

Project 505.0810

Onderzoek naar de microscopische karakteristieken van varkensmest en kippemest

Projectleider: drs H.J.W.M. Cremers

Rapport 89.58

Oktober 1989

Microscopische karakteristieken van
varkensmest en kippemest.

drs H.J.W.M. Cremers, drs W.J.H.J.
de Jong en drs J.M.P. den Hartog

Goedgekeurd door: ir G.S. Roosje

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1989, Rijks-KwaliteitsinstituuT voor land- en tuinbouw-
produkten.

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermel-
ding.

VERZENDLIJST

INTERN

directeur
sectorhoofden
produktcoördinator dierlijke produkten
programmabeheer en informatieverzorging
afdeling Microscopie (4x)
circulatie
bibliotheek

EXTERN

Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Directie Wetenschap en Technologie
Directie Veehouderij en Zuivel, dhr ir P. Henkens
Algemene Inspectiedienst, dhr E.P. Valent

ABSTRACT

Onderzoek naar de microscopische karakteristieken van varkensmest en kippemest.

An investigation to the microscopical characteristics of manure of pigs and poultry.

Report 89.58

October 1989

H.J.W.M. Cremers, W.J.H.J. de Jong and J.M.P. den Hartog

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

4 figures, 3 references

Because of the dutch legislation concerning the spreading over land of manure of certain groups of farm animals an investigation was made for the possibilities to identify the manure of pigs and poultry by microscopical examination. Samples were examined with a flotation technique. In 31 samples of manure of pigs of many different farms hairs of pigs were the most abundant characteristic component. In samples from four farms eggs of the parasitic nematode *Ascaris suum* were found. In all of 46 samples of poultry-manure of 31 farms feathers were found macroscopically and microscopically. In samples from 13 farms eggs of parasitic nematodes (*Ascaridia*, *Heterakis* and *Capillaria*) were found. These eggs are not characteristic for poultry because they can be found also in other birds. All other components found in the samples of both pigs and poultry such as mites, flies, free-living nematodes and their eggs and the plant-elements were not characteristic enough for diagnosing the source of the manure.

INHOUD	<u>blz</u>
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIAAL EN METHODEN	7
2.1 Aantal en herkomst mestmonsters	7
2.2 Methode van onderzoek	8
3 RESULTATEN	9
3.1 Haren/veren	9
3.2 Wormeieren	10
3.3 Protozoaire cysten	10
3.4 Overige dierlijke bestanddelen	11
3.5 Plantaardige bestanddelen	11
4 BESPREKING RESULTATEN	12
5 CONCLUSIES	14
LITERATUUR	14

SAMENVATTING

Dit rapport is het verslag van een onderzoek naar de microscopische karakteristieken van varkensmest en kippemest, dat verricht werd in het kader van de meststofwetgeving.

In totaal werden 31 monsters varkensmest van 16 verschillende bedrijven en 46 monsters kippemest van 31 verschillende bedrijven (3 slachtkuikenbedrijven, 11 legbedrijven en 17 vermeerderingsbedrijven) onderzocht. Het onderzoek beperkte zich hoofdzakelijk tot de dierlijke bestanddelen. Alle mestmonsters werden eerst gezeefd door een aantal zeven met verschillende diameter. In de gezeefde fracties werden alle dierlijke bestanddelen, zoals veerresten, wormeieren, wormlarven, cysten, mijten en insecten, verzameld met behulp van een flottatiemethode met een geconcentreerde zinksulfaat-oplossing. In nagenoeg alle varkensmestmonsters werden varkensharen aangetroffen, die op grond van morfologische kenmerken duidelijk te onderscheiden waren van haren van andere landbouwhuisdieren. Slechts in 4 monsters werden de karakteristieke eieren gevonden van de varkensspoelworm *Ascaris suum*.

