steht eine größere Energiemenge zur Verfügung, da der Eidotteranteil im Verhältnis zum Eiweißanteil größer ist. Dies zeigte Ulmer-Franco, Fassenko et al. (2010) bei einer 59 Wochen alten Elterntierherde im Vergleich mit einer 29 Wochen alten Elterntierherde der Rasse Cobb 500. Jedoch verbrauchen

Embryonen von älteren Elterntierherden auch eine größere Energiemenge als Embryonen von Jungherden (Nangsuay, Ruangpanit et al. 2011, Nangsuay, Meijerhof et al. 2017). Im Laufe der Embryogenese werden Dotterlipide über die Dottersackmembran des Embryos via Phagozytose aufgenommen (Uni 2012). Parallel dazu kann ein Anstieg der Plasmalipidfraktion der Embryos beobachtet werden (Noble and Cocchi 1990).

#### 2.2.2.2 Oviduct

Der im deutschen Sprachgebrauch als „Legedarm“ bezeichnete Eileiter wird anatomisch in 5 Segmente aufgeteilt (König 2001). Ähnlich dem Prinzip eines Fließbandes werden dem Follikel abhängig von der anatomischen Lokalisation in konzentrischer Anordnung definierte Schichten angelagert.

Im Folgenden wird anatomisch von cranial nach caudal auf die physiologischen und sekretorischen Funktionen der einzelnen Segmente eingegangen und ihre Bedeutung für die Bruteibeschaffenheit dargestellt.

Die Eileiterwand besteht anatomisch nach König (2001) von innen nach außen aus:

- *Tunica mucosa*
- *Tela submucosa*
- *Tunica muscularis*
- *Tunica serosa*

Die *Tunica mucosa* der einzelnen anatomisch unterteilten Segmente des Oviductes besitzt definierte sekretorische Funktionen, um abschnittsabhängig Bestandteile der organischen Matrix oder anorganische Stoffe für die Mineralisation der organischen Matrix in das Lumen abzugeben.

Die glatte Muskulatur der *Tunica muscularis* transportiert durch peristaltische Bewegungen das Ei während dieses Sezernierungsprozesses in Richtung Kloake. Durch antiperistaltische Bewegungen erfolgt der Transport des Spermiums zum Infundibulum, dem Ort der Befruchtung der weiblichen Eizelle (König 2001).

#### 2.2.2.3 Infundibulum

Der Follikel tritt durch das *Ostium infundibulum* in das Oviduct ein. An dieser Stelle bildet das Infundibulum ein trichterförmiges Gebilde aus glatter Muskulatur (Nickel 2004). Im *Tubus infundibularis* erfolgt die Verschmelzung der ovulierten Eizelle mit dem Spermium des Elterntierhahnes im weißen Anteil des Eidotters. Hierfür besteht dessen Schleimhautoberfläche aus hohen Primär- und Sekundärfältchen (Nickel 2004, Nishio and Matsuda 2017). Dort erfolgt die Transition zum lebenden Organismus (Meiose) mit dem Potential zur Mitose, die Keimscheibe (Blastodisc) wird zum Blastoderm. Zudem werden von den Drüsen des tubulären Abschnittes des Infundibulums (*Glandulae tubi infundibulares*) die

äußere Vitellinmembran sowie die Hagelschnüre (Chalazae) gebildet (König 2001, Nickel 2004).

#### 2.2.2.4 Magnum

Das Drüsenepithel des Magnums sezerniert die Proteine des Albumens (Bellairs, 2014). Anatomisch ist das Albumen in 4 Schichten aufzuteilen. Seine physiologische Funktion besteht in der chemischen Bekämpfung von Pathogenen, welche die äußeren Bruteischichten penetriert haben und er dient als Flüssigkeitsreservoir des Bruteis beziehungsweise des Embryos.

Die chemische Bekämpfung von Pathogenen erfolgt nach Bedrani, Helloin et al. (2013) auf der Grundlage von 3 unterschiedlichen Strategien.

- Sequestration von Substraten von Pathogenen (Funktion: Bakteriostatisch)
  - Ovotransferrin: Eisen
  - Avidin: Biotin
- Inhibition von, für den bakteriellen Metabolismus von Pathogenen essentiellen, exogenen Proteasen (Funktion: Bakteriostatisch)
  - Ovoinhibitor
  - Ovomucoïd
  - Cystatin
- Lyse von Bakterienzellen (Funktion: Bakterizid)
  - Lysozym

Eine Kombination der genannten bakteriostatischen und bakteriziden Mechanismen bildet eine effektive chemische Barriere gegen Mikroorganismen und soll ein Persistieren von Bakterien im Albumen und insbesondere das Erreichen der Vitellinmembran und die Translokation in den Eidotter und damit die potentielle Gefährdung der Zygote verhindern.

#### 2.2.2.5 Isthmus

Im proximalen Isthmus werden Kollagen, Proteine und Glykoproteine sezerniert (Leach 1982). Durch Vernetzung über Disulfidbrückenbindungen formieren diese Strukturen die innere und äußere Schalenhaut und sind damit Teil der organischen Matrix der Eischale (Johnson 2014).

Die innere Schalenhaut liegt direkt der Chorioallantoismembran des Embryos an, über welche der Gasaustausch des Embryos vollzogen wird. Zwischen innerer und äußerer Schalenhaut bildet sich am stumpfen Eipol nach Oviposition die Luftkammer aus (König 2001). Durch die Abkühlung des Eis nach Oviposition von der Körpertemperatur der Elterntierhenne auf Raumtemperatur der Umgebung entsteht ein Unterdruck im Eiinneren, welcher zur Retraktion der inneren Schalenhaut und zur Ausbildung der Luftkammer führt (Berrang 1999).

Die äußere Schalenhaut bildet an ihrer Außenfläche aus Protein bestehende Anlagerungsflächen, die Mammillarkörper. Diese Strukturen fungieren als Basalmembran für die Eischale. „Mammillarkörper sind diskrete Ansammlungen organischer Matrix, welche teilweise in die äußere Schalenhaut eingebettet und an den initialen Kristallisierungsstellen der Eischale lokalisiert werden können“ (Leach 1982). Die Komposition und Anordnung dieser Proteine stehen untereinander in Wechselwirkung und haben damit als Matrix der Kalkschale wesentlichen Einfluss auf die Stabilität der in der Schalendrüse gebildeten Eischale (Bunk 1977). Die Kalzifizierung erfolgt im Uterus durch Einlagerung von Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) und Hydrogencarbonat ( $\text{HCO}^-$ ).

#### 2.2.2.6 Uterus

Der Uterus (synonym: Schalendrüse) fungiert als Sezernierungs- beziehungsweise Einlagerungsorgan für drei essentielle Strukturen der Schale des Bruteis:

- Organische Schalenmatrix
- Ionisiertes Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ )
- Carbonat ( $\text{CO}_3^-$ )

Durch die Kalzifizierung der organischen Matrix, der Einlagerung von Calciumcarbonat, entsteht eine in ihrer Dicke durch den jeweiligen Grad der Kumulation von Calciumcarbonat variierende (Chen, Li et al. 2018), durch Eiporen perforierte physikalische Barriere. Trans-epithelialer Transport von Ionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{HCO}^-$ ) aus der Serumfraktion des Blutes der Elterntierhenne (Jonchere, Brionne et al. 2012) bildet die Grundvoraussetzung für das Vorhandensein anorganischer Bestandteile im Lumen des Legedarms. Mammillarkörper werden in Gruppen von 4-5 Körpern um einen zentralen Raum angeordnet. Die Mammillarkörper als Mineralisationszentren werden in vertikaler und lateraler Richtung hin durch Anlagerungen von Calciumcarbonat erweitert. Sie bilden in ihrem Zentrum als luftleerer Raum die Grundvoraussetzung für die Eipore. (Tullett, Lutz et al. 1975).

Die Bedeutung des anatomischen Aufbaus der physikalischen Barrieren des Bruteis für den mikrobiologischen Kontaminationsgrad des Bruteis wird hier besonders deutlich. Eine Penetration des Bruteis durch die Eiporen ist möglich und auch beschrieben (Berrang 1999). Deutlich wird hier auch die Bedeutung des Hygienestatus der Umgebung des Bruteis nach Oviposition. Bei einer Kontamination der Schalenoberfläche besteht das potentielle Risiko einer Penetration in das Eiinnere. Die Tiefe der Penetration hängt hierbei von der Anatomie des einzelnen Bruteis und damit der physikalischen Barrieren, der Effektivität der chemischen Barrieren des Bruteis, den Eigenschaften des Pathogens sowie dem Vorhandensein von Feuchtigkeit ab (Berrang, 1999).

Im distalen Teil des Uterus wird die Kutikula circa eine Stunde vor der Oviposition unmittelbar sezerniert (Wilson, Suther et al. 2017). Diese, für das bloße Auge nicht sichtbare Schicht

bedeckt die Eiporen und soll in ihrer Funktion als physikalische Barriere eine Translokation von Umweltkontaminanten in die Eipore mit den bereits genannten Risiken verhindern (Bain, McDade et al. 2013). Die Kutikula besteht aus Glykoproteinen und zu einem kleinen Anteil aus Lipiden. Diesen Proteinen wird antibakterielle Wirkung zugeschrieben, ihre Rolle als chemische Barriere wird aus diesem Grund diskutiert (Gautron, Hincke et al. 2001).

Chen, Li et al. (2018) benennt den Ausprägungsgrad der Kutikula und die Dicke der Kalkschale als wesentliche, determinierende Faktoren zur Vermeidung des Prozesses der „trans-shell egg penetration“. Bei einer Kalkschalendicke von 340  $\mu\text{m}$  und einer Opazität der Kutikula von 27,5% beträgt das Risiko eines Erregertransfers in das Schaleninnere nur noch 2%. Im Vergleich dazu kann dieses bei geringerer Eischalendicke und niedriger Opazität bis zu 19% betragen.

#### 2.2.2.7 Vagina

Die Schleimhaut der Vagina besteht aus einem einschichtig hochprismatisches Epithel, welches mit Kinozilien bedeckt ist (König 2001). In der *Lamina propria* sind außerdem Uterovaginaldrüsen ausgebildet. Diese dienen der Deposition von Spermien, welche daraufhin kontinuierlich abgegeben werden können. Hierin kann vom Hahn nach der Kopulation deponiertes Sperma wochenlang verweilen (Nickel 2004). Nach König (2001) kann ein Huhn aufgrund dieser Struktur bis zu 2 Wochen nach der Begattung Eier mit befruchteter Keimscheibe legen. Zudem legt König (2001) im Widerspruch zu Chen, Li et al. (2018) Drüsen in der *Lamina propria* der Vaginalschleimhaut als Sezernierungsort der Kutikula fest.

### 2.2.3 Umweltkontamination

Das Brutei nimmt neben seiner Funktion als Brutkammer für den sich entwickelnden Embryo zudem eine Funktion als Vektor ein. In der Kunstbrut in der Brüterei wird ein Sammelgelege von einer Vielzahl von individuellen Mutterhennen der Elterntierherde auf begrenztem Raum bebrütet (Siegmann 1992). In der Schlupfbrut kann eine kleine Anzahl mikrobiologisch kontaminierter Eier zu einer Kolonisierung aller sich in dem Schlupfbrüter befindlichen Tiere führen (Bailey, Cason et al. 1998). Dies macht die Bedeutung der Bruteihygiene von der Oviposition im Elterntierstall bis zur Einlage in die Vorbrut der Brüterei besonders deutlich.

Der makroskopische Verschmutzungsgrad der Eier kann mit der mikrobiologischen Belastung des Bruteis assoziiert werden (Berrang 1997). Es können Prozesse zwischen Oviposition und Bruteieinlage in den Vorbrüter etabliert werden, welche den Grad der Kontamination des Bruteis abschwächen.

Ähnlich einer Wirt-Pathogen Interaktion fungiert in dieser Beziehung das Brutei als Wirt, dessen Abwehrmechanismen aus seinen physikalischen Barrieren, der Kutikula, der Kalkschale, der inneren und äußeren Schalenhaut und seinen chemischen Barrieren im Albumen und im Dotter bestehen. Der Infektionsdruck auf das Brutei hängt von dem Hygienestatus der Oberflächen, auf welchen die Oviposition und damit der Kontakt mit dem Brutei erfolgt, und von der Raumluft ab. Zu unterscheiden ist eine bloße Besiedelung der Bruteioberfläche von einer Kolonisation mit konsekutiver tiefergehender Penetration von Mikroorganismen in die Eipore oder tieferen Schichten der physikalischen Barriere des Bruteis. Eine konsekutive tiefergehende Penetration der Bruteier kann bis hin zu einem „Verfaulen“ des Bruteis im Laufe des Brutprozesses führen (Berrang 1999). Ein solcher Vorgang ist mit weitreichenden Folgen für den weiteren Verlauf der Prozesskette von Bedeutung. Ugalde (2019) beschreibt eine Besiedlung des Eiinneren durch *Pseudomonas spp.*, welche im späteren Verlauf der Brut durch Gasbildung zum Platzen von einzelnen Bruteiern führen kann. Der Zustand der physikalischen Barrieren des Bruteis sowie die Anwesenheit von pathogenen Mikroorganismen, welche das Potential besitzen, die physikalischen und chemischen Barrieren des Eis zu überwinden, haben einen Einfluss auf den Zustand des Eis als Vektor. Aushärtung der Kutikula sowie ein negativer Unterdruck im Ei unmittelbar nach Oviposition durch das Temperaturdifferential zwischen Oviduct und Stalltemperatur machen das Ei in der Phase der Oviposition besonders verwundbar (Berrang 1999).

#### 2.2.3.1 Oviposition

Zielort der Oviposition in der Haltungform Bodenhaltung von Elterntieren ist das Legenest. Im Rückblick auf die beschriebene Ätiologie kommt der Hygiene des Ortes der Oviposition als

Einflussfaktor für die Umweltkontamination wesentliche Bedeutung zu, da die finale Aushärtung und Abkühlung des Bruteis dort vollzogen wird.

Die Konditionierung der Herde auf das Legenest als Zielort der Oviposition zu Beginn der Legephase ist hierfür grundlegend. Schlägt diese fehl, werden die Bruteier nicht in Legenestern, sondern in die Einstreu positioniert. Quarles (1970) stellte eine deutlich niedrigere bakterielle Belastung der Bruteier sowie eine höhere Schlupfrate bei der Haltung auf Gitterböden im Vergleich zur Haltung auf Einstreu fest. Dies kann durch die Verschmutzung der Eioberfläche durch die Einstreu erklärt werden. Bestätigt wurde dies durch Carter, Gentry et al. (1973).

Der Terminus Bodeneier beschreibt Eier, welche von der Henne in die Einstreu statt in das Legenest positioniert werden (Appleby 1984). Diese „missplatzierte Oviposition“ ist für den Elterntierhalter und die Brüterei von großem Nachteil. Bodeneier werden in die Einstreu statt auf die Nestmatte positioniert, was mit einem erhöhten Verschmutzungsgrad des Eis verbunden ist. Bei einer makroskopischen Verschmutzung von Bruteiern besteht das Risiko einer erhöhten mikrobiologischen Besiedelung von Bruteiern (Smeltzer, Orange et al. 1979). Bei Bodeneiern im Vergleich zu sauberen Eiern sind Befruchtungsrate und Schlupfrate vermindert (van den Brand, Sosef et al. 2016).

Werden diese solchermaßen verschmutzten Eier für die Brut bzw. Inkubation und damit für die Erzeugung von Küken verwendet, kann dies mit einem erhöhten Risiko der Besiedelung des Embryos oder Kükens mit bakteriellen Mikroorganismen verbunden sein. Mauldin (2008) zeigte eine deutliche Erhöhung der 14-Tages Mortalität von aus makroskopisch verschmutzten Bruteiern geschlüpften Küken.

Einflüsse auf genetischer Ebene, Aufzuchtbedingungen, Haltungsbedingungen in der Produktion, Beschaffenheit der Legenester sowie Konditionierung der Elterntierherde auf das Legenest und dem damit verbundenen erforderlichen vertikalen Ebenenwechsel in Aufzucht und Produktionsphase werden als wesentliche Faktoren für das Auftreten von Bodeneiern benannt (Appleby 1984).

Die Gesamtnestfläche kann Einfluss auf die Inzidenz von Bodeneiern nehmen. So kann bei zu geringer Nestfläche pro Henne der Ausschluss untergeordneter Hennen durch dominante Artgenossen aus den Legenestern zu einer Oviposition in die Einstreu führen (Holcman, Malovrh et al. 2007).

Da das Legenest in der in Deutschland für Elterntiere üblichen Haltungsform „Bodenhaltung“ erhöht angebracht ist, ist es unerlässlich die Tiere bereits in der Aufzuchtphase auf die Annahme und Benutzung von erhöhten Ebenen zu konditionieren. Dies kann beispielsweise durch die Positionierung von erhöhten Ebenen unter den Tränkebahnen erfolgen, die

Tränkelinien werden hierdurch erhöht und bilden somit einen Anreiz für die Henne die Ebene zu wechseln (Brake 1987).

Eine weitere Maßnahme zur Verminderung des Anteils von Bodeneiern betrifft die Qualität der Be- und Ausleuchtung des Elterntierstalles, so können schlecht ausgeleuchtete Stellen im Stall die Henne zur Oviposition in dunklen Arealen des Stalles stimulieren (Aviagen 2018).

#### 2.2.3.2 Nesthygiene

Neben der Annahme des Legenestes durch die Elterntierhenne besitzt der mikrobiologische Zustand des Legenestes einen wesentlichen Einfluss auf den mikrobiologischen Zustand des im Legenest positionierten Bruteis. Die Legenestmatten sollten frei von Kot, Einstreu oder zerbrochenen Eiern sein (Procter 2013).

Die Nestmatte des Legenestes ist in negativem Winkel angebracht, sodass das Brutei nach der Oviposition auf ein Transportband rollen und aus dem Stallbereich in den Stallvorraum der Farm transportiert werden kann. Auch das Transportband sollte hygienisierbar sein und das Risiko einer mikrobiologischen Kontamination des Bruteis sollte durch Oberflächenhygiene vermindert werden. Eine wöchentliche Reinigung von Nestmatten und Bändern wird empfohlen (Aviagen 2018).

#### 2.2.3.3 Eisammelhygiene

Sammlung und Sortierung der Bruteier erfolgt üblicherweise auf Elterntierfarmen per Hand. Alternativ kann dies auch automatisiert maschinell erfolgen. Auf Personalhygiene, sowie, wenn vorhanden, auf die Hygiene der automatisierten Absammeleinrichtungen ist hierbei zu achten und Reinigungs- und Desinfektionsmöglichkeiten für die Hände der Mitarbeiter sind vorzuhalten und entsprechend zu verwenden.

Die Handhabung der Bruteier nach dem Sammeln besitzt eine große Bedeutung. So müssen brutfähige Eier von nicht brutfähigen Eiern getrennt und auf unterschiedlichen Transportmedien aufgelegt werden. Die Positionierung der Bruteier erfolgt bereits in der Elterntierfarm auf Vorbruthorden. Auf diesen verbleiben die Bruteier dann bis zur Umlage in die Schlupfbrut. Grundsätzlich sollten Eier mehrmals pro Tag gesammelt werden, da sich die Oviposition der Henne über die gesamte Lichtphase erstreckt. Zwar ist eine erhöhte Inzidenz der Oviposition zu Lichtphasenbeginn zu beobachten (Johnson 2014), dennoch sollte die Verweildauer der Bruteier auf dem Legeband so kurz wie möglich gehalten und die Bruteier in das kontrolliert klimatisierte Eierlager verbracht werden, um das Risiko einer Frühsterblichkeit der Embryonen durch Abkühlung, als auch einer verstärkten Zellteilung durch erhöhte Umgebungstemperaturen zu vermeiden.

Der Farmwagen sollte von unten an beginnend mit befüllten Vorbruthorden bestückt werden (Aviagen 2018). Durch Thermik werden die abgekühlten Eier anderenfalls erhöhten

Temperaturen ausgesetzt, was das Risiko von Kondensation mit sich führen kann. Kondensation führt nachweislich zu einem erhöhten Risiko der Penetration der Eischale durch potentiell pathogene Mikroorganismen (Berrang 1999).

#### 2.2.4 Bruteilagerung auf der Elterntierfarm

Elterntierfarm und Brüterei sind räumlich getrennte Gebäude. Aus diesem Grund besteht zwischen der Oviposition und der Ankunft des Bruteis in der Brüterei per se eine Zeitspanne. Neben der Bruteiqualität und Umweltkontamination des Bruteis unmittelbar nach Oviposition spielen Umweltbedingungen und die Dauer des Verbleibs des Eis auf der Farm eine wesentliche Rolle für den Parameter Schlupfrate und für die Penetration der physikalischen Barrieren des Eis durch Mikroorganismen.

Die Zeitspanne zwischen Oviposition und Einlage in die Vorbrut kann in 3 Phasen eingeteilt werden. Die erste Phase umschließt die Lagerung der Bruteier auf der Elterntierfarm, die zweite Phase den Bruteitransport von der Elterntierfarm zur Brüterei bis hin zur Bruteibegasung, die dritte Phase die Zeitspanne zwischen Bruteibegasung und Lagerung im Bruteilager der Brüterei bis zur Einlage der Bruteier in die Vorbrut.

Die Befruchtung der Eizelle erfolgt im Infundibulum der Elterntierhenne (Nishio and Matsuda 2017). Hiernach erfolgen bereits zahlreiche Zellzyklen während das Ei den weiblichen Reproduktionstrakt durchläuft bis hin zur Oviposition (Pokhrel, Ben-Tal Cohen et al. 2017). Zum Zeitpunkt der Oviposition besteht das Blastoderm bereits aus 40.000 – 60.000 Zellen (Eyal-Giladi and Kochav 1976). Unterschiede zwischen jungen und alten Elterntierherden wurden von Pokhrel, Ben-Tal Cohen et al. (2017) festgestellt. So befindet sich das Blastoderm von 32 Wochen alten Elterntierherden in der embryonalen Stufe XI EG&K, das einer 62 Wochen alten Elterntierherde in Stufe XII EG&K. Sofern das Ei nicht bebrütet wird, verbleibt der Embryo in einer Diapause, die Mitoserate wird auf ein Minimum reduziert.

Den physiologischen Zustand der Diapause des Embryos macht man sich auf der Elterntierfarm zunutze um Tagesgelege zu sammeln und bis zur Abholung durch die Brüterei zu lagern. Fassenko (2007) benennt für optimale Lagerungsbedingungen Temperaturen unter 21°C und merkt zwei funktionelle Gründe für die Diapause an. Zum einen soll die embryonale Entwicklung gestoppt, zum anderen bakterielles Wachstum gehemmt werden. Pokhrel, Cohen et al. (2018) benennt negative Effekte auf morphologische Charakteristika des Embryos sowie auf die Schlupfrate bei einer Lagerung bei 18°C verglichen mit einer Lagerung bei 12°C, vor allem bei einer Lagerdauer über 7 Tagen. Gegen eine Lagerung bei 12°C spricht das erhöhte Risiko von Kondensation bei erhöhten Temperaturen außerhalb des Eierlagers. Des Weiteren wurde in dieser Studie eine verminderte Schlupfrate von frisch gelegten Bruteiern gegenüber einer Lagerdauer von 4-7 Tagen festgestellt.

Für die Lagerung der Bruteier auf der Elterntierfarm hat dies zur Folge, dass ein temperaturgesteuerter sowie temperaturüberwachter separater Raum zur Bruteilagerung eingerichtet werden muss, um dem Embryo optimale Umweltbedingungen für die Diapause in der Zeitspanne zwischen Positionierung der Eier auf den Vorbruthorden und der Abholung der

Bruteier durch die Brüterei gewährleisten zu können. Im Idealfall werden die Bruteier bereits am Legetag auf der Elterntierfarm mit einem Biozid begast und in die Brüterei transportiert.

### 2.2.5 Bruteittransport

Der Erhalt der, die Diapause begünstigenden, Klimabedingungen während des Transportes stellt eine Anforderung an den Bruteittransport dar. Lange (2011) benennt den Erhalt und die Fortführung der in der Eierlagerstätte vorherrschenden Bedingungen als wesentlichen Einflussfaktor auf Schlupfrate und Bruteiqualität. Er begründet dies einerseits mit der Gefahr des Erwärmens der Bruteier und der damit verbundenen Unterbrechung der Diapause, andererseits mit einem Abkühlen der Bruteier und der damit verbundenen Vergrößerung der Luftkammer durch Flüssigkeitsverlust in Dotter und Albumen und dem damit verbundenen entstehendem Unterdruck im Eiinneren.

Zusätzlich können mechanische Vibrationen die Schlupfrate von befruchteten Hühnereiern negativ beeinflussen (Donofre 2017). Die Gefahr derartiger Vibrationen besteht an Absammeltischen, Zuführbändern, maschinellen Absammeleinrichtungen und direkt am Farmwagen durch das Rollen auf unebenen Oberflächen mit ungedämpften Wagenrollen beim Be- und Entladen sowie durch Vibrationen auf der Ladefläche des Lastkraftwagens während der Fahrt.

## 2.2.6 Brüterei

Der mikrobiologische Zustand der Oberfläche der Bruteier kann bei Eingang der Bruteier in die Brüterei bestimmt werden. Hausleitner (2011) wies via „Shell-rinse“ Methodik eine mikrobiologische Belastung von  $10^{3,85}$  KbE/ Brutei bis hin zu  $10^{5,05}$  KbE/ Brutei bei der Untersuchung von 6 Elterntierherden nach. Die Differenz der Medianwerte der am geringsten und am höchsten belasteten Herde lag bei  $6 \times 10^4$  KbE/ Brutei, was den Einfluss der Prozesse auf der Elterntierfarm auf die Brutequalität verdeutlicht.

### 2.2.6.1 Die Bruteibegasung

Üblicherweise wird in der intensiven Tierhaltung das Biozid Formaldehyd ( $\text{CH}_2\text{O}$ , Methanal) als Gas verwendet. Die Effektivität von Alternativen wie beispielsweise Chlordioxid (Patterson, Ricke et al. 1990, Chung, Kim et al. 2018), Ozon (Whistler and Sheldon 1989) oder Wasserstoffperoxid (Sheldon and Brake 1991) wurden zwar evaluiert, haben sich aber bis zum heutigen Tag aus praktischer Sicht wegen geringerer Effektivität beziehungsweise Materialunverträglichkeit nicht gegen Formaldehyd durchgesetzt.

#### 2.2.6.1.1 Formaldehyd

„Formaldehyd ist ein farbloses Gas, entflammbar und bei Raumtemperatur hochreaktiv.“ (WHO 2010). Es wirkt als elektrophiles Agens und kann mit Strukturen wie DNA, RNA und Proteinen interagieren und so auf molekularer Ebene zu irreversiblen Cross-Links und anderen Stoffwechselprodukten führen (Humans 2006). Bei der Bruteibegasung macht man sich die Interaktion mit primären Aminen von Proteinen und Nukleinsäuren zunutze, um Mikroorganismen auf der Eischalenoberfläche abzutöten (Cadirci 2009).

#### 2.2.6.1.2 Rechtliche Rahmenbedingungen

2004 wurde Formaldehyd von der „International Agency for research on cancer“ (IARC) als kanzerogen eingestuft, besonders das Risiko für die Entstehung von Nasopharyngealkrebs beim Menschen wurde hervorgehoben (Humans 2006). Diese Einstufung hatte arbeitsschutzrechtliche Konsequenzen. Das deutsche Bundesministerium für Arbeit und Soziales definiert Rahmenbedingungen für die erforderliche Sachkunde, die Art der Einbringung und die Beschaffenheit der Begasungskammern für die Verwendung von Formaldehyd zur Bruteidesinfektion in Form einer Raumdesinfektion durch die Technische Regelung für Gefahrenstoffe 522 (Gefahrstoffe 2013).

Desinfektionskammern für die Verwendung von Formaldehyd als Biozid zur Keimreduktion von Bruteioberflächen müssen nach der TRG S 522 nachfolgende Merkmale besitzen:

- Eine festinstallierte, programmgesteuerte und von außen regelbare Verdampfungseinheit

- Eine automatische Zudosierung der Formaldehydlösung aus einer geschlossenen Einrichtung
- Hinreichende Dichtigkeit der Begasungskammer
- Eine elektrisch verriegelte Kammertür
- Möglichkeiten zur messtechnischen Überwachung der Formaldehydkonzentration des Aufstellungsraumes
- Zu- und Abluftsteuerung bei der Lüftung nach Möglichkeit mit Wäscher für überschüssiges Formaldehyd

Dieser Standard ist als Stand der Technik gemäß § 2 Absatz 11 Gefahrstoffverordnung anzuwenden (Gefahrstoffe 2013).

Diese rechtlichen Rahmenbedingungen setzen der Anwendung von Formaldehyd ein hohes Investitionsvolumen in die baulichen Gegebenheiten voraus, sodass eine Begasung von Bruteiern mit Formaldehyd auf der Elterntierfarm trotz ihrer Bedeutung für die Bruteibeschaffenheit aus arbeitsrechtlichen und ökonomischen Gesichtspunkten an Bedeutung verliert (2.2.4). Eine Implementierung in den Prozessablauf der Brüterei ist jedoch üblich und notwendig für die Begasung der eingehenden Bruteier.

#### 2.2.6.1.3 Effektivität der Formaldehyddesinfektion

Der Effekt der Begasung von Bruteiern mit Formaldehyd soll in einer Reduktion der mikrobiologischen Oberflächenbelastung der Bruteioberfläche liegen.

Cadirci (2009) benennt und definiert 4 Einflussfaktoren auf die Effektivität von Formaldehyd in der Bruteibegasung:

- Konzentration von Formaldehyd und Expositionsdauer
- Relative Luftfeuchtigkeit
- Temperatur
- Menge an organischem Material auf der Eioberfläche

Olsen, Kudirkiene et al. (2017) stellte eine Reduktion von  $10^4$  KbE durch die Begasung von augenscheinlich saubereren Bruteiern mit Formaldehyd fest, bei augenscheinlich verschmutzten Eiern betrug dieser Wert  $10^6$  KbE. Hierbei wurden die Bruteier jedoch vor der Begasung gewaschen. Williams (1970) zeigte eine Reduktion der bakteriellen Oberflächenkontamination von Bruteiern von 99,85% durch eine 20-minütige Begasung mit Formaldehyd. Eine Penetration von Eischale und -membranen durch das Biozid wurde vom Autor in einer anderen Studie negiert (Williams and Siegel 1969). Hausleitner (2011) konnte nach einer Bruteibegasung mit Formaldehyd kein Keimwachstum via „Shell-rinse“ Methodik feststellen. Dies lässt ein Risiko des Persistierens penetrierter Mikroorganismen unter der Eischale zwischen den Schalenmembranen als möglich erscheinen.

Cadirci (2009) beschreibt eine negative Entwicklung von Formaldehyd auf den sich entwickelnden Embryo als möglich. Teratogene und embryotoxische Effekte werden beim Säugetier beschrieben (Thrasher and Kilburn 2001). Melo, Climaco et al. (2019) konnten keinen negativen Effekt auf die Schlupfrate durch eine Bruteidesinfektion mit Formaldehyd feststellen (5,03 g/ m<sup>3</sup>/ 30 min). Yildirim (2003) hingegen stellt einen negativen Effekt auf die Schlupfrate von Wachteleiern bei einer Bruteibegasung, verglichen mit einer Bruteibegasung mit Oregano, dar.

#### 2.2.6.2 Die Bruteilagerung

Die Anforderungen an die Umweltbedingungen entsprechen denen der Eilagerung auf der Elterntierfarm (2.2.4). Die Bruteilagerung erstreckt sich bis zur Einlage der Vorbrutwägen in den Vorbrüter und dem Erreichen der vom Brutmeister definierten Brutbedingungen. Der sogenannte Set Point beschreibt das Erreichen der gewünschten Bruttemperatur im Vorbrüter und initiiert die weitere Zellteilung. Dies beendet die Diapause.

Branum, Tazawa et al. (2016) führten den Begriff des „fetal programming“ aus der Humanmedizin ein. So konnten sie durch die variierenden Faktoren Zeit (Lagerungsdauer) und Temperatur (Lagerungstemperatur) während der Bruteilagerung Einfluss auf phänotypische physiologische Ausprägungen des Embryos an Bruttag 15 nehmen. Zwar zeigte sich bei einer Lagerungstemperatur von 15 °C und einer Lagerungsdauer von 20 – 30 Tagen eine erhöhte Schlupfrate gegenüber einer Lagerungstemperatur von 22°C, jedoch konnten negative Effekte auf den Stoffwechsel von Sauerstoff und damit die Kompensation von Hypoxie und Hyperkapnie sowie die Regulation des Säure-Basen Haushaltes festgestellt werden. Zudem wurde ein signifikanter negativer Effekt auf die Lebensfähigkeit der Embryonen an Bruttag 15 festgestellt.

Des Weiteren nimmt die Lagerdauer Einfluss auf das Eigewicht und damit den Flüssigkeitsgehalt des Bruteis, ein Gewichtsverlust von 0,5% des Gesamtgewichts des Bruteis kann pro Woche festgestellt werden (Erkus 2016). Branum, Tazawa et al. (2016) stellte zudem einen Einfluss der Lagerungstemperatur auf den Gewichtsverlust des Bruteis fest.

Jin (2010) assoziierte eine Verminderung von Eigewicht, prozentualem Albumenanteil, Haugh Unit, und Dotterfarbe mit steigender Lagerdauer bei der Rasse Lohmann Light-Brown in der Legespitze. Dottergewicht, prozentualer Dotteranteil und pH-Wert des Albumens erhöhte sich signifikant bei erhöhter Lagertemperatur. Der pH-Wert des Dotters erhöhte sich ebenfalls signifikant mit erhöhter Lagertemperatur. Zudem wurde eine Verschiebung des pH-Wertes des Albumens ab einer Lagerdauer von 2 Tagen in Unabhängigkeit von der Lagertemperatur festgestellt. Bei einer Lagertemperatur von 21°C wurde bei einer Lagerdauer von 10 Tagen ein pH-Wert von durchschnittlich 9,5 festgestellt.

Ein Einfluss auf die Enzymaktivität der Defensine nach Bedrani, Helloin et al. (2013) könnte durch eine verlängerte Lagerdauer und der damit verbundenen pH-Wert Verschiebung möglich sein. So beschreibt Davies, Neuberger et al. (1969) eine Inhibition der Aktivität von Lysozym sei besonders effektiv in alkalischem Milieu ab einem pH-Wert von 9,2.

Insgesamt sollte daher eine maximale Lagerdauer von 7 Tagen angestrebt werden, da bei längerer Lagerdauer Schlupfdepressionen verursacht werden können (Pokhrel, Cohen et al. 2018).

### 2.2.6.3 Die Vorbrut

Die eigentliche Brut beginnt mit dem Erreichen des „Set points“ nachdem die mit Bruteiern bestückten Vorbrutwägen in den Vorbrütern platziert wurden. Dieser Terminus beschreibt das Erreichen der vordefinierten Bruttemperatur, welche üblicherweise bei 37,5°C -38°C liegt und so das Ende der Diapause und die Fortsetzung der embryonalen Entwicklung in Form der Erhöhung der Mitoserate auf zellulärer Ebene einleitet (Campbell 2009).

Die Vorbrut endet mit dem Transfer der Bruteier in den Schlupfbrüter. Dieser kann von Bruttag 17 bis Tag 19 vollzogen werden, abhängig von logistischen und arbeitstechnischen Anforderungen an die Brüterei (Campbell 2009). Dem Transfer schließt sich die Schlupfbrut nahtlos an.

„In dem frisch gelegten Ei befinden sich bereits die meisten Inhaltsstoffe, welche für embryonales Wachstum und Entwicklung benötigt werden, jedoch fehlen dem Brutei noch Wärme und Sauerstoff für eine erfolgreiche Brut“ (Mueller 2014).

#### 2.2.6.3.1 Physikalische Beschaffenheit des Vorbrutgeleges

Wesentlich für die Vorbrut ist die Berücksichtigung der physikalischen Beschaffenheit des Bruteis, insbesondere des Eigewichtes, sowie der Konduktionsfläche der Bruteioberfläche, welche von der Anzahl und Beschaffenheit der Eiporen in der Kalkschale abhängt, letzteres wird in der Literatur als funktionelle Porenoberfläche bezeichnet (Ar 1974).

Die Bedeutung der Temperatur auf der Eischale ist für die embryonale Entwicklung während der gesamten Brutdauer entscheidend für die Geschwindigkeit und den Erfolg der embryonalen Entwicklung des Hühnerembryos (Lourens, van den Brand et al. 2005).

Die Wärmeproduktion des Embryos steht in Abhängigkeit zu Eigröße und Eigewicht. So zeigte sich, dass kleineren Bruteiern ab dem 15. Bruttag mehr Wärme zugeführt werden musste als großen Bruteiern, um die voreingestellte Temperatur im Vorbrüter von 37,5°C zu halten, was auf eine vermehrte endogene Wärmeproduktion bei großen Eiern schließen lässt (Lourens, Molenaar et al. 2006).

Bei Embryonen, inkubiert von Bruttag 7 bis Bruttag 19 bei einer Eischalenoberflächentemperatur von 38,9°C im Vergleich zu einer Eischalenoberflächentemperatur von 37,8°C, reduzierte sich die Brutdauer um 8 Stunden (Molenaar, Meijerhof et al. 2010).

Eine gleichmäßige Temperaturverteilung auf der Eischalenoberfläche im Vorbrüter ist aus dem beschriebenen Einfluss auf die Geschwindigkeit der embryonalen Entwicklung von Hühnerembryonen essentiell, um bei allen Eiern im Vorbrüter die angestrebte Temperatur auf der Eischalenoberfläche und damit assoziiert im Eiinneren zu erreichen. Variiert beispielsweise die Eischaltemperatur auf den Eischalen im Vorbrüter, so könnten sich Embryonen in unterschiedlicher Geschwindigkeit entwickeln und schlussendlich könnte damit der Schlupfzeitpunkt dieses Geleges zeitlich variieren.

Die Temperatur auf der Eischale beeinflusst ebenfalls den Stoffwechsel des sich entwickelnden Embryos. So stellte Molenaar, de Vries et al. (2010) negative Effekte von einer Eischalenoberflächentemperatur von 38,9 °C gegenüber einer Temperatur von 37,8°C auf die Gewichtsentwicklung von frisch geschlüpften Legehennenküken dar. Das relative Gewicht der Organe Herz, Lunge, Magen, Milz, Niere und Darmkonvolut war niedriger bei einer Eischalenoberflächentemperatur von 38,9°C verglichen mit einer Eischalenoberflächentemperatur von 37,8°C. Das niedrigere relative Gewicht des Herzens ließ sich 2011 in einem identischen Versuchsaufbau reproduzieren und die Mortalitätsrate bedingt durch das Symptom Ascites im späteren Mastverlauf dieser Tiere war in der Versuchsgruppe bei einer Eischalenoberflächentemperatur von 38,9°C um den Wert 4,1% höher als bei einer Kontrollgruppe bebrütet bei einer Eischalenoberflächentemperatur von 37,8°C (Molenaar, Hulet et al. 2011).

Molenaar, van den Borne et al. (2013) konnten zudem einen Einfluss der Eischalenoberflächentemperatur auf den Energiestoffwechsel des Embryos zeigen. So konnte bei einer Eischalenoberflächentemperatur von 38,9°C gegenüber 37,8°C eine Erhöhung der Rate der Oxidation von Glucose nachgewiesen werden. Eine Folge daraus ist eine Reduktion der hepatischen Glykogenreserven im Embryo, dadurch könnten also die Energiereserven beim Schlupf und damit der Schlupf bis hin zu einem Absterben des Embryos beim Schlupfakt selbst beeinträchtigt werden.

#### 2.2.6.3.2 Der Gewichtsverlust in der Vorbrut

Der Gewichtsverlust des Bruteis von Oviposition bis zum Schlupf des Tieres erfolgt durch Diffusion. Grundsätzliche Einflussgrößen sind a.) Partialdruckverhältnis von Wasser zwischen Brutei und Umgebungsluft und b.) die funktionelle Porenoberfläche (Ar 1974), welche die Eioberfläche und die Permeabilitätskonstante der Eischale beinhaltet.

Mit dem Übergang des Embryos von der endothermen in die exotherme Phase der embryonalen Entwicklung produziert der Embryo Wärme als Nebenprodukt im Rahmen der für die embryonale Entwicklung notwendigen Energiegewinnung. Wärme wird in Form von Wasserdampf bis zum Schlupf abgegeben (Campbell 2009). Der Partialdruck des Wasserdampfs in der Vorbrutluft, die relative Luftfeuchtigkeit, könnte hier wesentlichen Einfluss auf die Menge des abgegebenen Wassers nehmen.

Die innere und äußere Schalenhaut, ebenso wie die Eiporen der Kalkschale und die Kutikula bilden physikalische Barrieren für die Konduktion von Wasser aus dem Brutei bei gegebenem Partialdruck der Umgebung. Austausch von Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasser in gasförmigem Aggregatzustand ist entscheidend für den Erfolg der Brut (Mueller 2014).

Mit steigendem Produktionsalter ändert sich Eigröße und damit das Volumen-Oberflächen Verhältnis des Bruteis. Zudem wird durch die verringerte Eischalendicke die Konduktionsrate des Bruteis bei gleichen Umweltbedingungen im Vergleich zu Bruteiern jüngerer Elterntierherden erhöht (Phillips, Brake et al. 1992, O'Dea, Fasenko et al. 2004).

Diese Faktoren verändern die funktionelle Porenoberfläche und damit die Diffusionsrate des Wassers zwischen Brutei und Vorbrutumgebung. In der Brut muss dies über die Steuerung der relativen Luftfeuchtigkeit in Form von Brutprogrammen für bestimmte Altersgruppen der Elterntierherden berücksichtigt werden, um den Zielgewichtsverlust zu erreichen (Ar 1974, Campbell 2009). Das Unternehmen Aviagen formuliert den Sollwert 11-12% Verlust des Gesamteigewichtes von Oviposition bis Transfer an Tag 18, worin auch der Verlust während der Bruteilagerung berücksichtigt werden muss (French 2011). Molenaar (2010) benennt zwei Ursachen für die Evaporation von Wasser aus dem Brutei während der Brut:

- Wasserverlust durch Diffusion über einen Konzentrationsgradienten (Paganelli 1980)
- Wasser als Stoffwechselprodukt der Oxidation von Dotterlipiden (Ar 1980)

Ein Abweichen des Sollwertes des Verlustes von Gewicht respektive Wasser in der Vorbrut kann Auswirkungen auf die Beschaffenheit des Kükens in der Schlupfbrut nach sich ziehen und sich damit auf die Immunkompetenz seiner physikalischen Barrieren auswirken. de Lange (2010) bringt erhöhte Raten der relativen Luftfeuchtigkeit in der Vorbrut mit verringerten Gewichtsverlusten und damit einer Retention von Wasser im Dottersack des Embryos in Verbindung. Dies erschwert den Schluss der Bauchdecke des Embryos und könnte so durch insuffizienten Nabelschluss in Form einer Hernie zu einer deutlichen Herabsetzung der Immunkompetenz der Haut als physikalische Barriere gegen Mikroorganismen im abdominalen Bereich des Kükens führen. Bei konsekutiver mikrobiologischer Kolonisation kann dies zu einer Entzündungsreaktion (Omphalitis) bei horizontaler Erregerübertragung in den Prozessen der Schlupfbrut bis hin zur Positionierung des Tieres auf der Mastfarm führen.

#### 2.2.6.3.3 Energiegewinnung und Gasaustausch

In der frühen Phase der Brut erfolgt die Nährstoffversorgung des Embryos über ein Gefäßsystem, die *Area vasculosa*. Die Nährstoffaufnahme kann nur über Kontakt der Keimscheibe mit der *Area vasculosa* erfolgen, dies macht eine Wendung des Bruteis erforderlich.

Die Abhängigkeit der Entwicklung des Embryos von Sauerstoff wurde von Giussani, Salinas et al. (2007) im Tierversuchsmodell nachgewiesen. Der Austausch von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid ist notwendig für die Energiegewinnung des Embryos und die Abfuhr von Stoffwechselprodukten der Energiegewinnung. Energie wird für die Entwicklung von embryonalem Gewebe, zur Deckung des Erhaltungsbedarfes des Embryos während der Brutdauer, den Schlupfprozess sowie zur Thermoregulation benötigt (Davis, Shen et al. 1988). Bereits 1932 stellte Romanoff (1932) fest, dass der Energiebedarf des Embryos zum größten Teil über  $\beta$ -Oxidation von Fettreserven im Dotter gedeckt wird und sich die Kurve der Verbrennungsrate ähnlich zur Wachstumskurve des Embryos verhält. Der Ort des Gasaustausches verschiebt sich in der Brut von der *Area vasculosa* des Dottersacks hin zur Chorioallantoismembran bis zum externen Pipping (Ackerman and Rahn 1981). Der Sauerstoffbedarf steigt ab dem zwölften Bruttag deutlich an, da eine größere Menge an Sauerstoff für die  $\beta$ -Oxidation zur Deckung des Energiebedarfes des Embryos benötigt wird und Sauerstoff durch die vollständige Ausprägung der Chorioallantoismembran im späteren Brutverlauf effizienter im Embryonalgewebe transportiert werden kann.

#### 2.2.6.3.4 Bruteiwendung

Zusätzlich erfolgt in der Vorbrut die Wendung der Bruteier, um die Entwicklung der extraembryonalen Hüllen zu unterstützen und eine Adhäsion jener an die innere Schalenhaut zu verhindern. Zu Beginn der Brut schwimmt die Keimscheibe auf dem Dotter des Bruteis, der Dotter wird über die Chalazae im Brutei fixiert, durch die Wendung der Bruteier kommt die Keimscheibe also mit frischen Nährstoffen in Verbindung und kann diese in der frühen Phase der Brut für die Versorgung der sich teilenden Zellen mit Nährstoffen nutzen. Unzureichende Wendung der Bruteier führt konsequent zu einer Unterversorgung des Embryos mit Nährstoffen und kann somit zu einer Wachstumsretardierung bis hin zum Absterben des Embryos führen, außerdem ist eine regelmäßige Wendung der Bruteier notwendig um Malpositionen während der embryonalen Entwicklung zu vermeiden (Anderson Brown 2018).

#### 2.2.6.3.5 Mikrobiologische Rekontamination während der Vorbrut

Nach den Untersuchungen von Hausleitner (2011) „konnte keine nennenswerte Kontamination während der Vorbrut“ festgestellt werden. Anzumerken ist, dass in der untersuchten Brüterei ein HACCP Konzept bzgl. der mikrobiologischen Belastung der Brüterei durchgeführt wurde. Regelmäßige mikrobiologische Untersuchungen der Oberflächen von Vorbrüter und Vorbruttechnik fanden statt, das Prinzip der kritischen Kontrollpunkte wurde angewandt.

#### 2.2.6.4 Die Umlage

Der Prozess der Umlage, auch Transfer genannt, beinhaltet die Platzierung der Vorbruthorden in den Schlupfbrüter. Hierbei werden die Bruteier meist automatisch geschickt und unbefruchtete Eier und abgestorbene Embryonen aussortiert. Die Bruteier werden hierbei von Vorbruthorden auf Schlupfbruthorden platziert.

Hausleitner (2011) stellte in seiner Arbeit das Risiko der mikrobiologischen Kontamination der Schlupfbruthorden heraus. Dies kann sich negativ auf die Kükenqualität in der Schlupfbrut auswirken, da ein offener Nabel des Kükens durch mikrobiologisch kontaminierte Schlupfbruthordenoberflächen mit Mikroorganismen kolonisiert werden könnte.

#### 2.2.6.5 Die Schlupfbrut

##### 2.2.6.5.1 Physiologie des Schlupfes

Tong (2013) beschreibt den Beginn des Schlupfverhaltens des Hühnerembryos in einer Literatursammlung. Dieses beginnt mit der Positionierung des Embryos im Brutei um den 18. Bruttag in einer gebeugten Nackenhaltung, den Kopf unter der Luftkammer positioniert. Der Schlupf lässt sich in zwei Phasen unterteilen: Das Durchbrechen der inneren Schalenhaut einerseits, das Durchbrechen der äußeren Schalenhaut sowie der Kalkschale im Folgenden. Resultat ist der Verlust der physikalischen Barrieren des Eis und die Exposition des frisch geschlüpften Kükens gegenüber seiner Umgebung.

Exogene Faktoren, wie CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Spannung der Umgebung (Visschedijk 1968), auditive Stimuli und endogene Faktoren induzieren den Zeitpunkt der Induktion des Schlupfverhaltens.

Tong (2013) fasst diese folgendermaßen zusammen:

- Prä-Inkubationsbedingungen
- Inkubationsbedingungen
- Reife des embryologischen Entwicklungsstandes und Sensitivität des funktionellen Sinnesorgansystems des Embryos
- Frequenz und Art externer Stimuli
- Speziespezifische Fähigkeit zur Schlupfsynchronisation

#### 2.2.6.5.2 Das Schlupffenster

Der Terminus Schlupffenster beschreibt den Zeitraum zwischen dem ersten in einem definierten Schlupfbrüter geschlüpften Küken und dem letzten geschlüpften Küken desselben Schlupfbrüters innerhalb einer Schlupfbrutphase. Der Zeitraum für das Schlupffenster in der kommerziellen Schlupfbrut wird auf 24-48 Stunden eingegrenzt (Careghi, Tona et al. 2005). Das Schlupffenster ist das Resultat aus der Beschaffenheit der Prozesse aus dem Elterntier- und Brütereibereich (Decuypere 2001, Tong 2013). Zudem beschreibt Decuypere negative Effekte eines weiten Schlupffensters. Dieser These folgend führten Careghi, Tona et al. (2005) die Unterscheidung zwischen biologischem und chronologischem Alter des Kükens ein. Das biologische Alter beschreibt das Alter des Tieres ausgehend von dem tatsächlichen Schlupf des Individuums. Das chronologische Alter beschreibt das Alter der Tiere ausgehend von dem Zeitpunkt der Kükenabnahme als Nullpunkt. Ein weites Schlupffenster führt dementsprechend zu einem hohen Heterogenitätsgrad des biologischen Alters einer Schlupfbrutcharge von Eintagsküken. Zhong, Yu et al. (2018) zeigte in einem kameragestützten Laborversuch in nicht kommerziellen Kunstbrütern eine Spreizung des Schlupffensters von 12-38 Stunden.

Daraus folgernd kann das biologische Alter von Individuen bis zu 26 Stunden voneinander abweichen.

Die Abnahme der Küken aus dem Schlupfbrüter und damit das chronologische Alter gibt keine Auskunft über den tatsächlichen Schlupfzeitpunkt und damit das biologische Alter der Küken, sondern lässt nur eine Eingrenzung und Abschätzung durch Addition des Schlupffensters zum Zeitpunkt der Abnahme der Küken zu.

## 2.3 Horizontaler Transfer von Mikroorganismen in der Schlupfbrut

### 2.3.1 Mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut

Bereits 1959 wurde die Hypothese eines Zusammenhanges zwischen dem Grad und dem Spektrum der mikrobiologischen Kontamination von Kükenstaub, Staub, Eischalen oder Luft und der ausgelieferten Kükenqualität gestellt. Wright, Anderson et al. (1959) kamen bei einer Untersuchung zu dem Schluss einer hohen Diversität des mikrobiologischen Spektrums zwischen einzelnen Brütereien, einer Übertragung von *E. coli* von Schlupf zu Schlupf, sowie Vorhandensein von Schimmelpilzen während des Schlupfes. Auch Lancaster, Cooper et al. (1960) stellten eine hohe Diversität des mikrobiologischen Spektrums dar, die nachgewiesene Anzahl der aeroben Gesamtkeimzahl variierte während der Probennahme innerhalb derselben Brütereien, ein Zusammenhang zu Elterntierherden wurde in dieser Studie weder angesprochen noch hergestellt. Dieser muss nach heutigen Erkenntnissen diskutiert werden. So könnte möglicherweise ein Bezug auf die jeweilige Elterntierherde, welche das Schlupfbrutgelege produzierte, sowie den vorgeschalteten Prozessen der Schlupfbrut hergestellt werden. Mögliche mikrobiologische Vektoren und prädisponierende Faktoren wurden bereits in der vorliegenden Arbeit erläutert. Außerdem wurde eine höhere mikrobiologische Belastung bei Schlupfbrütern ohne Raumdesinfektion während des Schlupfes nachgewiesen (Lancaster, Cooper et al. 1960). Magwood (1967) konnte eine Korrelation von mikrobiologischer Belastung des Schlupfbrüterbodens und der aerogenen Belastung der Schlupfbrutluft herstellen und stellte die Bedeutung eines effektiven Reinigungs- und Desinfektionsprogrammes der Oberflächen des Schlupfbrüters heraus. Bestätigt wurde diese These durch Kim and Kim (2010). In dieser Arbeit wurde zudem die Abhängigkeit der mikrobiologischen Belastung von der Probenentnahmestelle und dem funktionellen Bereich der Brüterei hergestellt. Bereiche, welche Kontakt mit dem schlüpfenden oder geschlüpften Küken hatten, zeigten höhere Keimgehalte als vorgeschaltete Bereiche, auch in dieser Studie konnte ein Zusammenhang zwischen der Kontamination von Oberflächen- und aerogener Kontamination festgestellt werden. Hausleitner (2011) stellte die Bedeutung von in der Schlupfbrut verwendeten Schlupfbruthorden als mögliche Eintragsquellen mikrobiologischer Kontaminanten in den gereinigten und desinfizierten Schlupfbrüter heraus. Außerdem wurden nach der Bruteibegasung bis zum Bruttag 18 niedrige Keimgehalte auf der Eischalenoberfläche sowie den Vorbrut- und Umlageflächen festgestellt. Kim and Kim (2010) konnten jedoch einen deutlichen Anstieg der Gesamtkeimzahl im Verlauf des Schlupfes nachweisen, zudem wurde eine signifikante Reduktion der Gesamtkeimzahl durch die Verwendung einer Formaldehydbehandlung der Schlupfbrutluft gegenüber unbehandelten Schlupfbrütern gezeigt.

Furuta (1980) wies direkt nach einer Bruteibehandlung vor der Vorbrut keine Bakterien mehr auf Eischalenoberflächen von Bruteiern nach. Nach 20-21 tägiger Bebrütung wurden  $10^{1,1}$  -  $10^{1,4}$  KbE festgestellt. Während des Schlupfes wurde bei frisch geschlüpften Küken eine Belastung von  $10^4$ - $10^{8,4}$  KbE festgestellt. Im Schlupfbrüter platzierte Wasserschalen waren kontaminiert, wie auch Aerosolproben des Kükenstaubes.

In den frühen Phasen der kommerziellen Geflügelproduktion und damit der kommerziellen Brut wurde verstärkt ein Fokus auf Kükenstaub als Vektor für *Salmonella spp.* gelegt. Magwood (1962), Miura (1964) konnten in 158 von 300 Fällen aus dem Probenmaterial Kükenstaub *Salmonella spp.* isolieren. Des Weiteren wurde in der Studie vermerkt, dass *Salmonella spp.* aus einem Schlupfbrutgelege mit hoher *Salmonella spp.* Prävalenz bei Küken nicht aus Embryonen, jedoch aus Kükenstaub isoliert werden konnte. Zudem wurde versucht in Japan eine Übertragungskette zwischen Elterntierherde, Kükenstaub und Eintagsküken herzustellen, was in dieser Studie nicht gelang. Dies könnte an der mangelnden Sensitivität der verwendeten Untersuchungsmethode liegen. Sato (1971) und Magwood (1962) stellten einen wesentlichen Einfluss der Trockenheit des verwendeten Probenmaterials und dem verwendeten Transportmedium sowie der Lagerdauer des Probenmaterials auf die zu erwartenden Ergebnisse der mikrobiologischen Anzucht von Kükenstaub fest.

Cason (1994) inokulierte iatrogen 120 Bruteier vor der Einlage in die Vorbrut mit einem *Salmonella* Typhimurium-Laborstamm. Beim Transfer in die Schlupfbrut wurde eine *Salmonella* Typhimurium negative Kontrollgruppe mit 120 Eier in dem gleichen Schlupfbrüter platziert. Der Schlupf wurde durch die *Salmonella* Typhimurium Inokulation nicht negativ beeinträchtigt. Bei 25% der Embryonen der Versuchsgruppe konnte beim Transfer in die Schlupfbrut *S. Typhimurium* im Bereich der Chorioallantoismembran nachgewiesen werden. Bei 9 % der Embryonen ließ sich der Erreger im Dottersack, bei 8% im Darm nachweisen. Diese Ergebnisse lassen auf eine Kolonisierung der Chorioallantoismembran nach einer Penetration von Kutikula, Kalkschale sowie äußerer und innerer Schalenhaut schließen. Konsekutiv wurde ein Teil der Erreger systemisch in Dotter oder Darm des Embryos vermutlich über das Kreislaufsystem transportiert. Eine Untersuchung der geschlüpften Küken auf den inokulierten Erreger zeigte einen Nachweis bei 90% der Kontrollgruppe, ein Nachweis in der Schnabelhöhle der Küken fand bei 58% statt. Bei 55% der nicht inokulierten Küken der Kontrollgruppe ließ sich der Erreger nach dem Schlupf nachweisen. Ein Nachweis in der Schlupfbrutluft zeigte in 1/20 Proben einen qualitativen Nachweis von *Salmonella Typhimurium* an Bruttag 19. An Bruttag 20 konnte der Erreger in 20/20 Proben in der Schlupfbrutluft nachgewiesen werden, an Bruttag 21 in 19/ 20 Fällen. Die Wahrscheinlichkeit der aerogenen horizontalen Übertragung des Bakteriums während des Schlupfes ist aufgrund der dargestellten Ergebnisse als hoch einzuschätzen. Die Studie zeigt, dass ein Referenzstamm bei Inokulation von Bruteiern vor Einlage in die Vorbrut bis zum Schlupf in der

Prozesskette der Broilervermehrung nachvollzogen werden kann. Es ist zu vermuten, dass im Falle von *S. Typhimurium* der Erreger in 25% der inokulierten Embryonen die äußeren physikalischen Barrieren des Eis bis hin zur Chorioallantoismembran penetrieren könnte. Bailey, Cason et al. (1998) konnten bei einer Inokulationsrate von 3% in unter 7 Tage bebrüteten Eiern *Salmonella spp.* in 98% der geschlüpften Küken, nach einer Lebenszeit von einer Woche, eine intestinale Kolonisierung von *Salmonella spp.* nachweisen. Des Weiteren ist die Gefahr des horizontalen Transfers des Erregers während des Schlupfes auf Küken, welche mit dem Erreger bis zum Prozesspunkt der Umlage in die Schlupfbrut nicht in Berührung kamen, mit 44% als hoch einzustufen. Die Übertragung erfolgt vermutlich aerogen horizontal während des Schlupfes.

Im Falle von *E. coli* zeigte Montgomery, Boyle et al. (1999), dass eine iatrogene Inokulation von Bruteiern mit dem Erreger am 12. Bruttag zu einer niedrigeren Schlupfrate, erhöhter Mortalität sowie einem Nachweis des Erregers in Dottersack und oberem Respirationstrakt sowie der Lunge führt. Die iatrogen mit *E. Coli* inokulierten Bruteier wurden gemeinsam mit nicht inokulierten Bruteiern einer Kontrollgruppe in einem Schlupfbrüter platziert. Eine Kolonisierung des Respirationstraktes der Tiere der Versuchs- und Kontrollgruppe konnte bis zu 4 Tage nach dem Schlupf nachgewiesen werden.

Kim and Kim (2010) konnte einen Anstieg der Gesamtkeimzahl ab Bruttag 19 nachvollziehen.

### 2.3.3 Das Küken als Wirtsorganismus in der prä-, para-, und postnatalen Phase der Schlupfbrut

Mit dem Durchbruch der inneren Schalenhaut und dem Erreichen der Luftkammer des Bruteis erfolgt der Wechsel des Ortes des Gasaustausches von der Chorioallantoismembran hin zur Lunge (Anderson Brown 2018). Mit dem Durchbruch der äußeren Schalenhaut sowie der Kalkschale erfolgt die Exposition des Kükens gegenüber seiner Umwelt. Der Schlupf bedeutet den Verlust der physikalischen Barrieren des Bruteis für das Küken.

Des Weiteren erfolgt während des Schlupfes die Retraktion des Dottersackes in die Bauchhöhle des schlüpfenden Kükens und der Schluss der Bauchdecke (Anderson Brown 2018).

Als Eintrittsporten in das Küken ist die respiratorische Infektionsroute, sowie bei insuffizientem Nabelschluss, die omphalogene Infektionsroute als geschwächte dermale physikalische Barriere zu diskutieren. Auch eine Pathogenese über kloakale Aufnahme wird diskutiert.

#### 2.3.3.1 Mechanismen der Immunabwehr des Respirationstraktes

„Das respiratorische Immunsystem hat Strategien entwickelt um inhalierte Partikel zu entfernen und adäquat auf Mikroorganismen, welche erfolgreich die epitheliale Barriere passiert haben, zu antworten, um auf diese Weise seine Integrität und Funktionalität zu erhalten.“ (Härtle 2014).

Der Respirationstrakt des Kükens im Mikroklima Schlupfbrüter ist unter anderem folgenden Stressoren ausgesetzt, die da wären:

- Kükenstaub
- Mikroorganismen
- Biozide (falls verwendet)

Besonderheiten des Respirationssystemes des Huhnes sind aus physiologischer Sicht der unidirektionale Luftstrom in den Luftkapillaren der Parabronchien und der Luftaustausch nach dem Prinzip des Kreuzstromes, die Volumenkonstanz der Lungen und die Ventilationssteuerung über die Strukturen der Luftsäcke (Gros 2009). Als immunologische Besonderheiten im Vergleich mit dem Säugetier bezeichnet de Geus, Jansen et al. (2012) das Fehlen von drainierenden Lymphknoten sowie von Alveolen und Alveolarmakrophagen.

Eine Aufnahme in den Respirationstrakt kann konjunktival, nasal oder oral erfolgen (Reese, Dalamani et al. 2006). Zu berücksichtigen ist beim Küken bei der Exposition im Schlupfbrüter die Thermoregulation durch Evaporation in Form von Hechelatmung bei erhöhter Temperatur oder Enthalpie. Durch Passage von Mund- und Nasenhöhle tritt die Atemluft durch Glottis und Larynx in die Trachea ein (Schmidt-Nielsen, Hainsworth et al. 1970). Histologisch besteht das Epithel der Trachea aus einem mehrreihigen hochprismatischen Epithel, auf dessen

Oberflächen sich Kinozilien befinden. In das Epithel sind mucusproduzierende Becherzellen eingebettet. Endoepithelial sind alveoläre Drüsen aufzufinden. Daran angegliedert ist die *Lamina propria mucosa* mit Fibrozyten und lymphoretikulärem Gewebe (Mehner 1983, Liebich 2010).

Funktionell von Bedeutung in der Schlupfbrut ist bei Eindringen von Bioaerosolen in das Tracheallumen die Mucusproduktion durch die Becherzellen zum Schutz des Oberflächenepithels vor Attachment von potentiellen Erregern. Die Kinozilien dienen der Filtration und der Expektoration filtrierten Materials und damit der Verhütung des Eindringens von Bioaerosolen in tiefere Strukturen des Respirationstraktes, namentlich des Primärbronchus. Beim Übergang des Trachealepithels in den Primärbronchus verliert die Epithelstruktur an Becherzellen und Kinozilien (Mehner 1983).

Bei einer Überwindung der Clearance-Mechanismen der Trachea gelangt der Luftstrom über die bilateral angeordneten Primärbronchien in die caudalen Luftsäcke und darüber zu den Sekundärbronchien, welche über die Parabronchien zu den Luftkapillaren führen. Bei erfolgreicher Clearance führt die Expektoration zum Auswurf oder aber wie vermutlich beim Küken in den meisten Fällen zum Abschlucken des expektorierten Materials.

Küken besitzen weder Alveolen noch Alveolarmakrophagen. Klika, Scheuermann et al. (1996) beschreiben Makrophagenzentren in den Atrien der Parabronchien am Übergang zu ihrem Infundibulum und damit dem Übergang zur Luft-Blut Schranke. Somit könnten inhalede Pathogene vor dem Erreichen der Luft-Blut Schranke phagozytiert werden. Die Lokalisation von dendritischen Zellen und Makrophagen wird von de Geus, Jansen et al. (2012) in der Schleimhaut der Atemwege, im Interstitium der parabronchialen Wand und in den interatrialen Septen der Parabronchien festgemacht. Der Mechanismus der Antigenpräsentation durch Dendritische Zellen ist beim Huhn ungeklärt (de Geus, Jansen et al. 2012). Nach aktuellem Kenntnisstand könnte dieser Prozess als phagozytotische Clearance verstanden werden (Thomas 2013).

Hayter and Besch (1974) stellte eine signifikante Abhängigkeit der Deposition von Partikeln im Respirationstrakt von Hühnern im Alter von 6 Monaten von der Größe der deponierten Partikel fest. Der relative Anteil der Deposition hing von der Größe der untersuchten Partikel ab. Es wurde jedoch auch im Fall der größten verwendeten Partikelgröße (3,7 µm-7µm) eine Deposition von 8,4% der über den Respirationstrakt eingebrachten Partikel im caudalen abdominalen Bereich der untersuchten Tiere und damit eine Überwindung der Luft-Blut Schranke in den Parabronchien nachgewiesen. Corbanie, Matthijs et al. (2006) stellen ebenfalls eine Abhängigkeit der Deposition von Aerosolpartikel in vernebelter Form von ihrer Größe dar. In dieser Studie wurden Eintagsküken miteinbezogen. Zudem stellt Thomas (2013) fest, das Potential eine Krankheit auszulösen, würde von dem Tropismus des deponierten Partikels für das jeweilige Gewebe, dem Clearance Vermögen des Gewebes, sowie der

Immunantwort des Wirtes beeinflusst. Der Autor stellte zudem fest, dass die für einen lethalen Effekt nötige Infektionsdosis im Bereich des oberen Respirationstraktes höher als beim unteren Respirationstrakt sein müsse und stellte einen Zusammenhang zwischen einer Infektion des oberen Respirationstraktes und einer Septikämie im Tiermodell fest, wobei ausschließlich Literatur betreffend Meerschweinchen und Mäuse zitiert und diskutiert wurden. Thomas (2013) beschreibt folgende physikalische Mechanismen der Deposition abhängig von der Partikelgröße:

- Impaktion durch Trägheit ( $>8\mu\text{m}$ )
- Brown'sche Diffusion ( $<1-3\mu\text{m}$ )
- Sedimentation durch Gravitation
- Elektrostatische Effekte

Schlussfolgernd besteht in der Schlupfbrut das Risiko der aerogenen horizontalen Übertragung von Pathogenen und die Kolonisierung des Respirationstraktes. Kükenstaub kann im Rahmen dieser Pathogenese als Aerosol fungieren und abhängig von seiner Beschaffenheit Einfluss auf die Deposition im Respirationstrakt des Kükens bis hin zum Eindringen in das Herz-Kreislaufsystem des Kükens und damit auf das Eindringen in den Blutkreislauf haben. Aerogen vorhandene Mikroorganismen können somit mit dem Kükenstaub ein Bioaerosol bilden und abhängig von ihrer Beschaffenheit, Virulenzfaktoren, Tropismus und weiteren Faktoren großen Einfluss auf die Kükengesundheit nehmen. Die Immunkompetenz des Respirationstraktes des Kükens stellt auf der Wirtsseite einen wesentlichen Gegenpol zu dem entstehenden Bioaerosol auf der Seite des Pathogens dar.

#### 2.3.3.2 Nabelschluss und Immunabwehr der dermalen Barrieren

Im Zuge des Schlupfvorganges wird der Dottersack in die Abdominalhöhle des Kükens retrahiert (Anderson Brown 2018). Als Gründe für eine unzureichende Abnabelung der Küken werden ein zu geringer Gewichtsverlust des Embryos im Brutei (de Lange 2010) sowie erhöhte Temperaturen in der Schlupfbrut (de Lange 2010) als auch endokrinologische Einflüsse diskutiert. Ein unzureichender Schluss des Nabels und die daraus resultierende *Hernia umbilicalis* stellt eine Prädisposition des Kükens für eine Omphalitis dar. Abwehrmechanismen der dermalen Barriere sind deutlich geschwächt und die anatomische Nähe zum Dottersack des Kükens bildet zudem ein Risiko für eine konsekutive Infektion dieser Struktur infolge einer Omphalitis. Eine Kolonisation dieser Prädispositionsstelle durch pathogene Mikroorganismen, welche Kükenstaub als Transportvehikel während der Schlupfbrut nutzen, ist möglich. Als weitere Risiken der Kontamination eines offenen Nabels von Küken sind sämtliche Oberflächen, mit welchen jene Struktur bis zur Fibrosierung in Berührung kommt, zu sehen. So diskutierte beispielsweise Hausleitner (2011) bei erhöhten Reklamationsfrequenzen einer

Masthähnchenbrüterei kontaminierte Schlupfbruthorden als mögliche Ursachen einer Erkrankung der ausgelieferten Masthühnerküken.

Während einer 41-tägigen Mastdauer zeigten Tiere mit schlecht geschlossenen Nabeln erhöhte Mortalität sowie geringere Schlachtgewichte im Vergleich zu physiologisch abgenabelten Tieren (Fasenko and O'Dea 2008). Schlecht abgenabelte Küken wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Sowohl Tiere mit einer bis zu 3 mm im Durchmesser großen Verkrustung um den Nabel als auch Tiere mit feuchten oder farbveränderten Daunenfedern in der Umbilicalregion zeigten sich hinsichtlich diesen Parametern gegenüber der Kontrollgruppe ohne Auffälligkeiten im Umbilicalbereich benachteiligt.

#### 2.3.3.3 Aufnahme von Mikroorganismen über die Kloake

van der Sluis, Dwars et al. (2009) stellt die kloakale Aufnahme einer mit Beads gekennzeichneten Polystyren Lösung bei Hühnern dar und konnte das Vorkommen des Markers in Ileum, Caecum, Rectum und *Bursa faribicii* nachweisen. Ein Zusammenhang zwischen dieser Pathogenese und einer horizontalen Übertragung von *E. faecalis* während des Schlupfes wurde anhand einer Untersuchung bei Legehennen in den Raum gestellt (Fertner, Olsen et al. 2011). In dieser Studie wurde das Vorkommen von *E. faecalis* durch Kloakenabstriche bestätigt, sowie eine Steigerung der Prävalenz von 14% (Stunde 0 nach Schlupf) auf 97% (Stunde 24 nach Schlupf) innerhalb eines Schlupfbrüters nachgewiesen. Ätiologisch wurde sowohl die orale Aufnahme von vertikal übertragenen Stämmen von *E. faecalis* als auch „cloacal drinking“ diskutiert.

## 2.5 Biozideinbringung in den Schlupfbrüter während des Schlupfes

Kim and Kim (2010) konnten eine Reduzierung der Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut von Broilerküken bei Verwendung einer Applikation von Formaldehyd über die gesamte Schlupfbrutphase hinweg zeigen. Auch Sander, Wilson et al. (1995) stellten eine Keimreduktion bei Einbringung von Formaldehyd in der Schlupfbrutphase fest. Zudem konnten die Autoren eine niedrigere kumulierte Verlustrate bei zwei Wochen alten Broilern feststellen, welche in der Schlupfbrutphase eine Begasung mit Formaldehyd erfuhren.

Negativ wirkt sich die Formaldehydanwendung in der Schlupfbrut auf die Beschaffenheit der Kinozilien des respiratorischen Epithels der Küken aus. Sie kann zu Zilienverlust und Ciliostase führen (Sander and Steffens 1997). Zudem wurden negative Effekte der Formaldehydbehandlung auf die Entwicklung des Körpergewichts von Küken dargestellt (Johnson 2018).

Aufgrund des teratogenen und kanzerogenen Effektes von Formaldehyd (Humans 2006) bestehen in Deutschland hohe Anforderungen an den Arbeitsschutz (Gefahrstoffe 2013) bei der Anwendung von Formaldehyd in einer Brüterei. Die Anforderungen der TRGS 522 sind aus technischen Gründen nicht in den praktischen Schlupfbrutablauf zu implementieren.

Alternativen zu chemischen Agentien zur Verhütung der horizontalen aerogenen Erregerübertragung werden derzeit gesucht. Mitchell and Waltman (2003) versuchten über die Bindung des Kükenstaubs durch Elektrostatik die Exposition der Küken während des Schlupfes gegenüber mikrobiologischen Aerosolen zu verringern. Die physikalische Methode konnte zu einer deutlichen Reduktion von Enterobacteriaceae, sowie im Speziellen *Salmonella spp.* gegenüber einer Kontrollgruppe ohne Biozideinsatz, sowie einer Kontrollgruppe mit Wasserstoffperoxid-Einbringung in die Schlupfbrut führen. Die Methode konnte einen ähnlichen Effekt wie eine Einbringung von Formaldehyd in der Schlupfbrut erzielen. Die Untersuchungen zeigen deutlich, dass das aerogene Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut während des Schlupfes durch die Bindung von Staub als Vehikel vermindert werden kann.

Trotz ihrer Effektivität stehen der Anwendung von Formaldehyd in der Schlupfbrut deutliche Nachteile gegenüber, namentlich der arbeitsrechtliche Kontext sowie der tierschutzrechtliche Kontext mit der Schädigung der Integrität des Respirationstraktes des Kükens, was ihre Verwendung in der Schlupfbrut in Deutschland nahezu unmöglich macht. Die Notwendigkeit der Reduktion von Kükenstaub und darin enthaltener Pathogene während der Schlupfbrut ist jedoch weiterhin aus den genannten Gründen gegeben. Die Evaluierung der Anwendung von Alternativen zu Formaldehyd ist demnach für Brütereien notwendig.

### 3 MATERIAL UND METHODEN

#### 3.1 Ermittlung der mikrobiologischen Aerosolbelastung während der Schlupfbrutphase

##### 3.1.1 Struktur der Produktionskette im Rahmen der Probenentnahme

Die Brut und der Schlupf der Tiere fand in einer kommerziellen Mastkükenbrüterei in Deutschland statt. Diese ist in das System einer Integration eingebunden. Das bedeutet: Bruteiproduktion, Brüterei, Aufzucht der Broiler, Schlachtung der Tiere und Vermarktung des Fleisches finden innerhalb einer Dachorganisation statt.

Die Elterntiere wurden von der Dachorganisation als Eintagsküken direkt vom Zuchtunternehmen („Aviagen EPI“) bezogen und anschließend bis zur 20. Lebenswoche in einer eigenen Junghennenaufzucht aufgezogen. In der 20. Lebenswoche wurden die Tiere in einen Produktionsstall umgestallt. Planmäßiger Legebeginn der Elterntiere, d.h. Verwendung der gelegten Eier als Bruteier, erfolgte in der 25. Lebenswoche. Die Tiere wurden in der 63. beziehungsweise 64. Lebenswoche ausgestallt und geschlachtet. Das Aufzucht- und Impfprogramm ist standardisiert.

Die Produktionsphase der Elterntiere beginnt mit in der 25. Lebenswoche, diese wird zugleich als Produktionswoche 0 bezeichnet. Die Bezeichnung der Produktionswochen folgt daraufhin aufsteigend im Wochenabstand.

Die Bruteier wurden auf der Elterntierfarm in Automatennestern gelegt und auf Nestbändern automatisiert zum Sammeltisch transportiert, nach definierten Qualitätskriterien händisch sortiert und auf Vorbruthorden aus Plastik per Hand aufgelegt. Anschließend wurden die Horden auf Farmwagen platziert. Zwischen Sammlung der Eier und Abholung durch die Brüterei wurden diese in einem separaten Eierlager bei maximal 20 °C auf der Elterntierfarm gelagert.

Die Abholung der Bruteier erfolgte täglich per Lastkraftwagen. Der Transportbereich der Bruteier wurde im Zielbereich 18 °C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) klimatisiert.

Nach Anlieferung der Bruteier in der Brüterei wurden die Eier unmittelbar mit Formaldehyd nach TRGS 522 begast, anschließend automatisiert von den Farmtransportwagen auf hygienisierte Vorbrutwagen maschinell transferiert und nach Erfassung der Wagengewichte pro Vorbrutwagen in einem klimatisierten Eierlager der Brüterei bei 18°C bis zur Einlage in die Vorbrut gelagert.

Die Vorbrut erfolgte in kommerziellen Single-Stage Vorbrütern der Marke Chickmaster je nach logistischen Anforderungen der Einlageplanung über 17-18 Tage. Es wurden zwei Modelle für die Vorbrut verwendet:

Zum einen das Vorbrutsystem „Avida Setter A18-126 (18 High)“ des Unternehmens Chickmaster mit einer Kapazität von 81.648 Bruteiern, dies entspricht 36 Vorbrutwägen je 4.536 Eier. Zum anderen der Chickmaster „Avida Setter A6-126 (18 High)“ mit einer Kapazität von 27.216 Bruteiern, dies entspricht 6 Wägen, je 4.536 Eier. Auf einem Vorbrutwagen werden jeweils 2 Reihen von je 18 Vorbruthorden mit einer Kapazität von je 126 Bruteiern positioniert. Das Vorbrutprogramm wurde auf das Produktionsalter der Elterntierherde angepasst.

Zielwerte für den Ei-Gewichtsverlust nach Vorbrut lagen bei 11%-12%. Der Transfer der Bruteier auf die Schlupfbruthorden erfolgte automatisiert.

Die Schlupfbrut erfolgte in Schlupfbrütern des Modells „Zephyr Hatcher C216-126 (18 High)“ von Chickmaster mit einer Kapazität von 27.216 Bruteiern. Zielwert der Schlupfbrut war ein Schlupffenster von 10% geschlüpften Küken 24 Stunden vor Abnahme der Küken. Ein Schlupfbrüter wurde ausschließlich mit Bruteiern einer Elterntierherde belegt.

### 3.1.2 Methodik der Probenentnahme

Die Ermittlung der Luftkeimbelastung während der Schlupfbrutphase von Masthuhnküken erfolgte via Probenentnahme an der Austrittsöffnung des untersuchten Schlupfbrüters mit einem SAS Sampler (Lighthouse Active Count 90). Durch Impaktion treffen Bioaerosole auf eingespannte Nährmedien im Luftkeimsammler.



Abbildung 1. Probenentnahme an der Austrittsöffnung des Schlupfbrüters

Die Probennahme zur Bestimmung des mikrobiologischen Aerosols erfolgte von Brutttag 18, 08:00 Uhr bis Tag 21, 06:00 Uhr (Kükenabahme) im 4-Stunden Rhythmus. Zusätzlich wurde die Abluft des Schlupfbrüters unmittelbar nach Umlage der Bruteier untersucht. Die Untersuchung der Aerosolbelastung zum Zeitpunkt der Umlage (Transfer) erfolgte an zwei definierten Zeitpunkten.