In alle kippemestmonsters werden veren of veerresten gevonden, hetgeen tot de diagnose vogelmest kon leiden. In 13 monsters werden eieren van parasitaire wormen gevonden (12x *Ascaridia*, 3x *Heterakis* en 8x *Capillaria*). Deze monsters waren afkomstig van 11 vermeerderingsbedrijven, en één commercieel en één niet-commercieel bedrijf met legghennen. Al deze eieren zijn niet specifiek voor kippen, wel voor vogels. De in veel kippemestmonsters aangetroffen oocysten van *Coccidia* zijn moeilijk van oocysten, die bij andere vogels voorkomen te onderscheiden. In één mestmonster werden soort-specifieke veermijten gevonden. Dit moet echter als een toevalsbevinding worden beschouwd. Alle overige dierlijke bestanddelen, die in de varkens- en kippemestmonsters werden gevonden, zoals stadia van niet-parasitaire mijten en vliegen, alsmede van vrijlevende nematoden, zijn niet specifiek voor een bepaalde diersoort.

1 INLEIDING

Op grond van het 'Besluit dierlijke meststoffen' (25 maart 1987 Stb. 114) zijn voorschriften opgenomen met betrekking tot het gebruik van dierlijke meststoffen. Onder dierlijke meststoffen worden verstaan: meststoffen of produkten die geheel of grotendeels bestaan uit uitwerpselen van door onze

Minister aangewezen vee en pluimvee. Aangewezen zijn: runderen, varkens, kippen en kalkoenen.

De Algemene Inspectiedienst is belast met het toezicht en de naleving van dit besluit. De laatste tijd is het in een aantal gevallen noodzakelijk gebleken dat de AID over een onderzoeksuitslag beschikt, waarin wordt aangegeven dat een bepaald mestmonster al of niet een aangewezen dierlijke meststof is. Met name is het in de praktijk van belang gebleken om mest van varkens en pluimvee te kunnen karakteriseren.

Op verzoek van de AID is bij het RIKILT een onderzoek gestart naar de microscopische karakteristieken van varkens- en kippemest. Het uitgangspunt was hierbij om voornamelijk naar de dierlijke bestanddelen te kijken (haren, veren, diverse stadia van parasieten, insecten e.d.) en niet naar de plantaardige bestanddelen en eventueel aanwezige mineralen en andere anorganische stoffen (b.v. koper). Deze zijn namelijk niet direct specifiek voor de diersoort. Bovendien is het voorkomen van deze bestanddelen in de mest gemakkelijker door de veehouder te beïnvloeden.

2 MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Aantal en herkomst mestmonsters

In totaal zijn 31 monsters varkensmest en 46 monsters kippemest onderzocht.

De varkensmestmonsters waren afkomstig van in totaal 16 bedrijven, waaronder 3 proefbedrijven (IVVO, IVO (Bantham) en LU (Zodiac)). De monsters van particuliere bedrijven werden verkregen via de AID (n=3) en via Promest/IMAG (n=10). Het merendeel van de monsters van

varkensbedrijven betrof drijfmest. De 46 kippemestmonsters waren afkomstig van 31 bedrijven, waaronder 2 proefbedrijven (COVP Spelderholt en LU (Zodiac)) en één niet-commerciële kippenhouder met zgn. erfkippen. De overige monsters (n=28) waren afkomstig van commerciële pluimveehouderijen en zijn verkregen via de Gezondheidsdienst voor Pluimvee in Doorn. Tabel 1 geeft een overzicht van de herkomst van deze monsters.

Tabel 1: Herkomst kippemestmonsters.

	slachtkuikens	leghennen	opfok(vermeerder.bedr.)
proefbedr. (n=2)	5	10	0
part.bedr. (n=29)	2	12	17
totaal	7	22	17

2.2 Methode van onderzoek

De meeste monsters hadden een gewicht van 100 tot 300 gram en werden geheel onderzocht. Van een aantal grote monsters werd een deelmonster van ongeveer 200 gram onderzocht.

Alle monsters werden nat gezeefd in een schudzeefmachine door zeven met maaswijdten van respectievelijk 1000, 150, 80 en 20 μm . De inhoud van de 1000 μm zeef werd macroscopisch en met behulp van een stereomicroscop onderzocht (maximale vergroting 64 maal). De inhoud van de 150, 80 en 20 μm zeef en, alleen bij de kippemestmonsters, de doorloop van de 20 μm zeef werd microscopisch onderzocht na toepassing van een verzamelmethode door middel van flottatie. Bij deze methode gaan alle bestanddelen uit de faeces, die lichter zijn in soortelijk gewicht dan de vloeistof waarin ze gesuspendeerd zijn, drijven. Zo kunnen o.a. alle dierlijke bestanddelen zoals veerdelen, wormeieren, oocysten,

larven, mijten en mijteeieren, uit een grotere hoeveelheid mestmateriaal in één microscopisch preparaat verzameld worden.

Hiervoor werd de inhoud van de genoemde zeven ieder apart geresuspendeerd in een kleine hoeveelheid water. Van deze suspensie werd +9 ml overgebracht in centrifugebuizen met een inhoud van 10 ml. Deze werden gedurende 3 minuten gecentrifugeerd bij 3000 rpm (1500g). Hierna werd de bovenstaande vloeistof afgegoten en het sediment opgeroerd in een zinksulfaat-oplossing met een soortelijk gewicht van 1.3. De buisjes werden vervolgens tot de rand met deze oplossing gevuld en afgedekt met een microscoop-dekglasje (18x18 mm), waarbij de vloeistof het glasje geheel raakte. Vervolgens werden de buizen nogmaals gecentrifugeerd bij 3000 rpm gedurende één minuut.

Hierna werden de dekglasjes voorzichtig met de aanhangende vloeistofdruppel van de buisjes genomen en direct op een objectglas gelegd. Deze werden vervolgens microscopisch onderzocht bij een vergroting van 70 tot 280 maal.

3 RESULTATEN

In de figuren 1-3 zijn de resultaten van het onderzoek schematisch weergegeven. Alleen de dierlijke bestanddelen zijn vermeld om eerder genoemde redenen. In veel monsters werd, zoals te verwachten was, ook een kleine of grotere hoeveelheid zand gevonden, vooral in de varkensdrijfmestmonsters. In de kippemestmonsters zaten vaak kleine kiezelsteentjes en houtkrullen (strooisel).

3.1 Haren/veren

Het meest karakteristieke bestanddeel in de varkensmestmonsters was de aanwezigheid van varkensharen, die in alle monsters aanwezig waren, met uitzondering van enkele verse mestmonsters, die rechtstreeks uit schone hokken verzameld waren. De in de regel ongepigmenteerde, dikke en stugge varkensharen zijn vrij karakteristiek. De haren van paarden en herkauwers zijn veel dunner. In varkensharen is de diameter van het merggedeelte (M) in verhouding tot de diameter van het hele haar (D)

veel geringer dan bij de andere dieren. De index M/D is bij varkens dan ook kleiner dan 0.5 (meestal 0.3-0.4), terwijl bij paarden, runderen en geiten deze index groter is dan 0.6 (Robert, 1982). In alle kippemestmonsters werden veren gevonden. In het merendeel van de monsters waren deze al macroscopisch zichtbaar, terwijl microscopisch in alle monsters delen van veren duidelijk herkenbaar waren.