Das Zielvolumen der Probenentnahme wurde auf 50 l Luft aufgrund der Auswertung von Vorversuchen definiert.

Das Zielvolumen wurde an der Austrittsöffnung der Abluft des Schlupfbrüters entnommen. Grund der Verwendung eines Luftkeimsammlers mit definierter Luftmenge war der Anspruch, eine Messmethode zu verwenden, welche in der Lage ist, mit hoher Validität und Reliabilität, eine definierte Luftmenge einzusaugen und Bioaerosole durch Impaktion auf den verwendeten Nährböden einzufangen. So wird die Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Probennahmen gewährleistet.

Oberflächen des Luftkeimsammlers wurden vor jedem Einspannvorgang einer Agarplatte mit Ethanol desinfiziert.

Verwendet wurden ausschließlich Nährmedien des Unternehmens Oxoid.

<b>Nährmedium (Agar)</b>	<b>Verwendungszweck</b>
Plate-Count (PC)	Gesamtkeimzahl
Mac Conkey 3 (MAC3)	Selektivnährmedium für Enterobakterien
Bile-Aesculin-Acid (BAA)	Selektivnährmedium Enterokokken
Dichloran Glycerol-18 (DG-18)	Selektivnährmedium Schimmelpilze

Tabelle 1. Verwendete Nährböden zur Beprobung der mikrobiologischen Aerosolbelastung während der Schlupfbrut

Unmittelbar nach Probennahme wurden die Agarplatten bei 37°C 24 Stunden aerob bebrütet und anschließend manuell ausgezählt.

### 3.2 Einfluss der Schlupfbrutphase auf das Vorkommen von mikrobiologischen Aerosolen während der Schlupfbrut

Der Stichprobenumfang betrug insgesamt 15 Schlupfbrüter je Herde und Schlupfbrut. Es wurden 2 Herden untersucht. Somit wurden 30 Schlupfbrüter und damit 30 Schlüpfen untersucht.

Folgendes Probennahmeschema wurde standardisiert bei jeder Stichprobe verwendet:

	Brutttag 19				Brutttag 20						Brutttag 21		
<b>Uhr</b> - <b>zeit</b>	08:00	12:00	16:00	20:00	00:00	04:00	08:00	12:00	16:00	20:00	00:00	04:00	06:00

Tabelle 2. Zeitliches Beprobungsschema der Schlupfbrutphase

Das Schema ermöglicht eine Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Entwicklung von bakteriellen Mikroorganismen der Schlupfbrut in Abhängigkeit zur Bebrütungsdauer. Außerdem ist ein longitudinaler Vergleich der einzelnen Beprobungszeitpunkte in Abhängigkeit zum Alter der Elterntierherde möglich.

Die Darstellung des Einflusses der unabhängigen Variable Beprobungszeitpunkt auf die abhängige Variable Kolonie-bildende Einheit (PC/ MAC3/ BAA) erfolgt durch Boxplot-Diagramme. Die Darstellung in einem kartesischen Koordinatensystem erfolgt durch die Darstellung der Anzahl koloniebildender Einheiten auf der Ordinate. Der Beprobungszeitpunkt wird auf der Abszisse gezeigt.

Für die statistische Analyse wurden die Beprobungszeitpunkte in 3 Schlupfbrutphasen gruppiert (s. Abbildung 3).

- Schlupfbrutphase 1: T\_1530 bis 20\_0400 (n=240 pro Nährboden)
- Schlupfbrutphase 2: 20\_0800 bis 20\_2000 (n=120 pro Nährboden)
- Schlupfbrutphase 3: 21\_0000 bis 21\_0600 (n= 90 pro Nährboden)

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM® SPSS Statistics® Version 25. Die Normalverteilung der Daten wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov Tests geprüft. Bei Normalverteilung der Daten wurde ein Student's t-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

Bei Verletzung der Normalverteilungsannahme wurde die Homogenität zwischen Gruppen mithilfe des Mann-Whitney-U Tests geprüft. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

### 3.3 Einfluss der Produktionsphase der Elterntierherde auf die Entwicklung von Mikroorganismen während der Schlupfbrut

Der Einfluss des Produktionsalters der Elterntierherden auf die mikrobiologische Beschaffenheit der Schlupfbrutluft zum Zeitpunkt der Kükenabnahme wurde untersucht. Hierfür werden die nach 3.2 erhobenen Variablen „Koloniebildende Einheiten“ der verschiedenen Nährböden zum Zeitpunkt der Kükenabnahme (Brutttag 21, 06:00 Uhr) in Abhängigkeit des Produktionsalters in 3 Produktionsphasen gruppiert. Jede Produktionsphase entspricht einer statistischen Faktorstufe.

- Produktionsphase 1: Produktionswoche 0-11
- Produktionsphase 2: Produktionswoche 12-23
- Produktionsphase 3: Produktionswoche 24-35

Es wurden ausschließlich Schlupfbrüter ohne Biozideinbringung untersucht (n=30) um die Biozideinbringung als Einflussfaktor auszuschließen.

Der kombinierte Einfluss von Produktionsphase der Elterntierherde sowie der Schlupfbrutphase innerhalb der Schlupfbrut auf die Zielvariable Anzahl Kolonie-bildender Einheiten jeweils auf Plate-Count, Mac Conkey 3 sowie BAA-Nährböden wurde untersucht und zusätzlich durch ein Liniendiagramm unter Angabe des Standardfehlers der Mittelwerte dargestellt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM® SPSS Statistics® Version 25. Die Normalverteilung der Daten wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov Tests geprüft. Bei Normalverteilung der Daten wurde ein Student's *t*-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

Bei Verletzung der Normalverteilungsannahme wurde die Homogenität zwischen Gruppen mithilfe des Mann-Whitney-U Tests geprüft. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

### 3.4 Einfluss der Einbringung eines Biozids in die Schlupfbrut auf die mikrobiologische Aerosolbelastung während der Schlupfbrut

Zeitgleich zum Versuchsaufbau 3.2 erfolgte die Evaluierung der Luftkeimbehandlung der Schlupfbrutluft mit einem Biozid. Es wurden 29 Schlüpfе zweier Elterntierherden untersucht (14 Schlüpfе Herde 416; 15 Schlüpfе Herde 417), welche im Folgenden als Versuchsgruppe bezeichnet werden. Die nach 3.2 untersuchten Schlupfbrüter ohne Biozideinbringung dienten als Kontrollgruppe für die mit einem Biozid behandelten Schlupfbrüter und werden im Folgenden als solche bezeichnet.

Bestandteil	Anteil
Wasserstoffperoxid	1-5%
Peressigsäure	50-300 ppm
Ethanol	1-5%
Isopropylalkohol	1-5%
Essigsäure	<0,1%
Schwefelsäure	<0,5%

Tabelle 3. Biologisch aktive Bestandteile des eingebrachten Biozids

So wurde jeweils der Kontrollgruppe die identische Elterntierherde mit identischen Legedaten gegenübergestellt. ( $n_{\text{Kontrollgruppe}} = 30$  Schlupfbrutphasen;  $n_{\text{Versuchsgruppe}} = 29$  Schlupfbrutphasen) Bei dem verwendeten Biozid handelt es sich um Flächendesinfektionsmittel mit den Bestandteilen Peressigsäure und Wasserstoffperoxid (Tabelle 3).

Die Ausbringung erfolgt in 3 Phasen über eine dem Umluftventilator platzierte Düse. Die kumulative Distribution der Tröpfchengröße der verwendeten Düse wird im Folgenden aufgezeigt:

Verteilung	Tröpfchengröße
X10	1,7 µm
X16	2,55 µm
X50	8,03 µm
X84	17,46µm
X90	21,07µm
X99	41,87µm

Tabelle 4. Verteilung und Tröpfchengröße der zur Einbringung des Biozids verwendeten Düse

Die Gewinnung und Verarbeitung der Luftkeimproben erfolgte nach dem Schema gemäß 3.1. und nach dem Beprobungsschema gemäß 3.2.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM® SPSS Statistics® Version 25. Die Normalverteilung der Daten wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov Tests geprüft. Bei Normalverteilung der Daten wurde ein Student's *t*-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

Bei Verletzung der Normalverteilungsannahme wurde die Homogenität zwischen Gruppen mithilfe des Mann-Whitney-U Tests geprüft. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

### 3.5 Einfluss der Einbringung eines Biozids während der Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Masthuhnküken an Masttag 7

Die untersuchten Küken wurden in betriebseigenen Mastfarmen der in 3.1 besagten Mastkükenbrüterei eingestallt. In der Integration der Mastkükenbrüterei sind regional 13 eigene Mastfarmen nahezu identischen Aufbaus eingebunden. Diese Mastfarmen werden nach einem einheitlichen Produktionssystem bewirtschaftet. Aufzucht- und Impfprogramme werden standardisiert umgesetzt und vertikal von einer Produktionsleitung überwacht.

Für die Gewährleistung der Rückverfolgbarkeit wurden die Küken separat aus der Schlupfbrut abgenommen und in Kisten zu je 100 Küken auf Transportwagen platziert. Die Transportwagen wurden definierten Stallabteilen zugeordnet. Der Transport der Küken erfolgte mit einem kommerziellen klimatisierten Kükentransportlastkraftwagen nach den Vorgaben der Tierschutztransportverordnung. Die Zieltemperatur des Kükentransportes lag bei 26°C. Bei Ankunft in der Mastfarm überwachten die Betriebsleiter der Mastfarmen die Einstellung und die Zuordnung der gekennzeichneten Transportkisten in die jeweiligen Stallabteile. Die Küken wurden manuell aus den Transportkisten entladen.

Die Stallabteile wurden jeweils getrennt mit Küken aus 3.2 beziehungsweise 3.3 untersuchten Schlupfbrütern belegt.

Die 7-Tages Mortalität bezeichnet die relative Verlustrate nach 7 Masttagen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM® SPSS Statistics® Version 25. Die Normalverteilung der Daten wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov Tests geprüft. Bei Normalverteilung der Daten wurde ein Student's *t*-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

Bei Verletzung der Normalverteilungsannahme wurde die Homogenität zwischen Gruppen mithilfe des Mann-Whitney-U Tests geprüft. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

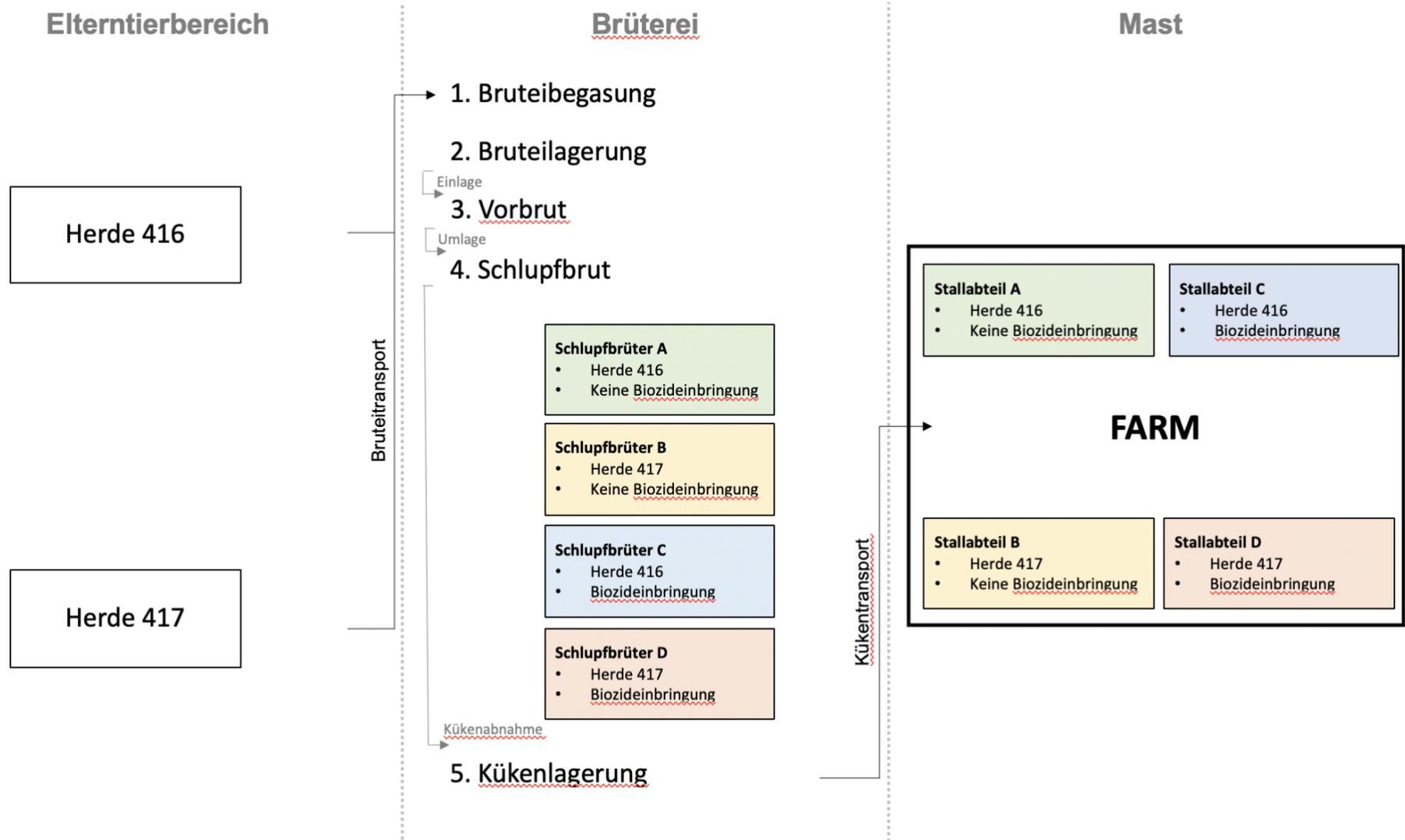


Abbildung 2. Prozessablauf Kükenvermehrung

### 3.6 Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung während der Schlupfbrut auf die relative Verlustrate der Masthuhnküken an Masttag 7

Der Versuchsaufbau gemäß 3.1 bis 3.4 wird angewandt.

Zur Darstellung des Einflusses der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die relative Mortalität der Masthühnerküken an Masttag 7 wurde die mikrobiologische Belastung der Schlupfbrut zum Zeitpunkt der Kükenabnahme mit der relativen kumulierten Mortalität von Küken aus dem entsprechenden Schlupfbrüter korreliert. Es wurde sowohl der Einfluss der Gesamtkeimzahl, als auch der Einfluss von Enterobacteriaceae und Enterokokken separat bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM® SPSS Statistics® Version 25. Eine lineare Regressionsanalyse wurde durchgeführt.  $R^2$  wurde als Bestimmtheitsmaß festgelegt. Der Stichprobenumfang umfasste die Untersuchung der mikrobiologischen Belastung von 57 Schlupfbrutphasen und der zugehörigen 7 Tages Mortalität hinsichtlich Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae und Enterokokken. Die Aussagekraft des Modells wurde mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse geprüft. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Einfluss der Schlupfbrutphase auf das Vorkommen mikrobiologischer Aerosole während der Schlupfbrut

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen der Schlupfbrutluft ohne Biozideinbringung während der Schlupfbrut dargestellt.

Tabelle 5 umfasst die zugehörige deskriptive Statistik und findet sich im Anhang. Eine Aufschlüsselung nach Elterntierherden findet nicht statt. Die Verlaufsübersichten in 4.1 schließen die Produktionswochen 0-35 beider untersuchten Mastelertierherden ein. Unterteilungen in der Produktionsphase der Mastelertierherden finden in 4.2 statt und werden dort separat gekennzeichnet.

Die Darstellung erfolgt in einem kartesischen Koordinatensystem mithilfe von Boxplot-Diagrammen.

#### 4.1.1 Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut

Die Verlaufsuntersuchungen der Entwicklung der Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut bilden 15 Probennahmezeitpunkte während der gesamten Schlupfbrut ab (Abbildung 3).

Ein Nachweis von Mikroorganismen in der Schlupfbrut fand in den vorliegenden Untersuchungen im Bereich von zwischen 1 bis 516 Koloniebildende Einheiten (KbE) pro 50 l Schlupfbrutluft statt (Tabelle 5).

Zu Beginn der Schlupfbrut lassen sich wenige Mikroorganismen zum Zeitpunkt des Transfers (=Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut) nachweisen. Ein deutlicher Anstieg des Nachweises von Bakterien lässt sich ca. 24 Stunden vor Kükenabnahme fortschreitend bis hin zur Kükenabnahme beobachten (Abbildung 3). Mit voranschreitender Dauer der Schlupfbrutphase zeigt sich ein Anstieg von Maximalwert, Interquartilabstand und Median der Gesamtkeimzahl (Tabelle 5). Die statistischen Ausreißer ab Bruttag 20 (Abbildung 3) lassen sich auf die Produktionswochen 27-35 der Elterntierherden zurückführen.

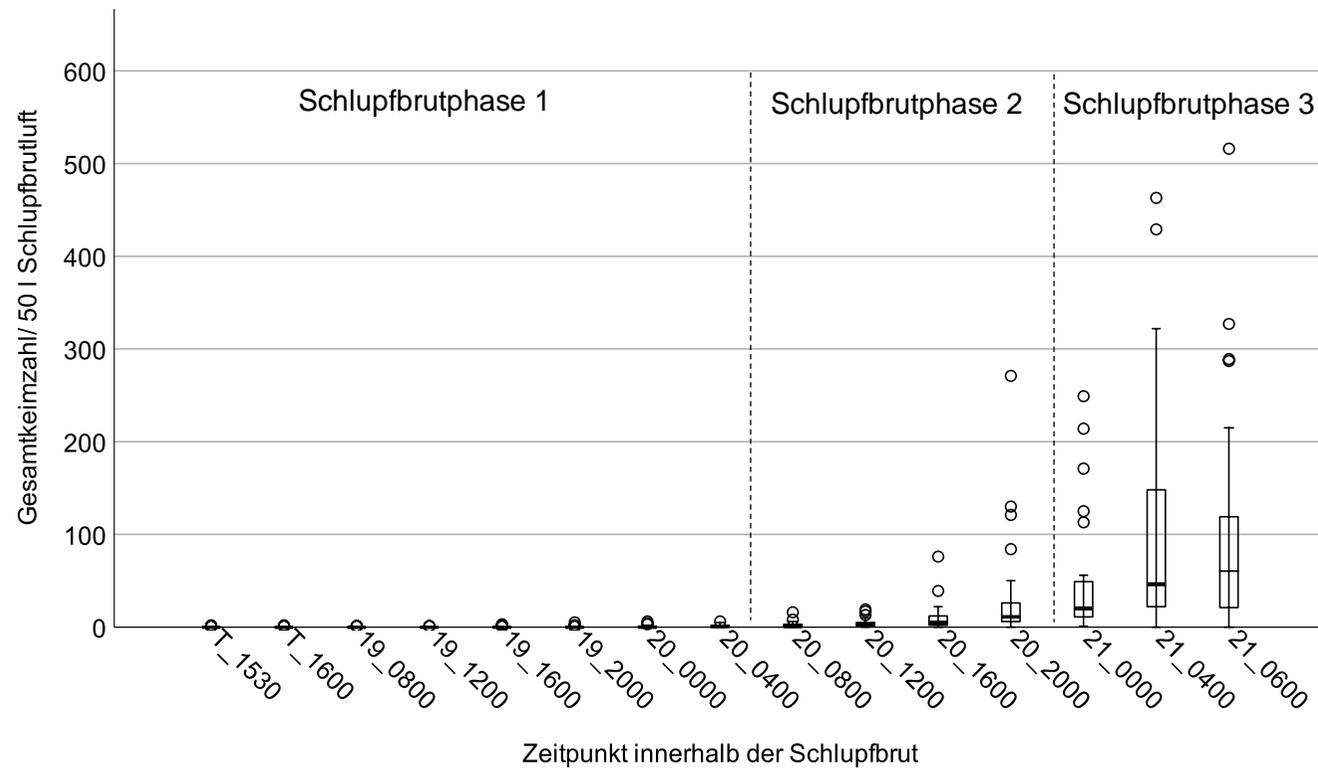


Abbildung 3. KbE der Gesamtkeimzahl in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut.

(n=30 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35) Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Bruttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Bruttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer. Durch Strichlinien wird die Schlupfbrut in 3 Phasen unterteilt.

Zur Veranschaulichung des Effektes des Zeitpunktes innerhalb der Schlupfbrut auf KbE Gesamtkeimzahl wird die Schlupfbrut in 3 Phasen unterteilt:

- Schlupfbrutphase 1: T\_1530 bis 20\_0400 (n=240 pro Nährboden)
- Schlupfbrutphase 2: 20\_0800 bis 20\_2000 (n=120 pro Nährboden)
- Schlupfbrutphase 3: 21\_0000 bis 21\_0600 (n= 90 pro Nährboden)

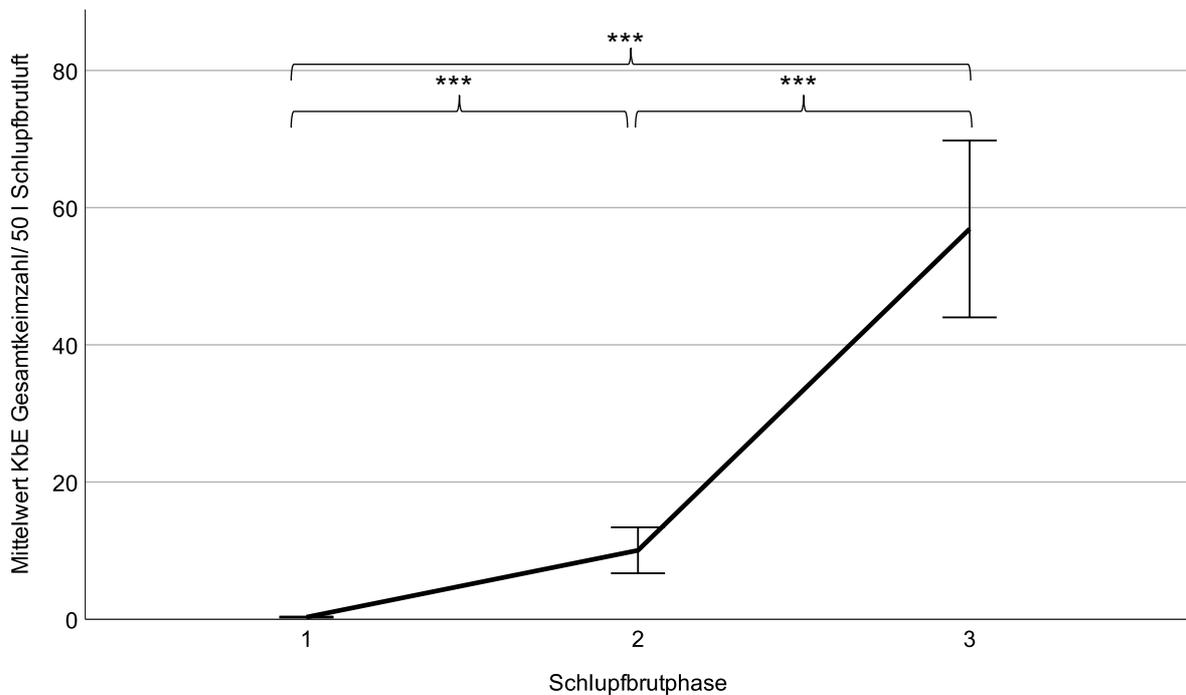


Abbildung 4. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,001$ )

Die unabhängige Variable Schlupfbrutphase beeinflusst die abhängige Variable KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft signifikant (Abbildung 4). Ein Anstieg der Mittelwerte ist von Schlupfbrutphase zu Schlupfbrutphase erkennbar (Tabelle 6; Abbildung 4).

Ein signifikanter Anstieg der Gesamtkeimzahl steht somit in zeitlicher Abhängigkeit zu voranschreitenden Phasen während der Schlupfbrut. Der Höhepunkt dieses Anstieges zeigt sich in der Endphase der Schlupfbrut.

#### 4.1.2 Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut

Ein Nachweis von Enterobacteriaceae fand in der Schlupfbrutphase im Bereich von 1-40 KbE pro 50 l Schlupfbrutluft statt (Abbildung 5; Tabelle 5). Analog zur Gesamtkeimzahl in Abbildung 3 findet ein qualitativer Nachweis von Kolonie-bildenden Einheiten ab Brutttag 19, 20:00 Uhr statt.

Ein stetiger Anstieg der Parameter, Maximalwert Median und Mittelwert findet mit zunehmender Dauer der Schlupfbrutphase statt. Interquartilabstand sowie Variationsbreite nimmt ebenfalls mit zunehmender Dauer der Schlupfbrutphase zu (Tabelle 5).

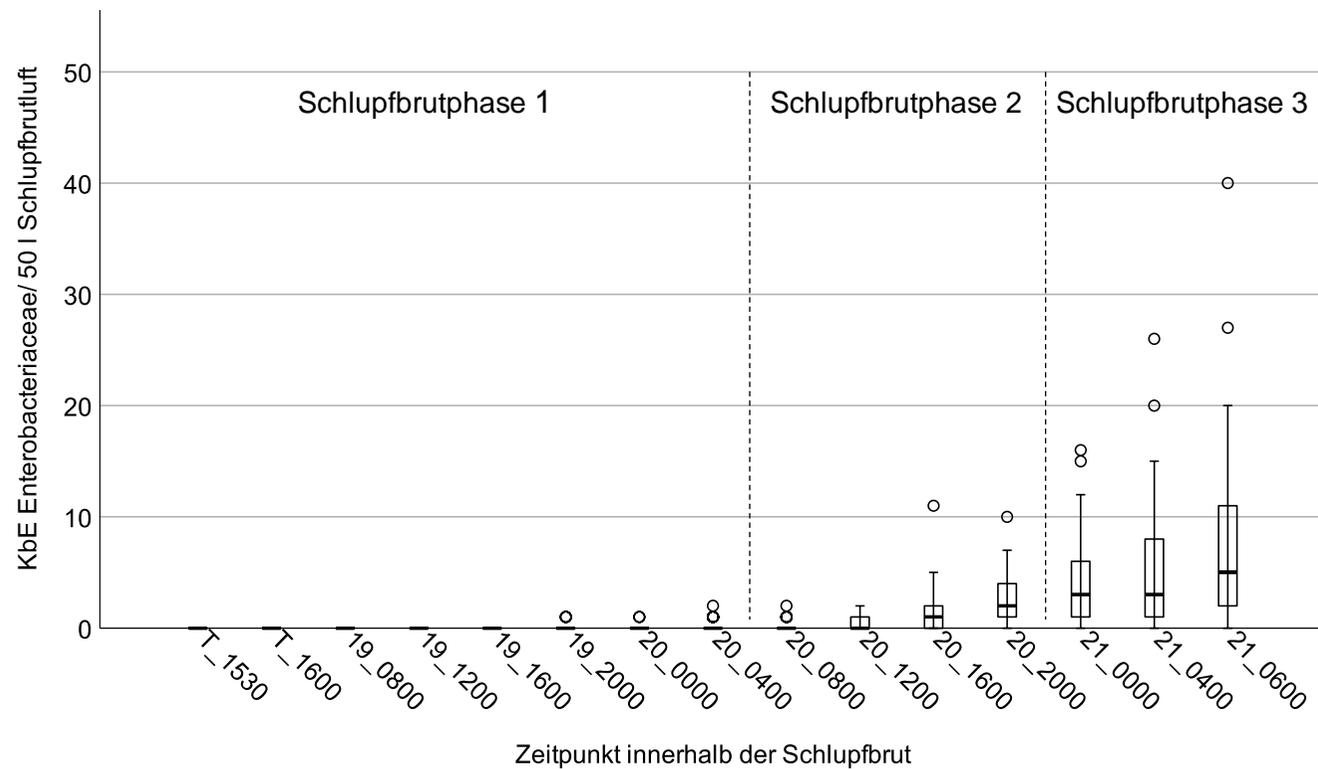


Abbildung 5. KbE der Enterobacteriaceae in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut.

(n=30 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35) Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Bruttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Bruttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer. Durch Strichlinien wird die Schlupfbrut in 3 Phasen unterteilt.

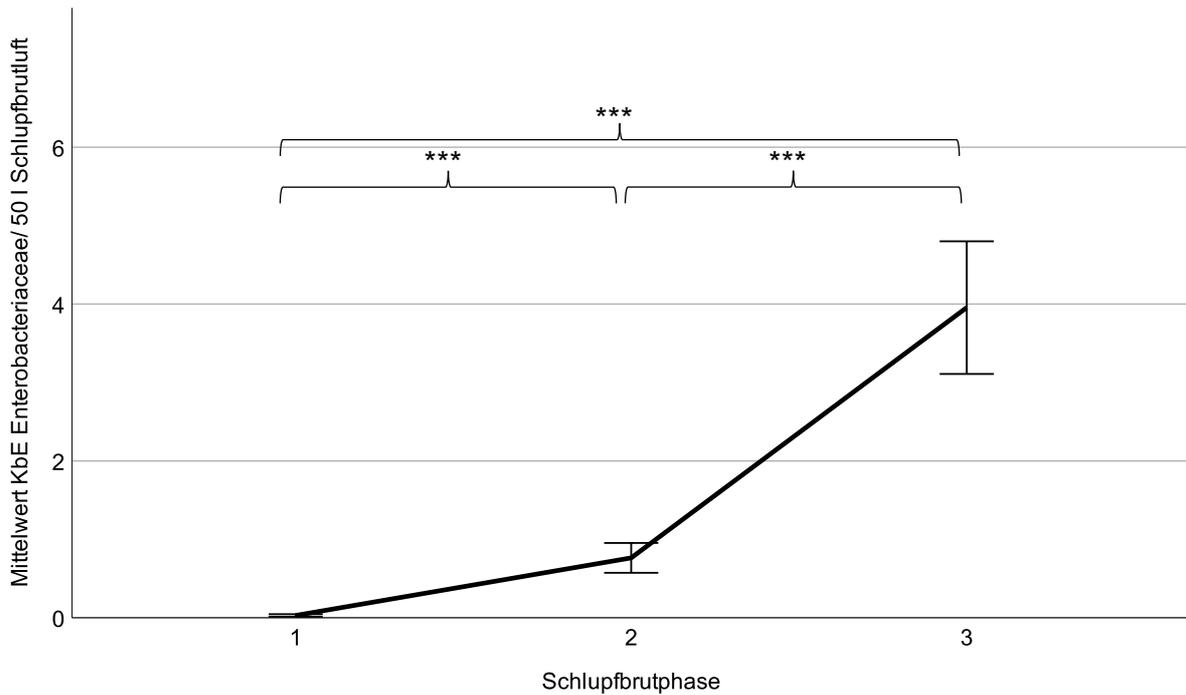


Abbildung 6. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,001$ )

Die Schlupfbrutphase besitzt einen signifikanten Einfluss auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft (Abbildung 6). Der Mittelwert Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft steigt von Schlupfbrutphase zu Schlupfbrutphase an (Tabelle 6).

#### 4.1.3 Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut

Ein Nachweis von Enterokokken fand in der Schlupfbrutphase im Bereich 1-241 Kolonie-bildende Einheiten pro 50 l Schlupfbrutluft statt (Abbildung 7). Analog zu Abbildung 3 findet ein Nachweis der Kolonie-bildenden Einheiten ab Bruttage 20, 04:00 Uhr statt. Ein stetiger Anstieg der Parameter, Maximalwert Median und Mittelwert findet daraufhin mit zunehmender Dauer der Schlupfbrutphase statt (Tabelle 5). Interquartilabstand sowie Variationsbreite nimmt ebenfalls mit zunehmender Dauer der Schlupfbrutphase (Tabelle 5) zu.

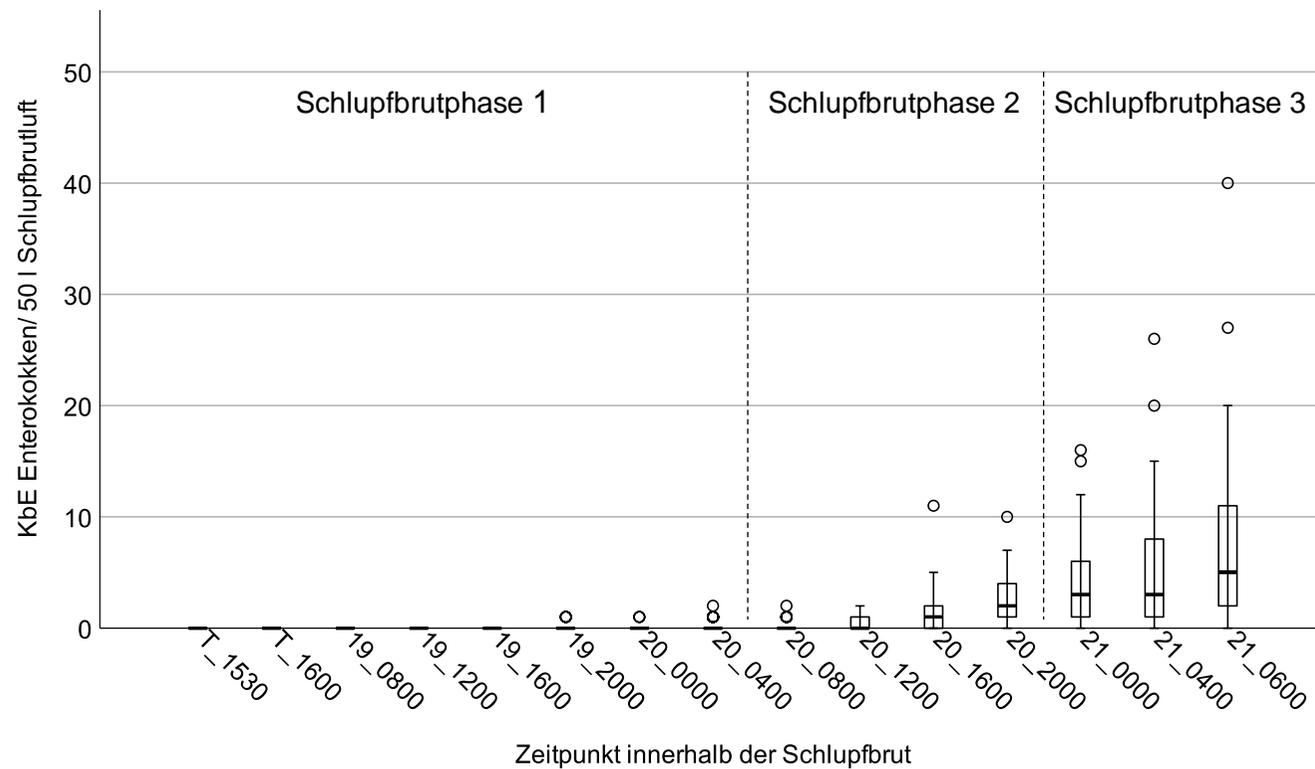


Abbildung 7. KbE der Enterokokken in Abhängigkeit zu definierten Zeitpunkten in der Schlupfbrut.

(n=30 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35) Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Bruttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Bruttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer. Durch Strichlinien wird die Schlupfbrut in 3 Phasen unterteilt.

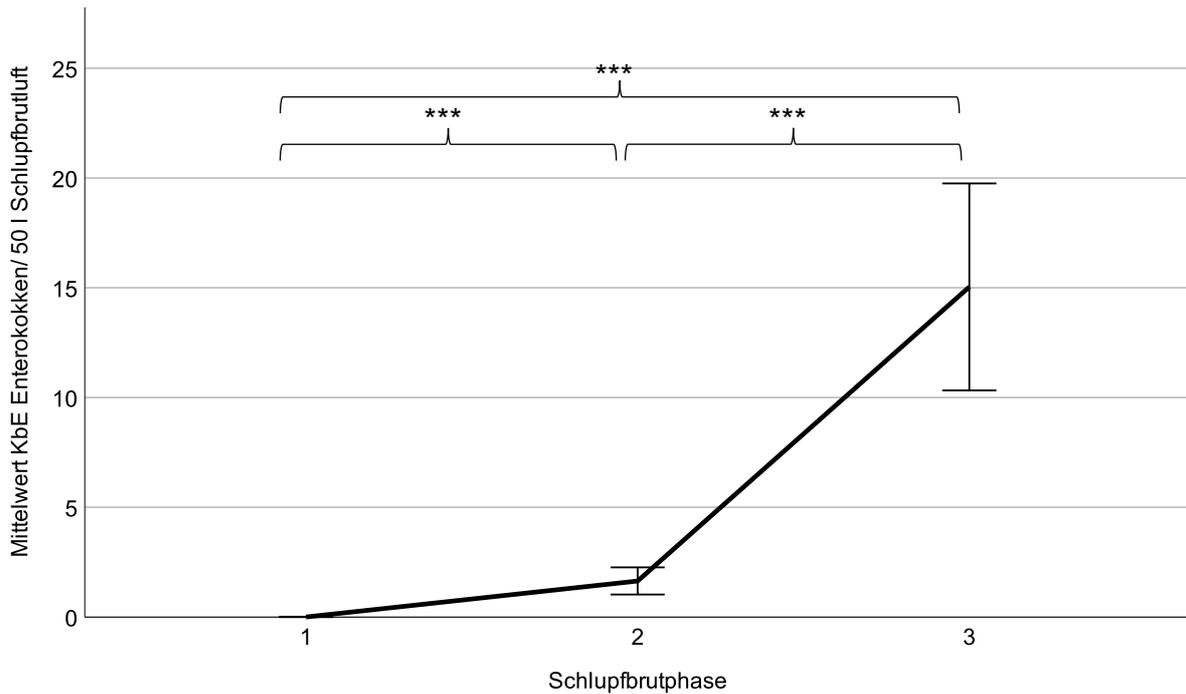


Abbildung 8. Effekt der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,001$ )

Der Einfluss der Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft ist signifikant (Abbildung 8). Eine Steigerung des Parameters Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft ist zu erkennen (Abbildung 8; Tabelle 6).

#### 4.1.4 Verlaufsuntersuchung Schimmelpilze während der Schlupfbrut

Durch die angewandte Methode wurden keine Schimmelpilze während des Beprobungszeitraumes festgestellt ( $n = 450$  untersuchte Nährmedien).

4.2 Einfluss der Produktionsphase der Elterntierherde auf das Vorkommen von Mikroorganismen während der Schlupfbrut

Der Einfluss des Produktionsalters der Elterntierherde auf die Gesamtkeimzahl KbE/ 50 l Schlupfbrutluft zum Zeitpunkt der Kükenabnahme wird im Folgenden dargestellt.