3.2 Wormeieren

In 4 van de 31 varkensmestmonsters (12.9%), afkomstig van 4 verschillende bedrijven, werden eieren van parasitaire wormen gevonden. Het betrof uitsluitend eieren van de varkensspoelworm, *Ascaris suum*. In de kippemestmonsters werden in 13 gevallen parasitaire wormeieren gevonden. In fig.4 is de verdeling per bedrijfstype aangegeven. Wormeieren kwamen voornamelijk voor in de mestmonsters van de vermeerderingsbedrijven. In 12 van de positieve monsters (12 bedrijven) zaten eieren van de spoelworm *Ascaridia galli*. In 3 van deze 12 monsters zaten tevens eieren van de in de blinde darmen levende *Heterakis gallinarum*. In 8 monsters (8 bedrijven) werden eieren van *Capillaria* spp. (haarwormen) gevonden. In 7 van deze monsters zaten tevens *Ascaridia* eieren en in 3 ook eieren van *Heterakis*. Voor een morfologische beschrijving van de gevonden wormeieren wordt verwezen naar het boek "Diagnose van verminose door koprologisch onderzoek" (Thienpont c.s., 1979).

3.3 Protozoaire cysten

In geen van de varkensmestmonsters werden cysten van *Balantidium coli* aangetroffen, hoewel deze in het algemeen zeer vaak in varkensfaeces gevonden worden. Waarschijnlijk is het ontbreken te wijten aan de ouderdom van de onderzochte mest. Ook oocysten van coccidiën werden niet gevonden.

In 19 van de 46 kippemestmonsters werden oocysten van coccidiën aangetroffen. Aan de hand van morfologische kenmerken, die onder andere vermeld staan in het boek "Veterinärmedizinische Parasitologie" (Boch en Supperer), konden een aantal soorten gedetermineerd worden. Het meest frequent werden oocysten van *Eimeria maxima* en *Eimeria acervulina* gevonden.

3.4 Overige dierlijke bestanddelen

In de meeste varkens- en kippemestmonsters konden diverse stadia van niet-parasitaire insecten en mijten gevonden worden, vooral in monsters, die verzameld waren uit de mestopslag (fig. 3). Deze dieren komen pas na de defaecatie in de mest terecht en zijn dan ook in verse mest, die rechtstreeks uit het dier komt, niet te vinden in tegenstelling tot de diverse stadia van parasitair levende organismen. Bij deze niet-parasitaire dieren dient de mest als voedselbron voor de volwassen dieren en/of voor de larven.

Zo werden in veel monsters eieren, larven en poppen aangetroffen van diverse vliegesoorten alsmede de vliegen zelf. Verder waren in meer dan 60% van de monsters eieren van niet-parasitaire mijten aanwezig en in veel monsters ook de mijten zelf. Ook hier konden weer verschillende soorten worden vastgesteld, die niet specifiek zijn voor de soort mest. In één kippemestmonster zaten enkele parasitair levende veermijten, die gedetermineerd konden worden als *Megninia cubitalis*. Op 2 kippemestmonsters, die afkomstig waren uit één mestopslag, werd de vogelmijt *Dermanyssus gallinae* aangetroffen.

In ongeveer 30% van de varkensmonsters en in 60% van de kippemestmonsters konden ook vrijlevende nematoden worden gevonden. Dit zijn met het blote oog niet zichtbare wormen en wormlarven, die reeds snel na het defaeceren vanuit het milieu (bodem) de mest binnentrekken.

3.5 Plantaardige bestanddelen

In alle kippemestmonsters waren bij microscopisch onderzoek stukjes niet geheel verteerd plantaardig materiaal te zien in de vorm van aaneengesloten velden plantecellen. Deze zijn bij veel vogels altijd in de mest te vinden in tegenstelling tot varkens en herkauwers. Dit heeft te maken met verschillen in het verteringsproces in het maag-darmkanaal tussen deze dieren.

In veel van de varkensmestmonsters werden bij microscopisch onderzoek wel kleinere stukjes plantaardig materiaal gevonden in de vorm van aaneengesloten cellen met een vrij houtige structuur, mogelijk afkomstig van door de varkens geconsumeerd zaagsel uit de hokken.

4. BESPREKING RESULTATEN

Van belang voor de identificatie van mestmonstes zijn alleen die bestanddelen, die specifiek zijn voor de betreffende diersoort en die bovendien vaak en in redelijk grote, dat wil zeggen vindbare, hoeveelheden in de mest voorkomen. Uiteraard zal het vinden van meerdere karakteristieke bestanddelen in één monster de zekerheid van de identificatie vergroten.

In varkensmest zijn met name de varkensharen een vrij betrouwbaar en karakteristiek kenmerk, aangezien deze in de regel voldoende in varkens- (drijf)mest blijken voor te komen en macroscopisch en microscopisch gemakkelijk van haren van andere landbouwhuisdieren zijn te onderscheiden.

De veren en veerdelen, die in alle kippemestmonsters werden gevonden, zijn niet specifiek voor de kip, maar zullen wel kunnen leiden tot de diagnose vogelmest. De veerresten van eventueel in veevoeder verwerkt veermeel zijn als gevolg van de bereidingswijze microscopisch niet meer als zodanig te herkennen, zodat ze bij zoogdieren geen aanleiding kunnen geven tot een foutieve diagnose.

Van de parasitaire wormeieren, die in ons land in varkensfaeces gevonden kunnen worden, zijn alleen de eieren van de spoelworm *Ascaris suum* karakteristiek voor het varken. Een verwante soort met identieke eieren komt alleen voor bij de mens. De kans om *Ascaris*-eieren in varkensmestmonsters te vinden is echter in verband met het intensief gebruik van wormmiddelen in de varkenshouderij niet zo groot. Dit verklaart het betrekkelijk lage percentage positieve monsters (12.9%) in dit onderzoek.

De wormeieren, die aangetroffen werden in de kippemestmonsters, zijn niet specifiek voor kippen. Nematoden van de geslachten *Ascaridia* en *Heterakis* met niet van elkaar te onderscheiden eieren, komen ook voor bij een aantal andere vogels, zoals bijvoorbeeld fazanten en duiven, terwijl *Capillaria*-soorten bij veel vogels en bovendien ook bij zoogdieren gevonden kunnen worden. Het vinden van eieren van met name *Ascaridia* en *Heterakis* leidt dus in ieder geval tot de diagnose vogelmest.

Uit de resultaten van dit onderzoek blijkt verder, dat worminfecties bij kippen in de commerciële pluimveehouderij nog maar weinig voorkomen, met uitzondering van de vermeerderingsbedrijven. Dit is vooral het gevolg van verschillen in de manier van huisvesten. De meeste pluimveemest in Nederland zal echter niet afkomstig zijn van vermeerderingsbedrijven, maar van slachtkuikenbedrijven en legbedrijven, waar nauwelijks wormeieren te verwachten zijn. In het algemeen zullen wormeieren dan ook zelden kunnen bijdragen tot een mogelijke identificatie van de mest.

Protozoaire cysten zijn in de varkensmonsters niet gevonden, hoewel cysten van de ciliaat *Balantidium coli* wel vaak in varkensfaeces worden aangetroffen. Waarschijnlijk zijn deze cysten in oudere (drijf)mest niet meer intact. Bovendien schrompelen ze ineen tijdens de flottatie met een geconcentreerde zinksulfaatoplossing, waardoor ze moeilijker te herkennen zijn. Indien ze wel gevonden worden, kunnen ze bijdragen tot een nadere identificatie van de mest, aangezien nagenoeg identieke cysten verder alleen in rundermest te verwachten zijn.

Ook oocysten van coccidiën werden bij de varkens niet gevonden. Op de pluimveebedrijven zijn oocysten wel in een vrij groot percentage van de kippemestmonsters aangetroffen. Morfologisch zijn de verschillende soorten oocysten moeilijk te onderscheiden van soorten bij andere vogels. Wel kunnen ze in combinatie met andere bestanddelen de juistheid van de diagnose vogelmest versterken.