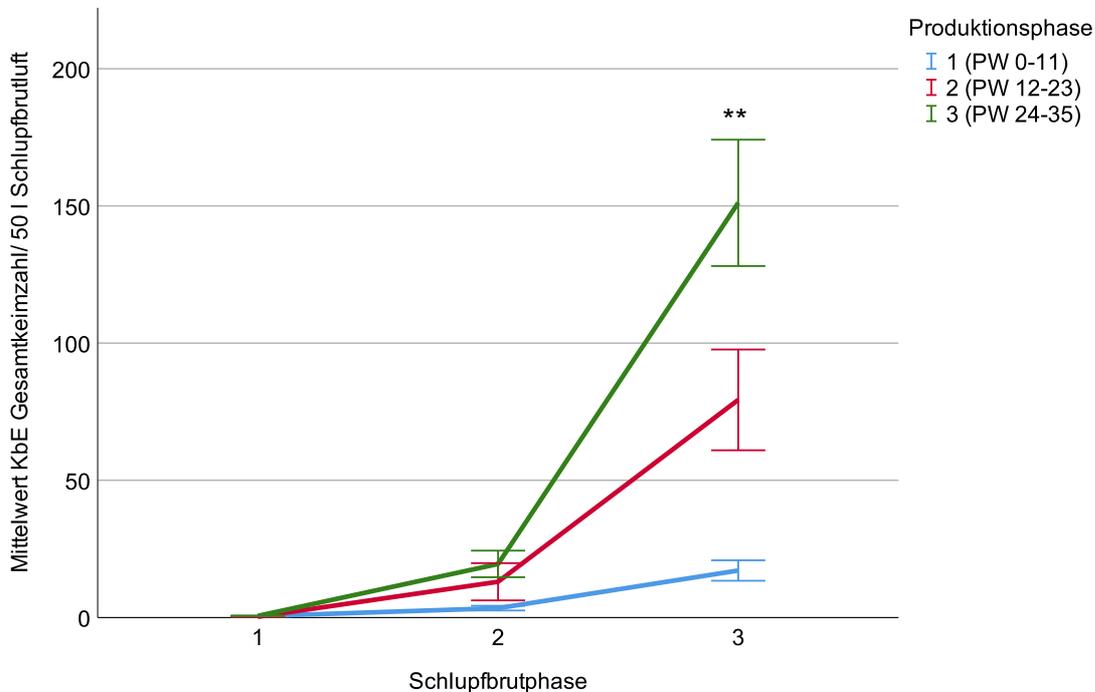


Abbildung 9. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. Produktionsphasen werden farblich dargestellt. (n=10 Schlüpf pro Produktionsphase; \*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,01$ ; PW = Produktionswoche)

In Schlupfbrutphase 1 lässt sich kein signifikanter Einfluss der Produktionsphase der Mastelterntierherde auf die KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft zeigen. Tabelle 7 zeigt, dass der Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft in Produktionsphase 1 und 3 den der Produktionsphase 2 übersteigt.

In Schlupfbrutphase 2 unterscheiden sich die Produktionsphasen nicht signifikant voneinander. Tabelle 7 zeigt, dass der Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft von Produktionsphase zu Produktionsphase stetig ansteigt.

Die Produktionsphasen der Elterntierherden üben einen signifikanten Einfluss auf den Mittelwert KbE/ 50 l Schlupfbrutluft in Schlupfbrutphase 3. Der Anstieg des Mittelwertes KbE/ 50 l Schlupfbrutluft ist aus Abbildung 9 und Tabelle 7 erkennbar.

Der Einfluss des Produktionsalters der Elterntierherde auf die abhängige Variable KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft zum Zeitpunkt der Kükenabnahme wird im Folgenden dargestellt.

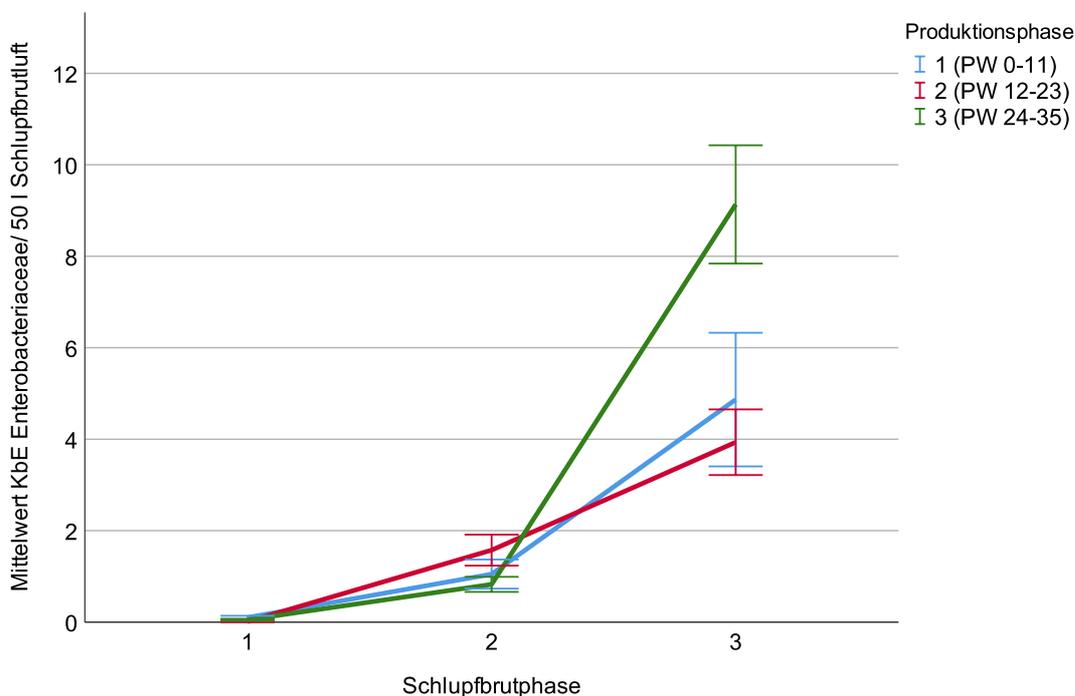


Abbildung 10. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. Produktionsphasen werden farblich dargestellt. (n=10 Schlüpf pro Produktionsphase)

Im Anhang ist die zugehörige deskriptive Statistik aufzufinden (Tabelle 7).

In Schlupfbrutphase 1 nimmt die Produktionsphase der Elterntierherde keinen generellen signifikanten Einfluss auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

In Schlupfbrutphase 2 nimmt die Produktionsphase der Elterntierherde keinen signifikanten Einfluss auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

Auch in Schlupfbrutphase 3 kann der Produktionsphase kein genereller signifikanter Effekt auf KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft zugeschrieben werden. Ein signifikanter Effekt der Produktionsphase ist aber Mastelterntierherden der Produktionsphase 3 gegenüber den Produktionsphasen 1 und 2 auf die Zielvariable KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft zuzuschreiben (Mann-Whitney-U Test:  $p < 0,01$ ). Ein Anstieg des Mittelwertes KbE/ 50 l

Schlupfbrutluft ist Tabelle 7 und Abbildung 11 zu entnehmen. Zwischen Produktionsphase 1 und 2 bestehen keine signifikanten Unterschiede (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

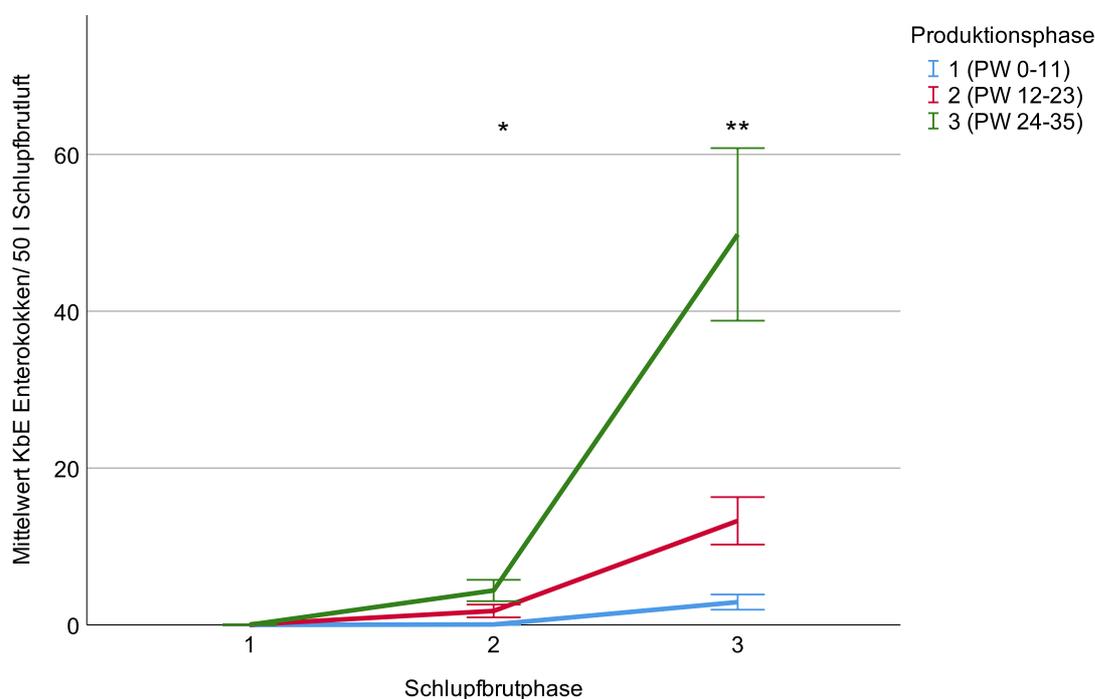


Abbildung 11. Effekt Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten im Mittelwert dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweilige Schlupfbrutphase ab. Produktionsphasen werden farblich dargestellt. (n=10 Schlüpf pro Produktionsphase; \*/\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,05$ /  $p < 0,01$ )

In Schlupfbrutphase 1 besteht kein signifikanter Einfluss der Produktionsphase der Elterntierherde auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

In Schlupfbrutphase 2 nehmen die Produktionsphasen signifikanten ( $p < 0,05$ ) Einfluss auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft (Abbildung 11). Tabelle 7 und Abbildung 11 zeigen eine Steigerung des Mittelwertes KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft von Produktionsphase zu Produktionsphase.

In Schlupfbrutphase 3 nehmen die Produktionsphasen signifikanten ( $p < 0,01$ ) Einfluss auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft (Abbildung 11). Tabelle 7 und Abbildung 11 zeigen eine Steigerung des Mittelwertes KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft von Produktionsphase zu Produktionsphase.

### 4.3 Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut

Im nachfolgenden wird der Einfluss der Einbringung eines Biozids auf das Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut von Masthühnerküken dargestellt.

#### 4.3.1 Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut

Die Daten aus den Verlaufsuntersuchungen aus 4.1 dienen als Kontrollgruppen. Der Einsatz eines Biozids zeigte einen Einfluss auf das Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut. Die deskriptive Statistik zu den dargestellten Daten ist im Anhang in Tabelle 7 aufzufinden.

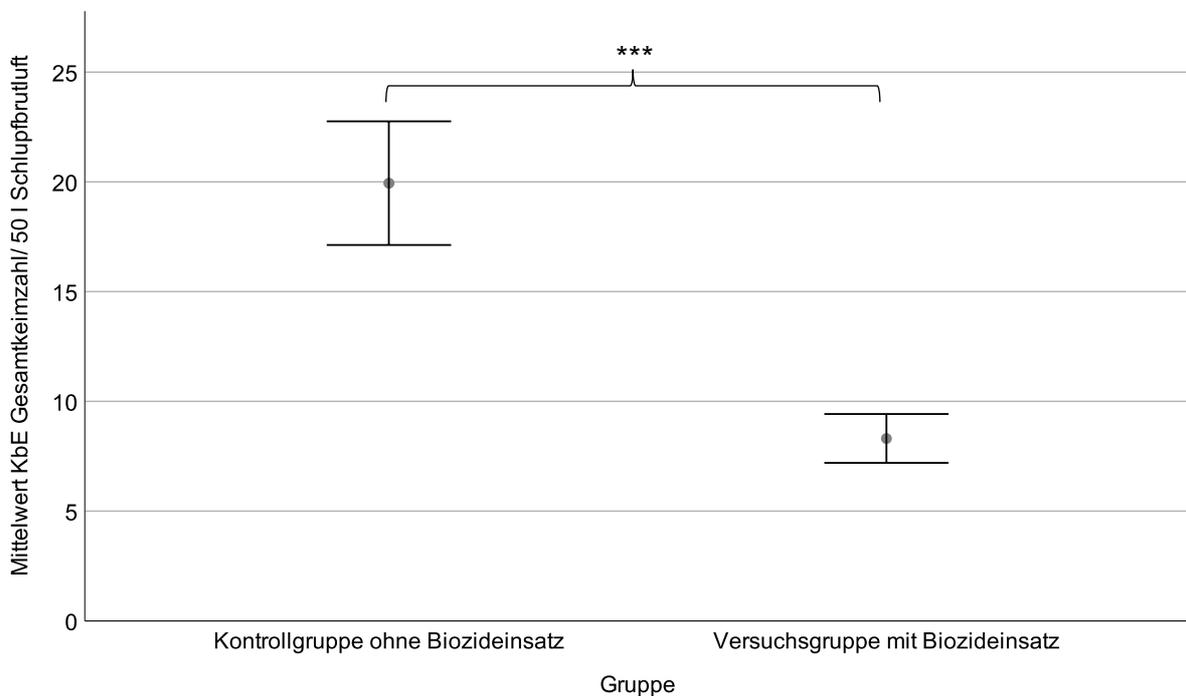


Abbildung 12. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird der Mittelwert KbE Gesamtkeimzahl/ 50 l Schlupfbrutluft gezeigt. Die Abszisse bildet die Gruppierung im Versuchsdesign ab. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test:  $p < 0,001$ )

Der Einsatz eines Biozids in der Schlupfbrut führt zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtkeimzahl im Mittel aller Beprobungszeitpunkte (Abbildung 12, Tabelle 8).

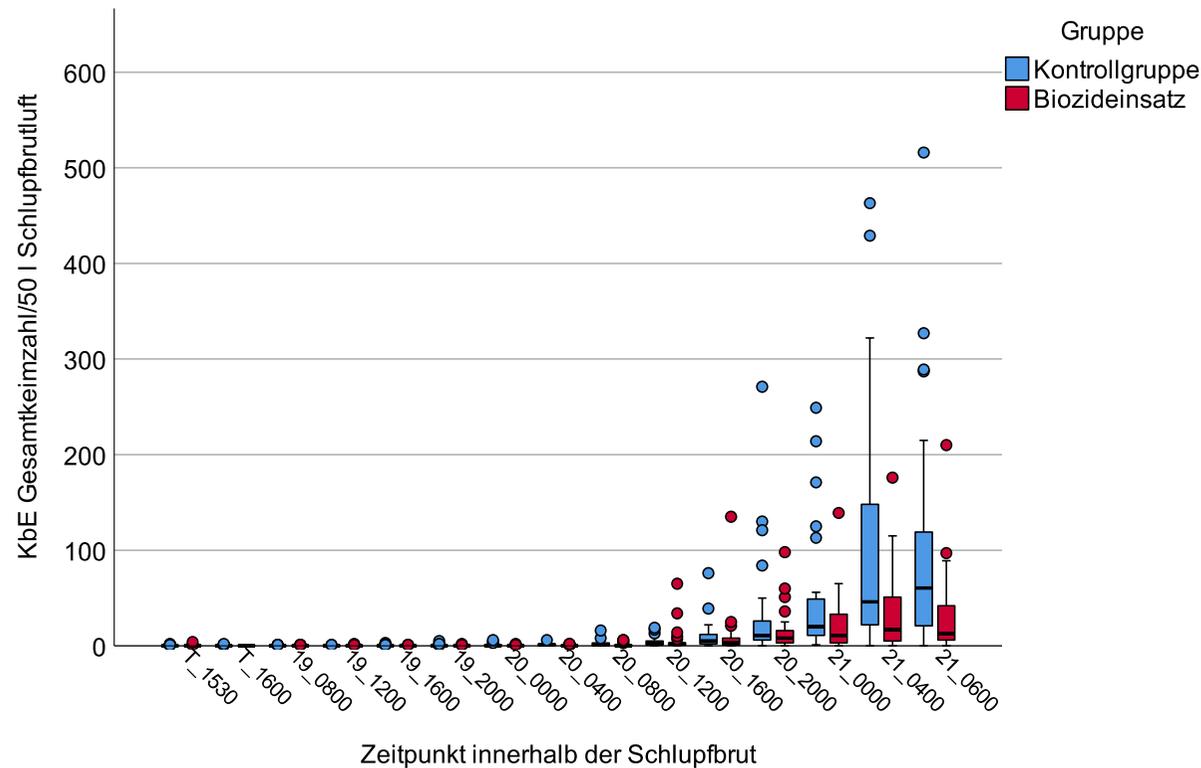


Abbildung 13. Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Gesamtkeimzahl zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase.

(n=59 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35). Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Bruttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Bruttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer.

Der Grad des Einflusses des Biozids auf die Luftkeimbelastung in der Schlupfbrut variiert beeinflusst von der Schlupfbrutphase sowie von der Produktionsphase der Elterntierherde (Abbildung 14, Abbildung 15, Abbildung 16).

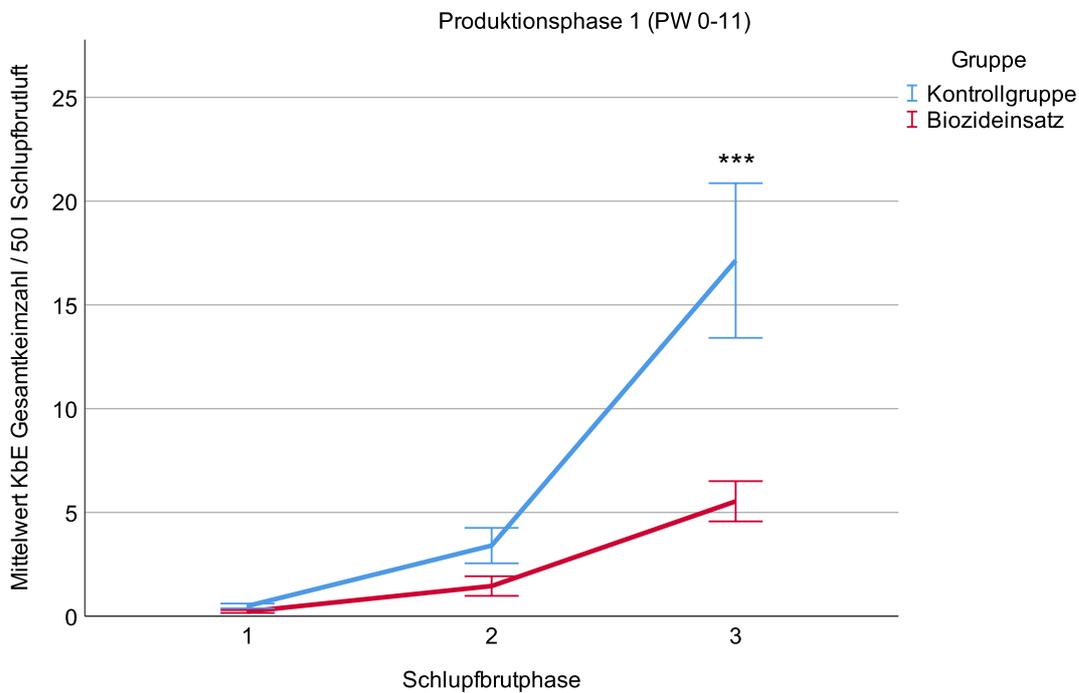


Abbildung 14. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 0-11 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*\*\*) = Student's t-Test,  $p < 0,001$ )

Eine Keimreduktion findet auf niedrigem Niveau statt. Die Einbringung eines Biozids in der Schlupfbrut von Sammelgelegen junger Elterntierherden führt ausschließlich in Schlupfbrutphase 3 im Mittel zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft (Abbildung 14).

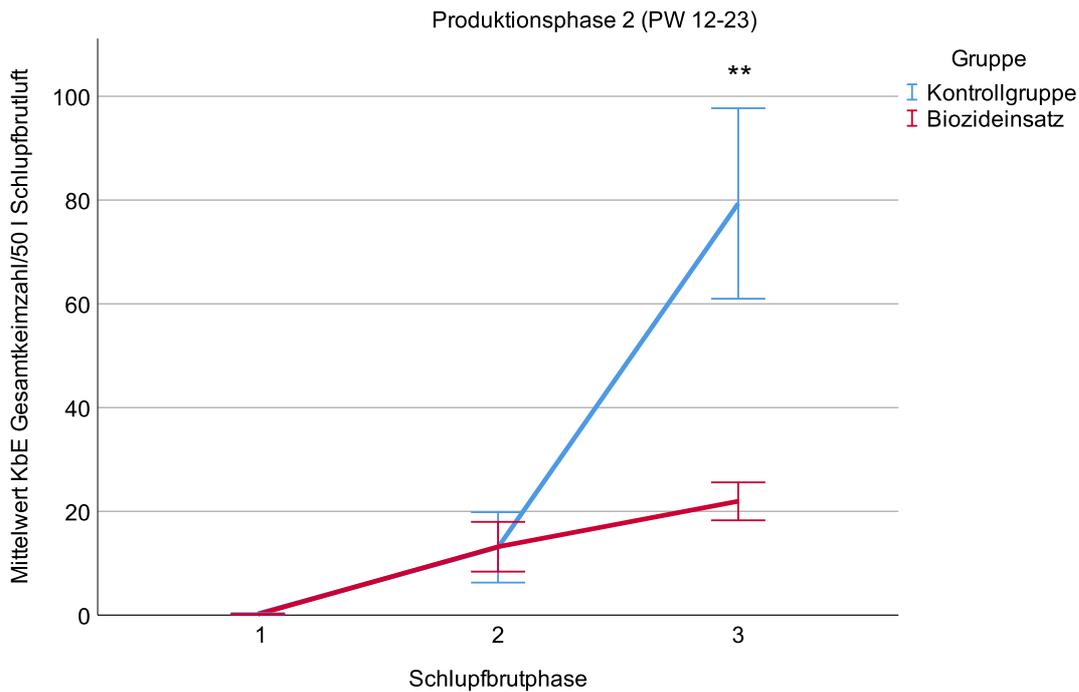


Abbildung 15. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 12-23 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*\* = Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,01$ )

Die Einbringung eines Biozids in die Schlupfbrut vom Sammelgelege von Elterntierherden in Produktionsphase 2 führt ausschließlich in Schlupfbrutphase 3 im Mittel zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtkeimzahl (Abbildung 15).

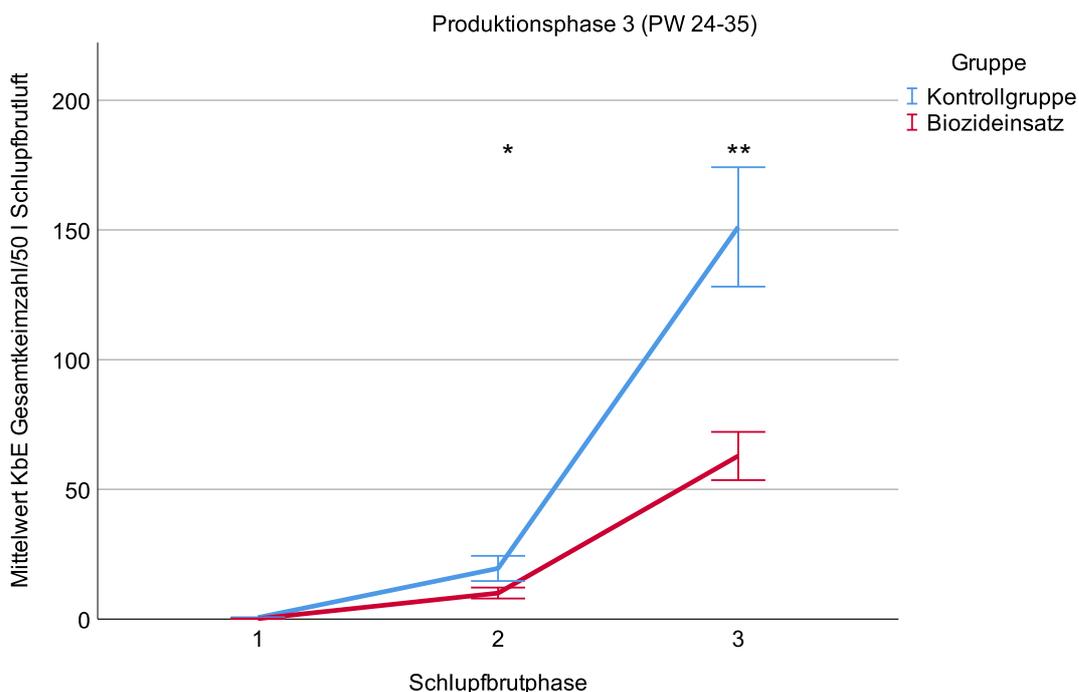


Abbildung 16. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 24-35 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\* = Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,05$ ; \*\* = *t-Test*,  $p < 0,01$ )

Hingegen führt die Einbringung eines Biozids in der Schlupfbrut von Sammelgelege alter Elterntierherden zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtkeimzahl in Schlupfbrutphase 2 sowie auch in Schlupfbrutphase 3 (Abbildung 16). Dabei kommt der Effekt des Biozids auf die Gesamtkeimzahl vor allem in der Spätphase der Schlupfbrut zur Geltung (Abbildung 16).

#### 4.3.2 Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut

Der Einsatz des angewandten Biozids führt zu einer signifikanten Reduktion von Enterobacteriaceae in der Schlupfbrut im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne Biozideinbringung (Abbildung 17, Tabelle 8).

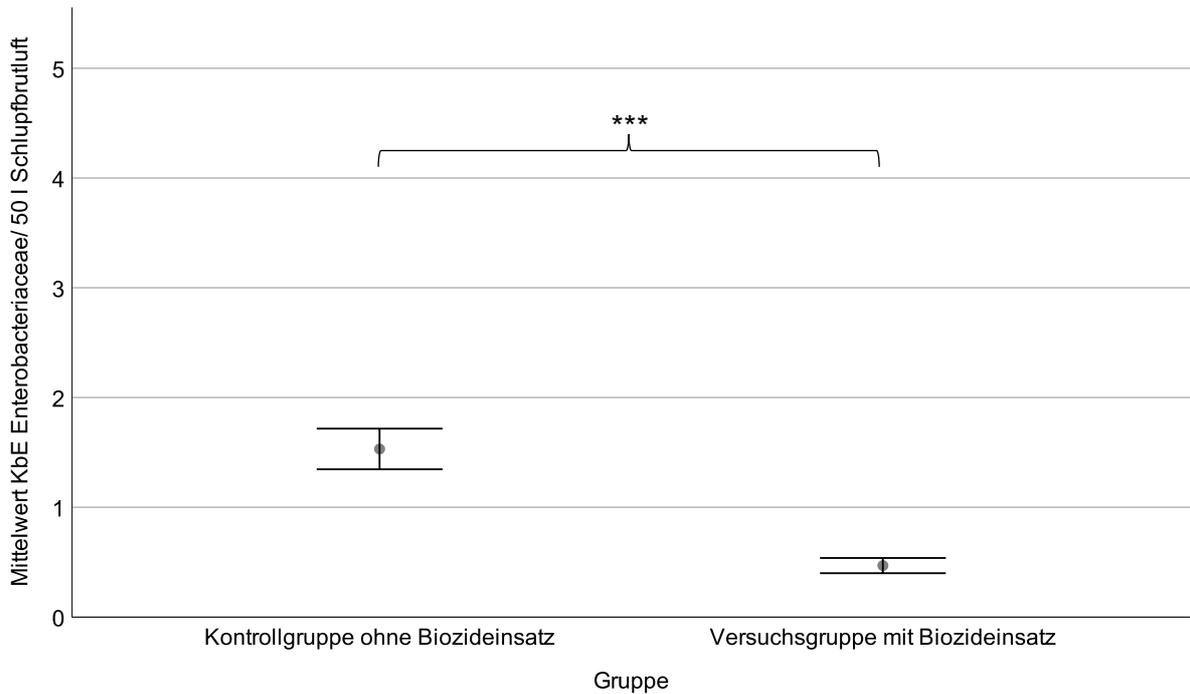


Abbildung 17. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird der Mittelwert KbE Enterobacteriaceae/ 50 l Schlupfbrutluft gezeigt. Die Abszisse bildet die Gruppierung im Versuchsdesign ab. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test:  $p < 0,001$ )

Abbildung 18 stellt zusätzlich im Detail alle Beprobungszeitpunkte der Kontrollgruppe ohne Biozideinbringung allen Beprobungszeitpunkten der Versuchsgruppe mit Biozideinbringung gegenüber.

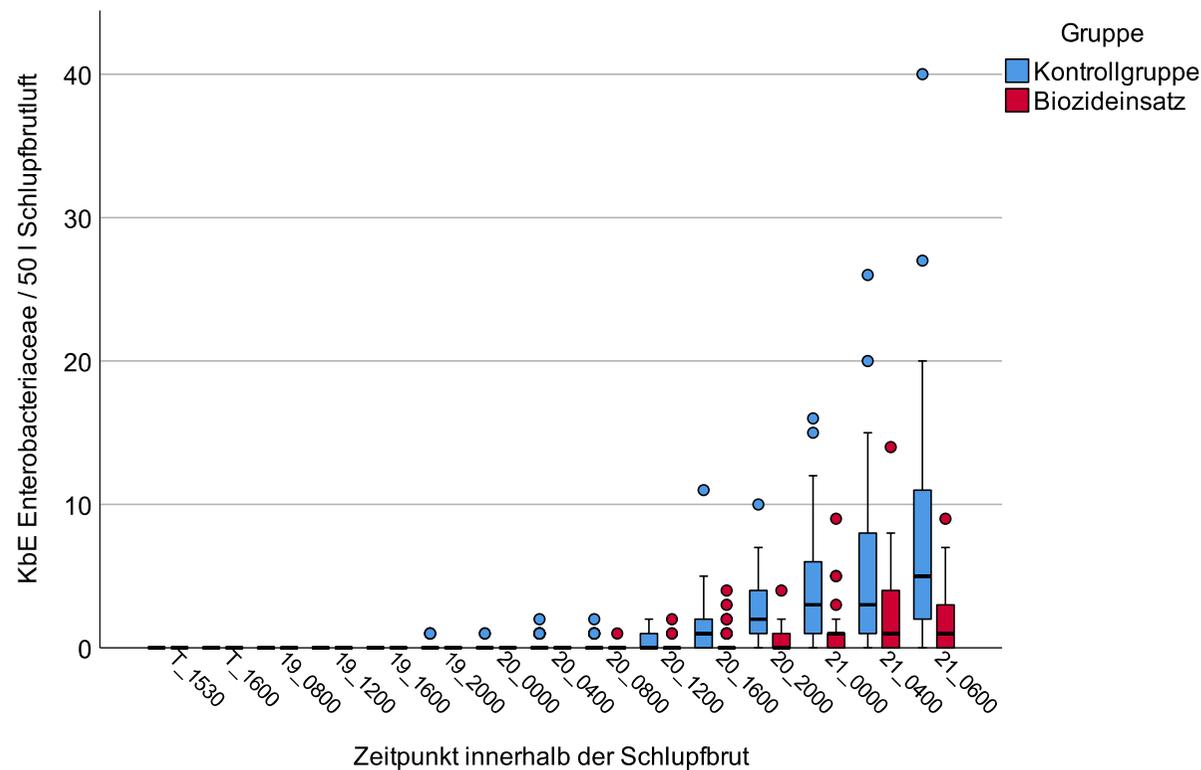


Abbildung 18. Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Enterobacteriaceae zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase (n=59 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35).

Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Brutttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Brutttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer.

Analog zu den Beprobungen der Gesamtkeimzahl weisen die Daten bei zunehmender Dauer der Schlupfbrut eine größere Streuung auf. Zur Darstellung des Einflusses des Produktionsalters der Elterntierherde wird in Abbildung 19, Abbildung 20 und Abbildung 21 der feste Effekt des Produktionsalters der Elterntierherde dargestellt.

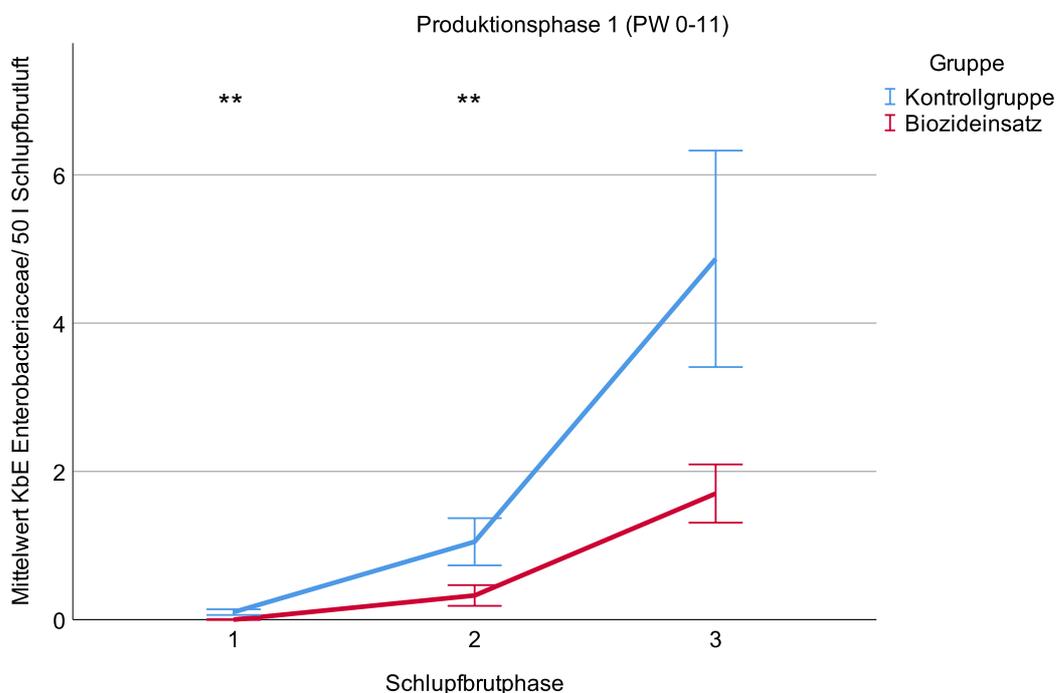


Abbildung 19. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender der Produktionswochen 0-11 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,01$ )

Der Einsatz des Biozids in die Schlupfbrut von Sammelgelegen junger Elterntierherden führt in Schlupfbrutphase 2 zu einer signifikanten Reduktion an Enterobacteriaceae. Die Reduktion in Schlupfbrutphase 3 ist hingegen nicht signifikant (Mann-Whitney-U Test:  $p = 0,054$ ).

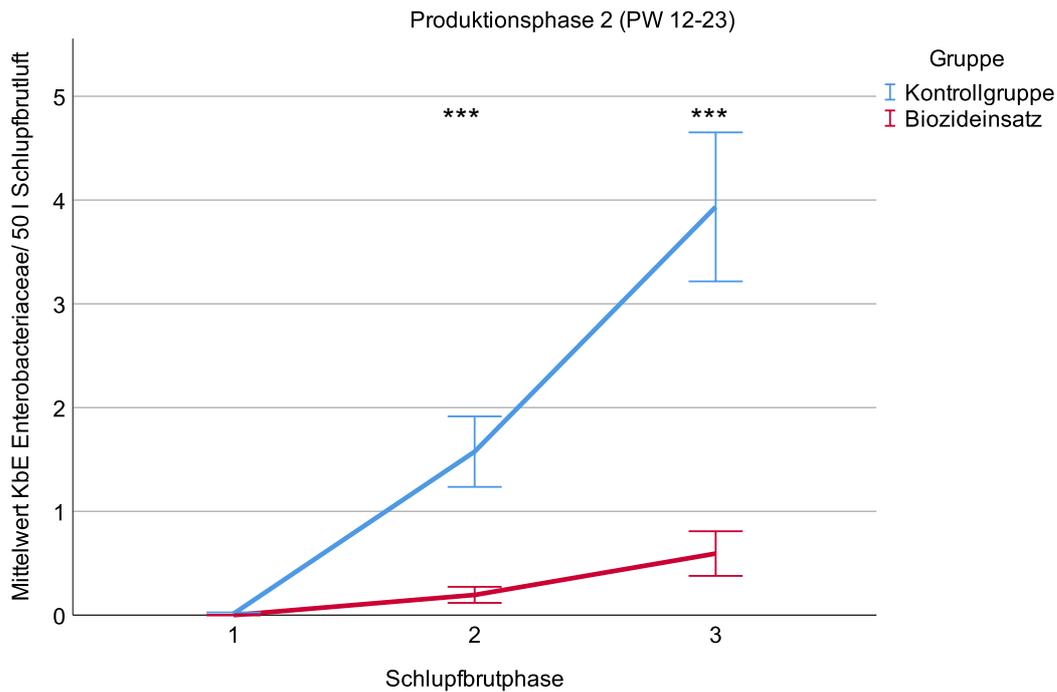


Abbildung 20. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 12-23 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,001$ )

Der Einsatz eines Biozids in der Schlupfbrut von Sammelgelegen mittelalter Elterntierherden führt zu einer signifikanten Reduktion an Enterobacteriaceae in den Schlupfbrutphasen 2 und 3 auf niedrigem Niveau.

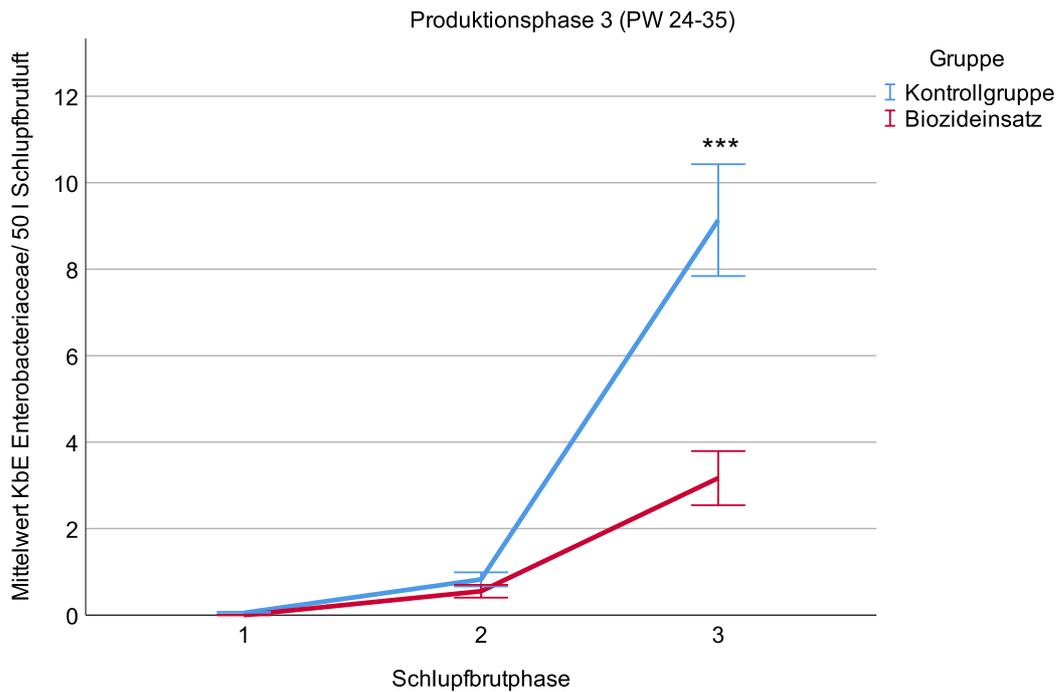


Abbildung 21. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterobacteriaceae in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 24-35 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*\*\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,001$ )

Der Einsatz eines Biozids in der Schlupfbrut von Sammelgelegen alter Elterntierherden führt ausschließlich in Schlupfbrutphase 3 zu einer signifikanten Reduktion an Enterobacteriaceae.

#### 4.3.4 Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut

Analog zu 4.3.1 und 4.3.2 erfolgt die Auswertung des Einflusses des angewandten Biozids auf die Enterokokkenbelastung.

Der Einsatz des angewandten Biozids führt zu einer nicht signifikanten Reduktion von Enterokokken in der Schlupfbrut im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne Biozideinbringung (Abbildung 22, Tabelle 8).