Door het opeten van ectoparasieten, zoals luizen, schurftmijten en veermijten, vooral bij het bijten of pikken bij jeuk veroorzaakt door deze parasieten, kunnen deze bij gelegenheid in de mest gevonden worden. Verder kan dit natuurlijk ook het gevolg zijn van vermenging van haar- en huidmateriaal uit de hokken met de mest. Luizen zijn zeer specifiek voor een bepaalde diersoort. Hetzelfde geldt in iets mindere mate voor veermijten bij vogels. Schurftmijten zijn daarentegen weinig diersoort-specifiek. Zo komen bijvoorbeeld *Sarcoptes*-mijten behalve bij varkens ook bij runderen en kleine herkauwers voor. De kans om ectoparasieten in mestmonsters aan te treffen blijft echter klein en is min of meer als een toevalsbevinding te beschouwen, zoals de veermijten in één van de onderzochte kippemestmonsters. Daar komt nog bij, dat een juiste determinatie van de meeste ectoparasieten, die kan leiden tot identificatie van de gastheer, zeer specialistisch werk is.

Niet-parasitaire insekten en mijten alsmede vrijlevende nematoden zijn, zoals te verwachten was, in de meeste monsters aangetroffen. De soorten en aantallen zijn min of meer afhankelijk van de wijze en de duur van de opslag van de mest. Zo werden in monsters varkensdrijfmest uit mestputten weer andere vliegesoorten aangetroffen dan in de monsters vaste kippemest. In het algemeen zijn al deze dierlijke bestanddelen niet voor identificatie van de mest bruikbaar.

Zoals reeds eerder opgemerkt geven plantaardige bestanddelen geen directe zekerheid met betrekking tot de identificatie van mestmonsters. Eventueel kunnen de reeds genoemde half-verteerde plantecellen in kippemest mede de diagnose vogelmest bevestigen.

5. CONCLUSIES

Concluderend kan gesteld worden, dat varkensmest te identificeren is door het aantreffen van de karakteristieke varkensharen. Het vinden van spoelwormeieren kan de identificatie verder bevestigen.

Kippemest is op grond van de resultaten van dit onderzoek niet als zodanig te karakteriseren. Veren, wormeieren en oocysten van coccidiën zijn niet direct diersoort-specifiek, maar kunnen wel, zeker in combinatie, tot de diagnose vogelmest leiden.

LITERATUUR

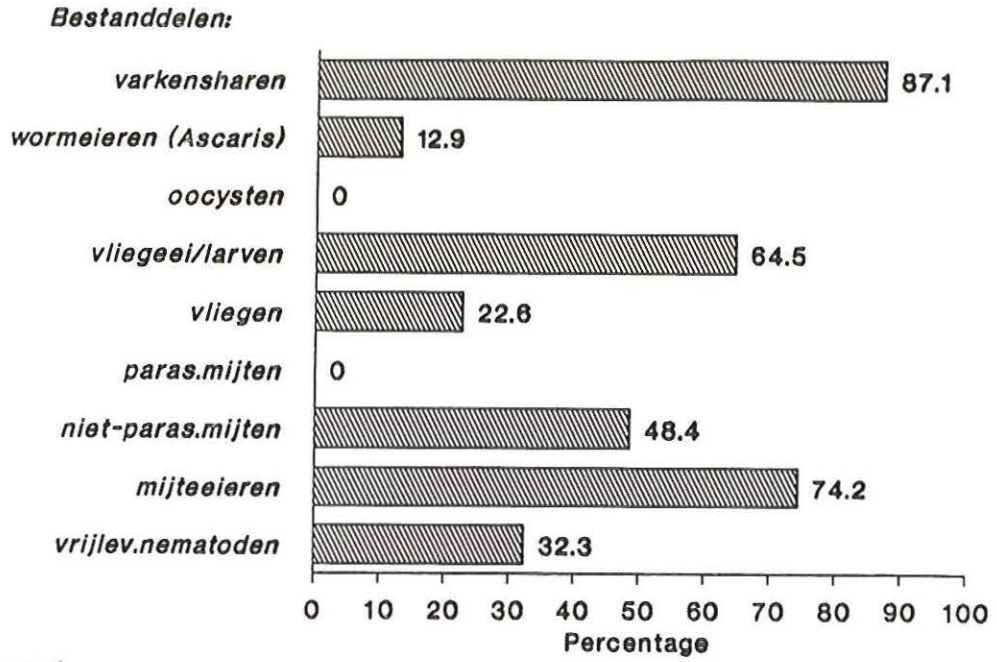
Boch, J. und R. Supperer. Veterinärmedizinische Parasitologie. Paul Parey, Berlijn/Hamburg, 1971. 408 blz.

Robert, P.H.M. Identification des poils des mammifères domestiques. Thèse, Toulouse, 1982. 67 blz.

Thienpont, D., Rochette, F. and O.F.J. van Parijs. Diagnose van verminose door koprologisch onderzoek. Janssen Research Foundation, Beerse, België, 1979. 187 blz.

VARKENSMEEST

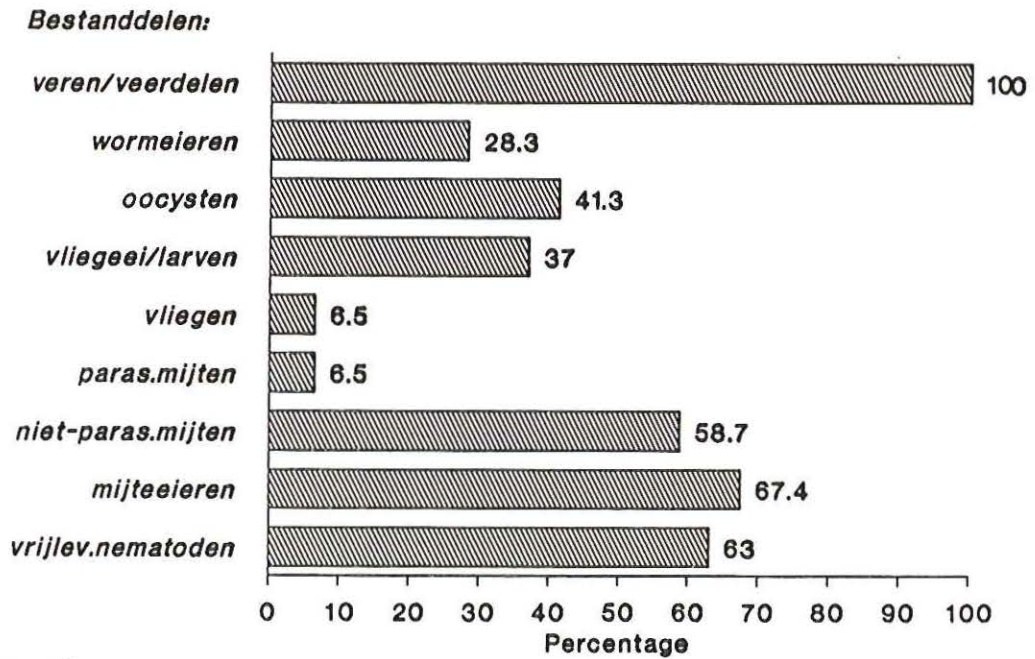