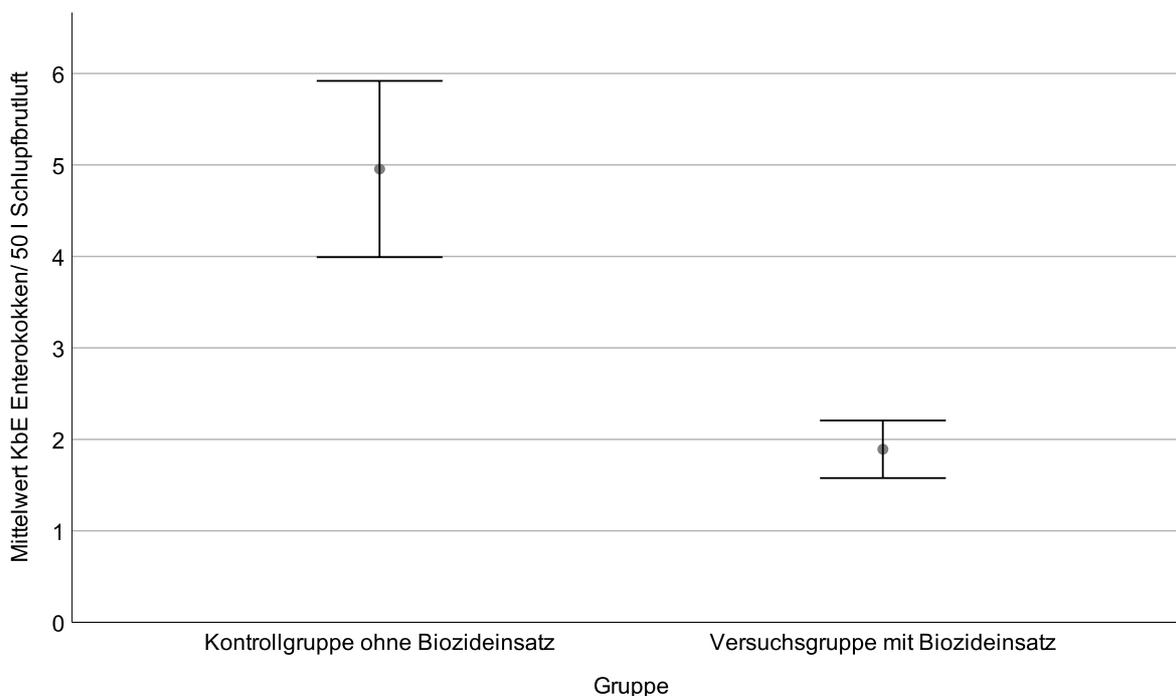


Abbildung 22. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft unter Angabe des Standardfehlers.

An der Ordinate wird der Mittelwert KbE Enterokokken/ 50 l Schlupfbrutluft gezeigt. Die Abszisse bildet die Gruppierung im Versuchsdesign ab.

Abbildung 23 zeigt einen Überblick aller Beprobungszeitpunkte, die deskriptive Statistik ist im Anhang in Tabelle 11 dargestellt. Wiederum ist ein Einfluss von Produktionsphase und Schlupfbrutphase nachvollziehbar. Die Darstellung erfolgt in Abbildung 24, Abbildung 25 und Abbildung 26.

## ERGEBNISSE

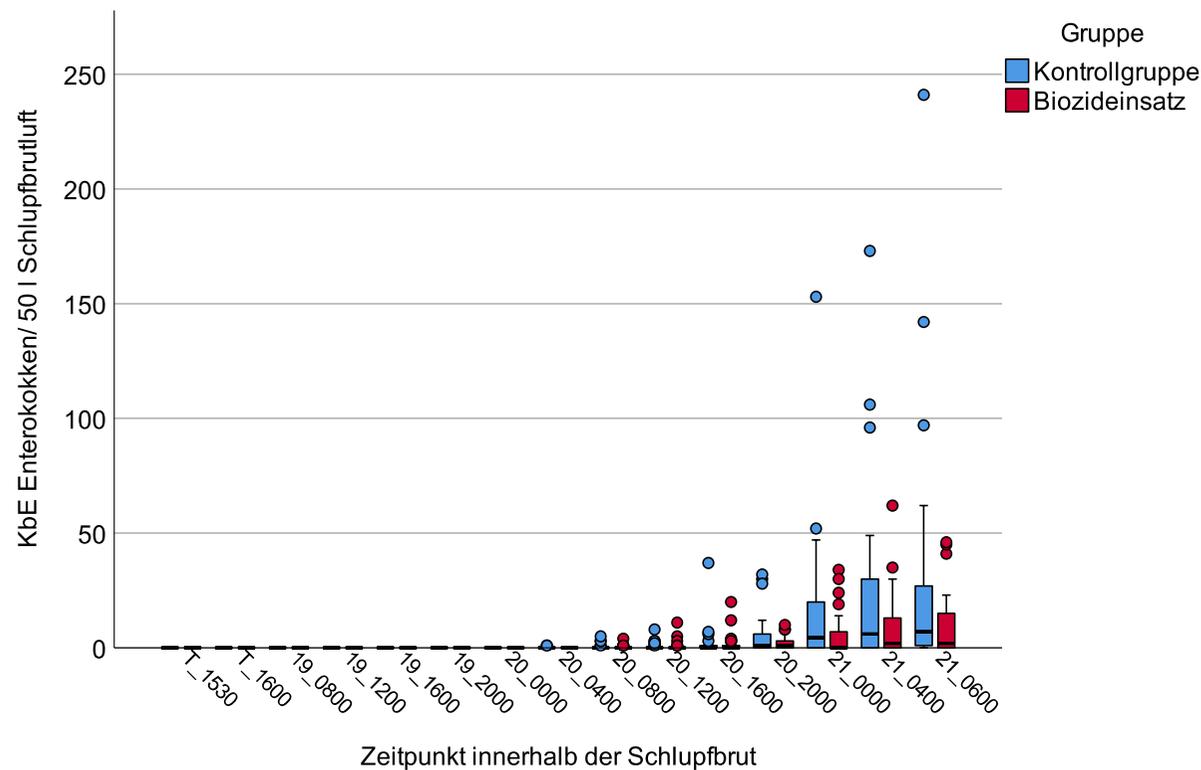


Abbildung 23. Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die Enterokokken zu definierten Zeitpunkten der Schlupfbrutphase (n=59 Schlupfbrutabfolgen; Produktionswoche Elterntierherde 0-35).

Die Abszisse zeigt die Zeitpunkte der Untersuchung in codierter Form. Der Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut wird mit dem Buchstaben „T“ für „Transfer“ codiert. Die erste Zahl beschreibt den Bruttag, getrennt durch einen Unterstrich von der Uhrzeit der Untersuchung. Die ersten beiden Ziffern der Uhrzeit beschreiben die Stunde der Untersuchung. Die Kükenabnahme erfolgt an Bruttag 21 um 06:00 Uhr morgens (Codierung: 21\_0600). Das Zeichen „o“ zeigt statistische Ausreißer.

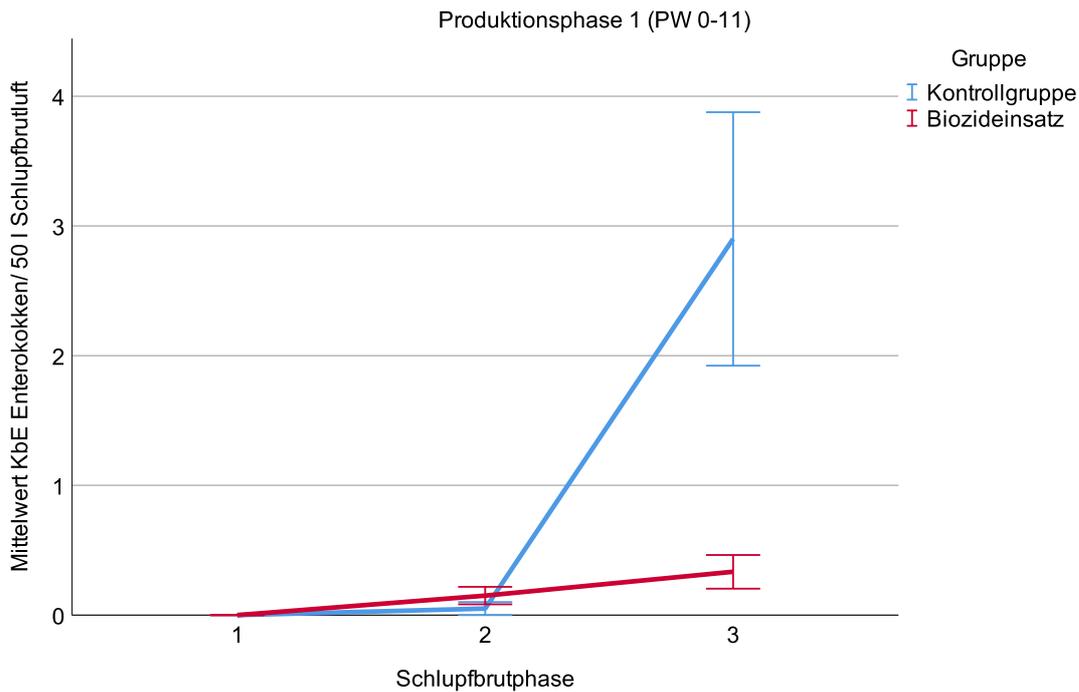


Abbildung 24. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 0-11 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 0-11 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich.

Der Einfluss des Biozids auf Enterokokken in der Produktionsphase 1 der untersuchten Mastelertierherden führt zu einer nicht signifikanten Reduktion der Mikroorganismen auf einem niedrigen Niveau in Schlupfbrutphase 3 (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

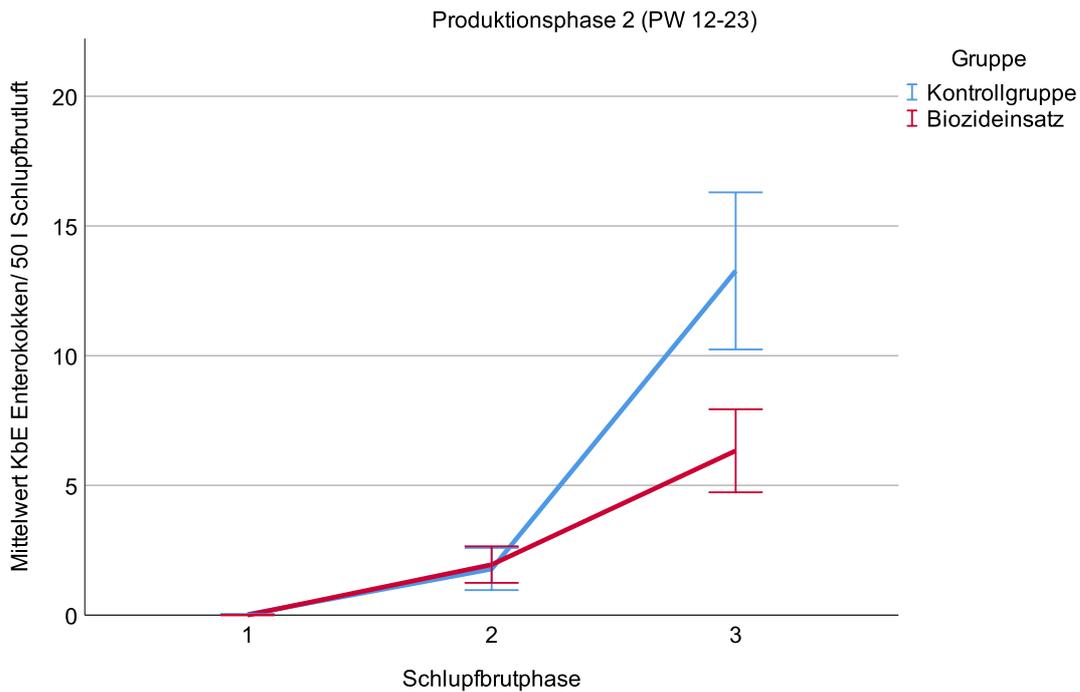


Abbildung 25. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 12-23 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 12-23 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich.

Der Einfluss des Biozids auf Enterokokken in der Produktionsphase 2 der untersuchten Mastelertierherden führt zu einer nicht signifikanten Reduktion der Mikroorganismen auf einem niedrigen Niveau in Schlupfbrutphase 3 (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

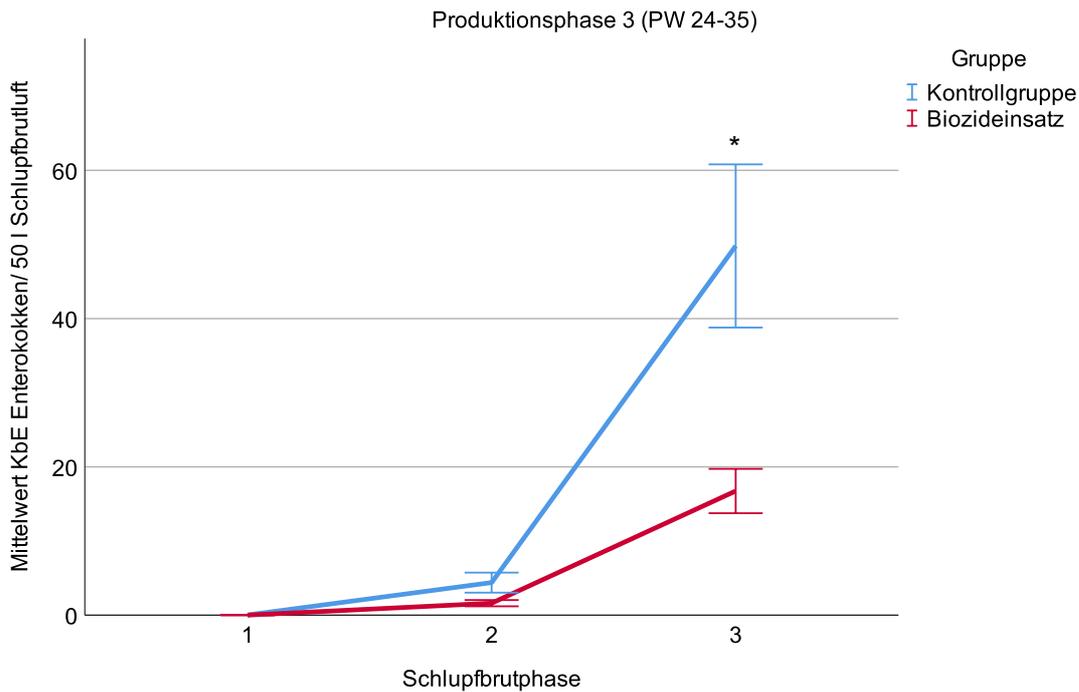


Abbildung 26. Einfluss des Einsatzes eines Biozids auf den Mittelwert der Enterokokken in der Schlupfbrutluft der einzelnen Schlupfbrutphasen während der Elterntierproduktionswochen 24-35 mit Darstellung des Standardfehlers.

An der Ordinate wird die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten der Produktionswochen 24-35 dargestellt. Die Abszisse bildet die jeweiligen Beprobungszeitpunkte in der Schlupfbrut ab. Die Unterscheidung der Gruppierungen im Versuchsdesign erfolgt farblich. (\*: Mann-Whitney-U Test,  $p < 0,05$ )

In der Schlupfbrut eines Sammelgeleges einer alten Mastelertierherde führt der Einsatz eines Biozids ausschließlich in Schlupfbrutphase 3 zu einer signifikanten Reduktion der Enterokokkenbelastung während der Dauer der Schlupfbrut ( $p < 0,05$ ).

4.4 Einfluss der Einbringung des Biozids in die Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Masthuhnküken an Masttag 7

Der Einsatz des angewandten Biozids in der Schlupfbrut des Sammelgeleges von Mastelternierherden führte im Mittel zu einer Reduktion der 7-Tages Mortalität in der Mast, die allerdings nicht signifikant war (Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ).

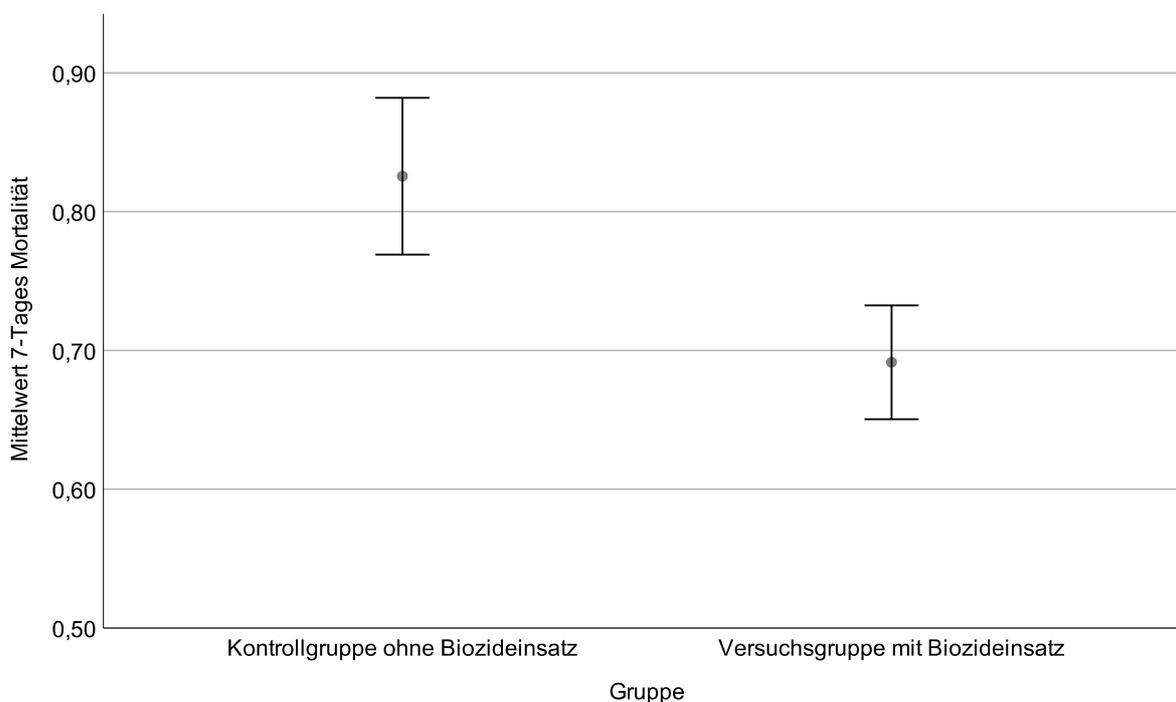


Abbildung 27. Einfluss des angewandten Biozids in der Schlupfbrut auf die relative Mortalitätsrate der geschlüpften Küken an Masttag 7 unter Angabe der Standardfehler. Die Ordinate bildet den Wert der 7-Tages Mortalität im Mittel aller Untersuchungen ab. Die Abszisse stellt die Gruppierung im Versuchsdesign dar.

Abbildung 27 zeigt den Mittelwert der 7-Tages Mortalität in Abhängigkeit der Gruppenzugehörigkeit im Studiendesign unter Angabe des Standardfehlers. Der Mittelwert der 7-Tages Mortalität der Kontrollgruppe betrug 0,83% ( $\pm 0,06\%$  SEM;  $n = 29$  Einstellungen). Der Mittelwert der 7-Tages-Mortalität der Versuchsgruppe mit Biozideinsatz betrug 0,69% ( $\pm 0,04\%$  SEM;  $n=28$  Einstellungen)

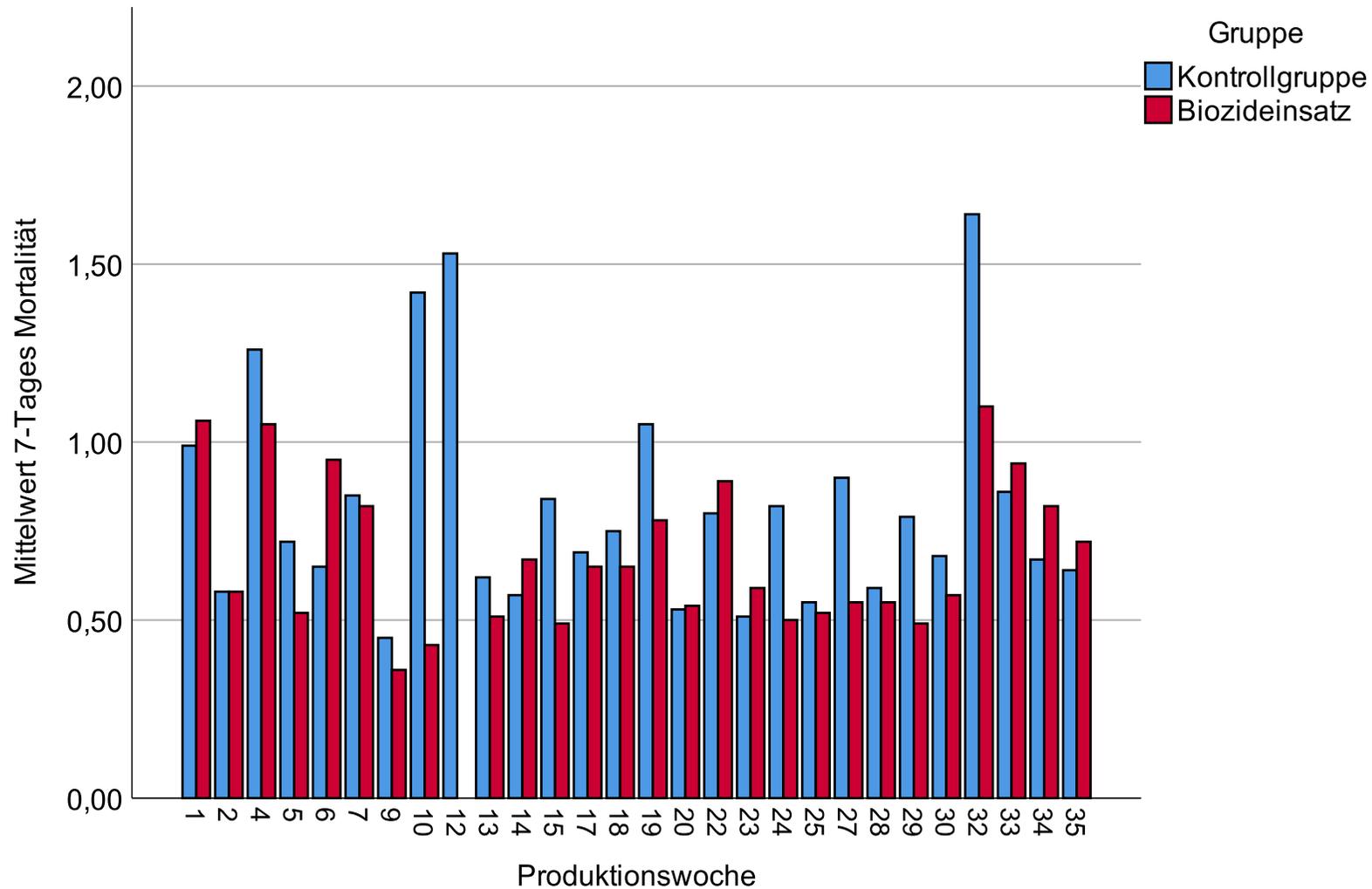


Abbildung 28. 7-Tages Mortalität gruppiert nach Versuchsgruppe in Abhängigkeit der Produktionswoche der Mastelertierherde. Die Ordinate bildet den Mittelwert der 7-Tages Mortalität in der jeweiligen Produktionswoche ab (Kontrollgruppe n = 28 Einstellungen; Versuchsgruppe mit Biozideinsatz n = 27 Einstellungen). Die Abszisse zeigt die Produktionswoche. Die Unterscheidung der Gruppierung im Versuchsdesign erfolgt farblich.

Abbildung 28 stellt in Form der Rohdaten die 7-Tages Mortalität von Kontroll- und Versuchsgruppe gemäß der Versuchsanordnung der jeweiligen Produktionswochen gegenüber (n=57 Einstellungen). Die Abbildung zeigt, dass die Kontrollgruppe in 5 Fällen den Grenzwert von 1% 7-Tages Mortalität überschritten hat. Die eingestellten Herden der Versuchsgruppe mit Biozideinsatz überschritten in 3 Fällen den Grenzwert von 1% geringfügig zu Produktionsbeginn mit 1,01%, 1,11% und 1,05%. Die Rohdaten sind numerisch in Tabelle 12 nachzuvollziehen.

Der Effekt des Einsatzes des angewandten Biozids in der Schlupfbrut von Masthühnerküken in Abhängigkeit von der Produktionsphase der Elterntierherde ist nicht statistisch signifikant (Produktionsphasen 1,2:  $t$ -Test:  $p > 0,05$ ; Produktionsphase 3: Mann-Whitney-U Test:  $p > 0,05$ ) (Tabelle 13; Abbildung 29).

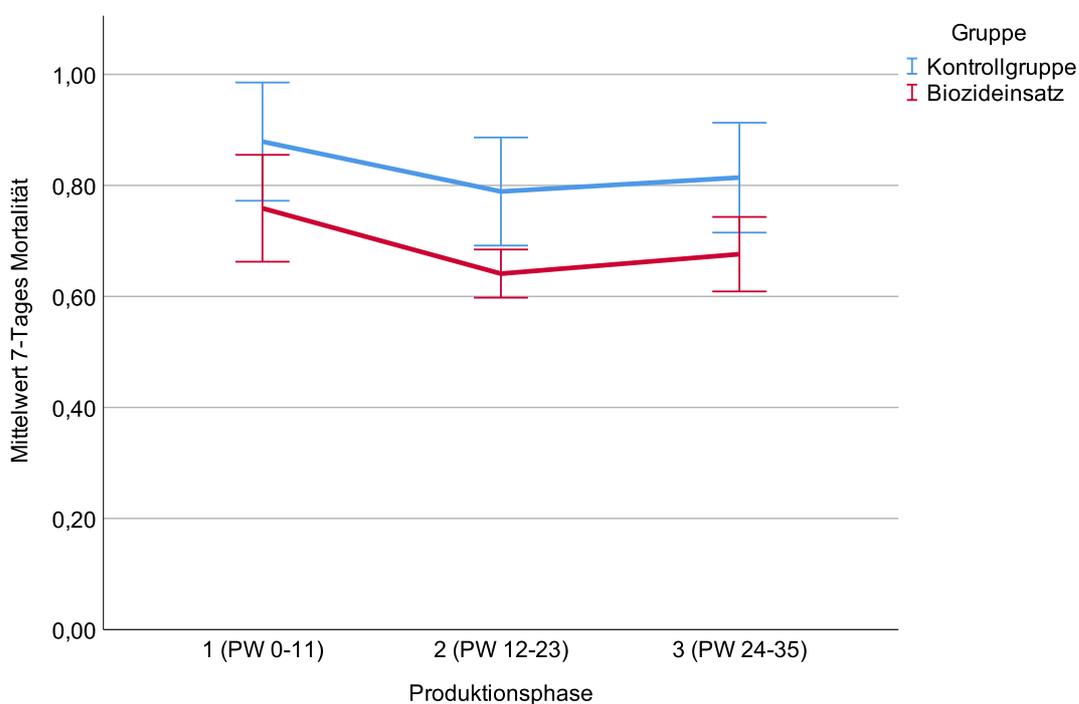


Abbildung 29. Einfluss des angewandten Biozids in der Schlupfbrut auf die Mortalitätsrate der geschlüpften Küken an Masttag 7 gruppiert nach Produktionsphase der Elterntierherde. Die Ordinate zeigt den Mittelwert der 7-Tages Mortalität.

Die Abszisse bildet die jeweilige Produktionsphase der Mastelterntierherde ab. Die Unterscheidung der Gruppierung im Versuchsdesign erfolgt farblich.

#### 4.5 Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Masthuhnküken an Masttag 7

Zur Quantifizierung des Einflussgrades der mikrobiologischen Belastung im Schlupfbrüter wurde ein Lineares Regressionsmodell erstellt. Ein gerichteter Zusammenhang der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die 7-Tages Mortalität wurde untersucht.

Der Einfluss von Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae, Enterokokken und Schimmelpilzen auf die 7-Tages Mortalität wurde separat erfasst und analysiert.

Da bei Gelegen von Mastelterntieren der Produktionswoche 0, d.h. zu Beginn der Legephase, eine erhöhte 7-Tages Mortalität durch lebensschwache Küken durch Auflegen von Eimassen unter 48g auftreten können, wurden 2 Schlüpfbe der Produktionswoche 0 aus der Auswertung ausgeschlossen.

##### 4.5.1 Einfluss der Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme auf die 7-Tages Mortalität

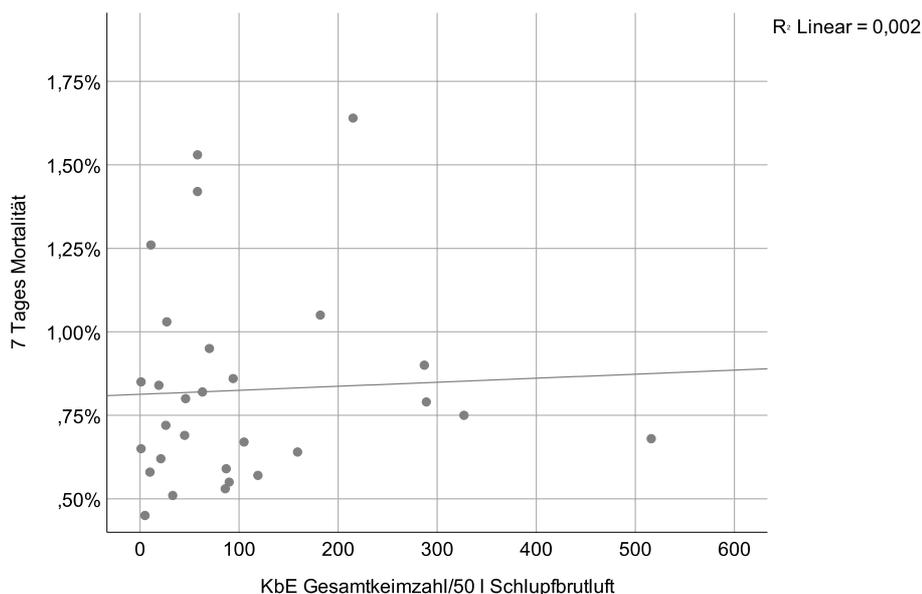


Abbildung 30. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7.

Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

Die Abbildung 30 zeigt, dass eine sehr schwach positive Korrelation zwischen der Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und der 7-Tages Mortalität der

geschlüpften Küken besteht. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  beträgt 0,2%. Das entwickelte Modell ist somit nicht anwendbar (ANOVA:  $p > 0,05$ ).

Eine Aufschlüsselung nach Produktionsphase der Elterntierherde ist in Abbildung 31 bis Abbildung 33 nachzuvollziehen. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  ist in der jeweiligen Abbildung angegeben. Die Modelle sind als solche somit nicht geeignet, einen gerichteten Zusammenhang zwischen der mikrobiologischen Belastung in Form der Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrut und der 7-Tages Mortalität herzustellen (ANOVA:  $p > 0,05$ ).

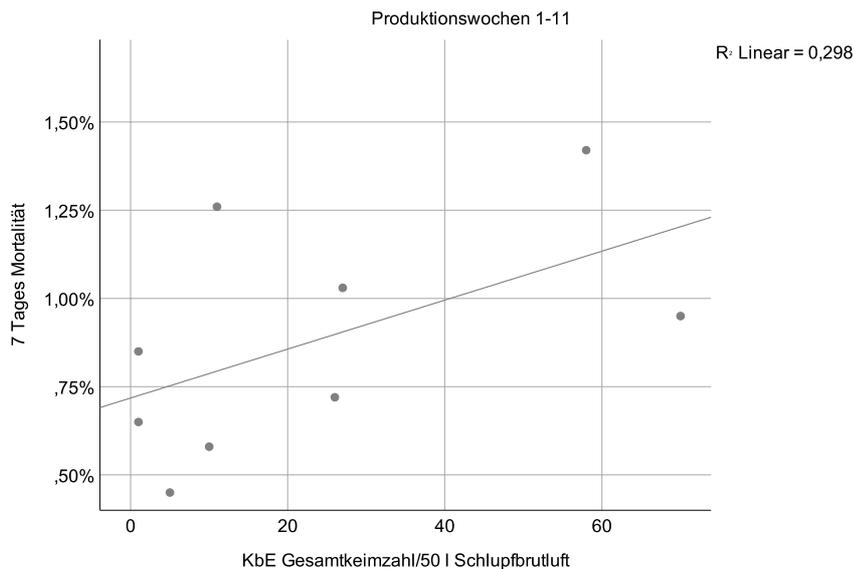


Abbildung 31. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11.

Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

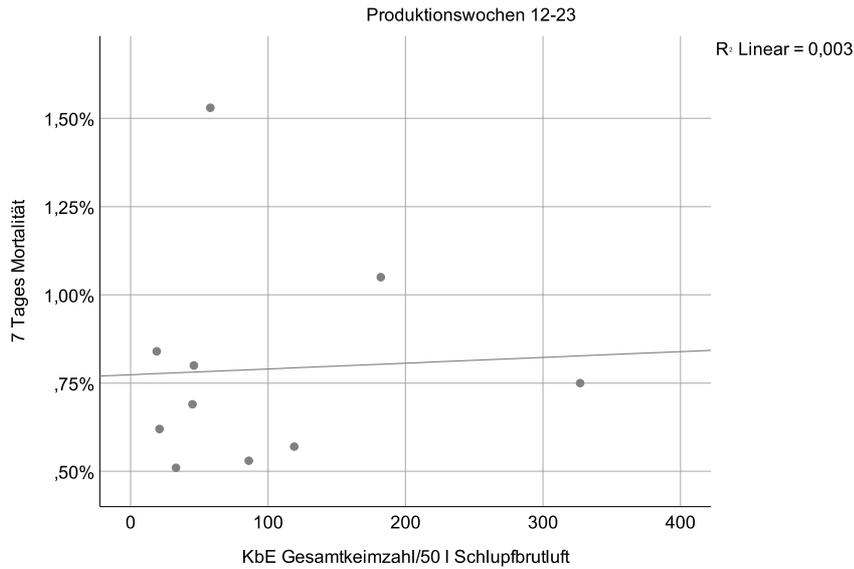


Abbildung 32. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 I Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

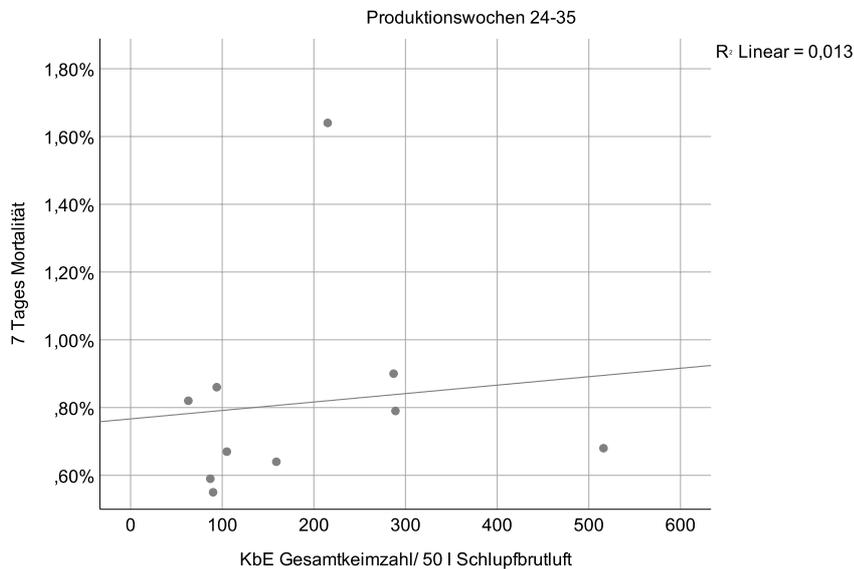


Abbildung 33. Lineare Regressionsanalyse: KbE Gesamtkeimzahl zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 I Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

4.5.2 Einfluss von Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme

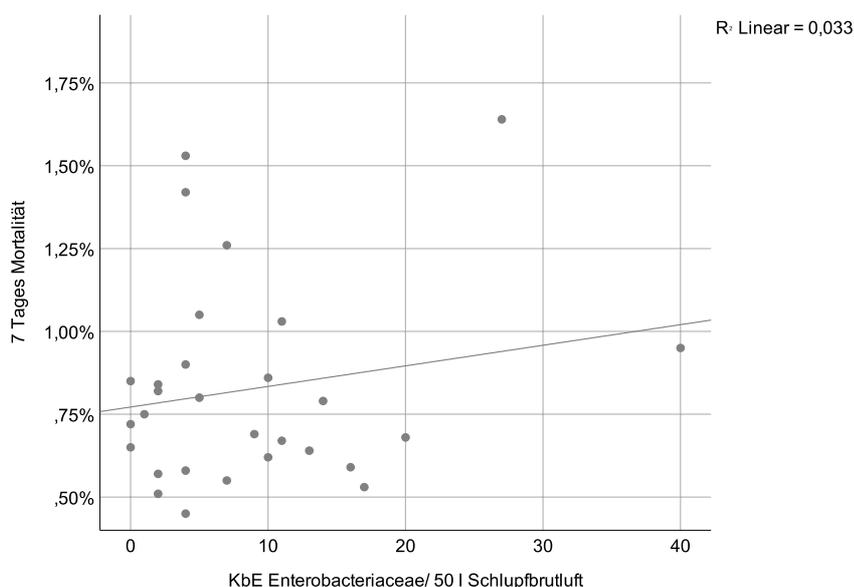


Abbildung 34. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7.

Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

Die Anzahl Kolonie-bildender Einheiten Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme zeigt eine schwach positive Korrelation zur 7-Tages Mortalität der geschlüpften Küken.  $R^2$  beläuft sich auf 3,3% (Abbildung 34). Das entwickelte Modell ist somit auch bei diesem Parameter nicht anwendbar (ANOVA:  $p > 0,05$ ).

Eine Aufschlüsselung nach Produktionsphase der Elterntierherde erfolgt in Abbildung 35 bis Abbildung 37. Eine nicht signifikante (ANOVA:  $p > 0,05$ ) schwach positive Korrelation in Produktionsphase 3 der Elterntierherde wurde ersichtlich (Abbildung 37:  $R^2 = 26,5\%$ ).