Microscopisch onderzoek van 31 monsters



Figuur 1

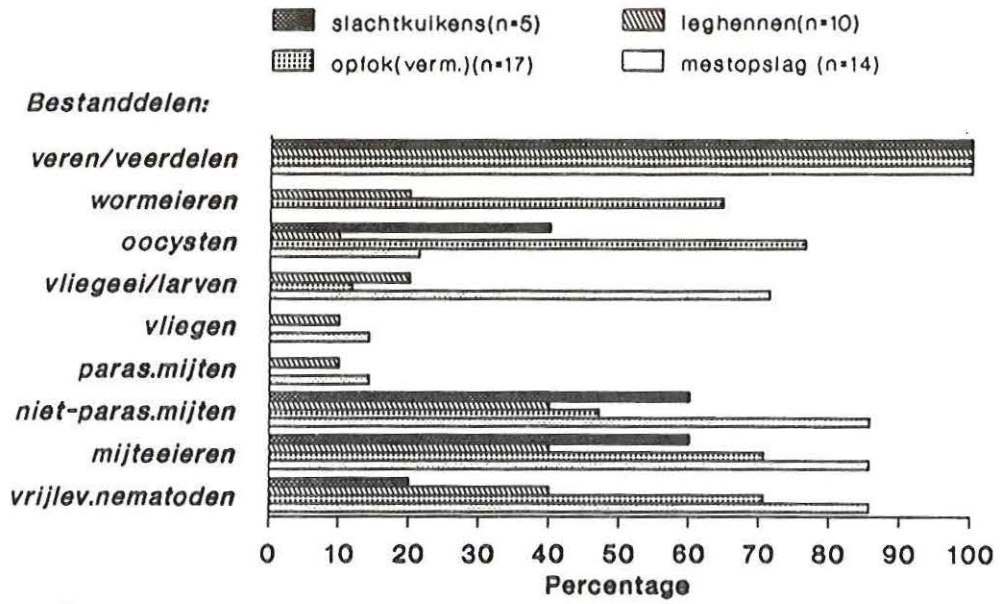
KIPPEMEST

Microscopisch onderzoek van 46 monsters



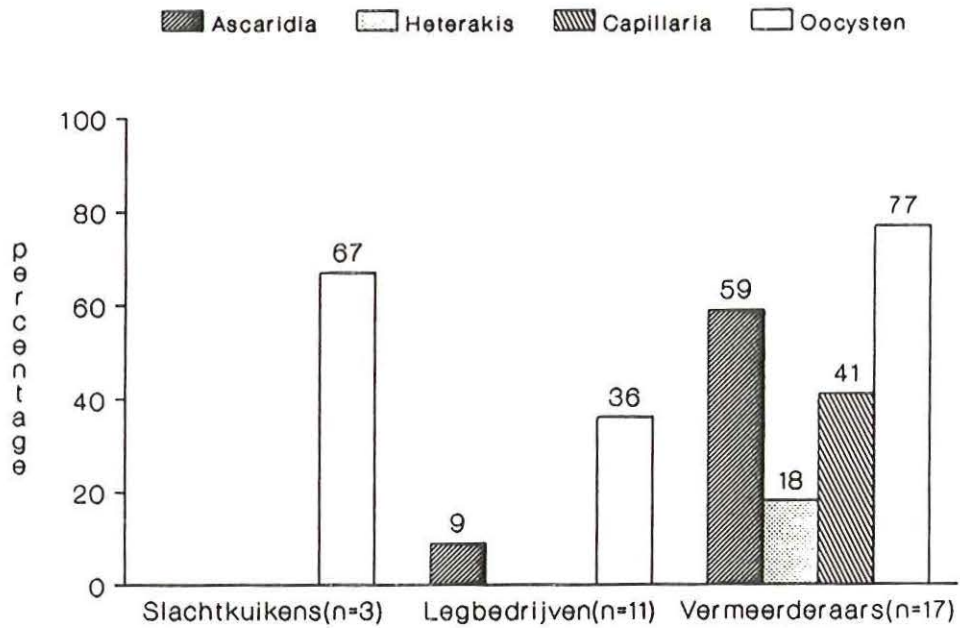
Figuur 2

KIPPEMEST Microscopisch onderzoek van 46 monsters



Figuur 3

FAECESONDERZOEK 31 PLUIMVEEBEDRIJVEN PARASIETEN



Figuur 4