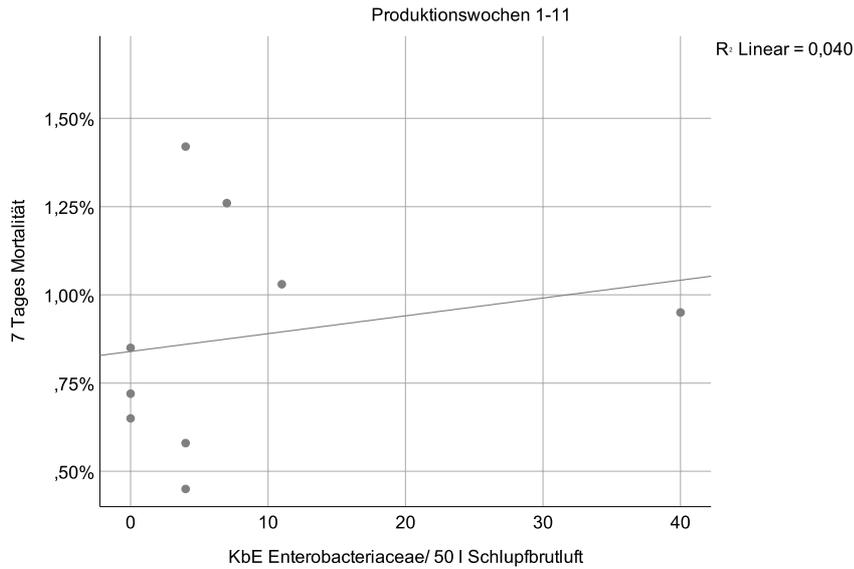


Abbildung 35. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

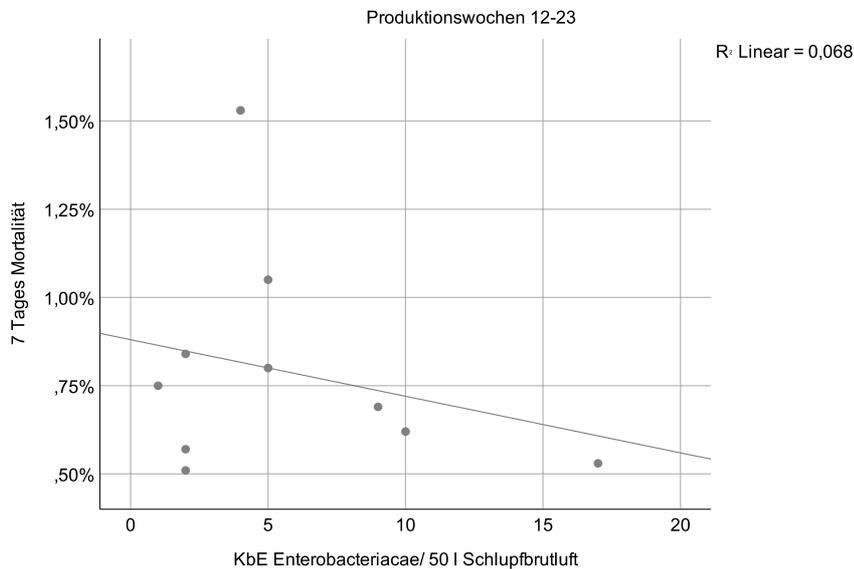


Abbildung 36. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

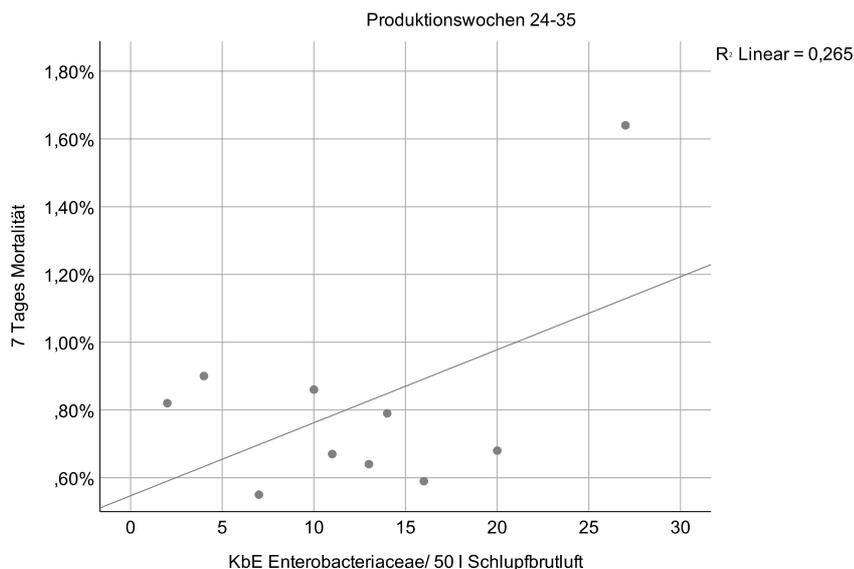
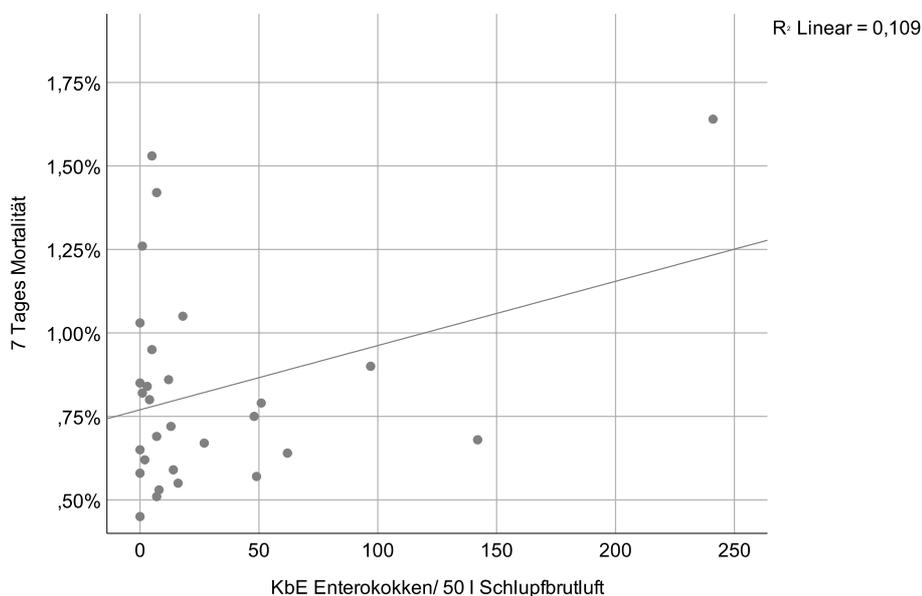


Abbildung 37. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterobacteriaceae zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

#### 4.5.3 Einfluss von Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme



Die 7-Tages Mortalität kann schwach positiv mit den Kolonie-bildenden Einheiten Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme assoziiert werden. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  beträgt 10,9% und das entwickelte Modell war somit auch hier nicht anwendbar (ANOVA:  $p > 0,05$ ).

Eine Aufschlüsselung nach der Produktionsphase der Elterntierherde erfolgt in Abbildung 39 bis Abbildung 41. Ein gerichteter Zusammenhang in Produktionsphase 1 und 2 der Elterntierherde ist nicht herzustellen. In Produktionsphase 3 der Mastelterntierherde ist eine signifikante positive Korrelation zu beobachten (Abbildung 41).

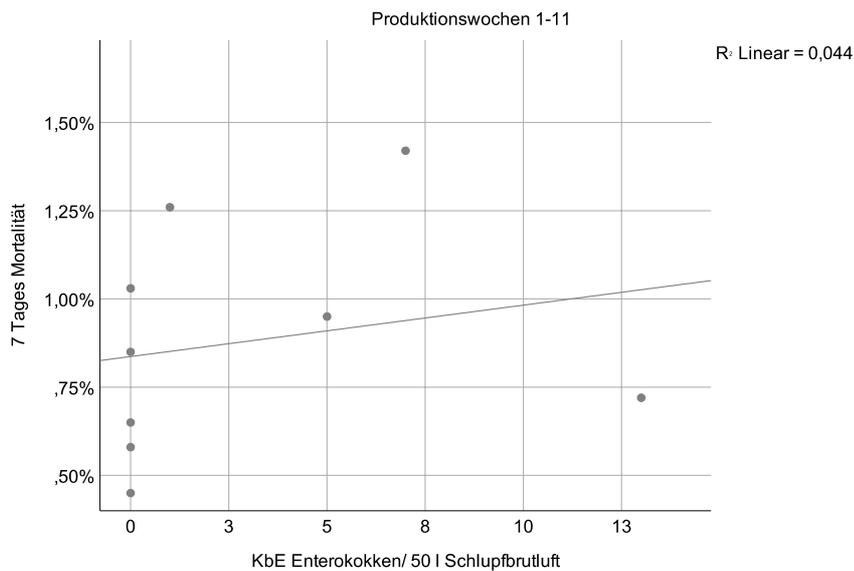


Abbildung 39. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 1-11.

Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

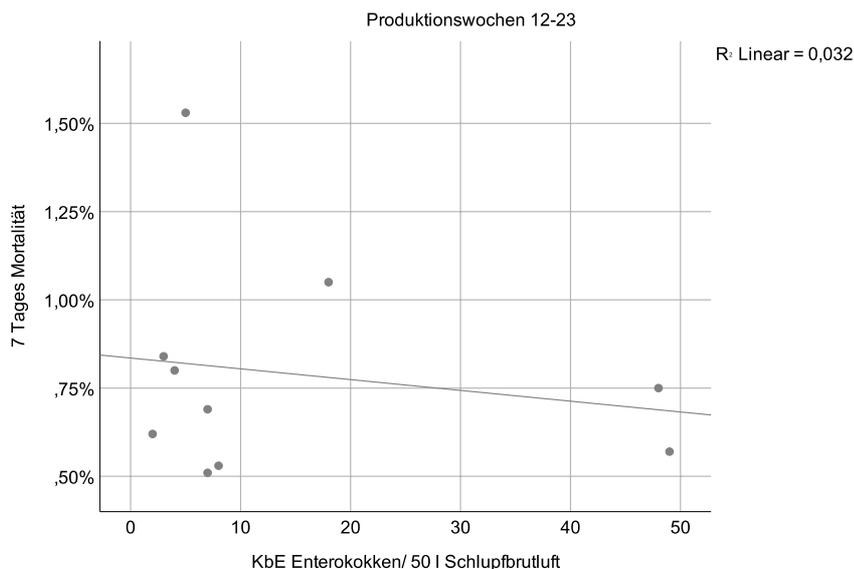


Abbildung 40. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 12-23. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt.

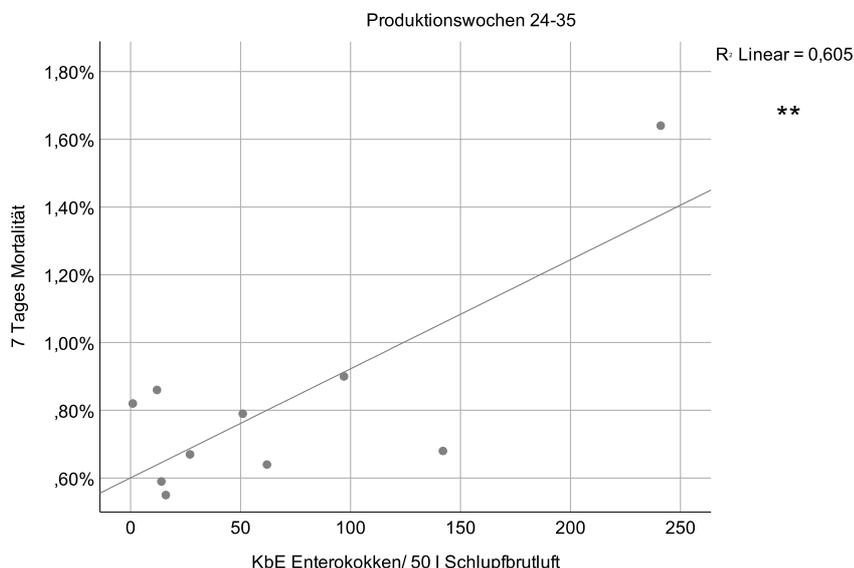


Abbildung 41. Lineare Regressionsanalyse: KbE Enterokokken zum Zeitpunkt der Kükenabnahme und kumulierte Verlustrate an Masttag 7 Produktionswochen 24-35. Die Ordinate bildet die 7-Tages Mortalität ab. Die Abszisse zeigt die KbE/ 50 l Schlupfbrutluft. Die Darstellung der Einzelwerte erfolgt durch Punkte. Zusätzlich wird eine Regressionsgerade eingefügt (\*\*: ANOVA,  $p < 0,01$ ).

## 5 DISKUSSION

### 5.1 Einfluss der Schlupfbrutphase auf das Vorkommen mikrobiologischer Aerosole während der Schlupfbrut

In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit ist ein signifikanter Anstieg von Mikroorganismen hinsichtlich Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae und Enterokokken im Laufe der Schlupfbrut zu beobachten (Abbildung 4, Abbildung 6, Abbildung 8, Tabelle 6). Die Schlupfbrutphase beeinflusst die Gesamtkeimzahl in der Schlupfbrutluft signifikant. Demnach ist anzunehmen, dass die mikrobiologische Belastung in der Schlupfbrutphase mit zunehmender Dauer bis zur Kükenabnahme signifikant ansteigt.

Die absolute Zahl an Enterobacteriaceae liegt dabei deutlich unter der der Gesamtkeimzahl und der der Enterokokken. Miura (1964) und Sato (1971) beschrieben Schwierigkeiten in Form von falsch negativen Ergebnissen bei dem Nachweis von *Salmonella spp.* aus Kükenstaub aus trockenem Probenmaterial und verwendeten aus diesem Grund für den Transport von Probenmaterial in das Untersuchungslabor flüssiges Nährmedium. Um das Risiko falsch negativer Ergebnisse im Rahmen der Untersuchung dieser Doktorarbeit zu minimieren, wurde das Probenmaterial in einem Zeitfenster von maximal 30 Minuten nach Impaktion auf dem Nährmedium in einem der Brüterei angeschlossenen Labor bebrütet. Jedoch kann ein negativer Einfluss auf die KbE der nachgewiesenen Mikroorganismen im Rahmen des Probenhandlings nicht vollständig ausgeschlossen werden. Insbesondere weißt auch das Luftkeimsammelverfahren der Impaktion einen moderaten Sammelstress insbesondere bei Gram-negativen Bakterien wie Enterobacteriaceae auf (Stewart, Grinshpun et al. (1995)), eine Luftkeimsammlung mittels ausgesprochen schonenden Impingement-Verfahren war jedoch aufgrund der sehr hohen Probennahmezahl- und Frequenz aus logistischen Gründen nicht durchführbar.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, dass Eintagsküken während und bis zum Ende der Schlupfbrut mit hoher Wahrscheinlichkeit einer steigenden Menge an Mikroorganismen ausgesetzt sind.

Magwood (1967) und Kim and Kim (2010) weisen auf einen Einfluss der mikrobiologischen Oberflächenkontamination des Schlupfbrüters zum Zeitpunkt der Umlage und vermutlich daraus resultierender Entwicklung von mikrobiologischen Bioaerosolen im Laufe der Schlupfbrut hin. Ein Einfluss der Oberflächenkontamination der Schlupfbrüteroberflächen ist also zu diskutieren. In der in dieser Arbeit untersuchten Brüterei werden regelmäßige Reinigungs- und Desinfektionskontrollen der Schlupfbrüter und Schlupfbruthorden durch Abklatschuntersuchung mithilfe von Caso-Abklatsch-Nährmedien des Unternehmens Oxoid® durchgeführt. Zielwert dieser Kontrolle ist ein Wert von 10 Kolonien pro 25 cm<sup>2</sup>. Der Wert wird

im Rahmen von Kontrollen nach einem definierten HACCP-Konzept der untersuchten Brüterei wöchentlich kontrolliert. Bei Abweichungen werden Korrekturmaßnahmen festgesetzt und die Wirksamkeit überprüft. Dieses Vorgehen wurde bereits 2002 von Hafez (2002) empfohlen. Die Untersuchungen werden am Schlupfbrüterboden beziehungsweise an der Schlupfbrüterwand sowie am Umluftventilator durchgeführt. Bei Überschreitung des Zielwertes von 10 KbE / 25 cm<sup>2</sup> am jeweiligen kritischen Kontrollpunkt werden die technischen Einrichtungen nachgereinigt und -desinfiziert. Erst dann erfolgt die Umlage. Somit ist anzunehmen dass sich das Niveau der mikrobiologischen Kontamination der Schlupfbrüter bei den Untersuchungen der mikrobiologischen Aerosolbelastung der untersuchten Brüterei bei Umlage der Bruteier der Vorbrut in die Schlupfbrut auf einem niedrigen Niveau von maximal 10 KbE/ 25 cm<sup>2</sup> bewegt und damit auch annäherungsweise konstant ist.

Eine Kontamination der Bruteier bei Manipulation in dem Prozess der Umlage von Vorbrut in Schlupfbrut ist ebenfalls denkbar. Hausleitner (2011) wies einen geringen Keimgehalt von 10<sup>0,33</sup> KbE pro Brutei von Eischalenoberflächen unmittelbar nach dem Zeitpunkt der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut an Bruttag 18 durch die „Shell-rinse“ Methodik nach. Die Untersuchungen wurden in der gleichen Masthähnchenbrüterei 9 Jahre vor den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit durchgeführt. Zusätzlich findet zwischen den Zeitpunkten T\_1530 und T\_1600 (Abbildung 13; Abbildung 18; Abbildung 23) eine Sonderapplikation des untersuchten Biozides im Sprühverfahren statt, um dem angesprochenen Vorgang entgegenzuwirken. Infolgedessen ist anzunehmen, dass sich die mikrobiologische Kontamination der Bruteischalenoberfläche zum Zeitpunkt der Umlage in der untersuchten Brüterei ebenfalls konstant auf einem niedrigen Niveau bewegt.

Die vorliegende Arbeit schließt an diese Untersuchungen an und zeigt im Vergleich zu den Ergebnissen von Hausleitner eine sehr niedrige Keimbelastung von 0-4 KbE/ 50 l Schlupfbrutluft (Tabelle 5, Tabelle 9) unmittelbar nach der Umlage der Bruteier von der Vorbrut in die Schlupfbrut.

Bezüglich der Umlage ist ein weiterer Risikofaktor zu diskutieren, welcher im praktischen Ablauf von Brütereien zwar bekannt ist, aber in der bisher veröffentlichten Literatur selten beschrieben wurde. Ugalde (2019) beschreibt eine Besiedlung des Eiinneren mit Gasbildnern (*Pseudomonas spp.*), möglicherweise infolge einer Trans-shell penetration. Durch den durch die Gasbildner erzeugten Überdruck im Eiinneren können die Bruteier im Verlauf der Brut sowie zugehöriger Prozesse platzen. Eine Manipulation der Bruteier wie sie während der Umlage von der Vor- in die Schlupfbrut praktiziert wird kann diesen Vorgang begünstigen. Das Platzen der Bruteier kann zu einer Kontamination der Umlagetechnik führen. Umgebende Bruteier auf der Horde können dadurch kontaminiert werden. Auch im Prozessablauf der Umlage nachfolgende Bruteier könnten durch die kontaminierten Oberflächen rekolonisiert werden. Einem solchen Vorgang wurde in der untersuchten Brüterei versucht durch

entsprechende Reinigung und Desinfektionsmaßnahmen nach Platzen von Bruteiern vorzubeugen.

Insgesamt bewegt sich die mikrobiologische Belastung der Oberflächen des Schlupfbrüters, die der Oberflächen der Bruteier, sowie der Raumluft des Schlupfbrüters zum Zeitpunkt der Umlage der Bruteier somit auf einem niedrigen Niveau.

Diese insgesamt geringe mikrobiologische Belastung der Einrichtungen der Schlupfbruttechnik zum Zeitpunkt der Umlage (interne Kontrolluntersuchungen der untersuchten Brüterei) sowie die der Bruteioberflächen zum Zeitpunkt der Umlage (Hausleitner 2011) lassen vermuten, dass der Anstieg der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut durch andere Faktoren ausgelöst wird.

Furuta (1980) konnte bereits Unterschiede zwischen Schlupfbrutphasen bezüglich der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut darstellen. So stieg die Keimbelastung in der Schlupfbrut um eine log-Stufe an Bruttag 20 und schließlich um bis zu 4 log-Stufen an Bruttag 21 gegenüber der Umlage.

Die Anzahl schlüpfender Küken steigt zum Ende der Schlupfbrutphase an. Der Zielwert des Schlupffensers in der untersuchten Brüterei betrug zum Zeitpunkt der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen 10% geschlüpfte Küken 24 Stunden vor Kükenabnahme. Im Rahmen des Versuchsaufbaus der Versuchsreihen in der vorliegenden Arbeit ist dieser Zeitpunkt zwischen dem Zeitpunkt Bruttag 20, 04:00 Uhr und Bruttag 20, 08:00 Uhr anzusiedeln (Abbildung 3, Abbildung 5; Abbildung 7).

Nach dem Schlupf der einzelnen Küken trocknet das Gefieder der Tiere ab. Abgeschilferte Rudimente des Gefieders bilden den umgangssprachlich bezeichneten „Kükenstaub“. Dieser Kükenstaub wird im Rahmen der Luftführung durch einen Umlüfter aufgewirbelt und durch Unterdruck durch einen zentralen Abluftkanal aus dem Schlupfbrüter gesaugt.

Mikrobiologische Kontamination des Kükenstaubs wurde bereits von diversen Autoren nachgewiesen (Wright, Anderson et al. 1959, Lancaster, Cooper et al. 1960, Miura 1964, Sato 1971, Kim and Kim 2010). Noch heute wird die kulturelle Untersuchung von Kükenstaub für das Monitoring der Effektivität von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen in Brütereien verwendet (Warren 2013). Die Bedeutung von Kükenstaub als Vektor für die Infektion von Küken während der Schlupfbrut wurde ebenfalls in der Vergangenheit thematisiert und nachgewiesen (Furuta 1980, Cason 1994).

Hinsichtlich des Schlupffensers stellte Fanguy (1980) ein Schlupfintervall von 32 bis 60 Stunden dar. Zudem beschrieb der Autor signifikante negative Einflüsse auf die Gewichtsentwicklung von Fröhschlüpfern bis hin zur 4. Lebenswoche, auch die 7-Tages Mortalität war bei Fröhschlüpfern erhöht. Ein verlängertes Schlupffenster könnte die Expositionsdauer gegenüber aerogen vorhandenen Mikroorganismen erhöhen und einen

Einflussfaktor auf negative Gewichtsentwicklung und erhöhte 7-Tages Mortalität, wie von Fanguy (1980) beschrieben, bilden.

Kim and Kim (2010) wiesen einen Anstieg der Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut zum Ende der Schlupfbrut hin nach. Die Art der Probenentnahme unterschied sich jedoch von der vorliegenden Arbeit. Die Autoren platzierten die Nährböden eine Minute direkt in den operierenden Schlupfbrüter. Ein Luftkeimsammler, der die Untersuchung eines definierten Luftvolumens ermöglicht, wurde nicht verwendet. Jedoch wurde der Schlupfbrüter in einem ähnlichen Zeitraum der Schlupfbrut im gleichen Zeitintervall (4 Stunden) beprobt. In dieser Studie wurden ebenfalls Plate-Count Nährmedien, ein Selektivnährboden für Enterobacteriaceae sowie ein Selektivnährboden für Schimmelpilze verwendet. Eine Aussage zur Umluftgeschwindigkeit des Schlupfbrüters sowie zum Typus des untersuchten Schlupfbrüters wurde in dieser Studie jedoch nicht getroffen. Die Studie zeigte eine deutlich höhere Belastung der Gesamtkeimzahl und mit coliformen Mikroorganismen als die vorliegende Arbeit. Bereits in der frühen Phase der Schlupfbrut konnten die Autoren bereits Mikroorganismen in der Schlupfbrut nachweisen. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten durch Unterschiede in der Methodik der Beprobung der Schlupfbrut begründet werden. Die Sensitivität eines direkt im operierenden Schlupfbrüter platzierten Nährbodens (Sedimentationsplatten) zur Luftkeimsammlung könnte die der angewandten Methode der Impaktion aufgrund des geringeren Sammelstresses übersteigen. Relevant für die Diskussion der Ergebnisse der vorliegenden Doktorarbeit ist hinsichtlich der Studie von Kim and Kim (2010) die Aussage des qualitativen Anstiegs von Gesamtkeimzahl und Coliformen im Laufe der Schlupfbrut. Dieser qualitative Anstieg konnte auch in den Ergebnissen der vorliegenden Doktorarbeit gezeigt werden. Die Ergebnisse nach Reinigung und Desinfektion des Schlupfbrüters vor Einlage der Küken übersteigen in den Untersuchungen von Kim and Kim (2010) deutlich die Ergebnisse der innerhalb des HACCP-Konzeptes durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionskontrollen der Brüterei, in der die die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden (Daten nicht veröffentlicht). Somit könnte die höhere mikrobiologische Belastung in der Studie von Kim and Kim (2010) im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen teilweise auch durch ein weniger effektives Reinigungs- und Desinfektionsprogramm in der untersuchten Brüterei begründet werden.

Die Entwicklung einer standardisierten Methode der Untersuchung von Kükenstaub erscheint daher notwendig, um künftig quantitativ vergleichbare Ergebnisse erzielen zu können. Technisch muss eine weitere Ursache für den Anstieg der nachgewiesenen Mikroorganismen während der Schlupfbrut in Betracht gezogen werden: Durch die Abtrocknung der geschlüpften Küken und die Entstehung von Kükenstaub muss für dessen Abtransport eine Erhöhung der Umluftgeschwindigkeit des Schlupfbrüters von 12 m<sup>3</sup> pro 1000 Bruteier auf konstant 50 m<sup>3</sup> Luft pro 1000 Bruteier, im Rahmen des entsprechenden

Schlupfbrutprogrammes, standardisiert ab Bruttag 20, 16:00 Uhr erfolgen. Die Erhöhung der nachgewiesenen Menge an Mikroorganismen pro 50 l Schlupfbrutluft könnte daher auch durch eine vermehrte Impaktion der Mikroorganismen auf das Nährmedium des Luftkeimsammlers durch eine Erhöhung der Luftrate des Umlüfters begründet werden. Jedoch steigt im Mittelwert der Beprobungszeitpunkte ab Bruttag 20, 16:00 Uhr, nach der Erhöhung der Umluftgeschwindigkeit im Schlupfbrüter die Menge an koloniebildenden Einheiten der Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae sowie Enterokokken bis hin zur Kükenabnahme. Dies bedeutet eine Zunahme der absoluten Anzahl an Mikroorganismen trotz des Versuchs des erhöhten Abtransportes von Wasser, Wärme, Kükenstaub und den damit verbundenen Mikroorganismen durch Erhöhung der Umluftgeschwindigkeit. Der Einfluss der Erhöhung der Umluftrate auf den signifikanten Anstieg des Nachweises von Mikroorganismen pro 50 l Schlupfbrutluft ist somit für den qualitativen Anstieg vernachlässigbar, muss jedoch bei der verwendeten Methode für die Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Vorrangig ist der systematische Anstieg von Mikroorganismen während der Schlupfbrut durch die erhöhte Schlupfrate von Küken und die damit einhergehende höhere Menge an Kükenstaub im Laufe der Schlupfbrut zu begründen.

Der Nachweis von Mikroorganismen könnte vom Schlupffenster des beprobten Schlupfes und somit abhängig von vorgelagerten Prozessen, dem angewandten Brutprogramm und den verwendeten Bruteiern beeinflusst werden.

Durch die Intervalluntersuchung der Luftkeimbelastung lassen sich die kritischen Phasen der mikrobiologischen Belastung identifizieren. Anhand der in dieser Arbeit erarbeiteten Daten könnten mögliche Interventionsmaßnahmen in den kritischen Phasen der erhöhten mikrobiologischen Belastung in Prozesse der Schlupfbrut von Broilereintagsküken entwickelt und implementiert werden.

Die im Folgenden ab Kapitel 5.3 diskutierten Ergebnisse der Evaluierung einer Einbringung eines Biozid in den Schlupfbrüter während des Schlupfes bilden ein Beispiel für eine solche Interventionsmaßnahme.

## 5.2 Einfluss der Produktionsphase der Elterntierherde und der Schlupfbrutphase auf das Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut

Die vorliegenden Untersuchungen dieser Arbeit stellen einen deutlichen Einfluss des Alters bzw. der Produktionswoche der die Bruteier produzierenden Mastelterntierherde auf das Vorkommen von Gesamtkeimzahl und Enterokokken während der Schlupfbrutdauer fest.

Der Einfluss des Produktionsalters der Elterntierherde ist bei der Gesamtkeimzahl von Produktionsphase zu Produktionsphase mit signifikanten Unterschieden zwischen den einzelnen Produktionsphasen zu beobachten. Demnach steigt die Gesamtkeimzahl kontinuierlich bis hin zum Ende der Produktionsphase der Elterntierherde (Abbildung 9).

Bei Altherden hat die Produktionsphase einen signifikanten Einfluss auf das Vorkommen von Enterokokken in der späten Phase der Schlupfbrut und führt zu einem signifikanten Anstieg der KbE in Schlupfbrutphase 3 (Abbildung 11).

Bei Enterobacteriaceae ist das Produktionsalter der Elterntierherde bezüglich des Vorkommens der Mikroorganismen in der Schlupfbrut hingegen nicht pauschal als bedeutende Einflussgröße zu werten. Ein signifikanter Anstieg der Enterobacteriaceae ist lediglich bei Altherden zu beobachten (Abbildung 10).

Das Produktionsalter der Elterntierherde ist somit neben der Schlupfbrutphase als weitere bedeutende Einflussgröße auf die mikrobiologische Luftkeimbelastung während der Schlupfbrut zu sehen. Vor allem in der Schlupfbrutphase 3 steigt die mikrobiologische Belastung in der Schlupfbrutluft bei steigendem Produktionsalter deutlich und bei Altherden (Produktionsphase 3; Produktionswoche 24-35) signifikant an.

„Im Allgemeinen gilt für die Bruteigewinnung der Grundsatz, je frühzeitiger nach der Eiablage die Einschleusung der Keime durch die Eischale unterbrochen wird, desto weniger Krankheits- und Schmutzkeime gelangen in das Eiinnere“ (Hafez 2002). So kann die Bruteibegasung mit Formaldehyd vor der Einlage der Bruteier in die Vorbrut zwar zu einer oberflächlichen Reduktion der Gesamtkeimzahl auf der Schale des Bruteis führen (Williams 1970, Hausleitner 2011, Olsen, Kudirkiene et al. 2017), dennoch könnten Mikroorganismen bereits vor der Bruteibegasung in die tieferen Schichten der physikalischen Barriere des Bruteis eingedrungen sein und über die Prozesskette der Brüterei hin persistieren und in der Schlupfbrut dann freigesetzt werden (Bailey, Cason et al. 1998, Berrang, Frank et al. 1998).

Bei einem vermehrten Auftreten von prädisponierenden Faktoren in der späten Produktionsphase von Elterntierherden könnte also die Bedeutung der Dauer zwischen Oviposition und Bruteibegasung steigen, da eine Penetration der physikalischen Barrieren durch Mikroorganismen mit zunehmender Dauer erleichtert wird.

Chen, Li et al. (2018) beschreiben die Qualität der Kalkschale als feste Einflussgröße auf die Penetration von Mikroorganismen in tiefe Schichten der physikalischen Barrieren des Bruteis. Mit abnehmender Dicke der Kalkschale steigt das Risiko einer Penetration von Mikroorganismen durch die Kalkschale hindurch. Chen, Li et al. (2019) vertiefen diese Hypothese und assoziieren erhöhte Opazität und Ausbildungsgrad der Kutikula sowie einen verminderten Porendurchmesser der Kalkschale von Bruteiern mit einer erniedrigten Penetrationsrate von *E. coli*. Berrang, Frank et al. (1998) konnten hingegen keine signifikante Korrelation zwischen der Produktionsphase der Elterntierherde und der Penetration von *Salmonella spp.* feststellen. Nichtsdestotrotz war eine nicht signifikante positive Korrelation vorhanden.

Untersuchungen bezüglich eines festen Effektes des Produktionsalters der Mastelntierherden auf die Penetration von Gesamtkeimzahl und Enterokokken wurden in der vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt und könnten künftig weiteren Aufschluss über Unterschiede dieses Mechanismus bezüglich verschiedener Spezies von Mikroorganismen geben.

Eine abnehmende Dicke der Kalkschale des Bruteis im Laufe der Produktionsphase von Mastelntierherden wird von mehreren Autoren beschrieben (Phillips, Brake et al. 1992, O'Dea, Fasenko et al. 2004). Auch Fathi (2019) beschreibt eine Verschlechterung der Kalkschalendicke bei extensiven und kommerziellen Legelinien ab der 54. Legewoche, dies entspricht circa der 29. Produktionswoche einer Mastelntierherde bei Festlegung des Produktionsbeginnes ab Lebenswoche 25. Samiullah, Omar et al. (2017) beschreiben einen signifikanten negativen Einfluss des Alters der Elterntierherde auf die Fusion von Mammillarkörper als Teil der organischen Matrix der Kalkschale. Ebenso war der Überzug der Eioberfläche durch die Kutikula bei 44-Wochen alten Herden deutlich stärker ausgeprägt als bei 64- und 73-Wochen alten Legehennenherden.

Berrang (1999) untersuchte Risikofaktoren der Penetration der physikalischen Barrieren des Bruteis und beschrieb eine mögliche Ätiologie der Penetration der physikalischen Barrieren des Bruteis. Eine Gegenüberstellung der vorstehend diesbezüglich diskutierten Punkte wirft die Frage auf, ob ein erhöhter mikrobiologischer Kontaminationsgrad der Schlupfbrutluft nicht primär durch die Produktionsphase der Elterntierherde sondern vielmehr durch die Dicke der Kalkschale sowie den Ausprägungsgrad der Kutikula beeinflusst werden könnte, die im weiteren Sinne mit dem Produktionsalter der Mastelntierherde korrelieren können.

Diese Beobachtungen lassen insgesamt auf eine Beeinträchtigung der Eischalenqualität mit zunehmendem Alter der Hühnerherde schließen, sowohl auf Ebene der organischen Matrix, als auch auf Ebene der anorganischen Matrix. Weiterführende Untersuchungen der Beschaffenheit der tieferen Schichten der physikalischen Barrieren des Bruteis und ihrer

Funktion als Vektor hingegen könnten weiteren Aufschluss über die Ätiologie der vorliegenden Ergebnisse geben.

Bailey, Cason et al. (1998) zeigte, dass bereits eine Inokulation von *Salmonella spp.* von wenigen Eiern eines Schlupfbrutsammelgeleges zu einer weiten Verbreitung und Besiedlung des Erregers innerhalb der in einem Schlupfbrüter schlüpfenden Küken führen kann. So könnte die Erhöhung der Konduktionsrate der Penetration bereits weniger Bruteier eines Schlupfbrutgeleges durch das Produktionsalter der Elterntiere beeinflusst werden und damit das vermehrte Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut älterer Mastelertierherden begründet werden. Montgomery, Boyle et al. (1999) und Cason (1994) zeigten ebenfalls, dass in der Schlupfbrut eine horizontale Übertragung von Enterobacteriaceae vonstatten gehen kann. Bemerkenswert sind hierbei die Untersuchungen von Montgomery, welcher einen Transfer von *E. coli* einer inokulierten Versuchsgruppe in den oberen Respirationstrakt von Tieren einer Kontrollgruppe in einem Schlupfbrüter nachweisen konnte. Setzt man hierzu die Entwicklung von Enterobacteriaceae nach Abbildung 5 in Kontext, so könnte ein Anstieg von Enterobacteriaceae in Abhängigkeit von der Schlupfbrutphase zu einer Exposition des Respirationstraktes aller Küken des Schlupfbrüters führen.

Dieser Effekt ist dann statistisch schwierig zu erfassen, da mit den bisher bekannten konventionellen Methoden dementsprechend eine sehr große Stichprobe untersucht werden müsste um eine valide Aussage treffen zu können. Dies gestaltet sich im praktischen Arbeitsablauf einer Brüterei als schwierig. Bekannte Prädispositionen für den Mechanismus der „Trans-shell penetration“, wie die Dicke der Kalkschale, sowie Opazitätsmessungen der Kutikula der Bruteier beispielsweise zum Zeitpunkt der Bruteisammlung festzustellen, könnte jedoch die Grundlage eines Früherkennungssystems zur Echtzeitbewertung der Inzidenz des Vorkommens der genannten prädisponierenden Faktoren bilden.

Der makroskopische Verschmutzungsgrad der Eier kann mit der mikrobiologischen Belastung des Bruteis assoziiert werden (Berrang 1997).

Hausleitner (2011) stellte signifikante Unterschiede hinsichtlich der mikrobiologischen Qualität der angelieferten Bruteier zwischen Bruteilieferanten einer Brüterei fest. Somit könnten auch standortbezogene Unterschiede hinsichtlich der mikrobiologischen Kontamination von Bruteiern bestehen.

Bruce (1977) beobachtet einen signifikanten Anstieg an kontaminierten Eiern mit ansteigendem Alter der Produktionsherde bei „Steckenbleibern“ (nicht geschlüpfte Küken während der Schlupfbrut). Board (1994) diskutierte dieses Ergebnis und begründete dies unter anderem mit einer im Laufe der Produktionsphase stärker verschmutzenden Umwelt der Oviposition (Quarles, Gentry et al. 1970, Carter, Gentry et al. 1973). Berrang (1997) hingegen

konnte keinen signifikanten Anstieg des mikrobiologischen Verschmutzungsgrades von Bruteiern während der Produktionsphase von Mastelertierherden feststellen, sondern stellte vielmehr Fluktuationen während der gesamten Produktionsphase fest.

Dem Brutei vor- beziehungsweise gleichgeschaltet muss aufgrund dieser Ergebnisse auch der mikrobiologische Status des Elterntierstandortes mitsamt seiner individuellen betrieblichen Hygieneabläufe näher betrachtet werden. Beschaffenheit von Nestmatten, Sammelbändern, Personalhygiene bei der Sammlung der Bruteier, Handhabung und Lagerungskonditionen und Lagerdauer der Bruteier auf der Farm sowie Transportkonditionen und Dauer bis zur Bruteibegasung müssen hinterfragt und beleuchtet werden, um mögliche Einflussfaktoren der Kontamination und Vektorfunktion von Bruteiern isolieren zu können. Ein modellierender Ansatz ist hier denkbar, in welchem festgesetzte kritische Kontrollpunkte dieser Prozesse miteinfließen und eine Gesamtgemengelage abbilden können. Die mikrobiologische Kontamination von Bruteiern kann auf mannigfaltige Weise erfolgen. So könnten zahlreiche kleine Effekte zu einem signifikanten Effekt auf die mikrobiologische Bruteiqualität führen.

Eine Veränderung des intestinalen Mikrobioms der Elterntierhenne und damit einhergehende Veränderungen in der Besiedlung des Bruteis durch intestinale Kommensale der Elterntierherde könnte einen weiteren Einflussfaktor darstellen. Sowohl der Wirt selbst als auch Umweltfaktoren nehmen einen wesentlichen Einfluss auf die Zusammenstellung des Mikrobioms des Haushuhnes (Kers, Velkers et al. 2018). Eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Mikrobiomveränderungen der Elterntierhenne während der Produktionsphase der Tiere auf den mikrobiologischen Status der Nestmatte und Veränderungen während der Produktionsphase von Mastelertierherden, könnte hier weitere Aufschlüsse geben.

Schlussfolgernd aus den Ergebnissen dieses Teils der vorliegenden Arbeit in Verbindung mit der aktuell vorhandenen Literatur könnte eine erhöhte mikrobiologische Belastung während der späten Schlupfbrut von Sammelgelegen älterer Mastelertierherden zum einen durch die Beeinträchtigung der Abwehrfunktionen der physikalischen Barrieren des Bruteis und zum anderen durch erhöhten Druck der mikrobiologischen Kontaminanten in der Umwelt der Oviposition sowie auf nachgelagerten Kontaktflächen des Bruteis begründet sein. Ein Zusammenspiel dieser beiden Faktoren könnte eine Erklärung für die Ergebnisse dieser Arbeit darstellen und stellt die gleichzeitige Notwendigkeit der Identifikation weiterer Prädispositionsfaktoren heraus.

Es sollte also im Praxisablauf vor allem in der späten Produktionsphase von Elterntierherden ein Augenmerk auf Bruteiqualität, namentlich Dicke der Kalkschale und Ausprägungsgrad der Kutikula gelegt werden. Bruteihandling sowie der mikrobiologische Zustand der Haltungsumgebung sollte optimiert werden, um die mikrobiologische Besiedlung und damit möglicherweise das Vorkommen von Mikroorganismen in der Schlupfbrut zu vermindern. Die

Bruteibegasung sollte so schnell und so effektiv wie möglich durchgeführt werden, um das Zeitfenster einer möglichen Penetration der physikalischen Barrieren des Bruteis nach Kolonisation der Bruteioberfläche zu minimieren. Zudem ist eine maximale Eilagerdauer von 7 Tagen anzustreben.

### 5.3 Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut

In der vorliegenden Arbeit (5.1, 5.2) wurde gezeigt, dass die mikrobiologische Belastung in Abhängigkeit der Schlupfbrutphase zur Kükenabnahme hin signifikant steigt. Eine Exposition der schlüpfenden beziehungsweise geschlüpften Küken gegenüber einem sich in Abhängigkeit von Schlupfbrutphase und Produktionsphase der Elterntierherde stark zunehmendem, möglicherweise schädigendem Schlupfbrütermikrobiom ist gegeben. Ätiologisch wurden Ursachen der vorgeschalteten Prozesse betrachtet, welche zu der erhöhten mikrobiologischen Belastung in der Schlupfbrut führen könnten. Mögliche negative Effekte einer Exposition gegenüber Staub und Mikroorganismen beziehungsweise deren Virulenzmechanismen werden im Kapitel 5.5.2 diskutiert.

Eine mögliche Maßnahme zur Reduktion von Mikroorganismen in der Schlupfbrut, die Biozideinbringung, wurde in dieser Arbeit evaluiert. Sie stellt ein chemisches Verfahren zur Inaktivierung von Mikroorganismen dar. Die Effektivität einer Biozideinbringung in die Schlupfbrut wurde mehrmals in der Literatur beschrieben und als wirksam zur Reduktion von Mikroorganismen allgemein befunden (Sander, Wilson et al. 1995, Sander, Wilson et al. 1995, Sander and Wilson 1999, Kim and Kim 2010, de Gouw, van de Ven et al. 2017). Vor allem Formaldehyd und Wasserstoffperoxid fanden als Biozid zur Keimreduktion während der Schlupfbrut in der Literatur Beachtung und wurden angewendet. Eine Überlegenheit von Formaldehyd gegenüber Wasserstoffperoxid hinsichtlich der Reduktion von Mikroorganismen während der Schlupfbrut wurde dabei festgestellt (Mitchell and Waltman 2003). Arbeitsrechtliche Regelungen in Deutschland machen den Einsatz von Formaldehyd in der Bundesrepublik Deutschland in dem Prozess der Schlupfbrut nur unter sehr hohem technischen und finanziellen Aufwand möglich und machen diesen dadurch beinahe obsolet (Gefahrstoffe 2013). Die Verwendung von Bioziden auf der Grundlage von Wasserstoffperoxid wird dadurch unter den gegebenen rechtlichen Gegebenheiten attraktiver. Ein Vergleich des in dieser Arbeit evaluierten Biozids auf Basis von Wasserstoffperoxid und Peressigsäure (3.4) mit Formaldehyd war aufgrund der mangelnden gegebenen Voraussetzungen zum legalen Einsatz von Formaldehyd in der Schlupfbrut in dem Versuchsaufbau nicht umzusetzen.

Der Einsatz des angewandten Biozids führte im Mittel aller Untersuchungen zu einer signifikanten Reduktion der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut. Eine signifikante Reduktion der Gesamtkeimzahl wurde ebenfalls erreicht (Abbildung 12; Tabelle 8). Eine signifikante Reduktion der Gesamtkeimzahl konnte bei allen Altersgruppen beobachtet werden. Abbildung 14, Abbildung 15 und Abbildung 16 stellen deutlich dar, dass die Effektivität einer Reduktion der Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut durch eine Biozideinbringung vor allem bei fortschreitendem Alter der Elterntierherden zum Tragen

kommt, bei denen es wie bereits gezeigt zu einem starken Anstieg der Schlupfbrutluftbelastung kommt. Der Einsatz des angewandten Biozids könnte demzufolge die Gesamt-Expositions-dosis während der Schlupfbrut, welcher der Küken während des Schlupfes ausgesetzt sind, deutlich reduzieren.

Diese Beobachtung bestätigt sich bei Betrachtung der Reduktion von Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut (Abbildung 17). Gegenüber der Gesamtkeimzahl, welche in dieser Studie als Indikatorparameter für die grundsätzliche mikrobiologische Belastung gilt, können innerhalb Enterobacteriaceae Mikroorganismen vorgefunden werden, welche einerseits wie *E. coli* die Kükengesundheit negativ beeinflussen könnten (Montgomery, Boyle et al. 1999) oder andererseits *Salmonella spp.*, welche neben dem negativen Einfluss auf die Kükengesundheit auch enorme Verbraucherschutztechnische Bedeutung besitzen können. Eine signifikante Reduktion von Enterobacteriaceae durch Biozideinbringung wurde über alle untersuchten Altersgruppen der Elterntierherden hinweg beobachtet (Abbildung 19, Abbildung 20, Abbildung 21). Trotz der effektiven Reduktion von Enterobacteriaceae in der Schlupfbrut konnte allerdings auch in Schlupfbrutphasen, in welchen eine Biozideinbringung stattfand, ein Gesamtanstieg von Enterobacteriaceae in Abhängigkeit des Alters der Elterntierherde beobachtet werden. Somit kann die mikrobiologische Belastung in der Schlupfbrut durch eine Einbringung von Biozid zwar reduziert, jedoch nicht eliminiert werden.

Die Untersuchungen bezüglich des Auftretens von Enterokokken bestätigen diese Beobachtung in der Tendenz. Eine Reduktion von Enterokokken durch das eingebrachte Biozid war zu beobachten, diese war jedoch im Überblick aller Untersuchungen hinweg nicht signifikant (Abbildung 22, Tabelle 11). Bei Enterokokken wurde eine signifikante Reduktion der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut lediglich bei Küken von Altherden (Produktionsphase 3; Produktionswoche 24-35) beobachtet (Abbildung 24, Abbildung 25, Abbildung 26). Schlupfbrutphasen von Küken junger und mittelalter Elterntierherden zeigten zwar eine tendenzielle Reduktion der Enterokokkenbelastung in der Schlupfbrut, der Effekt war jedoch nicht signifikant.

Frühere Untersuchungen konzentrierten sich vermehrt auf die therapeutische Breite von Bioziden (Sander, Wilson et al. 1995, Sander, Wilson et al. 1995) und deren Auswirkung auf die Integrität des Respirationstraktes von Masthuhnküken und der Performance der Masthuhnküken bezüglich Zielparameter in der Mast. Aus diesem Grund ist ein Vergleich des Effekts des angewandten Biozids durch die vorhandene Literatur auf mikrobiologischer Ebene im Schlupfbrutverlauf schwer durchzuführen.

Kim and Kim (2010) wiesen auf die Bedeutung der kontinuierlichen Einbringung des Biozids während der Schlupfbrut hin. So wurde die einmalige Einbringung eines Biozids mithilfe von Schalen zu Beginn der Schlupfbrut mit einer kontinuierlichen Einbringung eines Biozids verglichen. In diesen Untersuchungen stellte sich die kontinuierliche Einbringung des Biozids

als überlegen heraus für die Reduktion von Mikroorganismen gegenüber einer einmaligen Einbringung des Biozids zu Beginn der Schlupfbrut. Die Ergebnisse von Kim and Kim (2010) konnten durch die vorliegende Arbeit im Wesentlichen bestätigt werden. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse und damit dem Grad der Reduktion der mikrobiologischen Belastung ist durch die unterschiedliche Art der Methodik jedoch nicht möglich. Die Erkenntnis von Kim & Kim resultierte aus den durchgeführten Verlaufsuntersuchungen der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut. Dies beeinflusste die Versuchsplanung der vorliegenden Arbeit.

Ätiologisch muss die Wirksamkeit der Biozideinbringung unter zwei Gesichtspunkten diskutiert werden. Zum einen kann die biologische Aktivität der eingebrachten Substanzen einen Effekt auf die in der Schlupfbrut vorhandenen Mikroorganismen ausüben. Zum anderen könnte durch die bloße physikalische Bindung des Kükenstaubes durch das kontinuierlich eingebrachte flüssige Medium eine Sedimentation des Bioaerosols erfolgen und somit die Nachweisbarkeit in der Abluft des Schlupfbrüters durch die angewandte Untersuchungsmethode reduzieren.

„Die chemische Inaktivierung von Mikroorganismen und Viren wird durch die Art, Resistenz und Zahl der beteiligten Keime, von der Art und den Eigenschaften des Desinfektionsmittels sowie von äußeren Bedingungen während der Einwirkung der Chemikalien bestimmt.“ (Böhm 2002). Die biologische Aktivität des angewandten Biozids wird durch seine Komponenten Peressigsäure und Wasserstoffperoxid erreicht.

Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel verfügt über eine Wirksamkeit gegenüber Gram-positiven sowie Gram-negativen Bakterien (bakteriostatisch 0,2-0,3%ig und bakterizid 0,5-3%ig), Sporenbildnern, behüllten und unbehüllten Viren sowie gegenüber Pilzen (10%ig) (Schmerold 2009). Eine schädliche Wirkung auf die Atemwege von Menschen (10 mg/ m<sup>3</sup>) und Ratten (110 mg/ m<sup>3</sup>) ist in Gasform beschrieben (Böhm 2002).

Peressigsäure ist den organischen Säuren zuzuordnen und zählt zugleich jedoch zu den Sauerstoffabspaltern und damit den Oxidationsmitteln und verfügt über eine dem Wasserstoffperoxid vergleichbare Wirksamkeit (Schmerold 2009). Die Toxizität wird von Böhm (2002) durch den schnellen Abbau zu Essigsäure und Wasser als gering eingeschätzt. Beide Wirkstoffe wirken als Sauerstoffabspalter. Freie Sauerstoffradikale führen zur biologischen Wirksamkeit, der Oxidation von Zellproteinen und Nukleinsäuren von Mikroorganismen (Böhm 2002).

Eine Inaktivierung der untersuchten Mikroorganismen könnte also aus pharmakodynamischer Sicht durch das eingebrachte Biozid zu einer Reduktion der festgestellten Anzahl der Mikroorganismen geführt haben. Eine Reduktion von Mikroorganismen wurde möglicherweise durch eine Kombination aus biologischer Aktivität der Wirkstoffe und physikalischer Effekte durch Sedimentation erzielt. Zugleich weisen Enterokokken von den in dieser Studie untersuchten Mikroorganismen die höchste Widerstandsfähigkeit gegenüber

Desinfektionsmitteln auf, so dass die gefundenen, nur geringen, nicht signifikanten Effekte gegebenenfalls auf einer zu geringen Wirkstoffkonzentration des eingesetzten Biozids zurückzuführen sind.

Mitchell and Waltman (2003) beschreiben eine weitere physikalische Interventionsmaßnahme gegen mikrobiologische Belastung in der Schlupfbrut. Der Ansatzpunkt bildet nicht die Inaktivierung von Mikroorganismen des Kükenstaubs durch chemische Verfahren oder die physikalische Bindung durch die Bindung an flüssiges Agens, sondern die physikalische Bindung des Kükenstaubs durch elektrostatische Aufladung von Oberflächen innerhalb des Schlupfbrüters. Dies führte zu einer signifikanten Reduktion von Enterobacteriaceae gegenüber einer Anwendung von Wasserstoffperoxid. Zudem wurde eine Reduktion der horizontalen Übertragung von *Salmonella spp.* festgestellt. Der Vorteil der physikalischen Bindung des Kükenstaubs durch elektrostatische Aufladung liegt in der fehlenden Umschichtung des Aerosols durch Umlüfter im Schlupfbrüter. Das Tier wird somit bei der Abführung des Kükenstaubs über die Abluft nicht erneut dem Bioaerosol ausgesetzt. Eine Reduktion von Enterobacteriaceae durch diese Anwendungsmöglichkeit wurde zudem bei 8-Wochen alten Junghennen in einer Junghennenaufzucht erreicht (Richardson, Mitchell et al. 2003). Der Nachteil dieser Methode besteht in dem Verbleiben des Bioaerosols im Schlupfbrüter während der Schlupfbrut. Dieser Nachteil könnte durch chemische Inaktivierung des verbleibenden Bioaerosols im Schlupfbrüter ausgeglichen werden. Weitere Untersuchungen wurden seit 2003 hierzu jedoch nicht mehr durchgeführt.

Die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut kann somit mithilfe eines chemischen Verfahrens durch die Einbringung eines Biozids deutlich reduziert werden. Essentiell ist dabei die kontinuierliche Einbringung des Biozids während der Schlupfbrut um eine kontinuierliche Wirkung des Biozids über die gesamte Schlupfbrut hinweg aufrechtzuerhalten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass die Einbringung des Biozids auf Wasserstoffperoxid und Peressigsäurebasis vor allem zu Ende der Schlupfbrut hin und vor allem bei älteren Elterntierherden eine effektive Wirkung bezüglich der Reduktion der Keimzahl erzielt. Somit ist bei älteren Elterntierherden, insbesondere in der kritischen Schlupfbrutphase 3 eine Biozideinbringung in der Schlupfbrut für eine effektive Reduktion der Keimzahl in der Schlupfbrut zu empfehlen.

#### 5.4 Einfluss der Einbringung eines Biozids in die Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Masthuhnküken an Masttag 7

Bereits in der Einleitung dieser Arbeit wird thematisiert, dass wenig harte Parameter für die Bewertung der Qualität von ausgelieferten Broilereintagsküken zur Verfügung stehen. Etabliert für die kommerzielle Kükenvermehrung ist bisher der Leistungsparameter der relativen Mortalitätsrate der ausgelieferten Mastküken an Masttag 7. Dieser dient als Qualitätsindikator für das ausgelieferte Eintagsküken und damit indirekt für die Strukturen und deren Ausführung in den Vorstufen der Kükenvermehrung. Er besitzt in der Praxis eine große Bedeutung als Beurteilungsgrundlage für den Aufzüchter für die produzierten Küken sowie als Kennzahl der Produktqualität von Brütereien.

Yassin, Velthuis et al. (2009) konnten bei Untersuchungen des Parameters der 7-Tages Mortalität in den Niederlanden eine Spannweite von 0,0% bis 3,3% bei einem Mittelwert von 1,5% darstellen. Zudem konnte ein Modell entwickelt werden, welches unter der Einbeziehung von Einflussgrößen, dem Alter der Elterntierherde, Dauer der Eilagerung der Bruteier in der Brüterei, Futtermühle der Broilerfarm, Jahr, Jahreszeit und Brüterei auf die 7-Tages Mortalität Variationen in eben jener zu 66 % darstellen können soll. Diese Studie zeigt einen signifikanten Einfluss der Elterntierfarm und der Brüterei auf die 7-Tages Mortalität auf.

Kingston (1979) beschrieb zudem einen Einfluss des Schlupfzeitpunktes auf die Mortalität von Küken an Masttag 10. Die 10-Tages Mortalität von Frühschlüpfern überstieg mit 3,3% die der Küken, welche zum Peak des Schlupfes schlüpften mit 1,2% deutlich. Eine längere Exposition gegenüber Mikroorganismen in der Schlupfbrut könnte hier, neben den in der Studie genannten Faktoren wie Dehydratation oder Beinschäden, einen Einflussfaktor darstellen.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Herden zeigten bei einer Spannweite von 0,36% bis 1,64% (Tabelle 12; Tabelle 13) einen Mittelwert von 0,76% 7-Tages Mortalität (Abbildung 28). Die Qualität der Küken dieser beiden Elterntierherden ist also im Vergleich zu den Untersuchungen von Yassin auf Grundlage der 7-Tages Mortalität als gut einzustufen.

Des Weiteren muss für die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit angemerkt werden, dass die Einnistung der untersuchten Küken in 8 verschiedenen Farmen stattfand. Alle Farmen waren Eigentum der untersuchten Brüterei, baulich nahezu identisch und die Brooding Phase beziehungsweise das Management der ersten 7 Lebensstage der Tiere wurde standardisiert und von der gleichen Produktionsleitung überwacht. Nichtsdestotrotz lassen sich farmspezifische Einflüsse auf die ausgelieferte Kükenqualität nicht bei der Verwendung des Parameters der 7-Tages Mortalität extrapolieren bzw. ausschließen.

Das angewandte Biozid führte tendenziell zu einer Reduktion der 7-Tages Mortalität im Mittel beider Herden. Dieser Effekt war jedoch insgesamt nicht signifikant. Bemerkenswert ist jedoch,

dass das Biozid den Parameter der 7-Tages-Mortalität auf Maximalwerte von 1% abpuffern konnte (Abbildung 28; Tabelle 12).

So könnte das eingesetzte Biozid bei Schlüpfen aus Bruteiern, welche eine höhere mikrobiologische Kontamination beziehungsweise eine ineffiziente Bruteibegasung nach Bruteianlieferung in der Brüterei erfahren haben, als Kompensationsmechanismus der Aerosolbelastung während der Schlupfbrut dienen. Insbesondere bei Küken von Elterntierherden in einer späten Produktionsphase ist der Einsatz eines Biozids zu empfehlen. Positiv zu bewerten ist eine tendenzielle Reduktion der 7-Tages Mortalität durch die Einbringung eines Biozids. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass eine toxische Wirkung des Biozids auf die Tiere nicht erreicht wird. Böhm (2002) stellte bereits die niedrige Toxizität von Sauerstoffabspaltern wie Wasserstoffperoxid und Peressigsäure dar. Weiterführende histologisch-pathologische und ethologische Untersuchungen sollten künftig erfolgen, um diese Fragestellung abschließend bewerten zu können.

Es bestehen keine Vergleichsuntersuchungen bezüglich des Keimgehaltsverlaufs bei Bruteibegasungen während der Schlupfbrut mit Formaldehyd. Somit kann zwar bestätigt werden, dass das verwendete Biozid zu einer Verminderung der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut führen kann, eine komparative Aussage zum Grad der Wirksamkeit gegenüber Formaldehyd kann jedoch nicht getroffen wird.

Abschließend lässt sich schlussfolgern, dass die Anwendung des verwendeten Biozids in der Schlupfbrut die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut deutlich reduzieren und zudem einen positiven Effekt auf die Reduktion der 7-Tages Mortalität haben kann. Jedoch ist der Effekt auf die 7-Tages Mortalität im Vergleich zur untersuchten Kontrollgruppe nicht signifikant. Auch herdenbezogen konnte ein positiver Effekt des Einsatzes des angewandten Biozids während der Schlupfbrut erzielt werden, wenn auch wiederum bei beiden Herden nicht signifikant. Die Anwendung des Biozids ist insgesamt jedoch als positiv zu werten, da ein Überschreiten der 1% Grenze der 7-Tages Mortalität vermieden werden konnte.

Um den Begriff der Kükenqualität näher spezifizieren zu können, ist zudem weitere Forschungsarbeit zur Ausarbeitung von harten Parametern notwendig.

## 5.5 Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die Kükengesundheit

### 5.5.1 Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die relative Verlustrate von Küken an Masttag 7

Ein zu diskutierender Einfluss der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut auf die 7-Tages Mortalität ist durch das vermehrte Vorkommen von Enterokokken bei Altherden in Produktionsphase 3 (60,5%; Abbildung 41) ersichtlich.

Eine positive Korrelation der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut mit der relativen Verlustrate von Broilern zum Masttag 7 ist zu diskutieren. Der Effekt könnte aufgrund der vorliegenden Daten durch folgende Faktoren beeinflusst werden.

- Produktionsphase der Elterntierherde
- Spektrum der mikrobiologischen Belastung

Tendenziell ist in der Produktionsphase der Produktionswochen 24-35 eine größere Menge an Mikroorganismen nachzuweisen als in den vorherigen Produktionsphasen (Abbildung 9; Abbildung 10; Abbildung 11). Mögliche Ätiologie und mögliche negative Einflüsse des Produktionsalters von Mastelterntierherden auf die Keimzahl wurden in 5.2 dargelegt.

Des Weiteren zeigen Abbildung 34 - Abbildung 41 den unterschiedlichen Einfluss der Mikroorganismenspezies auf die 7-Tages Mortalität. Die Gesamtkeimzahl zeigt tendenziell die höchste Anzahl an nachgewiesenen Mikroorganismen in der Schlupfbrut (Abbildung 3, Abbildung 5, Abbildung 7), hat jedoch keinen Einfluss auf die 7-Tages Mortalität von Eintagsküken. Der Einfluss von Enterobacteriaceae und Enterokokken auf die 7-Tages Mortalität von Küken ist vergleichsweise stärker unter Berücksichtigung der Produktionsphase 3 der Mastelterntierherde zu gewichten (Abbildung 37; Abbildung 41).

Bei einer Untersuchung der 7-Tages Mortalität bei Legehennenküken durch Olsen, Frantzen et al. (2012) wurde 50% der festgestellten Mortalität durch infektiöse Ursachen begründet. Ätiologisch signifikanten Einfluss übten die Spezies *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* aus, wobei beiden Erregern durch die Autorin ein unterschiedlicher Ursprung bescheinigt wurde. Fertner, Olsen et al. (2011) konnten zum Zeitpunkt des Schlupfes bei Lohmann Brown Küken durch Kloakenabstriche bis zu 4 genetisch unterschiedliche Typen von *Enterococcus faecalis* nachweisen. Der Anteil an kolonisierten Küken stieg bei Lohmann Brown Tieren im Laufe der Schlupfbrut von 14% (Zeitpunkt des Schlupfes) auf 94% (24 Stunden nach Schlupf). Fertner erklärte diese Steigerung durch eine horizontale Übertragung der Erreger während des Schlupfes und bezog sich diesbezüglich ebenfalls auf Cason (1994) und Mitchell and Waltman (2003). Fertner, Olsen et al. (2011) konstatierte einen Nachweis von einem einzelnen spezifischen Sequenztyp, welcher bei Legehennen mit Amyloider Arthropathie in Verbindung

gebracht wurde. Olsen begründet den Nachweis verschiedener Sequenztypen mit unterschiedlichen Ursprüngen der Mikroorganismen.

Kemmett, Williams et al. (2014) konnten in einer Feldstudie den Anteil von systemischen *E. coli*-Infektionen an der Mortalität von Eintagsküken am ersten Masttag auf 70,27% beziffern. Bemerkenswert ist auch in diesem Zusammenhang, dass diese Mortalität durch 5 phylogenetisch unterschiedliche Stämme von *E. coli* verursacht wurde.

Vertreter der Bakterienfamilie Enterobacteriaceae und des Genus *Enterococcus* sind demnach theoretisch und praktisch in der Lage einen Einfluss auf die 7-Tages Mortalität von Küken auszuüben, selbst wenn sie phylogenetisch unterschiedlichen Ursprunges sind. Schlussfolgernd ist es möglich, dass Mikroorganismen, welche während der Schlupfbrut von Hühnerküken in der kommerziellen Brut isoliert werden können, in der Schlupfbrut horizontal zwischen den Küken übertragen werden und anschließend zu einem negativen Einfluss in Form einer Erhöhung des Parameters der 7-Tages Mortalität von Eintagsküken führen könnten.

Der nicht signifikante Grad des Effektes der in dieser Dissertation erhobenen Daten (Abbildung 30-Abbildung 41) zeigt, dass die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut nicht der alleinige Faktor ist, welcher die relative Mortalität von Broilerküken zum Masttag 7 beeinflusst. Weitere Faktoren auf die 7-Tages Mortalität wurden bereits von Yassin, Velthuis et al. (2009) und Kingston (1979) beschrieben (5.4). Somit ist es notwendig, für eine Erhöhung der Effektstärke eines linearen Regressionsmodells weitere Faktoren in das Modell einzubeziehen und künftig eine multiple Regression zu diesem Zweck durchzuführen.

Weitere Einflussfaktoren auf die 7-Tages Mortalität wurden bereits in der Literatur von diversen Autoren diskutiert: Grochowska, Kinal et al. (2019) zeigten, dass neben der Produktionsphase der Elterntierherde auch die Lagerdauer der Bruteier sowie der Vorbrüter und der Schlupfbrütertypus einen Einfluss auf die 7-Tages Mortalität von Broilerküken ausübt. Der Einfluss des Vorbrüters ist diesbezüglich über den Einfluss des Schlupfbrüters zu stellen. Unterschiede hinsichtlich des Einflusses von verschiedenen technischen Konstruktionen von Vorbrütern konnten im Rahmen dieser Dissertation nicht untersucht werden, da nur ein technisches System im Rahmen dieser Doktorarbeit in der untersuchten Brüterei verwendet wurde. Denkbar ist neben dem Einfluss des technischen Aufbaus des Vorbrüters auch der Einfluss von technischen Einstellungen während der Vorbrut auf die 7-Tages Mortalität. Vorbrutgelege, Sauerstoffversorgung, Temperatureinstellung, (Lourens, van den Brand et al. 2005, Lourens, Molenaar et al. 2006, Molenaar, Meijerhof et al. 2010, Molenaar, Hulet et al. 2011, Molenaar, van den Anker et al. 2011, Molenaar, van den Borne et al. 2013) und Verteilung sowie relative Luftfeuchtigkeit (Ar 1974, Campbell 2009, de Lange 2010) bilden in der Vorbrut eine Gemengelage und könnten dadurch weitere Einflussfaktoren auf die 7-Tages Mortalität darstellen. Van der Pol, van Roovert-Reijrink et al. (2013) konnten durch

Modifikationen der relativen Luftfeuchtigkeit nur einen kleinen Effekt auf die untersuchten Parameter der Kükenqualität darstellen, die 7-Tages Mortalität wurde nicht untersucht. In Verhältnis gesetzt zu den Ergebnissen von Grochowska, Kinal et al. (2019) wäre es möglich, dass sich kleine Effekte der beschriebenen Gemengelage in der Vorbrut durch den verwendeten Vorbrütertypus bündeln lassen und sich somit darüber indirekt auf die 7-Tages Mortalität auswirken.

Der Parameter 7-Tages Mortalität wird vermutlich durch eine Vielzahl an Variablen beeinflusst. Die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut ist als kleiner Effekt auf die relative Verlustrate von Küken an Masttag 7 vor allem bei Altherden in der Produktionsphase 3 zu sehen. Somit könnte die mikrobiologische Belastung in der Schlupfbrut als Teilvariable für einen modellierenden Ansatz zur Bestimmung der 7-Tages Mortalität dienen.

Um prädiktive Aussagen bezüglich der 7-Tages Mortalität von Eintagsküken treffen zu können, müssten in künftigen Untersuchungen zunächst beeinflussende Effekte im Elterntier-, Brüterei- und Aufzuchtbereich identifiziert werden und anschließend durch einen modellierenden Ansatz in Form einer multiplen linearen Regressionsanalyse gebündelt werden.

### 5.5.2 Weiterführender möglicher Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf die Kükengesundheit

Eine Exposition gegenüber Bioaerosolen könnte sich auch anderweitig als in Form einer erhöhten 7-Tages Mortalität äußern. Adler and DaMassa (1979) konnten beispielsweise durch eine intravenöse Verabreichung von aus *E. coli* extrahiertem Lipopolysaccharid in einer Dosis von 67-517 mg/kg bei 6-10 Tage alten Hühnern zwar klinisch Apathie, Diarrhoe und Hechelatmung sowie am darauffolgenden Tag Somnolenz auslösen, die Tiere erholten sich jedoch in einem Zeitraum von einigen Stunden von der Exposition gegenüber Lipopolysaccharid. Ethologische Auffälligkeiten der Eintagsküken nach Einstellung wurden in der vorliegenden Arbeit nicht statistisch auswertbar in der klinischen Einstellungsuntersuchung erfasst. Die klinische Untersuchung einer Stichprobe der eingestellten Eintagsküken mit Bestimmung des Allgemeinzustandes könnte in zukünftigen Arbeiten Aufschluss über einen möglichen Einfluss der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut auf den Allgemeinzustand von Eintagsküken geben.

Ein weiteres Risiko, welches nicht ausschließlich über die 7-Tages Mortalität abgebildet werden kann ist die Immunevasion horizontal aerogen übertragener Mikroorganismen in der Schlupfbrut.

Die physikalische Barriere des Trachealepithels kann beispielsweise durch Virulenzfaktoren von *E. coli* (F1-Fimbrien) geschädigt werden (Pourbakhsh, Boulianne et al. 1997). Auch eine physikalische Schädigung durch Kükenstaub (Oyetunde, Thomson et al. 1978) oder eine chemische Schädigung durch aerogen eingebrachte Biozide ist zusätzlich denkbar und beispielsweise im Falle der Anwendung von Formalin beschrieben (Sander, Wilson et al. 1995). Oyetunde, Thomson et al. (1978) zeigten zudem, dass biologische (*E. coli*), physikalische (Staub) und chemische Einflüsse den Respirationstrakt von Broilern im Zusammenspiel stärker schädigen als dies die jeweiligen Faktoren einzeln vermögen. In zukünftigen Arbeiten ist es aus diesem Grunde denkbar, weiterführende Untersuchung zur Bestimmung der Integrität der physikalischen Barrieren des Atmungstraktes der Eintagsküken durchzuführen (Ciliostase-Test, pathologisch-anatomische Untersuchung des gesamten Respirationstraktes und Anwendung eines Lesion-scoring Systems).

Das zelluläre und humorale Immunsystem des Eintagsküken ist nicht vollständig entwickelt (Mast and Goddeeris 1999). Die sekundären lymphatischen Organe, Milz (Mast 1998), BALT (Fagerland and Arp 1993) und GALT (Bar-Shira, Sklan et al. 2003) sind nicht vollständig ausgebildet. Eine humorale Immunantwort auf eine Exposition gegenüber Antigenstrukturen wie beispielsweise LPS kann großteils nur durch transovariell übertragene antigenspezifische maternale Immunglobuline (IgY) erfolgen (Kramer and Cho 1970). Dies setzt jedoch das Vorhandensein der jeweiligen Antikörper in der Elterntierhenne voraus. Wachstumsdepressionen können durch die Exposition gegenüber LPS ausgelöst werden

(Grindstaff 2008) Der Autor zeigt beispielsweise, dass durch LPS-Exposition eine Wachstumsdepression bei frisch geschlüpften Wachteln ausgelöst werden und dass diese durch das Vorhandensein von maternal übertragenen Antikörpern abgeschwächt werden konnte. Diese Beobachtung kann für die Abwehr von exponierten Küken in der Schlupfbrut wesentlich sein. Bei der Belegung des Schlupfbrüters durch eine Brüterei im Rahmen der Einlageplanung sollte also darauf geachtet werden, ausschließlich Tiere der gleichen Ursprungsherde in einem Schlupfbrüter zu positionieren, um das Risiko einer Wachstumsdepression, ausgelöst durch Antigenstrukturen, welche nicht durch die maternalen Antikörper erkannt werden können, zumindest zu minimieren.

Das Immunsystem des Kükens ist demzufolge verstärkt auf die Integrität der physikalischen Barrieren seines Immunsystems, der angeborenen zellulären Immunantwort und das Vorhandensein, sowie die Zusammensetzung der transovariell übertragenen Antikörper angewiesen. Ein Versagen der genannten Mechanismen könnte zur Bakteriämie führen. Eine Bakteriämie in der frühen Lebensphase von Broilereintagsküken könnte ein Einflussfaktor in der multifaktoriellen Pathogenese der bakteriellen Chondronekrose und Osteomyelitis sein (Wideman 2016). Der Einfluss ist hier ausdrücklich nicht auf eine horizontale Übertragung von Mikroorganismen in der Schlupfbrut zu begrenzen.

Das Vorkommen von Mikroorganismen gemäß Abbildung 3, Abbildung 5 und Abbildung 7 könnte zudem zu einer erhöhten mikrobiologischen Kontamination der Oberflächen innerhalb des Schlupfbrüters führen. Insbesondere relevant für die Kükengesundheit könnten diesbezüglich die Oberflächen der Schlupfbruthorden als unbelebter Vektor sein (Hausleitner 2011). Sollte die immunologische Abwehrfunktion der dermalen Barrieren beeinträchtigt sein, so ist eine Kontamination des Tieres insbesondere in der Umbilicalregion möglich. Der Nabelschluss von Hühnerküken findet während des Schlupfvorganges statt (Anderson Brown 2018). Eine Kolonisation der Nabelwunde mit Mikroorganismen könnte während der Schlupfbrut zu einer Omphalitis und möglicherweise darauffolgend auch zu einer Dottersackinfektion führen. Für zukünftige Arbeiten ist es diesbezüglich denkbar, den Parameter des Gewichtsverlustes in der Vorbrut des jeweiligen Geleges zu erfassen, bei der ersten klinischen Untersuchung den Nabelschluss der Tiere numerisch zu bewerten und diese Parameter unter Einbeziehung der mikrobiologischen Aerosolbelastung in der Schlupfbrut mittels eines modellierenden Ansatzes einer multiplen Regression in Beziehung zu setzen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

**LUFTKEIMBELASTUNG UND LUFTHYGIENEMANAGEMENT IN DER SCHLUPFBRUT VON  
MASTHÄHNCHEN ALS EINFLUSSFAKTOR AUF DIE KÜKENGESUNDHEIT**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde anhand von 30 Schlüpfen von Elterntierherden unterschiedlichen Produktionsalters die Entwicklung von Bioaerosolen während der Schlupfbrut von Masthühnern untersucht. Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae und Enterokokken stiegen in der Schlupfbrut von Masthuhnküken im Laufe der Schlupfbrut bis hin zur Kükenabnahme signifikant an ( $p < 0,05$ ). Schimmelpilze konnten in der untersuchten Brüterei nicht nachgewiesen werden.

Die Gesamtkeimzahl und Enterokokken stiegen signifikant in Abhängigkeit zum Alter der Mastelterntierherde an. Je älter die Mastelterntierherde war, desto höher war die nachgewiesene Zahl an Mikroorganismen in der Abluft der Schlupfbrut. Ein signifikanter Anstieg ( $p < 0,05$ ) von Enterobacteriaceae ließ sich bei Altherden (Produktionswoche 24 – 35) beobachten.

Ein Biozid auf Wasserstoffperoxid- und Peressigsäurebasis wurde hinsichtlich seines Potentials zur Reduktion von während der Schlupfbrut entstehenden Mikroorganismen anhand von 29 Schlüpfen evaluiert. Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceae konnten durch das Biozid im Mittel aller Untersuchungen signifikant ( $p < 0,05$ ) reduziert werden. Hinsichtlich Enterokokken fand durch die Anwendung eine nicht signifikante Reduktion statt ( $p > 0,05$ ).

Die Anwendung des untersuchten Biozids führte in der Folge zu einer nicht signifikanten Reduktion ( $p > 0,05$ ) des Parameters der 7-Tages Mortalität, jedoch konnte das Biozid den Parameter der 7-Tages-Mortalität auf Maximalwerte von 1% begrenzen.

Korrelationen zwischen der mikrobiologischen Belastung in der Schlupfbrut und der 7-Tages Mortalität von Eintagsküken wurden ebenfalls untersucht. Es besteht insgesamt keine signifikante Korrelation zwischen der mikrobiologischen Belastung während der Schlupfbrut von Broilereintagsküken und dem Parameter 7-Tages Mortalität.

7 SUMMARY

**AIRBORNE BACTERIAL LOAD AND IT'S MANAGEMENT DURING HATCHER PHASE OF BROILER CHICKLINGS AS AN IMPACT FACTOR ON CHICK HEALTH**

The aim of this study was to examine microbiological conditions in the exhaust air of hatchers during hatching process of broiler chicklings in a commercial broiler hatchery. Development of bacteria during the hatching process of broiler chickens was observed at 30 chick hatchings of parent flocks with different age. The effect of the application of a biocide based on hydrogen-peroxide and peracetic acid on the development of bacteria during the hatching process of broiler chickens was evaluated at 29 chick hatchings. Examination whether the application of a biocide affects 7-day mortality of broiler chickens or not was performed. Additionally the correlation between microbiological load at pulling time of broiler chickens and 7-day mortality of broiler chicklings was investigated.

The development of microorganisms during the hatching process of broiler chicklings was observed. Total bacterial count, Enterobacteriaceae and Enterococci were found in the exhaust air of the hatcher. Bacterial counts of all three rose significantly ( $p < 0,05$ ) during hatcher phase until pulling of the chicklings. There was no detection of molds in the examined hatchery.

Numbers of total bacterial count were elevated significantly dependent on the age of the parent stock flock. The older the parent stock flock, the higher numbers of total bacterial and Enterococci count were found ( $p < 0,05$ ). Numbers of Enterobacteriaceae were significantly elevated ( $p < 0,05$ ) in hatcher phases of old parent stock flocks (24<sup>th</sup> – 35<sup>th</sup> week of production). Total bacterial count and Enterobacteriaceae were reduced significantly during hatcher phase due to biocide application ( $p < 0,05$ ). Enterococci were reduced by biocide application, but not in a significant way ( $p > 0,05$ ).

The application of the biocide resulted in a reduced parameter of 7-day mortality of the hatched chicklings compared to the control group ( $p > 0,05$ ). The effect was not significant. However, the biocide application was able to limit the 7-day mortality to maximum values of 1%.

Correlations between bacterial counts of Total bacterial count, Enterobacteriaceae and Enterococci and the parameter 7-day mortality of the hatched chicklings were examined. No significant correlation between microbiological condition of the hatcher exhaust air and 7-day mortality was found.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Ackerman, R. A. and H. Rahn (1981). "In vivo O<sub>2</sub> and water vapor permeability of the hen's eggshell during early development." Respir Physiol **45**(1): 1-8.
- Adler, H. E. and A. J. DaMassa (1979). "Toxicity of endotoxin to chicks." Avian Dis **23**(1): 174-178.
- Anderson Brown, A. F. R., G. E. S.; (2018). Development of the chick. The new incubation book, Hancock House Publishers. **2**.
- Anderson Brown, A. F. R., G. E. S.; (2018). The physical conditions needed for successful hatching. The new Incubation book, Hancock House Publishers.
- Appleby, M. C. (1984). "Factors affecting floor laying by domestic hens: a review." World's Poultry Science Journal **40**(3): 241-249.
- Ar, A. P., C.V.; Reeves, R. B.; Greene, D.G.; Rahn, H. (1974). "The Avian Egg: Water Vapor Conductance, Shell Thickness, and Funktional Area." The Condor **76**.
- Ar, A. R., H.; (1980). "Water in the Avian Egg Overall Budget of Incubation<sup>1</sup>." Amer. Zool. **20**: 373-384.
- Aviagen (2018). Parent Stock Management Handbook.
- Bailey, J. S., J. A. Cason and N. A. Cox (1998). "Effect of Salmonella in young chicks on competitive exclusion treatment." Poult Sci **77**(3): 394-399.
- Bain, M. M., K. McDade, R. Burchmore, A. Law, P. W. Wilson, M. Schmutz, R. Preisinger and I. C. Dunn (2013). "Enhancing the egg's natural defence against bacterial penetration by increasing cuticle deposition." Anim Genet **44**(6): 661-668.
- Bar-Shira, E., D. Sklan and A. Friedman (2003). "Establishment of immune competence in the avian GALT during the immediate post-hatch period." Dev Comp Immunol **27**(2): 147-157.
- Bedrani, L., E. Helloin, N. Guyot, S. Rehault-Godbert and Y. Nys (2013). "Passive maternal exposure to environmental microbes selectively modulates the innate defences of chicken egg white by increasing some of its antibacterial activities." BMC Microbiol **13**: 128.
- Bellairs, R. (1964). "Biological aspects of the yolk of the hen's egg." Adv Morphog **4**: 217-272.
- Berrang, M., Frank, J., Buhr, R., Mauldin, J. (1997). "Microbiology of sanitized broiler hatching eggs through the egg production period." Applied Poultry Science **6**: 298-305.
- Berrang, M. C., N.; Frank J.; Buhr, R.; (1999). "Bacterial penetration of the egg shell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review." Applied Poultry Science.
- Berrang, M. E., J. F. Frank, R. J. Buhr, J. S. Bailey, N. A. Cox and J. Mauldin (1998). "Eggshell characteristics and penetration by Salmonella through the productive life of a broiler breeder flock." Poult Sci **77**(9): 1446-1450.

- Berrang, M. F., J.F.; Buhr, R. J.; Bailes J.S.; Cox, N. A.; Mauldin J. M. (1997). "Microbiology of sanitized broiler hatching eggs through the egg production period." Applied Poultry Science, Inc **6**: 298-305.
- Board, R. G. (1994). Microbiology of the Avian egg. Springer Science+Business Media Dordrecht.
- Böhm, R. (2002). Grundlagen der Reinigung und Desinfektion. Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. D. B. Strauch, R.; Enke Verlag. **2**.
- Brake, J. (1987). "Influence of presence of perches during rearing on incidence of floor laying in broiler breeders." Poult Sci **66**(10): 1587-1589.
- Branum, S. R., H. Tazawa and W. W. Burggren (2016). "Phenotypic developmental plasticity induced by preincubation egg storage in chicken embryos (*Gallus gallus domesticus*)."  
Physiol Rep **4**(4).
- Bruce, J. J., L. (1977). "The bacterial flora of unhatched eggs." Br Poult Sci **19**(5): 681-689.
- Bunk, M. J. B., S. L.; (1977). "Structure and relationship of the mamillary gore to membrane fibres and initial calcification of the Egg shell." British Poultry Science **18**:5: 617-621.
- Cadirci, S. (2009). "Disinfection of hatching eggs by formaldehyde fumigation - a review." Arch. Geflügelk. **73**.
- Campbell, C. (2009). "The art and science of single stage incubation." International Hatchery practice **23**(3): 23-25.
- Careghi, C., K. Tona, O. Onagbesan, J. Buyse, E. Decuyper and V. Bruggeman (2005). "The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age." Poult Sci **84**(8): 1314-1320.
- Carter, T. A., R. F. Gentry and G. O. Bressler (1973). "Bacterial contamination of hatching eggs and chicks produced by broiler breeders housed in litter-slat and sloping floor management systems." Poult Sci **52**(6): 2226-2236.
- Cason, J. A. C., N. A.; Bailey, J. S.; (1994). "Transmission of *Salmonella typhimurium* during Hatching of Broiler Chicks." Avian Dis **38**(3): 583-588.
- Chen, X., X. Li, Y. Guo, W. Li, J. Song, G. Xu, N. Yang and J. Zheng (2018). "Impact of cuticle quality and eggshell thickness on egg antibacterial efficiency." Poult Sci.
- Chen, X., X. Li, Z. He, Z. Hou, G. Xu, N. Yang and J. Zheng (2019). "Comparative study of eggshell antibacterial effectivity in precocial and altricial birds using *Escherichia coli*." PLoS One **14**(7): e0220054.
- Chung, H., H. Kim, D. Myeong, S. Kim and N. H. Choe (2018). "Effect of Chlorine Dioxide Gas Application to Egg Surface: Microbial Reduction Effect, Quality of Eggs, and Hatchability." Korean J Food Sci Anim Resour **38**(3): 487-497.

- Corbanie, E. A., M. G. Matthijs, J. H. van Eck, J. P. Remon, W. J. Landman and C. Vervaeet (2006). "Deposition of differently sized airborne microspheres in the respiratory tract of chickens." Avian Pathol **35**(6): 475-485.
- Cox, N. A., M. E. Berrang and J. A. Cason (2000). "Salmonella penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs--a review." Poult Sci **79**(11): 1571-1574.
- Davies, R. C., A. Neuberger and B. M. Wilson (1969). "The dependence of lysozyme activity on pH and ionic strength." Biochim Biophys Acta **178**(2): 294-305.
- Davis, T. A., S. S. Shen and R. A. Ackerman (1988). "Embryonic osmoregulation: consequences of high and low water loss during incubation of the chicken egg." J Exp Zool **245**(2): 144-156.
- de Geus, E. D., C. A. Jansen and L. Vervelde (2012). "Uptake of particulate antigens in a nonmammalian lung: phenotypic and functional characterization of avian respiratory phagocytes using bacterial or viral antigens." J Immunol **188**(9): 4516-4526.
- de Gouw, P., L. J. F. van de Ven, S. Lourens, B. Kemp and H. van den Brand (2017). "Effects of dust, formaldehyde and delayed feeding on early postnatal development of broiler chickens." Res Vet Sci **112**: 201-207.
- de Lange, G. (2010) "Preventing Omphalitis to reduce first week mortality."
- Decuyper, E. T. K. B. V. B. F. (2001). "The day-old chick: a crucial hinge between breeders and broilers." World's Poultry Science Journal **57**.
- Donofre, A. C. S., I. J. O. S.; Nazazerno, A. C.; Ferreira I. E. D.; (2017). "Mechanical vibrations in the transport of hatching eggs and the losses caused in the hatch and quality of broiler chicks." Journal of Agricultural Engineering 2017 **XLVIII:593**.
- Erkus, T. (2016). "Getting it right during incubation to produce high quality chicks." International Hatchery practice **30**(5).
- Eyal-Giladi, H. and S. Kochav (1976). "From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology." Dev Biol **49**(2): 321-337.
- Fagerland, J. A. and L. H. Arp (1993). "Structure and development of bronchus-associated lymphoid tissue in conventionally reared broiler chickens." Avian Dis **37**(1): 10-18.
- Fanguy, R. M., L.; Blohowiak, C.; Krueger, W.; (1980). "Effect of Delayed Placement on Mortality and Growth Performance of Commercial Broiler Chickens." Poult. Sci. **59**: 1215-1220.
- Fasenko, G. M. (2007). "Egg storage and the embryo." Poult Sci **86**(5): 1020-1024.
- Fasenko, G. M. and E. E. O'Dea (2008). "Evaluating broiler growth and mortality in chicks with minor navel conditions at hatching." Poult Sci **87**(3): 594-597.
- Fathi, M. G., A.; Ali, U.; Abou-Emera, O.; (2019). "Physical and mechanical properties of eggshell as affected by chicken breed and flock age." Br Poult Sci.

- Fertner, M. E., R. H. Olsen, M. Bisgaard and H. Christensen (2011). "Transmission and genetic diversity of *Enterococcus faecalis* among layer chickens during hatch." Acta Vet Scand **53**: 56.
- French, N. N. D. v. L., E.; (2011) "Hatchery How to Implement Incubation Science."
- Funk, M. E. I., M. R.; (1955). Hatchery Operation and Management. John Willey & Sons Inc.
- Furuta, K. M., S.; (1980). "Bacterial contamination on eggs during incubation and hatching, and of fluffs of newly hatched chicks." Br Poult Sci **22**(3).
- Gautron, J., M. T. Hincke, K. Mann, M. Panheleux, M. Bain, M. D. McKee, S. E. Solomon and Y. Nys (2001). "Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein. isolation, amino acid sequencing, cloning, and immunocytochemical localization." J Biol Chem **276**(42): 39243-39252.
- Gefahrstoffe, A. f. (2013). Technische Regeln für Gefahrstoffe 522 Raumdesinfektionen mit Formaldehyd. 522. B. f. A. u. Soziales. GMBI 2013.
- Giussani, D. A., C. E. Salinas, M. Villena and C. E. Blanco (2007). "The role of oxygen in prenatal growth: studies in the chick embryo." J Physiol **585**(Pt 3): 911-917.
- Grindstaff, J. L. (2008). "Maternal antibodies reduce costs of an immune response during development." J Exp Biol **211**(Pt 5): 654-660.
- Grochowska, E., A. Kinal, Z. Sobek, I. Siatkowski and M. Bednarczyk (2019). "Field study on the factors affecting egg weight loss, early embryonic mortality, hatchability, and chick mortality with the use of classification tree technique." Poult Sci **98**(9): 3626-3636.
- Gros, G. (2009). Atmung. Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt. Enke Verlag, von Engelhardt, W. **3**: 241-281.
- Hafez, H. M. B., R.; (2002). Reinigung und Desinfektion in der Geflügelwirtschaft. Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. D. B. Strauch, R.;. Enke Verlag. **2**: 123-153.
- Härtle, S. K., B.; (2014). The Avian Respiratory Immune System. Avian Immunology. K. A. K. Schat, B.; Kaiser, P.;. Elsevier Ltd.
- Hausleitner, M. (2011). Hygienemanagement einer Mastkükenbrüterei als Basis für die Optimierung der Kükengesundheit unter mikrobiologischen Gesichtspunkten, LMU München.
- Hayter, R. B. and E. L. Besch (1974). "Airborne-particle deposition in the respiratory tract of chickens." Poult Sci **53**(4): 1507-1511.
- Holcman, A., S. Malovrh and I. Stuhec (2007). "Choice of nest types by hens of three lines of broiler breeders." Br Poult Sci **48**(3): 284-290.
- Humans, I. W. G. o. t. E. o. C. R. t. (2006). "Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol." IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum **88**: 1-478.

- Iqbal, J. S., H. K.; Nasir, M.; Tanveer A.; Riaz, A. P.; (2016). "Effects of egg size (weight) and age on hatching performance and chick quality of broiler breeder." Journal of Applied Animal Research **44**: 54-64.
- Jin, Y. H. L., K.T.; Lee, W.I.; Han, Y.K. (2010). "Effects of Storage Temperature and Time on the Quality of Eggs from Laying Hens at Peak Production." Asian-Aust. J. Anim. Sci. **24**: 279-284.
- Johnson, A. L. (2014). Reproduction in the female. Sturkie's Avian Physiology. C. G. Scanes. Academic Press, Elsevier. **6**.
- Johnson, P. (2018). Evaluation of the Effects of Formaldehyde on Growth Parameters of Broiler Chicks. Master of Science in Poultry Science, University of Arkansas, Fayetteville.
- Jonchere, V., A. Brionne, J. Gautron and Y. Nys (2012). "Identification of uterine ion transporters for mineralisation precursors of the avian eggshell." BMC Physiol **12**: 10.
- Kemmett, K., N. J. Williams, G. Chaloner, S. Humphrey, P. Wigley and T. Humphrey (2014). "The contribution of systemic Escherichia coli infection to the early mortalities of commercial broiler chickens." Avian Pathol **43**(1): 37-42.
- Kers, J. G., F. C. Velkers, E. A. J. Fischer, G. D. A. Hermes, J. A. Stegeman and H. Smidt (2018). "Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens." Front Microbiol **9**: 235.
- Kim, J. H. and K. S. Kim (2010). "Hatchery hygiene evaluation by microbiological examination of hatchery samples." Poult Sci **89**(7): 1389-1398.
- Kingston, D. J. (1979). "Some hatchery factors involved in early chick mortality." Aust Vet J **55**(9): 418-421.
- Klika, E., D. W. Scheuermann, M. H. De Groot-Lasseel, I. Bazantova and A. Switka (1996). "Pulmonary macrophages in birds (barn owl, Tyto tyto alba), domestic fowl (Gallus gallus f. domestica), quail (Coturnix coturnix), and pigeons (Columbia livia)." Anat Rec **246**(1): 87-97.
- König, H. E. W., I.; Bragulla, H.; Liebich, H.-G.; (2001). Weibliche Geschlechtsorgane. Anatomie und Propädeutik des Geflügels. H. L. König, H.-G.; Stuttgart, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH. **1**: 133-142.
- Kramer, T. T. and H. C. Cho (1970). "Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg." Immunology **19**(1): 157-167.
- Lancaster, J. E., D. M. Cooper, H. Gasperdone and A. J. Darbey (1960). "Observations on Hatchery Sanitation." Can J Comp Med Vet Sci **24**(3): 83-87.
- Lange, G. (2011) "Hatching egg transport."
- Leach, J., Roland, M. (1982). "Biochemistry of the organic matrix of the Eggshell." Poult. Sci. **61**: 2040-2047.
- Liebich, H.-G. (2010). Atmungsapparat ( Apparus respiratorius). Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. H.-G. Liebich. Schattauer Stuttgart New York. **5**: 255-274.

- Lourens, A., R. Molenaar, H. van den Brand, M. J. Heetkamp, R. Meijerhof and B. Kemp (2006). "Effect of egg size on heat production and the transition of energy from egg to hatchling." Poult Sci **85**(4): 770-776.
- Lourens, A., H. van den Brand, R. Meijerhof and B. Kemp (2005). "Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development." Poult Sci **84**(6): 914-920.
- Magwood, S. E. (1962). "Evaluation of a Method for Determining Microbial Counts of Hatcher Fluff." Avian Dis **6**(1): 24-32.
- Magwood, S. E. (1967). "Studies in hatchery sanitation. IV. Effect of regular floor disinfection on bacterial populations in hatchers and throughout the hatchery environment under commercial conditions." Poult Sci **46**(1): 114-118.
- Mast, J. and B. M. Goddeeris (1999). "Development of immunocompetence of broiler chickens." Vet Immunol Immunopathol **70**(3-4): 245-256.
- Mast, J. G., B.; (1998). "Immunohistochemical analysis of the development of the structural organisation of chicken spleen." Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift **67**: 36-44.
- Mauldin, J. M. (2008) "Reducing Contamination of Hatching Eggs."
- Mehner, A., Hartfiel, W.; (1983). Funktionelle Anatomie des Lungen-Luftsack Systems. Handbuch der Geflügelphysiologie, Teil 1. A. H. Mehner, W.;. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, Mehner, A., Hartfiel W.;. **1**.
- Melo, E. F., W. L. S. Climaco, M. V. Triginelli, D. P. Vaz, M. R. de Souza, N. C. Baiao, M. A. Pompeu and L. J. C. Lara (2019). "An evaluation of alternative methods for sanitizing hatching eggs." Poult Sci **98**(6): 2466-2473.
- Mitchell, B. W. and W. D. Waltman (2003). "Reducing airborne pathogens and dust in commercial hatching cabinets with an electrostatic space charge system." Avian Dis **47**(2): 247-253.
- Miura, S. S., G.; Miyamae, T.; (1964). "Occurrence and Survival of Salmonella Organisms in Hatcher Chick Fluff from Commercial Hatcheries." Avian Diseases **8**: 546-554.
- Molenaar, R., S. de Vries, I. van den Anker, R. Meijerhof, B. Kemp and H. van den Brand (2010). "Effect of eggshell temperature and a hole in the air cell on the perinatal development and physiology of layer hatchlings." Poult Sci **89**(8): 1716-1723.
- Molenaar, R., R. Hulet, R. Meijerhof, C. M. Maatjens, B. Kemp and H. van den Brand (2011). "High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens." Poult Sci **90**(3): 624-632.
- Molenaar, R., R. Meijerhof, I. van den Anker, M. J. Heetkamp, J. J. van den Borne, B. Kemp and H. van den Brand (2010). "Effect of eggshell temperature and oxygen concentration on survival rate and nutrient utilization in chicken embryos." Poult Sci **89**(9): 2010-2021.

- Molenaar, R., I. van den Anker, R. Meijerhof, B. Kemp and H. van den Brand (2011). "Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period." Poult Sci **90**(6): 1257-1266.
- Molenaar, R., J. J. van den Borne, E. Hazejager, N. B. Kristensen, M. J. Heetkamp, R. Meijerhof, B. Kemp and H. van den Brand (2013). "High environmental temperature increases glucose requirement in the developing chicken embryo." PLoS One **8**(4): e59637.
- Molenaar, R. R., IAM.; Meijerhof, R.; Van den Brand, H.; (2010). "Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation: A Review." Brazilian Journal of Poultry Science **12**: 137-148.
- Montgomery, R. D., C. R. Boyle, T. A. Lenarduzzi and L. S. Jones (1999). "Consequences to chicks hatched from Escherichia coli-inoculated embryos." Avian Dis **43**(3): 553-563.
- Mueller, C. A. B. W. W. T., H.; (2014). The Physiology of the Avian Embryo. Sturkie's Avian Physiology. C. Scanes. Elsevier Inc.: 739-766.
- Nangsuay, A., R. Meijerhof, I. van den Anker, M. J. W. Heetkamp, B. Kemp and H. van den Brand (2017). "Effects of breeder age, strain, and eggshell temperature on nutrient metabolism of broiler embryos." Poult Sci **96**(6): 1891-1900.
- Nangsuay, A., Y. Ruangpanit, R. Meijerhof and S. Attamangkune (2011). "Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens." Poult Sci **90**(11): 2648-2655.
- Nichelmann, M. (1992). Embryonale Entwicklung beim Geflügel. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels Band I Allgemeiner Teil Spezieller Teil I. G. M. Heider, G.; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag Jena: 101-115.
- Nickel, R. S., A.; Seiferle, E.; (2004). Harn- und Geschlechtsapparat. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band V Anatomie der Vögel, Vollmerhaus, B. **3**.
- Nishio, S. and T. Matsuda (2017). "Fertilization 1: Sperm-Egg Interaction." Adv Exp Med Biol **1001**: 91-103.
- Noble, R. C. and M. Cocchi (1990). "Lipid metabolism and the neonatal chicken." Prog Lipid Res **29**(2): 107-140.
- O'Dea, E. E., G. M. Fasenko, J. J. Feddes, F. E. Robinson, J. C. Segura, C. A. Ouellette and J. H. van Middelkoop (2004). "Investigating the eggshell conductance and embryonic metabolism of modern and unselected domestic avian genetic strains at two flock ages." Poult Sci **83**(12): 2059-2070.
- Olsen, R., E. Kudirkiene, I. Thofner, S. Pors, P. Karlskov-Mortensen, L. Li, S. Papasolomontos, C. Angastiniotou and J. Christensen (2017). "Impact of egg disinfection of hatching eggs on the eggshell microbiome and bacterial load." Poult Sci **96**(11): 3901-3911.

- Olsen, R. H., C. Frantzen, H. Christensen and M. Bisgaard (2012). "An investigation on first-week mortality in layers." Avian Dis **56**(1): 51-57.
- Oyetunde, O. O., R. G. Thomson and H. C. Carlson (1978). "Aerosol exposure of ammonia, dust and Escherichia coli in broiler chickens." Can Vet J **19**(7): 187-193.
- Paganelli, C. (1980). "The Physics of Gas Exchange Across the Avian Eggshell." Amer. Zool. **20**: 329-338.
- Patterson, P. H., S. C. Ricke, M. L. Sunde and D. M. Schaefer (1990). "Hatching eggs sanitized with chlorine dioxide foam: egg hatchability and bactericidal properties." Avian Dis **34**(1): 1-6.
- Phillips, L., J. Brake, S. Ellner and R. Oukama (1992). "A mathematical model for estimation of broiler egg weight loss from physical dimensions and air cell size during incubation." Poult Sci **71**(4): 625-630.
- Pokhrel, N., E. Ben-Tal Cohen, O. Genin, D. Sela-Donenfeld and Y. Cinnamon (2017). "Cellular and morphological characterization of blastoderms from freshly laid broiler eggs." Poult Sci **96**(12): 4399-4408.
- Pokhrel, N., E. B. Cohen, O. Genin, M. Ruzal, D. Sela-Donenfeld and Y. Cinnamon (2018). "Effects of storage conditions on hatchability, embryonic survival and cytoarchitectural properties in broiler from young and old flocks." Poult Sci **97**(4): 1429-1440.
- Pourbakhsh, S. A., M. Boulianne, B. Martineau-Doize and J. M. Fairbrother (1997). "Virulence mechanisms of avian fimbriated Escherichia coli in experimentally inoculated chickens." Vet Microbiol **58**(2-4): 195-213.
- Procter, T. S., D.; (2013) "Managing breeding stock for optimal performance."
- Quarles, C. L., R. F. Gentry and G. O. Bressler (1970). "Bacterial Contamination in Poultry Houses and Its Relationship to Egg Hatchability." Poultry Science **49**(1): 60-&.
- Quarles, C. L. G., R.F.; Bressler, G.O: (1970). "Bacterial Contamination in Poultry Houses and Its Relationship to Egg hatchability." Poult Sci **49**(1).
- Reese, S., G. Dalamani and B. Kaspers (2006). "The avian lung-associated immune system: a review." Vet Res **37**(3): 311-324.
- Richardson, L. J., B. W. Mitchell, J. L. Wilson and C. L. Hofacre (2003). "Effect of an electrostatic space charge system on airborne dust and subsequent potential transmission of microorganisms to broiler breeder pullets by airborne dust." Avian Dis **47**(1): 128-133.
- Romanoff, A. (1932). "Fat Metabolism of the Chick Embryo under Standard Conditions of Artificial Incubation." Biological Bulletin **62**: 54-62.
- Samiullah, S., A. S. Omar, J. Roberts and K. Chousalkar (2017). "Effect of production system and flock age on eggshell and egg internal quality measurements." Poult Sci **96**(1): 246-258.

- Sander, J. E. and W. L. Steffens (1997). "Transmission electron microscopic demonstration of abnormalities on the tracheal cilia of chicks exposed to formaldehyde during hatching." Avian Dis **41**(4): 977-980.
- Sander, J. E. and J. L. Wilson (1999). "Effect of hydrogen peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity." Avian Dis **43**(2): 227-233.
- Sander, J. E., J. L. Wilson, G. N. Rowland and P. J. Middendorf (1995). "Formaldehyde vaporization in the hatcher and the effect on tracheal epithelium of the chick." Avian Dis **39**(1): 152-157.
- Sander, J. E., J. L. Wilson and G. L. Van Wicklen (1995). "Effect of formaldehyde exposure in the hatcher and of ventilation in confinement facilities on broiler performance." Avian Dis **39**(2): 420-424.
- Sato, G. M., S.; Etoh, S.; Kodama, H.; (1971). "Cultivation of samples of hatcher chick fluff, floor litter and feces detection of salmonella infection in chicken flocks." Japanese Journal of veterinary research **19**(3): 73-80.
- Schmerold, I. (2009). Desinfektionsmittel. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. H. L. Frey, W.; Enke Verlag. **3**.
- Schmidt-Nielsen, K., F. R. Hainsworth and D. E. Murrish (1970). "Counter-current heat exchange in the respiratory passages: effect on water and heat balance." Respir Physiol **9**(2): 263-276.
- Sheldon, B. W. and J. Brake (1991). "Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant." Poult Sci **70**(5): 1092-1098.
- Siegmann, O. (1992). Propädeutik. Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels: Band I, Allgemeiner Teil, Spezieller Teil I. G. M. Heider, G.; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag Jena: 21.
- Smeltzer, T. I., K. Orange, B. Peel and G. Runge (1979). "Bacterial penetration in floor and nest box eggs from meat and layer birds." Aust Vet J **55**(12): 592-593.
- Soisontes, S. (2017). "Concerns about sustainability in the poultry industry: a comparative Delphi study in Germany and Thailand." World's Poultry Science Journal **73**.
- Speake, B. K. N., R.; Murray, A.; (1998). "The utilization of yolk lipids by the chick embryo." World's Poultry Science Journal **54**.
- Stewart, S. L., S. A. Grinshpun, K. Willeke, S. Terzieva, V. Ulevicius and J. Donnelly (1995). "Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface." Appl Environ Microbiol **61**(4): 1232-1239.
- Thomas, R. J. (2013). "Particle size and pathogenicity in the respiratory tract." Virulence **4**(8): 847-858.
- Thrasher, J. D. and K. H. Kilburn (2001). "Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde." Arch Environ Health **56**(4): 300-311.

- Tona, J. K. B., V.; Onagbesan O.; Bamelis, F.; Gbeassor.; Mertens, K.; Decuypere, E.; (2005). "Day-old Chick Quality: Relationship to Hatching Egg Quality, Adequate Incubation Practice and Prediction of Broiler Performance." Avian and Poultry Biology Reviews **16**: 109-119.
- Tona, K. O., O.; DeKetelaere B.; Bruggemann V.; Decuypere E. (2005). "Interrelationships between chick quality parameters and the effect of individual parameter in broiler relative growth to 7 days." Arch. Geflügelk. **69 (2)**: 67-72.
- Tong, Q. R. C. E. E. V. B., C.; Berckmans, D.; Bergoug, H.; Etteradossi, N.; Roultsen, N.; Verhelst, R.; McGonnell, I. M.; Demmers, T.; (2013). "Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens." Poult. Sci. **92**: 620-628.
- Tullett, S. G., P. L. Lutz and R. G. Board (1975). "The fine structure of the pores in the shell of the hen's egg." Br Poult Sci **16(1)**: 93-95.
- Tweed, S. (2014). "Hatching egg quality the hatchery manager's nightmare." International Hatchery practice **28(7)**: 8-9.
- Ugalde, M. (2019). "Healthy chicks perform better - but just what is a healthy chick?" Internatiional Hatchery Practice **33(1)**: 9.
- Ulmer-Franco, A. M., G. M. Fasenko and E. E. O'Dea Christopher (2010). "Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights." Poult Sci **89(12)**: 2735-2742.
- Uni, Z. Y., L.; Yair, R. (2012). Nutritional limitations during poultry embryonic development1. Exploring Maximum Animal Responses. St. Louis, World's Poultry Science organisation.
- van den Brand, H., M. P. Sosef, A. Lourens and J. van Harn (2016). "Effects of floor eggs on hatchability and later life performance in broiler chickens." Poult Sci **95(5)**: 1025-1032.
- Van der Pol, C. W., I. A. van Roover-Reijrink, C. M. Maatjens, H. van den Brand and R. Molenaar (2013). "Effect of relative humidity during incubation at a set eggshell temperature and brooding temperature posthatch on embryonic mortality and chick quality." Poult Sci **92(8)**: 2145-2155.
- van der Sluis, H. J., R. M. Dwars, J. C. Vernooij and W. J. Landman (2009). "Cloacal reflexes and uptake of fluorescein-labeled polystyrene beads in broiler chickens." Poult Sci **88(6)**: 1242-1249.
- Visshedijk, A. H. (1968). "The air space and embryonic respiration. 3. The balance between oxygen and carbon dioxide in the air space of the incubating chicken egg and its role in stimulating pipping." Br Poult Sci **9(2)**: 197-210.
- Warren, C. W., S.; Crespo, R. (2013). Modified technique for Hatcher and environmental fluff testing. Western Poultry Disease Conference, Sacramento, CA.
- Whistler, P. E. and B. W. Sheldon (1989). "Bactericidal activity, eggshell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection." Poult Sci **68(8)**: 1074-1077.

- WHO (2010). Formaldehyde. WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants. Geneva.
- Wideman, R. F., Jr. (2016). "Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis and lameness in broilers: a review." Poult Sci **95**(2): 325-344.
- Willemsen, H., N. Everaert, A. Witters, L. De Smit, M. Debonne, F. Verschuere, P. Garain, D. Berckmans, E. Decuypere and V. Bruggeman (2008). "Critical assessment of chick quality measurements as an indicator of posthatch performance." Poult Sci **87**(11): 2358-2366.
- Williams, J. E. (1970). "Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs." Avian Dis **14**(2): 386-392.
- Williams, J. E. and H. S. Siegel (1969). "Formaldehyde levels on and in chicken eggs following preincubation fumigation." Poult Sci **48**(2): 552-558.
- Wilson, P. W., C. S. Suther, M. M. Bain, W. Icken, A. Jones, F. Quinlan-Pluck, V. Olori, J. Gautron and I. C. Dunn (2017). "Understanding avian egg cuticle formation in the oviduct: a study of its origin and deposition." Biol Reprod **97**(1): 39-49.
- Wright, M. L., G. W. Anderson and N. A. Epps (1959). "Hatchery Sanitation." Can J Comp Med Vet Sci **23**(9): 288-290.
- Yassin, H., A. G. Velthuis, M. Boerjan and J. van Riel (2009). "Field study on broilers' first-week mortality." Poult Sci **88**(4): 798-804.
- Yildirim, I. Ö., M.; Yetisir, R. (2003). "The use of Oregano (*Origanum vulgare* L) essential oil as alternative hatching egg disinfectant versus formaldehyde fumigation in quails (*Coturnix coturnix japonica*) eggs." Revue de médecine vétérinaire **154**: 367-370.
- Zhong, Z., Y. Yu, S. Jin and J. Pan (2018). "Effects of mixing eggs of different initial incubation time on the hatching pattern, chick embryonic development and post-hatch performance." PeerJ **6**: e4634.

ANHANG

ANHANG

		T_1530	T_1600	19_0800	19_1200	19_1600	19_2000	20_0000	20_0400	20_0800	20_1200	20_1600	20_2000	21_0000	21_0400	21_0600	
Gesamtkeimzahl	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
	Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	Max.	2	2	1	1	3	5	6	6	16	19	76	271	249	463	516	
	Q1	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	1,00	1,75	6,00	10,00	20,50	20,50
	Q2	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	1,00	1,00	1,00	3,00	5,00	11,00	20,00	46,00	60,50
	Q3	,25	,00	,00	,00	,00	,25	1,00	2,00	3,00	5,50	12,25	27,25	49,75	153,00	129,00	
Enterobacteriaceae	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
	Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Max.	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	11	10	16	26	40	
	Q1	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,75	1,00	1,00	2,00
	Q2	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	1,00	2,00	3,00	3,00	5,00
	Q3	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,25	,00	1,00	2,00	4,00	6,00	8,00	11,50
Enterokokken	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
	Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Max.	0	0	0	0	0	0	0	1	5	8	37	32	153	173	241	
	Q1	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	1,00
	Q2	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	1,00	4,50	6,00	7,00
	Q3	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,25	1,00	6,25	20,25	32,25	32,25

Tabelle 5. Deskriptive Statistik Bioaerosolverlauf der Kontrollgruppe in Abhängigkeit des Probenahmezeitpunktes

Nährmedium	Schlupfbrutphase	N	Mittelwert	SEM
Gesamtkeimzahl	Schlupfbrutphase 1	240	,44	,064
	Schlupfbrutphase 2	120	11,99	2,837
	Schlupfbrutphase 3	90	83,53	11,374
Enterobacteriaceae	Schlupfbrutphase 1	240	,05	,016
	Schlupfbrutphase 2	120	1,15	,166
	Schlupfbrutphase 3	90	5,98	,726
Enterokokken	Schlupfbrutphase 1	240	,01	,007
	Schlupfbrutphase 2	120	2,07	,548
	Schlupfbrutphase 3	90	21,99	4,336

Tabelle 6. Deskriptive Statistik KbE/ 50 I Schlupfbrutluft in Abhängigkeit zur Schlupfbrutphase

ANHANG

Kontrollgruppe					Versuchsgruppe				
Nährmedium	Produktionsphase	Schlupfbrutphase	Mittelwert	SEM	Nährmedium	Produktionsphase	Schlupfbrutphase	Mittelwert	SEM
Gesamtkeimzahl	PW 0-11	1	0,488	4,984	Gesamtkeimzahl	PW 0-11	1	0,23	0,069
		2	3,400	7,048			2	1,45	0,474
		3	17,133	8,138			3	5,53	0,971
	PW 12-23	1	0,263	4,984		PW 12-23	1	0,14	0,046
		2	13,050	7,048			2	13,17	4,788
		3	79,333	8,138			3	21,93	3,664
	PW 24-35	1	0,575	4,984		PW 24-35	1	0,13	0,045
		2	19,525	7,048			2	10,03	2,118
		3	151,133	8,138			3	62,87	9,289
Enterobacteriaceae	PW 0-11	1	0,100	0,343	Enterobacteriaceae	PW 0-11	1	0	0
		2	1,050	0,485			2	0,32	0,140
		3	4,867	0,560			3	1,7	0,393
	PW 12-23	1	0,013	0,343		PW 12-23	1	0	0
		2	1,575	0,485			2	0,19	0,078
		3	3,933	0,560			3	0,59	0,215
	PW 24-35	1	0,50	0,343		PW 24-35	1	0	0
		2	0,825	0,485			2	0,55	0,147
		3	9,133	0,560			3	3,17	0,625

ANHANG

Entero- kokken	PW 0-11	1	0	1,830	Entero- kokken	PW 0-11	1	0	0
		2	0,050	2,587			2	0,15	0,067
		3	2,900	2,988			3	0,33	0,130
	PW 12-23	1	0,025	1,830		PW 12-23	1	0	0
		2	1,775	2,587			2	1,94	0,704
		3	13,267	2,988			3	6,33	1,6
	PW 24-35	1	0,013	1,830		PW 24-35	1	0	0
		2	4,375	2,587			2	1,6	0,416
		3	49,800	2,988			3	16,73	2,996

Tabelle 7. Deskriptive Statistik Einfluss der Produktionsphase und Schlupfbrutphase auf KbE/ 50 l Schlupfbrutluft der Kontroll- und Versuchsgruppe

<b>Gruppe</b>	<b>Nährmedium</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>SEM</b>
Kontrollgruppe	PC	450	19,94	2,82
Versuchsgruppe	PC	435	8,31	1,1
Kontrollgruppe	MAC3	450	1,53	0,185
Versuchsgruppe	MAC3	435	0,47	0,069
Kontrollgruppe	BAA	450	4,96	0,96
Versuchsgruppe	BAA	435	1,89	0,31
Kontrollgruppe	DG-18	450	0	0
Versuchsgruppe	DG-18	435	0	0

Tabelle 8. Einfluss des Biozideinsatzes auf den Mittelwert der mikrobiologischen Belastung pro 50 l Schlupfbrutluft

ANHANG

Kontrollgruppe						Versuchsgruppe					
Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB	Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB
T_1530	30	0	2	0,27	0,521	T_1530	29	0	4	0,21	0,774
T_1600	30	0	2	0,20	0,484	T_1600	29	0	0	0	0
19_0800	30	0	1	0,13	0,346	19_0800	29	0	1	0,14	0,351
19_1200	30	0	1	0,07	0,254	19_1200	29	0	2	0,17	0,468
19_1600	30	0	3	0,3	0,702	19_1600	29	0	1	0,10	0,310
19_2000	30	0	5	0,4	1,003	19_2000	29	0	2	0,21	0,491
20_0000	30	0	6	0,83	1,367	20_0000	29	0	2	0,17	0,468
20_0400	30	0	6	1,33	1,668	20_0400	29	0	2	0,31	0,604
20_0800	30	0	16	2,20	3,188	20_0800	29	0	6	1,03	1,700
20_1200	30	0	19	4,27	4,906	20_1200	29	0	65	5,62	13,208
20_1600	30	0	76	9,53	15,005	20_1600	29	0	135	10,03	25,091
20_2000	30	0	271	31,97	55,899	20_2000	29	0	98	15,48	21,689
21_0000	30	1	249	46,23	63,862	21_0000	29	0	139	21,97	29,562
21_0400	30	0	463	99,70	123,810	21_0400	29	0	176	35,45	43,406
21_0600	30	0	516	101,67	119,480	21_0600	29	0	210	33,76	45,149

Tabelle 9. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Gesamtkeimzahl während der Schlupfbrut

ANHANG

Kontrollgruppe						Versuchsgruppe					
Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB	Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB
T_1530	30	0	0	0,00	0,000	T_1530	29	0	0	0	0
T_1600	30	0	0	0,00	0,000	T_1600	29	0	0	0	0
19_0800	30	0	0	0,00	0,000	19_0800	29	0	0	0	0
19_1200	30	0	0	0,00	0,000	19_1200	29	0	0	0	0
19_1600	30	0	0	0,00	0,000	19_1600	29	0	0	0	0
19_2000	30	0	1	0,10	0,305	19_2000	29	0	0	0	0
20_0000	30	0	1	0,07	0,254	20_0000	29	0	0	0	0
20_0400	30	0	2	0,27	0,521	20_0400	29	0	0	0	0
20_0800	30	0	2	0,23	0,504	20_0800	29	0	1	0,03	0,186
20_1200	30	0	2	0,50	0,682	20_1200	29	0	2	0,14	0,441
20_1600	30	0	11	1,63	2,141	20_1600	29	0	4	0,48	1,022
20_2000	30	0	10	2,23	2,329	20_2000	29	0	4	0,79	1,013
21_0000	30	0	16	4,20	4,189	21_0000	29	0	9	1,31	2,002
21_0400	30	0	26	5,37	6,228	21_0400	29	0	14	2,34	3,232
21_0600	30	0	40	8,37	8,919	21_0600	29	0	9	1,93	2,549

Tabelle 10. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Enterobacteriaceae während der Schlupfbrut

ANHANG

Kontrollgruppe						Versuchsgruppe					
Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB	Brutttag_Uhrzeit	N	Min	Max	Mittelwert	STAB
T_1530	30	0	0	0	0	T_1530	29	0	0	0	0
T_1600	30	0	0	0	0	T_1600	29	0	0	0	0
19_0800	30	0	0	0	0	19_0800	29	0	0	0	0
19_1200	30	0	0	0	0	19_1200	29	0	0	0	0
19_1600	30	0	0	0	0	19_1600	29	0	0	0	0
19_2000	30	0	0	0	0	19_2000	29	0	0	0	0
20_0000	30	0	0	0	0	20_0000	29	0	0	0	0
20_0400	30	0	1	0,10	0,305	20_0400	29	0	0	0	0
20_0800	30	0	5	0,43	1,165	20_0800	29	0	4	0,24	0,786
20_1200	30	0	8	0,67	1,647	20_1200	29	0	11	0,76	2,247
20_1600	30	0	37	2,03	6,825	20_1600	29	0	20	1,72	4,259
20_2000	30	0	32	5,13	9,104	20_2000	29	0	10	2,10	2,932
21_0000	30	0	153	14,90	29,700	21_0000	29	0	34	5,31	9,622
21_0400	30	0	173	23,07	39,387	21_0400	29	0	62	8,79	14,001
21_0600	30	0	241	28,00	51,660	21_0600	29	0	46	9,45	13,860

Tabelle 11. Deskriptive Statistik: Einfluss der Einbringung eines Biozids auf die mikrobiologische Belastung während der Schlupfbrut - Verlaufsuntersuchung Enterokokken während der Schlupfbrut

Produktionswoche	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
1	1,03%/ 0,95%	1,01%/ 1,11%
2	0,58%	0,58%
4	1,26%	1,05%
5	0,72%	0,52%
6	0,65%	0,95%
7	0,85%	0,82%
9	0,45%	0,36%
10	1,42%	0,43%
12	1,53%	n.a.
13	0,62%	0,51%
14	0,57%	0,67%
16	0,84%	0,49%
17	0,69%	0,65%
18	0,75%	0,65%
19	1,05%	0,78%
20	0,53%	0,54%
22	0,8%	0,89%
23	0,51%	0,59%
24	0,82%	0,5%
25	0,55%	0,52%
27	0,90%	0,55%
28	0,59%	0,55%
29	0,79%	0,49%
30	0,68%	0,57%
32	1,64%	1,1%
33	0,86%	0,94%
34	0,67%	0,82%
35	0,64%	0,72%

Tabelle 12. Rohdaten 7-Tages Mortalität in Abhängigkeit von der Gruppierung im Versuchsdesign und Produktionswoche der Mastelternherde

Gruppe	Kontrollgruppe			Versuchsgruppe		
	Parameter	N	Mittelwert	SEM	N	Mittelwert
PW 0-11	9	0,88%	0,10%	9	0,76%	0,1%
PW 12-23	10	0,79%	0,1%	9	0,64%	0,04%
PW 24-35	10	0,81%	0,1%	9	0,68%	0,07%

Tabelle 13. Deskriptive Statistik 7-Tages Mortalität in Abhängigkeit von der Gruppierung im Versuchsdesign und der Produktionsphase der Mastelterntierherde

PUBLIKATIONSLISTE

## SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

---

### SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe.

Josef Benedikt Bachmeier

Bremen, den 11.12.2020